

# 抗环瓜氨酸肽抗体联合类风湿因子诊断类风湿关节炎的临床意义

余亚辉, 韩媛媛, 周光庭, 贾芳岩(安徽省亳州市人民医院检验科 236800)

**【摘要】** 目的 探讨类风湿关节炎(RA)血清标志物抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体的临床价值,并分析其与类风湿因子(RF)的关联性。**方法** 采用化学发光法检测 CCP 抗体,使用免疫散射比浊法检测 RF,并对结果进行统计学分析。**结果** 113 例 RA 患者抗 CCP 抗体对 RA 诊断的敏感性 73.5%,阳性 83 例;84 例非 RA 患者抗 CCP 抗体特异性 97.6%,阳性 2 例。82 例抗 CCP 抗体与 RF 检测结果相同(72.6%)。两者无相关性( $P>0.05$ )。抗 CCP 抗体与 RF 联合检测的敏感性 84.1%,特异性 98.8%。**结论** 抗 CCP 抗体与 RF 抗体联合检测可提高 RA 的特异性。

**【关键词】** 抗环瓜氨酸肽抗体; 类风湿关节炎; 类风湿因子

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.11.034 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)11-1580-02

**The clinical value of anti-CCP antibodies and rheumatoid factor to rheumatoid arthritis** SHE Ya-hui, HAN Yuan-yuan, ZHOU Guang-ting, JIA Fang-yan (Department of Laboratory, the People's Hospital of Bozhou, Bozhou, Anhui 236800, China)

**【Abstract】 Objective** To analyze the value of anti-CCP antibodies to RA and relationship of rheumatoid factor (RF). **Methods** CCP antibodies were determined by chemiluminescence, rheumatoid factor was determined by immune nephelometry, and the sensitivity, specificity and relationship were analyzed by SPSS20.0. **Results** Anti-CCP antibodies for RA diagnostic sensitivity was 73.5% (83/113), specificity was 97.6% (81/83). There was no significant correlation between anti-CCP and RF antibodies ( $P>0.05$ ). Sensitivity of RF combined with anti-CCP was 84.1%, specificity was 98.8%. **Conclusion** Anti-CCP antibodies for RA diagnosis with high specificity and sensitivity; there was no correlation between anti-CCP and RF. Combined detection can improve the diagnostic sensitivity and specificity of RA.

**【Key words】** anti-CCP; rheumatoid arthritis; rheumatoid factor

类风湿关节炎(RA)是一种常见的系统性自身免疫性疾病,患者占人口总数的 0.5%~1%<sup>[1]</sup>。近年来的研究数据显示,RA 越早治疗越能获得最好的疗效<sup>[2]</sup>。RA 患者血清中会产生多种自身抗体,其中类风湿因子(RF)抗体是最常用于检测的血清标志物。RF 因子是美国风湿病学会(ACR)类风湿关节炎诊断分类标准之一<sup>[3]</sup>。但是 RF 对于 RA 特异性不高,在其他风湿性或炎症性疾病的患者甚至大部分的健康老年者也可以检出,因此不利于 RA 的早期诊断。抗环瓜氨酸肽(抗 CCP)抗体是新发现的一种对 RA 特异性和敏感性都较高的抗体<sup>[4]</sup>。2007 年欧洲风湿病防治联合会(EULAR)将抗 CCP 抗体作为早期 RA 诊断指南中的一个血清学指标<sup>[5]</sup>。现检测血清抗 CCP 抗体和 RF 抗体含量,探讨两者的相关性及联合检测 RA 患者的临床价值。报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2014 年 1~6 月该院免疫风湿科就诊的患者 197 例,其中符合 1987 年美国风湿病协会修订的 RA 诊断分类标准 113 例,男 32 例,女 81 例,年龄 18~72 岁,平均 50.7 岁。其他风湿类疾病 84 例,男 19 例,女 65 例,年龄 19~68 岁,平均 48.9 岁。其中系统性红斑狼疮 16 例,多发性肌炎 8 例,干燥综合征 24 例,强直性脊柱炎 23 例,混合性结缔组织病 6 例,硬皮病 7 例。以上疾病均与相应的国内或国际诊断标准符合。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 抗 CCP 抗体检测** 采用雅培 I2000 化学发光仪进行

检测,仪器和试剂均为雅培公司提供。使用两步免疫检测法,首先将样本用清洗缓冲液进行预稀释,充分混合预稀释后的样本、包被 CCP 微粒子和样本稀释液,标本中抗 CCP 抗体与包被 CCP 微粒子相结合。然后将冲洗后加入吖啶酯标记的小鼠抗人 IgG 抗体结合物,再次冲洗后将预激发液和激发液注入反应结合体系中。测定化学发光反应结果,样本中 CCP 抗体含量与发光值呈正比。抗 CCP 抗体大于 5.0 U/mL 为阳性。

**1.2.2 RF 抗体检测** 采用德灵 BNPII 特种蛋白仪检测,使用免疫速率散射比浊法,仪器和试剂均由美国德灵公司提供,RF 大于 20.0 U/mL 为阳性。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析,使用四格表计算抗 CCP 抗体和 RF 抗体的敏感性和特异性,应用  $\chi^2$  检验进行阳性率比对。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 2 组患者抗 CCP 抗体和 RF 抗体分别检测结果比较** 113 例血清标本抗 CCP 抗体阳性 83 例,对 RA 诊断敏感性为 73.5%;RF 阳性为 86 例,对 RA 诊断敏感性为 76.1%,特异性为 97.6%;RF 阳性为 29 例,对 RA 诊断特异性为 65.5%;抗 CCP 抗体的阳性预测值为 97.6%,阴性预测值为 73.2%;RF 的阳性预测值为 74.8%,阴性预测值为 67.1%,两者敏感性差异无统计学意义( $P>0.05$ );但抗 CCP 抗体特异性明显高于 RF,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

**2.2 抗 CCP 抗体联合 RF 检测 RA 结果比较** RA 组患者抗

CCP 抗体或 RF 某 1 项阳性 92 例,敏感性 84.1%;抗 CCP 抗体和 RF 同时阳性 64 例,敏感性 56.6%。非 RA 组患者抗 CCP 抗体或 RF 某 1 项阳性 30 例,特异性 64.3%;抗 CCP 抗体和 RF 同时阳性 1 例,敏感性 98.8%。抗 CCP 抗体和 RF 之一为阳性

的敏感性(84.1%)高于抗 CCP 抗体(73.5%)和 RF(76.1%)单项测定。抗 CCP 抗体和 RF 同时为阳性的特异性(98.8%)高于 RF(74.8%)测定的特异性,但与抗 CCP 抗体单独测定的特异性(97.6%),差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 1 2 组患者抗 CCP 抗体和 RF 抗体分别检测结果比较

检测项目	RA 组(n=113)	非 RA 组(n=84)	敏感性(%)	特异性(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)		
抗 CCP 抗体	阳性例数	83	阳性例数	2	73.5	97.6	97.6	73.2
	阴性例数	30	阴性例数	82				
RF 抗体	阳性例数	86	阳性例数	29	76.1 <sup>#</sup>	65.5 <sup>*</sup>	74.8	67.1
	阴性例数	27	阴性例数	55				

注:与抗 CCP 抗体比较,<sup>#</sup> $P>0.05$ ;与抗 RF 抗体比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ 。

表 2 抗 CCP 抗体联合 RF 检测 RA 结果比较

检测项目	RA 组 (n=113)		非 RA 组 (n=84)		敏感性 (%)	特异性 (%)
	阳性例数	阴性例数	阳性例数	阴性例数		
抗 CCP 抗体阳性	95	18	30	54	84.1	64.3
或 RF 阳性	18	95	54	30		
抗 CCP 抗体阳性	64	49	1	83	56.6	98.8
并 RF 阳性	49	64	83	1		

### 3 讨 论

RA 是一种自身免疫性疾病,女性患者居多,表现为外周关节的非特异性炎症,而且后期发展迅速,患病关节及其周围组织呈现进行性破坏,并致使受累关节发生功能障碍,预后很差,因此 RA 的早期诊断、早期干预已经成为目前临床 RA 的治疗策略。但是 RA 的早期症状并不明显,早期发展缓慢,而且与骨关节炎、痛风、银屑病性关节炎等疾病症状相似,极易引起误诊从而耽误 RA 早期治疗。但目前 RA 的诊断标准仍然是 1987 年美国风湿病学会(ARA)制定的类风湿关节炎分类标准,而且主要为临床诊断标准,实验室诊断指标只有 RF 一项,RF 是一种变形 IgG 自身抗体,可与 IgG 的 Fc 片段结合,但在其他较多自身免疫性疾病和老年健康者中也会出现阳性,因此特异性不高,不能满足临床对 RA 的早期诊断治疗。

本研究对 113 例 RA 患者和 84 例非 RA 患者同时进行抗 CCP 抗体和 RF 检测,分析其敏感性及特异性并探讨两者之间的相关性。结果表明,抗 CCP 抗体和 RF 对于 RA 的诊断敏感性分别为 73.5%和 76.1%,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),与其他文献报道的结果基本一致<sup>[6-7]</sup>;抗 CCP 抗体和 RF 对于 RA 的诊断特异性分别为 97.6%和 65.5%,抗 CCP 抗体的特异性明显高于 RF,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),与相关报道相似<sup>[8-9]</sup>。RA 组患者抗 CCP 抗体与 RF 同时阳性 64 例,敏感性 56.6%,低于两者单独检测的敏感性;两者之一为阳性 95 例,敏感性 84.1%,高于两者单独检测的敏感性,但特异性 98.8%,与抗 CCP 抗体单独检测的特异性差异无统计学意义( $P>0.05$ )。因此对 RA 疑似患者进行抗 CCP 抗体与 RF 的联合检测,可以降低特异性,且提高灵敏度,达到早期诊断、早期治疗的目的。抗 CCP 抗体与 RF 结果有较高的一致性,183 例 RA 患者中两者同时阳性 64 例,同时阴性 18 例,两者一致率 72.6%,但经  $\chi^2$  检验,提示无相关性,表明 2 种抗体是独立个体,不能互相代替。表 1 结果显示,抗 CCP 抗体的阳、阴性预测值(84.1%、73.2%)均高于 RF(74.8%、67.1%),说明抗 CCP 抗体对 RA 的诊断价值高于 RF,因此抗 CCP 抗体是一

个优于 RF 的血清标志物。

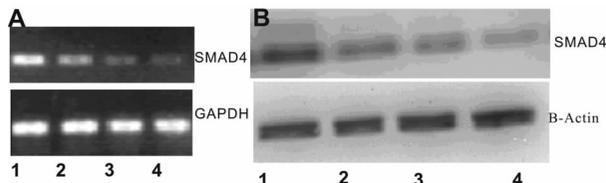
随着技术的不断发展,RA 的相关自身抗体不断被发现,其中包括瓜氨酸相关自身免疫系统,进一步研究发现,瓜氨酸是其共同靶抗原决定簇。Schellekens 等<sup>[10]</sup>采用半胱氨酸替换瓜氨酸肽链中的 2 个丝氨酸,形成转角结构相似的二硫键而成为环瓜氨酸肽,并认为 RA 血清抗中间丝相关蛋白相关抗体识别的主要抗原决定簇是瓜氨酸。所以,血清抗 CCP 抗体对 RA 具有较高的特异性和敏感性,是 RA 新的血清标志物,2007 年欧洲风湿病防治联合会(EULAR)把抗 CCP 抗体列为早期类风湿关节炎诊断指南中的一个血清学指标。本实验对抗 CCP 抗体检测采用微粒子化学发光法,仪器为雅培 I2000 全自动化学发光仪,其配套抗 CCP 抗体试剂对于 RA 检测特异度及灵敏度都较高,与传统的 ELISA 法比较具有稳定性好,检测时间短,人为干扰因素少的优点。

综上所述,抗 CCP 抗体对 RA 的检测与 RF 比较,敏感性相当,但特异性却有极大的提高。两者联合检测,能够提高诊断敏感性,对于 RA 的早期诊断提供很大帮助,临床可及早进行治疗措施,减少骨关节破坏,延缓疾病发展,具有临床意义。

### 参考文献

- [1] 唐福林. 类风湿关节炎的诊治和预后[J]. 临床内科杂志, 2004, 21(3): 148-151.
- [2] Landew R. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis; confounding by indication, and the issue of timing[J]. Arthritis & Rheumatism, 2003, 48(1): 1-5.
- [3] Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis & Rheumatism, 2010, 31(3): 315-324.
- [4] Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA, et al. The prognostic value of anticyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis[J]. Arthritis & Rheumatism, 2000, 43(8): 1831-1835.
- [5] Combe B, Landew R, Lukas C, et al. EULAR recommendations for the management of early arthritis; report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ES-CISIT)[J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2007, 66(1): 34-45.
- [6] 陈晓玲, 潘莎琳, 高志芬. CCP 抗体和(下转第 1584 页)

平的表达 慢病毒感染 MDA-MB-231 后, 24 h 提取细胞总 RNA, 48 h 提取细胞总蛋白。通过聚合酶链式反应(RT-PCR)和免疫印迹试验(Western-blot)检测 SMAD4 干扰慢病毒的干扰效果。慢病毒感染 24 h 后, 感染率均值约 60%。RT-PCR 显示 shRNA-SMAD4-1、shRNA-SMAD4-2 和 shRNA-SMAD4-3 组细胞 SMAD4 mRNA 的表达较 shRNA-Negative 组均有所降低, 分别降低 52.17%、46.33%、40.18%。表明 shRNA-SMAD4-3 的干扰效果最好, 且得到 Western-blot 进一步证实。本组实验结果提示, 干扰慢病毒载体构建成功。见图 4。



注: 1: shRNA-Negative; 2: shRNA-SMAD4-1; 3: shRNA-SMAD4-2; 4: shRNA-SMAD4-3。

图 4 SMAD4 基因的沉默效果图

### 3 讨 论

肿瘤的发生发展是一个多因素作用、多基因参与的复杂生物学过程, 目前其机制尚未完全明了。乳腺癌作为女性常见的恶性肿瘤, 占女性恶性肿瘤的第 1 位。目前有文献报道 BMPs/SMAD 在乳腺癌的生物学过程中起着重要作用, Katsuno 等<sup>[5]</sup> 研究发现骨形态发生蛋白 2 (BMP2) 通过 BMPs/SMAD 通路促进 MDA-MB-231 侵袭迁移。BMP2 在体内外能够促进雌激素受体阳性的 MCF7 侵袭迁移, 过表达 BMP2 的 MCF-7 细胞复制乳腺癌异种移植瘤, 裸鼠动物模型中发现有明显新生血管形成<sup>[6]</sup>。Liu 等<sup>[7]</sup> 结合临床标本和实验数据提出 SMAD4 可作为乳腺癌的诊断指标。Xue 等<sup>[8]</sup> 研究表明 SMAD4 作为一关键分子参与肿瘤转移过程, Flanders 进一步证实这一结果。大量研究提示 SMAD4 在乳腺癌的发生、发展中起着重要作用, 深入研究 SMAD4 的功能对阐明乳腺癌发病机制具有临床价值<sup>[9-10]</sup>。

本组通过 SBI 公司第 4 代慢病毒包装系统, 利用干扰在线设计网页, 设计 3 对针对 SMAD4 的短发卡 RNA, 并成功包装成干扰慢病毒。经 RT-PCR 和 Western-blot 发现 3 对短发卡 RNA 对 SMAD4 均有干扰效果, shRNA-SMAD4-1 (52.17%)、shRNA-SMAD4-2 (46.33%)、shRNA-SMAD4-3 (40.18%)。shRNA-SMAD4-3 干扰效果最好, 干扰慢病毒的成功构建为后续研究 SMAD4 功能作出良好铺垫工作。

慢病毒病毒载体作为一种有效的基因工程载体, 已证实其可用于基因治疗、免疫治疗及基础生物学的有力工具。作为基因载体, 其具有较多优点, 如可以制备较高滴度慢病毒, 所携带的基因表达水平高, 所感染的宿主细胞和组织范围广, 几乎可以干扰所有细胞, 慢病毒可以整合到基因组, 能够形成稳

定的基因表达, 今后可用于获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、神经系统疾病、血液系统疾病的基因治疗。本实验采用 SBI 安全性更高的第 4 代慢病毒包装系统, 为以后的实验研究奠定了良好的基础。

### 参考文献

- [1] Ye S, Park BH, Song KJ, et al. In vivo inhibition of bone morphogenetic protein-2 on breast cancer cell growth[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2013, 38(3):143-150.
- [2] 王科, 冯红蕾, 孙笑笑, 等. 骨形态发生蛋白 9 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 肿瘤, 2011, 31(5):389-394.
- [3] Yang Y, Wolfram J, Shen J, et al. Live-cell single-molecule imaging reveals clathrin and caveolin-1 dependent docking of SMAD4 at the cell membrane[J]. FEBS Lett, 2013, 587(24):3912-3120.
- [4] Yu SL, Lee DC, Son JW, et al. Histone deacetylase 4 mediates SMAD family member 4 deacetylation and induces 5-fluorouracil resistance in breast cancer cells[J]. Oncol Rep, 2013, 30(13):1293-1296.
- [5] Katsuno Y, Hanyu A, Kanda H, et al. Bone morphogenetic protein signaling enhances invasion and bone metastasis of breast cancer cells through Smad pathway[J]. Oncogene, 2008, 27(49):6322-6333.
- [6] Clement JH, Raida M, Snger J, et al. Bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) induces in vitro invasion and in vivo hormone independent growth of breast carcinoma cells [J]. Int J Oncol, 2005, 27(5):401-407.
- [7] Liu NN, Xi Y, Callaghan MU, et al. SMAD4 is a potential prognostic marker in human breast carcinomas [J]. Tumour Biol, 2014, 35(10):641-650.
- [8] Xue J, Lin X, Chiu WT, et al. Sustained activation of SMAD3/SMAD4 by FOXM1 promotes TGF- $\beta$ -dependent cancer metastasis[J]. J Clin Invest., 2014, 124(4):564-579.
- [9] 姜晶, 王彩芹, 刘楠楠. Smad4 在乳腺癌及癌周组织中的表达及意义[J]. 中国老年学杂志, 2014, 14(15):1253-1255.
- [10] Flanders KC, Heger CD, Conway C, et al. Bright field proximity ligation assay reveals both canonical and mixed transforming growth factor- $\beta$ /bone morphogenetic protein smad signaling complexes in tissue sections [J]. J Histochem Cytochem, 2014, 20(22):1554-1556.

(收稿日期:2014-12-15 修回日期:2015-02-08)

(上接第 1581 页)

- RF 在类风湿关节炎诊断中的应用[J]. 四川医学, 2006, 27(7):690-691.
- [7] 葛艳玲, 宋慧, 赵育靖. 单独检测抗环瓜氨酸肽抗体诊断类风湿关节炎[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(1):94-97.
- [8] 曾小峰, 艾脉兴. 抗环瓜氨酸肽抗体检测在类风湿关节炎中的意义[J]. 中华风湿病学杂志, 2001, 5(5):281-284.
- [9] 胡学芳, 魏华, 朱爱萍, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体检测在类风湿关节炎诊断中的临床意义[J]. 中华检验医学杂志,

2003, 26(8):484-487.

- [10] Schellekens GA, de Jong BA, Van den Hoogen FH, et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies[J]. Journal of Clinical Investigation, 1998, 101(10):273-275.

(收稿日期:2014-12-16 修回日期:2015-02-13)