

类风湿因子与抗环瓜氨酸肽抗体和抗角蛋白抗体联合检测对类风湿关节炎的诊断价值

程 颖,汪 欣,李文歆(福建中医药大学附属第二人民医院体检中心,福州 350003)

【摘要】 目的 探讨类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽抗体(抗-CCP)及抗角蛋白抗体(AKA)联合检测在诊断类风湿关节炎(RA)中的价值。**方法** 回顾分析 186 例 RA 患者及 981 例未确诊的病例进行 3 项抗体检测,并进行统计学比较。**结果** 抗-CCP 与 AKA 检测差异有统计学意义,RF、抗-CCP 检测和 RF、抗-CCP、AKA 联合检测阳性率接近,差异无统计学意义。**结论** 抗-CCP 与 AKA 的靶抗原有一定的相关性,但又不能完全重叠,对不同人群,合理地优化组合 RF、抗-CCP 与 AKA,并结合临床可提高对 RA 的诊断及鉴别诊断,对于 RA 的早期诊断、病情发展、预后均有重大作用。

【关键词】 类风湿关节炎; 类风湿因子; 抗环瓜氨酸肽抗体; 抗角蛋白抗体

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.12.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)12-1453-02

Value of joint detection of RF, anti-CCP and AKA in diagnosis of RA CHENG Ying, WANG Xin, LI Wen-xin (Physical Examination Center, Second Affiliated Hospital, Fujian University of TCM, Fuzhou, Fujian 350003, China)

【Abstract】 Objective To investigate the value of combined determination of serum rheumatic factor(RF), anti-keratin antibody(AKA) and anti-cyclic citrullinated peptide antibody(anti-CCP antibody) levels in the diagnosis of rheumatoid arthritis(RA). **Methods** The detection results of three items of antibody in 186 patients with RA and 981 undiagnosed patients were retrospectively analyzed for statistical comparison. **Results** The anti-CCP and AKA levels had statistical difference. The joint detection of the two items and three items had the approximate positive rate without statistical difference. **Conclusion** Target antigens of anti-CCP and AKA have certain correlation, but is unable to completely overlap. Rational and optimal combination of RF, anti-CCP and AKA, combined with clinic, can improve the diagnosis and differential diagnosis of RA, which has an important role in early diagnosis, condition development and prognosis of RA.

【Key words】 rheumatoid arthritis; rheumatoid factors; anti-cyclic citrullinated peptide antibody; anti-keratin antibody

类风湿关节炎(RA)是一种病因不明的自身免疫性疾病,以对称性、侵蚀性滑膜炎为特征。其诊断主要依据病史,临床表现、血清学及影像学综合分析,并注意在排除其他疾病的基础上加以确立。目前,应用最广泛的是 1987 年美国风湿病学会提出的 RA 的诊断标准。由于 RA 早期临床表现复杂多变,大多不典型,易造成误诊或漏诊。而当疾病发展到后期会导致严重的关节变形及多种并发症,故如何能早期、特异性地诊断 RA,特别是在影像学改变之前确诊,对疾病的治疗及预后至关重要。在早期诊断中,对血清学标志物进行检测是主要手段,并且在疾病监测、预后评估及探讨发病机制方面都有重要作用。目前发现的血清学标志物主要有:类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽抗体(抗-CCP)、抗核周因子(APF)、抗角蛋白抗体(AKA)、抗角蛋白微丝蛋白抗体(AFA)、抗 SA 抗体等。现在临床上使用最多的检测 RF、抗-CCP、AKA 3 项来诊断 RA。近来更有观点提出,仅联合检测 RF 与抗-CCP,其灵敏度与特异性即可满足临床要求^[1]。本文旨在通过分析 RA 病例及临床未确诊病例的 RF、抗-CCP 及 AKA 检测结果,讨论论证是否联合检测 RF、抗-CCP、AKA 对 RA 作出较准确的诊断。

1 资料与方法

1.1 一般资料 RA 病例组:2009 年 10 月至 2011 年 2 月来本院就诊的住院及门诊 RA 患者 186 例,所有患者均符合美国

风湿病学会 1987 年制定的诊断标准,其中女 139 例,男 47 例,平均年龄 49 岁。未确诊病例组:本院 2009 年 10 月至 2011 年 2 月来本院就诊的住院及门诊患者 981 例,其中 475 例关节炎,其他 506 例为与系统性红斑狼疮(SLE)、结缔组织病(CTD)等有关节疼痛表现的临床病例。

1.2 方法

1.2.1 RF 的检测 采用免疫比浊法,仪器为美国 Beckman 公司的 IMMAGE 自动分析仪,以 RF>20 U/mL 为阳性。

1.2.2 AKA 的检测 采用间接免疫荧光法,试剂由德国欧蒙公司提供。血清作 1:10 稀释,以大鼠胃为 AKA 抗原,角质层出现板状、线状沉积荧光判为阳性,于荧光显微镜下观察结果,结果由 2 人判读。

1.2.3 抗-CCP 抗体的检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA),试剂由德国欧蒙公司提供。抗-CCP 抗体比率≥1.0 判为阳性。

1.3 统计学方法 采用 χ^2 检验比较 RF、AKA、抗-CCP 阳性检出率的差异性, $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 AKA 和抗-CCP 检测结果比较 见表 1、2。

2.2 RF、抗-CCP 和 AKA 不同联合方式检测的阳性率比较 见表 3。

2.3 828 例抗-CCP、AKA 及 RF 检测结果分析 见表 4。

表 1 186 例 RA 病例组 AKA 和抗-CCP 检测结果

抗-CCP	AKA		合计
	(+)	(-)	
(+)	87	53	140
(-)	14	32	46
合计	101	85	186

注：(+)表示阳性，(-)表示阴性。

表 2 981 例未确诊病例组 AKA 和抗-CCP 检测结果

抗-CCP	AKA		合计
	(+)	(-)	
(+)	150	122	272
(-)	56	653	709
合计	206	775	981

注：(+)表示阳性，(-)表示阴性。

表 3 RF、抗-CCP 和 AKA 不同联合方式检测的比较[n(%)]

组别	RF+CCP	RF+AKA	RF+CCP+AKA
RA 组(n=157)	136(86.62)	137(87.26)	139(88.53)
未确诊组(n=671)	369(54.99)	378(56.33)	391(58.27)

表 4 828 例抗-CCP、AKA 及 RF 检测结果分析

RF	抗-CCP			AKA		
	(+)	(-)	合计	(+)	(-)	合计
(+)	279	206	485	179	306	485
(-)	22	321	343	34	309	343
合计	301	527	828	213	615	828

注：(+)表示阳性，(-)表示阴性。

3 讨 论

过去在 RA 的诊断中,RF 是惟一的实验室指标,因其检测自动化,操作简便、快速、灵敏度高,重复性好而得到广泛的应用。但其特异性相对较低,很多自身免疫性疾病患者的血清中都可以有 RF 的增高,甚至正常老年人中也有一定的阳性率,另 RF 有 IgM、IgG、IgA 型抗体,临床多检测 IgM 抗体,这些缺点都极大地限制了 RF 在 RA 诊断中的应用价值。

1979 年 Young 等^[2]以大鼠食道为底物,用免疫荧光法检测抗角蛋白抗体,发现它是一种不同于 RF 的 IgG 型抗体,对 RA 具有很高的特异性。APF 识别聚角蛋白微丝蛋白表位的主要组成成分,2000 年国外首次报道它们的共同抗原决定簇环瓜氨酸肽 CCP 可经人工合成用于 ELISA 检测^[3]。抗-CCP 对 RA 具有很高的敏感性和特异性,与 AKA 的靶抗原有一定的相关性,但又不能完全重叠,它们可能是同一抗原分子上的不同抗原位点。研究发现,这 2 个新的血清学指标对 RA 的早期诊断具有较高的价值^[4]。故现在多提倡联合检测的思路,同时测定 AKA、抗-CCP、RF 以提高诊断的灵敏度与特异性^[5-6]。

曾有文献报道指出,抗-CCP 抗体在化学结构上与 AKA 抗体具有相关性,但并不完全重叠^[7]。有文献报道二者之间的差异无统计学意义,临床只需检测抗-CCP 即可对疾病有较好的诊断^[8]。本研究中表 1 RA 病例组及表 2 未确诊组病例数据表明,AKA 阳性率并不完全与抗-CCP 重叠,表 1 中有 14 例

病例 AKA 阳性而抗-CCP 阴性,53 例病例抗-CCP 阳性而 AKA 阴性。抗-CCP 与 AKA 之间差异有统计学意义($P<0.05$)。表 2 中有 56 例病例 AKA 阳性而抗-CCP 阴性,122 例病例抗-CCP 阳性而 AKA 阴性。抗-CCP 与 AKA 之间差异有统计学意义($P<0.05$)。由此可见 2 个项目的差异性。

表 3 示在 RA 组中联检 RF+AKA、RF+抗-CCP、RF+抗-CCP+AKA 阳性率分别为 87.26%、86.62%、88.53%。在未确诊病例组中,联检 RF+AKA、RF+抗-CCP、RF+抗-CCP+AKA 的阳性率分别为 56.33%、54.99%、58.27%。分析表明两种抗体联合检测与 3 种抗体联合检测,阳性率接近,差异无统计学意义($P>0.05$)。

RA 患者无论 RF 阳性与否,均有一定比例的 AKA 和抗-CCP 抗体检出,说明 AKA 和抗-CCP 抗体的出现与 RF 没有必然联系,抗-CCP 与 AKA 在 RF 阳性及阴性时的阳性分布差异无统计学意义。表 4 呈示在 343 例 RF 阴性的患者中 22 例抗-CCP 阳性,34 例 AKA 阳性。提示联合检测可避免因 RF 阴性而引起的漏诊,对 RF 阴性的 RA 诊断具有补充意义,尤其是对一些临床症状不典型或 X 线照片未异常的患者可以起到早期诊断的作用。

由于 AKA 采用间接免疫荧光法,不易标准化,结果判断上存在主观因素;而抗-CCP 采用 ELISA 检测,操作简便可半定量测定,对于疾病的发展及预后也有检测作用;RF 因其检测自动化操作简便快速、灵敏度高,重复性好而得到广泛的应用。另有国内学者研究认为,抗-CCP 阳性的 RA 患者骨关节破坏程度较阴性者严重,表明抗-CCP 检测对预测 RA 患者疾病的严重性具有应用价值;抗-CCP 抗体浓度变化亦与治疗相关^[9]。通过分析本次研究结果,作者认为 RF、抗-CCP 及 AKA 联合,可有助于 RA 患者的早期诊断与鉴别诊断。在确诊的 RA 患者中,用 RF、抗-CCP 跟踪治疗效果及预后判断更佳。

综上所述,对不同患者,合理地优化组合 RF、抗-CCP 与 AKA,并结合临床表现可提高对 RA 的诊断及鉴别诊断,对于 RA 的早期诊断,病情发展,预后均有重大作用,且合理选择项目,可适当节约资源,减轻患者的经济负担,值得临床探讨和进一步验证^[10-11]。

参考文献

[1] 巫翠萍,覃西,黄丽云. RF、抗-CCP 和 AKA 联合检测在类风湿性关节炎诊断中的价值[J]. 中国热带医学,2007,7(8):7631-7632.

[2] Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, et al. Anti keratin antibodies in rheumatoid arthritis [J]. Br Med J, 1979, 2(6182):97-99.

[3] Kroot EJ, De Long BA, Van Leeuwen MA, et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(8):1831-1835.

[4] 张蜀兰,李永哲,佟大伟. 抗丝集蛋白抗体谱检测在类风湿性关节炎诊断中的临床价值[J]. 中国医学检验杂志, 2005, 6(3):177-179.

[5] 李鸿斌,李小峰,甘晓丹,等. 抗核周因子等四种抗体联合检测在早期类风湿性关节炎中的意义[J]. 中华医学杂志, 2000, 80(1):20-24.

(下转第 1456 页)

表 2 为 2006 年 12 月 18~22 日期间的室内质控情况,所用质控物为法国 Stago 公司产品,批号为 052312。质控物靶值范围为 PT:11.5~15.5 s,APTT 为 27~37 s,Fib 为 2.7~3.8 g/L。

表 2 2006 年 12 月 18~22 日期间的室内质控情况			
日期	PT(s)	APTT(s)	Fib(g/L)
12.18	14.0	31.9	2.81
12.19	13.6	33.1	3.11
12.20	14.2	34.2	3.16
12.21	13.7	32.5	2.94
12.22	14.2	33.4	3.07

3 讨 论

质量控制是一个确保生产出来的产品满足要求的过程^[2]。测量阶段的质量控制可分为 2 个主要的实践,即室内质量控制和室间质量控制。室内质量控制是日常工作的基础,室间质量控制评价结果的比较则是实验室检测项目终末质量的综合比较,这种比较可以帮助实验室发现问题并采取相应改进措施。由以上表 1 结果可以看到,STA-QCE2006-3 和 2006-4 批号的测定出现问题较多。作者首先回顾了检测阶段(2006.12.19~2006.12.21)的室内质控情况,结果如表 2 所示,可以看到所有项目均在控。但是由于本科室仅检测了正常值质控而没有检测异常值质控,所以只能说明试剂质量及仪器状态在检测正常值时没有问题,可以部分排除系统误差的影响。采用日常检测结果来进行室内质控这种方法在临床生化定量方面已有应用,主要是以每天某检测项目的结果均值来做质控图,来观察结果是否失控^[3-4]。本研究统计了 2006 年 12 月的 672 份检测标本,方法是对每天同一项目的检测结果求出均值,再以此所得的 31 个均值做质控图,以 $\bar{x} \pm 3s$ 为失控限,出现失控则认为该项目某天测定存在问题,结果发现所有项目每天均值都在控。据此可以粗略说明在测定阶段,仪器状况无大的波动。但是由于 2006 年是本科室 Stago 血凝仪使用的第 5 年,正好处于仪器故障的始发期,一些不足以影响仪器正常运转的小隐患可能会对个别样本的检测造成致命影响,从而出现随机误差。接下来检测准备阶段的问题,包括试剂状态、蒸馏水质量以及复溶操作的规范性方面。因为室内质控及同期的患者结果无明显异常,并且所复溶试剂均未超过说明书要求的使用时间,所以可以认为试剂状态良好。复溶时使用移液管,由于操作者的熟练程度不同,可能会造成随机误差的发生。在接下来的 STA-

QCE 2007-1 和 2007-2 及 2007-3 和 2007-4 批号以及后续 2 年的质控物检测中,本研究使用了临床注射用水复溶试剂及质控品,又用经过检测的加样器替代移液管进行操作,并且对操作者进行了专门的培训,同时每天的室内质控加做异常值质控,而对仪器则加强了检修保养的频率。经过室间比对,质控结果达到满意,这对本科室日常工作有指导意义。试剂准备、使用和保存必须严格按照说明书进行,同时确保每一步操作的准确性^[5]。患者标本的采集以及所用容器的准备要严格按操作常规进行。标本采集时,患者要处于相对平稳状态,采集人员手法要熟练,尽可能做到“一针见血”。抗凝剂应按照与患者血浆 1:9 的比例,选用 109 mmol/L 的枸橼酸钠,遇到贫血或者血液浓缩患者,用量要做相应调整^[6]。这些都可以看为分析前的质量控制行为。检测过程中要密切观察仪器状态,发现故障及时排除,日常保养要按时、到位。室内质控的稳定是一切工作的基础,如果发现失控情况,要停发报告,立即进行全面分析并采取相应的整改措施,待质控结果符合要求后方可测定标本。每次失控都要形成详细的失控报告,以便日后查询^[7]。报告患者结果要认真核对,防止错报。只有做到了以上这些方面,才能真正保障工作质量,为临床提供有价值的实验数据。

参考文献

[1] 寇丽筠. 临床基础检验学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1997:49-50.

[2] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:45.

[3] Hayashi S, Ichihara K, Karakura Y, et al. A new quality control method based on a moving average of “latent reference values” selected from patients’ daily test results [J]. Rinsho Byori, 2004, 52(3):204-211.

[4] Kazmierczak SC. Laboratory quality control: using patient data to assess analytical performance[J]. Clin Chem Lab Med, 2003, 41(5):617-627.

[5] 刘成玉. 临床检验基础实验指导[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:59-69.

[6] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:266.

[7] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:212-213.

(收稿日期:2011-12-22)

(上接第 1454 页)

[6] 彭晓冬,李立新,白杨娟,等. 抗-CCP 抗体、AKA 及 RF 对类风湿性关节炎的诊断价值[J]. 四川大学学报,2006,37(2):317-318.

[7] Schellekens A, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid antibodies recognizing acyclic citrullinated peptide[J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(1):155-163.

[8] 贾红英,刘红,康晓琳. 抗 CCP 抗体、AKA 及 RF 对类风湿性关节炎的诊断价值[J]. 医学检验与临床,2007,18(5):59-60.

[9] 曾小峰,艾脉兴,甘晓丹,等. 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(4):281-284.

[10] 刘发河,曾海莲,郑小江. 抗-CCP、RF、CRP、ASO 对类风湿性关节炎的诊断意义[J]. 临床和实验医学杂志,2011,8(10):583-584.

[11] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊治指南(草案)[J]. 中华风湿病学杂志,2003,7(4):250-254.

(收稿日期:2011-12-18)