

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.06.028

血清抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 联合检测对类风湿关节炎的诊断价值

张利军

(四川省攀枝花市妇幼保健院检验科 617000)

摘要:目的 探讨血清抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)、葡萄糖-6-磷酸酶(GPI)、人类白细胞抗原-DR4(HLA-DR4)联合检测对类风湿关节炎(RA)的诊断价值。方法 选取 2015 年 6 月至 2017 年 5 月该院收治的 82 例 RA 患者作为 RA 组,选取同期该院收治的 82 例非 RA 患者为非 RA 组,以及 80 例健康体检者作为对照组。比较 3 组研究对象血清抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 阳性率、3 项指标单独及联合检测对 RA 的诊断价值。结果 RA 组患者血清抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 阳性率显著高于非 RA 组和对照组($P < 0.05$)。抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 单独检测时,以 GPI 的灵敏度最高(78.6%),抗 CCP 抗体的特异度最高(97.5%),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在联合检测中,以抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 三者联合检测的灵敏度和特异度最高(90.5%,97.5%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 血清抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 联合检测可以提高对 RA 诊断的灵敏度和特异度,有效减少漏诊、误诊的发生。

关键词:抗环瓜氨酸肽抗体; 葡萄糖-6-磷酸酶; 人类白细胞抗原-DR4; 类风湿关节炎

中图分类号:R446.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)06-0814-03

Diagnostic value of combined detection of serum anti CCP antibody,GPI and HLA-DR4 in rheumatoid arthritis

ZHANG Lijun

(Department of Clinical Laboratory, Panzhihua Maternal and Child Health Care Hospital, Panzhihua, Sichuan 617000, China)

Abstract: Objective To investigate diagnostic value of combined detection of serum anti-cyclic citrullinated peptide antibody (anti CCP antibody), glucose-6-phosphatase (GPI) and human leucocyte antigen-DR4 (HLA-DR4) in rheumatoid arthritis. **Methods** From June 2015 to May 2017, 82 patients with rheumatoid arthritis (RA) were selected as the RA group, 82 non RA patients and 80 healthy subjects were selected as non RA group and control group in the same period. The serum anti CCP antibody, GPI, HLA-DR4 positive rate and diagnostic criteria of three indicators of RA were compared between the three groups. **Results** The positive rates of serum anti CCP antibody, GPI and HLA-DR4 in RA group were significantly higher than that in non RA group and control group ($P < 0.05$). Among the three indexes of anti CCP antibody, GPI and HLA-DR4, the sensitivity of GPI was the highest (78.6%), and the specificity of anti CCP antibody was the highest (97.5%). Differences were statistically significance ($P < 0.05$). In joint detection, the sensitivity (90.5%) and specificity (97.5%) of combined detection of anti CCP antibody, GPI and HLA-DR4 were the highest, differences were statistically significance ($P < 0.05$). **Conclusion** The combined detection of serum anti CCP antibody, GPI and HLA-DR4 could improve the sensitivity and specificity of RA diagnosis, and effectively reduce the misdiagnosis and missed diagnosis.

Key words: anti-cyclic citrullinated peptide antibodies; glucose-6-phosphatase; human leukocyte antigen-DR4; rheumatoid arthritis

类风湿关节炎(RA)是以关节滑膜慢性炎症为主的自身免疫性疾病。其主要临床症状是滑膜炎和关节软骨的破坏,进而引起关节肿痛、关节间隙变窄,甚至畸形,最终导致不同程度的残疾^[1]。该病起病隐匿,一旦发作需长期服药来控制病情,因此该病需早期诊断和治疗,尽可能保护关节功能,降低致残率^[2]。为了探讨血清抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)、葡萄糖-6-磷酸酶(GPI)、人类白细胞抗原-DR4(HLA-

DR4)联合检测对类风湿关节炎(RA)的诊断价值,本文选取 2015 年 6 月至 2017 年 5 月本院收治 RA 患者、非 RA 患者及健康体检者进行对比研究,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 6 月至 2017 年 5 月本院收治的 82 例 RA 患者(RA 组)作为研究对象,所有患者均符合美国风湿病学会(ACR)和欧洲抗风湿病

联盟(EULAR)2010 年共同制定的 RA 标准^[3]。患者中男 28 例,女 54 例;年龄 20~75 岁,平均(45.1±4.9)岁。选取同期本院收治的 82 例非 RA 患者(非 RA 组),其中男 29 例,女 53 例;年龄 21~74 岁,平均(45.6±5.7)岁;骨关节炎 34 例,干燥综合征 21 例,强直性脊柱炎 25 例,系统性红斑狼疮(SLE)14 例。所有患者均符合相应的自身免疫性疾病诊断标准。选取同期 80 例健康体检者作为对照组,其中男 29 例,女 51 例;年龄 19~76 岁,平均(44.7±5.1)岁,均无关节肿痛及其他器质性疾病。3 组研究对象的一般资料差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 (1)抗 CCP 抗体检测。采用化学发光微粒子免疫法检测,试剂盒由美国雅培公司提供,检测设备为美国雅培 i4000SR 免疫分析仪。(2)GPI 检测。采用酶联免疫吸附法检测,试剂盒由上海北加生化试剂有限公司提供。(3)HLA-DR4 检测。HLA-DR4 基因采用序列特异引物引导的 PCR 反应(PCR-SSP)法检测。Morgan HLA-DR4 SSP 分型试剂盒包括内对照引物(人类囊性纤维化跨膜传导调节基因)、DR4 特异性引物、扩增产物为 600 bp。Taq 酶来自 Fermentas 公司,EZ High DNA 提取试剂盒来自美国 Texas Bio Gene 公司。检测设备:美国 BIO-RAD 伯乐 680 型全自动酶标仪、美国 ABI PCR 9700 扩增仪,美国 BIO-RAD 伯乐 GelDoc XR System 凝胶成像系统及电泳仪和电泳槽。DR4 特异性引物序列:上游,5'-ACG TTT CTT GGA GCA GGT TAA ACA-3';下游,5'-CTG CAC TGT GAA GCT CTC AC-3'和 5'-CTG CAC TGT GAA GCT CTC CA-3'。PCR 程序:将样本 DNA、底物、Taq 酶充分混合,加入干板中,干板有引物包被。扩增条件:96 °C 孵育 2.5 min,96 °C 15 s,65 °C 60 s,共 10 个循环;然后 96 °C 15 s,62 °C 50 s,72 °C 35 s,共 22 个循环。将扩增产物保存于 4 °C 中。用 2% 琼脂糖凝胶,以及 200 V 恒压在电泳仪中进行电泳 8 min,在凝胶成像系统中查看结果,拍照留做记录。阳性判断结果:抗 CCP 抗体>25 IU/mL;GPI>0.2 mg/L;HLA-DR4 基因条带显示则为阳性。抗 CCP 抗体和 GPI 均严格按照试

剂盒说明书进行操作,且重复 3 次检测,取其平均值,3 次结果误差在质控范围内;HLA-DR4 严格按照 PCR 流程操作,重复 3 次,均为阳性。所有操作均由专人负责。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 单独及联合检测对于 RA 的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组研究对象血清抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 阳性率的比较 RA 组患者血清抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 阳性率显著高于非 RA 组和对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 3 组血清抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 阳性情况的比较[n(%)]

组别	n	抗 CCP 抗体	GPI	HLA-DR4
RA 组	82	57(69.5)* Δ	69(84.1)* Δ	39(47.6)* Δ
非 RA 组	82	19(23.2)	17(20.7)	17(20.7)
对照组	80	4(5.0)	0(0.0)	9(11.3)

注:与非 RA 组比较,* $P<0.05$;与对照组比较, $\Delta P<0.05$

2.2 血清抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 单项及联合检测对 RA 的诊断价值 3 个指标单独检测时,以 GPI 的灵敏度最高(78.6%),抗 CCP 抗体的特异度最高(97.5%),差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。抗 CCP 抗体、GPI、HLA-DR4 联合检测的灵敏度和特异度最高(90.5%和 97.5%),差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 3 指标单独检测对 RA 诊断价值(%)

指标	灵敏度	特异度	准确度	阳性预测值	阴性预测值
抗 CCP 抗体	76.2 [#]	97.5 [#]	86.6 [#]	96.9 [#]	79.6 [#]
GPI	78.6 [#]	87.5 [#]	82.9 [#]	86.8 [#]	79.5 [#]
HLA-DR4	45.2	82.5	63.4	73.1	58.9

注:与 HLA-DR4 比较,[#] $P<0.05$

表 3 3 个指标联合检测对 RA 的诊断价值(%)

指标	灵敏度	特异度	准确度	阳性预测值	阴性预测值
抗 CCP 抗体+GPI	85.7 \blacktriangle	92.5 \blacktriangle	89.0 \blacktriangle	92.3 \blacktriangle	86.0 \blacktriangle
抗 CCP 抗体+HLA-DR4	64.3 \blacktriangle	85.0 \blacktriangle	74.4 \blacktriangle	81.8 \blacktriangle	69.4 \blacktriangle
GPI+HLA-DR4	66.7 \blacktriangle	80.0 \blacktriangle	73.2 \blacktriangle	77.8 \blacktriangle	69.6 \blacktriangle
抗 CCP 抗体+GPI+HLA-DR4	90.5	97.5	93.9	97.4	90.7

注:与抗 CCP 抗体+GPI+HLA-DR4 比较, $\blacktriangle P<0.05$

3 讨 论

RA 是一种全身性免疫性疾病,由抗原驱动以及 T 细胞介导,表现为关节慢性滑膜炎。患者关节部位

会出现疼痛、肿胀、僵直等,最终发生不可逆性损害,导致残疾,对生活有极大影响^[4]。因此,早期有效的明确诊断可以有效减少漏诊和误诊,同时早期及时采

取药物治疗,对于控制病情的发展非常重要。

CCP是一种环状聚丝蛋白多肽片段,主要为IgG型抗体。目前临床已经公认RA患者的抗CCP抗体与关节损害有密不可分的关系^[5]。早期RA患者检测出抗CCP抗体呈阳性,更容易发展为严重的关节骨质损害。早在2009年ACR和EULAR已经将类风湿因子(RF)和抗CCP抗体作为RA的分级标准。本文研究结果中,RA组患者血清抗CCP抗体阳性率显著高于非RA组和对照组($P < 0.05$),抗CCP抗体对RA诊断的灵敏度和特异度分别为76.2%和97.5%。因此,抗CCP抗体对RA的诊断具有较好的灵敏度和特异度,可用于评估患者的严重程度及预后。

GPI主要存在于细胞质和细胞外液,由T淋巴细胞分泌,是一种多功能蛋白,参与糖酵解和糖异生^[6]。GPI具有多种免疫学活性,包括细胞因子活性、生长因子活性,可诱导骨髓干细胞分化为单核细胞,B淋巴细胞分化为浆细胞。有研究表明,在T淋巴细胞受体转基因小鼠模型中,GPI可诱导B淋巴细胞产生抗GPI自身抗体,还可通过诱导其他免疫细胞产生一系列细胞因子,诱发关节炎^[7]。另外在RA患者中发现高水平GPI及其免疫复合物,可沉积于滑膜动脉和毛细血管内皮细胞壁,通过一系列途径激活补体,促使炎性细胞转移到关节部位,使得关节炎加重^[8]。本结果显示,RA组患者血清GPI阳性率显著高于非RA组和对照组($P < 0.05$),GPI诊断RA的灵敏度和特异度分别为78.6%和87.5%。因此,认为GPI与RA病情活动程度有一定相关性。

目前已有研究证实,HLA存在高度多态性,其等位基因有多种亚型,且与自身免疫性疾病的易感性有关^[9]。HLA-DR4属于Ⅱ类主要组织相容性复合物,表达于抗原递呈细胞,具有呈递自身抗原的功能。有研究表明,HLA-DR4参与RA发生发展的作用机制可能是通过编码其第三可变区70-74氨基酸部位的共同序列,提供抗原给CD4⁺淋巴细胞,从而使RA启动^[10]。还有报道显示,HLA-DR4等呈阳性的RA患者其关节炎和关节损害程度明显更严重,因此其对于RA病情严重程度及预后具有重要临床意义^[11]。但HLA-DR4还存在地域性差异,主要是汉族人群的易感基因。本文研究结果显示,RA组患者血清HLA-DR4阳性率显著高于非RA组和对照组($P < 0.05$),HLA-DR4对RA诊断的灵敏度为45.2%,特异度为82.5%,与相关报道一致^[12]。

同时,本研究显示,抗CCP抗体、GPI、HLA-DR4单独检测时,其中以GPI诊断RA的灵敏度最高(78.6%),抗CCP抗体的特异度最高(97.5%),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在联合检测中,抗CCP抗体、GPI、HLA-DR4三者联合检测的灵敏度和特异

度最高(90.5%,97.5%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示抗CCP抗体、GPI、HLA-DR4三者联合可以有效提高对RA的诊断准确率,具有一定的临床应用价值,但3项指标对于RA病情的具体作用机制还有待进一步的深入研究,以及三者之间的关联性还有待进一步分析。

综上所述,血清抗CCP抗体、GPI、HLA-DR4联合检测可以提高对RA诊断的灵敏度和特异度,有效减少漏诊、误诊的发生。

参考文献

- [1] 张静思,陈鑫苹,陈斌. RF、抗-CCP、AKA及GPI联合检测在类风湿关节炎诊断中的价值[J]. 重庆医学,2015,44(13):1788-1789.
- [2] 张新刚,蒋莉,张晓莉,等. 4种血清标记物在类风湿关节炎诊断中的应用[J]. 南方医科大学学报,2013,33(4):538-541.
- [3] 张嵩,陈琳洁,范晓云,等. 3种血清学抗体检测在类风湿关节炎的诊断意义[J]. 中华全科医学,2014,12(9):1394-1396.
- [4] 李笑峰,鲁旭娟. HLA-DR4与抗CCP抗体、抗Sa抗体联合检测对类风湿性关节炎的诊断价值[J]. 检验医学,2016,31(10):894-897.
- [5] 吴庆军,潘童,邓垂文,等. 血清葡萄糖6-磷酸异构酶抗原、类风湿因子和第2代抗环瓜氨酸肽抗体对类风湿关节炎诊断价值的比较[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志,2013,7(2):115-119.
- [6] 封昱辰,房晴晴,蔺军平,等. 葡萄糖-6-磷酸异构酶、抗环瓜氨酸肽抗体、类风湿因子联合检测对类风湿性关节炎的诊断价值[J]. 检验医学,2016,31(7):567-570.
- [7] 杨梅花,王向红,冯忠军,等. RA患者血清中RF、CCP抗体、GPI抗原以及AKA检测的临床意义[J]. 热带医学杂志,2016,16(3):346-348.
- [8] 张琼,罗以勤,汪元,等. 4种血清标志物在类风湿性关节炎的诊断、疾病活动度的判断及骨侵蚀的预测的应用价值[J]. 安徽医科大学学报,2015,50(12):1791-1794.
- [9] 谭立明,张玉红,彭卫华,等. HLA-DR4和HLA-DR53与自身抗体检测对诊断类风湿关节炎的价值[J]. 广东医学,2014,35(9):1351-1354.
- [10] 许军华,刘树业. 血清抗CCP抗体、抗MCV抗体与RF联合检测诊断类风湿性关节炎的临床价值[J]. 山东医药,2013,53(22):38-40.
- [11] 王爱雪,刘艳慧,孟新艳,等. 抗Sa抗体、抗环瓜氨酸肽抗体、葡萄糖6-磷酸异构酶抗原和类风湿因子联合检测对类风湿性关节炎的诊断意义[J]. 临床内科杂志,2013,30(8):530-532.
- [12] 王波兰. 联合检测血清抗环瓜氨酸多肽抗体与类风湿因子对类风湿性关节炎的诊断价值[J]. 蚌埠医学院学报,2013,38(12):1659-1660.