

AKA、APF、抗-CCP 抗体与 RF 各亚型联合检测在类风湿关节炎早期诊断中的应用

白志瑶 吕金娥 尹春琼 包艳 冷丽

作者单位: 655000 云南曲靖, 云南省曲靖市第二人民医院检验科

通讯作者: 白志瑶, Email: bzy3339399@sohu.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2017.01.015

【摘要】 目的 探讨抗角蛋白抗体 (AKA)、抗核周因子抗体 (APF)、抗环瓜氨酸肽抗体 (抗-CCP 抗体) 和类风湿因子 (RF) 各种亚型联合检测在类风湿关节炎 (RA) 早期诊断中的应用及意义。方法 选择曲靖市第二人民医院就诊的 127 例 RA 患者, 进行血清 AKA、APF 抗体、抗-CCP 抗体与 RF 各亚型水平检测, AKA、APF 抗体检测采用间接免疫荧光法定性, 抗-CCP 抗体与 RF 各亚型水平检测采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 定量; 以同期 96 例疑似 RA 的患者为对照。结果 127 例 RA 确诊组中 RF (包括 IgM、IgG、IgA) 阳性 116 例, 阳性率为 91.34%; 96 例 RA 疑似组中 RF (包括 IgM、IgG、IgA) 阳性 47 例, 阳性率为 48.96%; 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。RF 各亚型出现的阳性率依次为 IgA+IgM > IgM > IgM+IgG > IgA+IgM+IgG, 与疑似组比较差异无统计学意义 ($P > 0.01$); 敏感性依次为 RF-IgM > CCP > RF-IgA > AKA > APF > RF-IgG, 而特异性依次为 RF-IgG > APF > AKA > RF-IgA > CCP > RF-IgM。结论 APF、AKA、抗-CCP 抗体 3 种自身抗体对 RA 具有高度特异性, 且在 RA 早期即可出现; RF-IgM 敏感性较高, 但特异性较差, 多种抗体联合检测有助于 RA 的早期诊断。

【关键词】 抗环瓜氨酸肽抗体; 抗角蛋白抗体; 抗核周因子抗体; 类风湿因子及亚型; 类风湿关节炎

Clinical application of AKA, APF, anti-CCP antibody and RF subtypes combined detection in the early diagnosis of rheumatoid arthritis Bai Zhiyao, Lu Jine, Yin Chunqiong, Bao Yan, Leng Li. Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Qujing City, Qujing 655000, Yunnan, China

【Abstract】 Objective To explore the significance of combined detection of anti-keratin antibody (AKA), anti-perinuclear factor antibody (APF), anti-Cyclic citrullinated peptide (CCP) antibody and rheumatoid factor (RF) subtypes in early diagnosis of rheumatoid arthritis (RA). **Methods** Detection of The serum levels of AKA, APF, CCP and RF subtypes were detected. AKA, APF antibody was detected by the indirect immunofluorescence assay and anti-CCP antibody and RF subtypes levels were detected quantitatively by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 127 patients with RA and 96 patients with suspected-RA. Detection of the serum levels of AKA, APF, CCP and RF subtypes were detected. AKA, APF antibody was detected by the indirect immunofluorescence assay and anti-CCP antibody and RF subtypes levels were detected quantitatively by the enzyme-linked immunosorbent assay in 127 patients with RA and 96 patients with suspected-RA. **Results** There were 116 cases of RF (including IgM, IgG, IgA) positive and the positive rate was 91.34% in RA diagnosed group, there were 47 cases of RF (including IgM, IgG, IgA) positive and the positive rate was 48.96% in suspected RA group, there was significant difference between the two groups ($P < 0.01$). The positive rates was in turn IgA+IgM > IgM > IgM+IgG > IgA+IgM+IgG in RF subtypes, and there was no significant difference ($P > 0.01$) compared with the suspected group. The order of sensitivity was RF-IgM > CCP > RF-IgA > AKA > APF > RF-IgG, While the order of specificity was RF-IgG > APF > AKA > RF-IgA > CCP > RF-IgM. **Conclusions** APF antibody, AKA, and anti-CCP antibodies had high specificity and can be detected in early RA. The sensitivity of RF was high, but the specificity was poor, combined detection of multiple antibodies was conducive to early diagnosis of RA.

【Key words】 Anti-Cyclic citrullinated peptide; Anti-keratin antibody antibody; Anti-perinuclear factor antibody; Rheumatoid factor and subtypes; Rheumatoid arthritis

类风湿性关节炎(RA)是一种以慢性破坏性多关节炎为主要表现的全身自身免疫疾病,据报道,我国的患病率为 0.2%~0.93%^[1],其基本病理变化是自身免疫异常引起的致炎细胞因子和炎症介质等的释放,以及由此所致的血管炎和滑膜炎。随着患者关节慢性炎症的进展,继而出现关节间隙变窄及软骨破坏,晚期因严重骨质破坏、吸收导致关节畸形、晨僵、功能障碍,是造成患病人群致残和丧失劳动能力的重要因素之一。RA 的早期诊断对采取适当的治疗措施控制病情发展、避免不可逆的关节损坏十分重要。

近年来,自身抗体的检测为 RA 的早期诊断提供了重要依据。国内外研究证实,抗角蛋白抗体(AKA)、抗核周因子抗体(APF)、抗环瓜氨酸肽抗体(抗-CCP 抗体)不仅可以出现于 RA 疾病的早期,甚至可以出现于临床症状发生之前若干年。本研究通过联合检测 AKA、抗-CCP 抗体、类风湿因子-免疫球蛋白 M(RF-IgM)、RF-IgG、RF-IgA、APF 6 种抗体,探讨其对 RA 早期诊断的临床价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 临床确诊 RA 患者 127 例均来自 2015 年 1 月至 2016 年 7 月我院门诊及住院的患者,均符合 2010 年美国风湿病学会/欧洲抗风湿病联盟(ACR/EU-LAR)修订的 RA 诊断标准。男性 36 例,女性 91 例;年龄 15~86 岁,平均(52.06±13.66)岁。病史 1~31 年,其中重叠综合征 5 例,出现小细胞低色素性贫血 2 例,死亡 1 例,关节畸形、类风湿结节、关节活动障碍等 33 例。

1.1.2 疑似 RA 患者 96 例均来自 2015 年 1 月至 2016 年 7 月我院门诊及住院的患者,根据 1987 年美国风湿病协会(ACR)修订的 RA 诊断标准,只符合其中的 1~3 项为 RA 疑似患者;其中男性 29 例,女性 67 例;年龄 20~78 岁,平均(53.46±13.63)岁。重叠综合征 1 例,关节畸形、关节活动障碍等 10 例。

1.2 主要仪器与试剂

1.2.1 主要仪器 德国欧蒙试验实验诊断股份有限公司生产的 EUROStar III Plus 荧光显微镜及 MK3 酶标仪,江苏天力医疗器械有限公司生产的 TL 型

电热恒温水浴箱。

1.2.2 主要试剂 抗 RF 抗体酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒及抗-CCP 抗体 ELISA 检测试剂盒均购自德国欧蒙实验诊断股份有限公司;AKA 检测试剂盒及 APF 检测试剂盒均购自北京和杰创新生物医学科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 测试对象清晨空腹取 2~3 mL 肘静脉血。抽血时轻扎压脉带,缓慢抽取。标本采集后立即送检,以 3 500 r/min 的速度离心 10 min(离心半径 r=8.6 cm),取上清液待用。

1.3.2 检测指标及方法 RF-IgM、RF-IgG、RF-IgA、抗-CCP 抗体采用 ELISA 检测;AKA、APF 抗体采用间接免疫荧光法检测。所有项目的检测均严格按照说明书和仪器的操作规程进行操作。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件处理数据,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 127 例 RA 确诊组中 RF(包括 IgM、IgG、IgA)阳性 116 例,阳性率为 91.34%;96 例 RA 疑似组中 RF(包括 IgM、IgG、IgA)阳性 47 例,阳性率为 48.96%;两组比较差异,有统计学意义($P < 0.01$)。RF 各亚型中,RA 确诊组 IgA+IgM 阳性 69 例,占 54.33%;IgM 阳性 24 例,占 18.90%;IgA+IgM+IgG 阳性 14 例,占 11.02%;IgM+IgG 阳性 2 例,占 1.57%;AKA 阳性 75 例,阳性率为 59.06%;APF 阳性 44 例,阳性率为 34.65%;抗-CCP 抗体阳性 98 例,阳性率 77.17%。96 例 RA 疑似组中 IgA+IgM 阳性 25 例,占 26.04%;IgM 阳性 14 例,占 14.58%;IgA+IgM+IgG 阳性 3 例,占 3.03%;IgM+IgG 阳性 5 例,占 5.21%;AKA 阳性 22 例,阳性率为 22.92%;APF 阳性 12 例,阳性率为 12.5%;抗-CCP 抗体阳性 29 例,阳性率为 30.2%;两组比较差异,有统计学意义($P < 0.01$);RF 各亚型阳性率为 IgA+IgM > IgM > IgM+IgG > IgA+IgM+IgG,与 RA 疑似组比较差异无统计学意义($P > 0.01$)。见表 1。

2.2 根据评价诊断试验,计算 RF-IgM、RF-IgG、RF-IgA、APF、AKA、抗-CCP 抗体对 RA 诊断的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值。见表 2。

表 1 RA 确诊及疑似两组患者各抗体的检出率的比较

组别	例数 (例)	阳性率 [% (例)]			
		AKA	APF	CCP	RF-IgA+IgM
RA 确诊组	127	59.06 (75)	34.65 (44)	77.17 (98)	54.33 (69)
RA 疑似组	96	22.92 (22)	12.50 (12)	30.21 (29)	26.04 (25)

组别	例数 (例)	阳性率 [% (例)]		
		RF-IgM	RF-IgA+IgM+IgG	RF-IgM+IgG
RA 确诊组	127	18.90 (24)	11.02 (14)	1.57 (2)
RA 疑似组	96	14.58 (14)	3.13 (3)	5.21 (5)

表 2 在 RA 研究组中 6 种抗体单项检测和联合检测的敏感性和特异性

指标	RA 确诊组		RA 疑似组		特异性 (%)	阳性预测 值 (%)	阴性预测 值 (%)
	灵敏度 + (a)	- (c)	灵敏度 + (b)	- (d)			
AKA	75	52	22	74	77.08	77.32	58.73
APF	44	83	12	84	87.50	78.57	50.30
CCP	98	29	31	65	67.71	76.97	69.15
IgM	112	15	51	45	46.90	68.71	75.00
IgG	17	110	8	88	91.67	68.00	44.44
IgA	85	42	27	69	71.88	75.89	62.16
合计	127		96				

注: 灵敏度 = a/(a+c), 特异性 = d/(b+d), 阳性预测值 = a/(a+b), 阴性预测值 = d/(c+d); a: RA 组阳性例数; b: 非 RA 组阳性例数; c: RA 组阴性例数; d: 非 RA 组阴性例数

3 讨论

RA 是一种病因未明的疾病, 在发病 2 年内即可出现不可逆骨关节破坏。近年来认为, 早期诊断、早期给予缓解病情的药物能及时控制病情, 减少骨关节破坏并改善预后^[2]。目前, RA 的诊断主要依据对称性、小关节为主的关节肿痛和晨僵等临床特点、血清学表现及双手 X 射线改变。也有学者通过研究抗核抗体 (ANA) 及抗核抗体谱 (ANAs) 在 RA 中表达的多样性及复杂程度, 为该病的诊疗提供更多的临床参考价值^[3]。在临床最为常用的诊断标准是 1987 年 ACR 的分类诊断标准, 其诊断的敏感性为 94%, 特异性为 89%^[4]; 而且将 RF 阳性作为唯一的血清学指标, 从而诊断不典型 RA 及特殊类型 RA 在的敏感性和特异性方面存在明显不足。

RF 是临床医生最为熟知的的用于诊断 RA 的自身抗体, 在临床上已应用数十年, 是针对 IgG 的 FC 段自身抗体, 可分为 3 种亚型, 即 RF-IgA、RF-IgM、RF-IgG。各类 RF 的临床意义有所不同, RF-IgM 或 RF-IgA 单独轻度升高提示可能存在感染; RF-IgG 单独升高提示 RA 可能性大; RF-IgM 和 RF-IgA

同时升高则 RA 可能性增大; 如果 RF-IgA、RF-IgM、RF-IgG 同时升高, 则可诊断 RA。另外, 隐性类风湿因子 (HRF) 常规检测 RF-IgM 的方法不能测出, Moore 等^[5]研究发现, RF 阴性的 RA 患者 HR 高达 65% ~ 75%, 且抗体存在和疾病活动有关。

本研究结果显示: RA 确诊组 127 例 RF-IgM 的灵敏度为 88.20%, 明显高于 RF-IgG (13.40%)、RF-IgA (66.93%); 特异性为 46.90%, 明显低于 RF-IgG (91.67%)、RF-IgA (71.88%); RF 各亚型的敏感性依次为 RF-IgM > RF-IgA > RF-IgG, 而特异性依次为 RF-IgG > RF-IgA > RF-IgM。故仅 RF-IgM 单项检测诊断 RA 易误诊和漏诊。因此, 实行 RF-IgM、RF-IgG、RF-IgA 3 种指标联合检测有助于提高临床诊断效能。在条件允许的情况下, HRF 的检测对血清学阴性 RA 有不错的特异性和敏感性, 可显著提高 RF 的检出率。

APF 检测方法为间接免疫荧光法, 因人类颊黏膜上皮细胞内的正常菌群与阳性物质类似, 在荧光显微镜下两者具有一定的荧光强度和大小, 其阳性判断存在干扰及个人主观因素, 不同的实验室人员之间差异较大。本研究表明, APF 抗体特异性较好, 为 87.50%, 但敏感性较低, 仅为 34.65%。其敏感性不及 RF-IgM、AKA 和抗-CCP 抗体, 是本研究中敏感性最低的指标, 作为单独的诊断指标有欠缺。

AKA 对 RA 的诊断具有较高的敏感性和特异性^[6]。本研究中 AKA 对 RA 的诊断特异性达到 77.08%, 但其敏感性相对较低, 为 59.06%, 其滴度与 RF 无明显相关性, 不能作为一种单独确诊指标, 需要与其他的自身抗体联合检测。有研究认为, AKA 可在 RA 早期检出, 且高滴度的 AKA 与疾病活动性和严重程度及功能障碍有关^[7]。总之, AKA 检测灵敏度不高, 但 AKA 是 RA 进行性发展的标志。

抗-CCP 抗体有助于早期和不典型 RA 患者的诊断, 甚至可在临床症状出现之前检测到, 且其滴度与 RA 病情程度相关, 在疾病的预后评估等方面都有非常重要的临床意义^[8]。本研究的抗-CCP 抗体灵敏度和特异性分别为 77.17%、67.71%, 是较理想的指标, 与传统 RF-IgM 灵敏度和特异性 (分别为 88.20%、46.90%) 比较, 抗-CCP 抗体的特异性更高, 提示抗-CCP 抗体可作为鉴别 RA 与其他自身免疫性疾病的理想指标。血清抗-CCP 抗体水平还能直接反映 RA 患者关节的炎症及损伤的程度。本研究发现, 127 例确诊 RA 患者中 98 例抗-CCP 抗体水

平升高,出现相应的关节畸形、类风湿结节、关节活动受限等症状者 33 例。在关节畸形的 33 例患者中,31 例抗-CCP 抗体水平呈现较大幅度升高,为 (162.1 ± 98.1) RU/mL,占 93.9%,仅有 2 例抗-CCP 抗体水平在正常范围,占 6.1%,提示抗-CCP 抗体水平较高者可出现了较严重的骨关节破坏。29 例抗-CCP 抗体阴性者,无一例出现骨关节破坏。96 例疑似 RA 患者中有关节畸形、关节活动受限等症状 2 例,其抗-CCP 抗体水平也较高。因抗-CCP 抗体检测具有良好的重复性、稳定性和高特异性,临床上可以作为 RA 诊断的首选。抗-CCP 抗体阳性的 RA 患者骨关节破坏程度较阴性者更为严重,且 RA 患者骨质的破坏程度与抗-CCP 抗体的含量有关^[9]。因此,应密切关注抗-CCP 抗体水平较高者,抗-CCP 抗体是早期诊断 RA 及判断病情严重程度的新指标。

本研究发现,127 例 RA 确诊者中接近 8.66% (11 例)的患者 RF(包括 IgM、IgG、IgA)、AKA、APF、抗-CCP 抗体全部为阴性,提示为血清学阴性 RA。血清学阴性 RA 是 RA 的一种亚型患者,约占 RA 患者的 20%。张国栋等^[10]研究发现,血清学阴性 RA 比阳性 RA 更不易发生骨质侵蚀进展,对比多种治疗方案后研究者认为,对血清学阴性 RA 患者进行早期、系统、规范治疗,相对比血清学阳性 RA 患者效果好。因此,在临床中 RF 不能单独作为 RA 的诊断标准;而 HRF 对血清学阴性 RA 有较好的诊断价值。抗-CCP 抗体和 AKA、APF 抗体对 RA 具有高特异性、高阳性预测值的特点,可针对性地检出 RA

患者。但由于其特异性很高,敏感性低,所以单纯依靠一种抗体检测也不能大范围筛查出 RA 患者。因此,抗-CCP 抗体和 AKA、APF 抗体与 RF 各亚型的联合检测对诊断 RA 患者尤为重要。

参考文献

- 1 Zeng QY, Chen R, Darmawan J, et al. Rheumatic diseases in China [J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(1): R17.
- 2 Pincus T. Aggressive treatment of early rheumatoid arthritis to prevent joint damage [J]. *Bull Rheum Dis*, 1998, 47(8): 2-7.
- 3 王家骊,孙良丽,焦鑫,等.抗核抗体及抗体谱在常见关节疾病中的临床表达特征分析[J]. *实用检验医师杂志*, 2015, 7(2): 73-78.
- 4 Berglin E, Dahlqvist SR. Comparison of the 1987 ACR and 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis in clinical practice: a prospective cohort study [J]. *Scand J Rheumatol*, 2013, 42(5): 362-368.
- 5 Moore TL, Zuckner J, Baldassare AR, et al. Complement-fixing hidden rheumatoid factor in juvenile rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 1978, 21(8): 935-941.
- 6 冷晓梅,张奉春.类风湿关节炎的早期诊断[J]. *中国医刊*, 2004, 39(9): 15-17.
- 7 王波,牛莉莉,常波.联合检测 RF、AKA、抗 CCP 抗体和 CRP 对 RA 的诊断价值[J]. *中国实验诊断学*, 2016, 20(3): 425-428.
- 8 Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis [J]. *Ann Intern Med*, 2007, 146(11): 797-808.
- 9 Vencovský J, Macháček S, Sedová L, et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2003, 62(5): 427-430.
- 10 张国栋.血清学阴性类风湿关节炎诊治进展[J]. *西部医学*, 2015, 27(11): 1754-1758.

(收稿日期:2017-01-18)

(本文编辑:李银平)

消 息

2017 中国医师协会检验医师年会暨第十二届全国检验与临床学术会议

由中国医师协会和中国医师协会检验医师分会主办的“2017 中国医师协会检验医师年会暨第十二届全国检验与临床学术会议”定于 2017 年 6 月 15 日至 6 月 17 日在陕西西安召开。本次会议以《人才规范化培训专业胜任力培养》为主题,设立“名家讲坛、跨界思考、智慧分享、焦点讨论”几大模块,邀请国内外知名专家共同探索检验医学发展方向、检验行业人才培养、胜任力导向的专家队伍建设等。本次会议将进行优秀论文征集和评选(详见“2017 中国医师协会检验医师年会暨第十二届全国检验与临床学术会议征文通知”),同时开设“赏美书、汇智慧、缘事业”展览。会议授予国家级继续教育学分 I 类 6 分,同时举行临床检验设备展览会。现将有关事宜通知如下:

1 会议时间与地点

注册时间:2017 年 6 月 15 日 8:30~21:00(西安曲江国际会议中心 1 层)

会议时间:2017 年 6 月 16 至 17 日 8:30~17:00

会议地点:西安曲江国际会议中心

交通方式:西安曲江国际会议中心位于西安中轴线长安路电视塔东侧,南邻西安三环路及绕城高速,西安城市地铁 2 号线会展中心站点,距西安咸阳国际机场 40 公里,距西安火车站 10 公里,距西安城市中心钟楼 7 公里,直达公交线路 20 余条。

2 注册方式

网上注册:登陆大会网站