

## • 临床检验研究论著 •

# 血清 RF、抗 CCP 抗体及 MMP-3 联合检测在类风湿关节炎早期诊断中的应用

谭柏松, 黄小兵, 刘光明, 陈世豪

(南方医科大学附属新会医院检验科, 广东江门 529100)

**摘要:**目的 分析类风湿性关节炎(RA)患者血清类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体及基质金属蛋白酶(MMP)-3 的变化特点, 提高 RA 的临床诊断率。方法 将确诊为 RA 的 81 例患者作为 RA 组, 另选择 80 例非 RA 患者作为对照。采用全自动生化分析仪及酶联免疫吸附测定(ELISA)检测其血清 RF、抗 CCP 抗体及 MMP-3, 以诊断敏感性、特异性、漏诊率、误诊率分析 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 的诊断价值。结果 RA 组患者血清 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 水平均显著高于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 特异性分别是 71.3%、95.0%、85.0%; 敏感性分别是 74.1%、67.9%、56.8%; 串联方式联合检测对 RA 诊断的敏感性较低(35.8%), 但其特异性升高(100.0%); 并联方式联合检测对 RA 诊断的敏感性明显提高(90.1%), 而特异性有所减低(61.3%)。结论 血清 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 联合检测可提高 RA 诊断的准确性。

**关键词:** 关节炎, 类风湿; 类风湿因子; 基质金属蛋白酶 3; 抗环瓜氨酸肽抗体; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)09-1087-02

## Application of joint detection of serum RF, anti-CCP antibody and MMP-3 in early diagnosis of rheumatoid arthritis

Tan Bosong, Huang Xiaobing, Liu Guangming, Chen Shihao

(Department of Clinical Laboratory, Xinhui Hospital Affiliated to Southern Medical University, Jiangmen, Guangdong 529100, China)

**Abstract: Objective** To improve the accuracy rate of clinical diagnosis of rheumatoid arthritis(RA) by analyzing characteristics of changes of serum rheumatoid factor(RF), anti-cyclic citrullinated peptide(CCP) antibodies and matrix metalloproteinase(MMP)-3 of patients with RA. **Methods** Eighty-one patients with confirmed diagnosis of RA served as RA group, and another 80 patients with non-RA as control. Automatic biochemical analyzer and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) were adopted to detect serum RF, anti-CCP antibody and MMP-3. Diagnostic sensitivity, specificity, the rate of missed diagnosis and misdiagnosis were employed to evaluate the diagnostic values of RF, anti-CCP antibody and MMP-3. **Results** Serum levels of RF, anti-CCP antibody and MMP-3 of patients in RA group were significantly higher than those in control group with statistical significance( $P < 0.01$ ). Diagnostic specificity of RF, anti-CCP antibody and MMP-3 were 71.3%, 95.0%, 85.0%, respectively, and their diagnostic sensitivity were 74.1%, 67.9%, 56.8%, respectively. Joint detection in series way showed lower diagnostic sensitivity of RA(35.8%) and higher specificity(100.0%), while joint detection in parallel way demonstrated higher diagnostic sensitivity(90.1%) and lower specificity(61.3%). **Conclusion** Joint detection of serum RF, anti-CCP antibody and MMP-3 can improve the accuracy of diagnosis of RA.

**Key words:** arthritis, rheumatoid; rheumatoid factor; matrix metalloproteinase 3; anti-cyclic citrullinated peptides antibodies; diagnosis

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性、进行性、以对称性多关节受累为主要表现的全身性自身免疫性疾病, 其致残率高, 中国人的患病率为 0.32%~0.38%, 患病率随着年龄增长而逐渐增加<sup>[1]</sup>。部分 RA 患者在发病 2 年内即可出现不可逆骨关节破坏, 从而导致关节畸形, 丧失劳动力。早期干预是减少 RA 对机体破坏程度的关键。由于早期 RA 的临床表现不典型, 传统 X 线检查无特异性改变, 使 RA 的早期诊断困难, 因此, 寻找一种能准确诊断早期 RA 的方法很有必要。本文旨在观察类风湿因子(rheumatoid factor, RF)、抗环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide, CCP)抗体、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-3 联合检测对 RA 的诊断价值, 为 RA 的早期诊断提供帮助。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2010 年 1 月至 2011 年 12 月本院风湿科确诊 RA 的住院患者 81 例(RA 组), 其中, 男 20 例, 女 61 例; 年龄 34~87 岁, 平均 59.4 岁; 病程均在 1 年以内; 均符合 1987 年美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR)修订的 RA 诊断分类标准。同时选取 80 例非 RA 患者

作为对照, 其中, 血清阴性脊柱关节炎 19 例, 骨关节炎 13 例, 系统性红斑狼疮 11 例, 原发性干燥综合征 5 例, 痛风 4 例, 系统性硬化病 2 例, 皮肌炎 2 例, 正常健康体检者 24 例。采集以上研究对象的空腹静脉血液标本, 分离血清, 置于 -20 ℃ 冰箱中保存待测。

**1.2 RF 的测定** 应用瑞士 ROCHE 公司 COBAS 6000 全自动生化分析仪进行 RF 检测, 使用与试剂配套的校准品及质控品。判断标准:  $RF > 20 \text{ IU/mL}$  为阳性。

**1.3 抗 CCP 抗体的测定** 采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测抗 CCP 抗体, 试剂购自德国 AESKU 诊断产品公司。判断标准:  $> 18 \text{ U/mL}$  为阳性。

**1.4 MMP-3 的测定** 采用 ELISA 检测 MMP-3, 试剂购自美国 R&D 公司。判断标准:  $> 60 \text{ ng/mL}$  为阳性。

**1.5 评价指标** 以诊断敏感性、特异性、假阴性率(漏诊率)、假阳性率(误诊率)等评价指标分析 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 的诊断价值。用待评价的诊断试验把结果分为阳性和阴性, 依据文献[2]进行诊断试验评价。采用软件绘制 RF、抗 CCP 抗

体、MMP-3 检测的受试者工作特征曲线 (receiver operator characteristic curve, ROC), 以假阳性率(1-特异性)为横坐标、以真阳性率(敏感性)为纵坐标绘图, 求出诊断性临界值, 并计算曲线下面积(area under the curve, AUC), 其中 AUC 的取值介于 0.5 和 1.0 之间, 越接近于 1.0, 实验指标诊断效能越好<sup>[3]</sup>。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS15.0 软件进行统计学分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验, 以  $\alpha=0.05$  为检验水准, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 检测水平的比较** RA 组患者血清 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 分别为  $(201.85 \pm 242.62)$  IU/mL、 $(22.75 \pm 10.15)$  U/mL、 $(63.97 \pm 23.73)$  ng/mL, 对照组分别为  $(32.34 \pm 62.53)$  IU/mL、 $(8.53 \pm 4.51)$  U/mL、 $(36.96 \pm 20.86)$  ng/mL, RA 组患者血清 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 水平均显著高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P<0.01$ )。

**2.2 血清 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 对 RA 的诊断效能** 单独检测 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 的 ROC AUC 分别为 0.761、0.895、0.811, 标准误分别为 0.040、0.027、0.034, 95% 可信区间分别为  $0.682 \sim 0.840$ 、 $0.843 \sim 0.947$ 、 $0.744 \sim 0.878$ , 抗 CCP 抗体对 RA 的诊断价值较高, 见图 1。

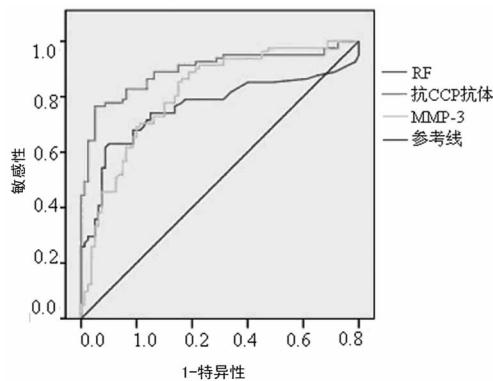


图 1 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 诊断 RA 的 ROC 曲线

**2.3 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 单独和联合检测对 RA 诊断性能的评价** RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 检测对 RA 诊断价值的评估见表 1。单独检测 RF 对于 RA 诊断的敏感性最高, 但是其特异性却最低; MMP-3 与 RF 相比, 具有较高的特异性; 抗 CCP 抗体与 RF 相比, 具有很好的敏感性和特异性。串联方式联合检测对 RA 诊断的敏感性较低(35.8%), 但其特异性升高(100.0%); 并联方式联合检测对 RA 诊断的敏感性明显提高(90.1%), 而特异性有所减低(61.3%)。

表 1 RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 对 RA 诊断价值的评估(%)

项目	敏感性	特异性	阳性符合率	漏诊率	误诊率
RF	74.1	71.3	72.3	25.9	28.8
抗 CCP 抗体	67.9	95.0	93.2	32.1	5.0
MMP-3	56.8	85.0	79.3	43.2	15.0
串联	35.8	100.0	100.0	64.2	0.0
并联	90.1	61.3	70.2	9.9	38.7

串联: RF + 抗 CCP 抗体 + MMP-3; 并联: RF + 抗 CCP 抗体 + MMP-3。

## 3 讨 论

在 RA 诊断中, 传统的血清学指标为 RF。RF 检测的方法简单、敏感性高, 被列为 1987 年 ACR 诊断 RA 的唯一血清学指标。然而 RF 是抗人或动物 IgG Fc 段的抗体, 其实质是 IgG 与抗 IgG 的免疫复合物, 并不具备诊断的特异性。如系统性红

斑狼疮、干燥综合征、硬皮病、混合性结缔组织病、皮肌炎等多种自身免疫性疾病及一些感染性疾病患者的血清中均可见 RF 增高, 某些正常老年人中也可出现阳性。这些缺陷限制了 RF 在 RA 诊断中的应用价值。

近年来, 人们致力于 RA 早期诊断的研究, 发现 RA 患者血清中, 除 RF 外, 还存在其他自身抗体。抗 CCP 抗体是新发现的一种对 RA 有诊断意义的抗体。2000 年, Schellekens 等<sup>[4]</sup>成功合成 CCP, 并首次采用 ELISA 进行检测。将血清抗 CCP 抗体用于早期诊断 RA 具有较高的敏感性和特异性。该抗体可在 RA 早期出现, 甚至在临床症状出现前就可检测到<sup>[5]</sup>。研究表明, CCP 抗原在患者体内早期出现, 刺激 T 淋巴细胞增殖, 其抗体的出现与关节炎的损害密切相关<sup>[6]</sup>。抗 CCP 抗体具有瓜氨酸抗原决定簇, 其与 RF 因子在 RA 患者体内存在统计学关联, 且敏感性较高, 可以为 RA 早期诊断的良好指标<sup>[4]</sup>。本研究中, 抗 CCP 抗体的特异性明显优于 RF, 因此, 其检测有助于提高 RA 的诊断率, 尤其是早期、不典型的病例。

MMP-3 是矩阵金属蛋白酶家族的一个成员, 具有广泛的基质特异性。MMP-3 直接参与软骨和骨骼的破坏过程, 并激活其他退化酶, 如胶原酶等, 因此, 它被认为是 RA 患者中关节损伤的一个关键因素。RA 患者的滑液中含有大量 MMP-3, 血清 MMP-3 水平也明显升高, 并与滑液 MMP-3 数量有关, 是关节持续炎症的一个标志物, 与 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP) 和 红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR) 水平存在密切联系<sup>[7-10]</sup>。Yamanaka 等<sup>[9]</sup>研究发现, 血清 MMP-3 升高的程度反映了未来 6~12 个月将要出现的关节损坏, 是预测骨骼损坏的标志物; 还可直接反映关节炎症和破坏的情况, 是检测治疗成功与否的有价值工具。本研究发现, 20 例 RF 阴性及 23 例抗 CCP 抗体阴性的 RA 患者中, 有 8 例 MMP-3 阳性。并联方式联合应用, 诊断敏感性能提高到 90.1%。因此, MMP-3 的检测有可能预测 RF 与抗 CCP 抗体阴性患者, 联合检测可以提高 RA 的诊断率, 并早期预测骨骼损坏。3 项检测串联方式联合应用的阳性符合率达到 100%, 高于所有单项指标, 提示 3 项指标联合应用具有较高的临床使用价值。

综上所述, 在血清学检测中, RF、抗 CCP 抗体、MMP-3 三者可以作为 RA 诊断的实验室指标, 它们互为补充, 联合检测可提高 RA 诊断的特异性; 另外, 三者联合检测可为临床提供更多的信息, 如疾病的活动性、严重程度, 对早期诊断、治疗和改善预后有较高价值。

## 参 考 文 献

- [1] 叶伟胜, 张铁良. 类风湿关节炎流行病学进展[J]. 国际骨科学杂志, 2009, 30(3): 144-147.
- [2] 郑旭, 王杰. 联合检测糖化血红蛋白、尿微量蛋白与糖尿病肾病早期诊断[J]. 沈阳医学院学报, 2010, 12(1): 53-56.
- [3] Erkanli A, Sung M, Costello EJ, et al. Bayesian semi-parametric ROC analysis[J]. Stat Med, 2006, 25(22): 3905-3928.
- [4] Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide[J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(1): 155-163.
- [5] Jørgensen KT, Wiik A, Pedersen M, et al. Cytokines, autoantibodies and viral antibodies in premorbid and postdiagnostic sera from patients with rheumatoid arthritis: case-control study nested in a cohort of Norwegian blood donors[J]. Ann Rheum Dis, 2008, 67(6): 860-866.

(下转第 1090 页)

表 1 两组儿童一般情况的比较

组别	孕周(周)	出生体质量(g)	性别(n)		Apgar 评分(分)		
			男	女	1 min	2 min	3 min
HIE 组	38.70±2.10	3 175.60±293.40	20	19	1.70±1.12 <sup>a</sup>	2.80±0.85 <sup>a</sup>	4.30±1.30 <sup>a</sup>
对照组	39.20±2.90	3 242.30±277.40	12	8	7.90±1.25	8.90±1.09	9.70±0.47

<sup>a</sup>: P<0.05,与对照组相比。表 2 两组儿童脐血中 NF-H 和 S100 $\beta$  蛋白浓度的比较

组别	NF-H(ng/mL)	S100 $\beta$ ( $\mu$ g/mL)
HIE 组	0.48±0.19	0.82±0.28
对照组	0.02±0.00	0.15±0.02

表 3 HIE 组患儿不同肌张力异常患儿血清中 NF-H、S100 $\beta$  浓度的比较

组别	NF-H(ng/mL)	S100 $\beta$ ( $\mu$ g/mL)
肌张力正常	0.37±0.10	0.65±0.13
肌张力异常	0.50±0.20 <sup>a</sup>	0.84±0.33
脑性瘫痪	0.74±0.09 <sup>a</sup>	1.07±0.11 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: P<0.05,与肌力正常组比较。

### 3 讨 论

HIE 是指各种围生期窒息引起的部分或完全缺氧、脑血流减少或暂停所致的新生儿脑损伤<sup>[2]</sup>,其主要病理变化为缺氧时脑细胞能量衰竭导致的神经细胞凋亡。早期判断新生儿缺氧、缺血后,采取适当措施可以减轻神经系统损害<sup>[3]</sup>,对减轻新生儿 HIE 神经系统后遗症有重要意义<sup>[4]</sup>。

NF 蛋白是神经元特有的结构蛋白之一,由神经元胞体合成,是神经元的特异蛋白和细胞骨架的主要成分,在维持神经细胞空间构型及其正常的信号转导中发挥重要作用,与神经轴突再生过程有密切关系<sup>[5]</sup>。NF 是由高相对分子质量(NF-H,  $200 \times 10^3$ )、中相对分子质量(NF-M,  $\times 10^3$ )和低相对分子质量(NF-L,  $68 \times 10^3$ )的 3 种亚单位组成。成熟的神经元胞体和树突主要含 NF-L 和 NF-M,而轴突则含 NF-H,未成熟轴突则不含 NF-H<sup>[5-7]</sup>。本研究对象为足月儿,避免了由于年龄因素可能造成的 NF-H 浓度差异,因此,血清中 NF-H 浓度的变化均由神经元受损所致,可作为评估神经元损伤严重程度的标志。

S100 $\beta$  蛋白也是一种特异性较高的反映脑损伤的神经生化标志物,是反映脑损伤程度的特异性蛋白。在对脑损伤患者的诊断、临床预后及治疗结果的评估中扮演重要角色<sup>[8]</sup>。以往对 S100 $\beta$  蛋白的研究多见于成人脑损伤领域,近年来,S100 $\beta$  蛋白在 HIE 诊断方面的价值逐渐受到重视<sup>[9-10]</sup>。

本研究发现 HIE 组患儿脐血中 NF-H 和 S100 $\beta$  蛋白浓度显著高于对照组,随访也提示 HIE 组患儿中有 60% 出现不同程度的肌张力异常改变,其中 3 名患儿被确诊为脑性瘫痪,其

脐血 NF-H 和 S100 $\beta$  蛋白浓度明显高于未出现神经系统症状的患儿,说明患儿脐血中 NF-H 和 S100 $\beta$  浓度可作为患儿神经系统损伤严重程度的标志,对判断患儿预后具有重要意义。

由于随访工作量较大,本次试验所选取样本量较少,这可能是造成 NF-H 和 S100 $\beta$  蛋白浓度在肌张力异常患儿与脑性瘫痪患儿中差异均没有统计学意义的原因,尚需进一步加大样本量进行研究。

### 参考文献

- [1] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿缺氧缺血性脑病诊断标准[J]. 中华儿科杂志, 2005, 43(8): 584.
- [2] 李熙鸿. 我国新生儿缺氧缺血性脑病的诊断及治疗[J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 25(14): 1037-1039.
- [3] 齐正, 高宝勤. 亚低温治疗新生儿缺氧缺血性脑病研究进展[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(14): 1118-1121.
- [4] Jacobs SE, Tarnow-Mordi WO. Therapeutic hypothermia for newborn infants with hypoxic-ischaemic encephalopathy[J]. J Paediatr Child Health, 2010, 46(10): 568-576.
- [5] Petzold A. Neurofilament phosphoforms: surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss[J]. J Neurol Sci, 2005, 233(1/2): 183-198.
- [6] Perrot R, Berges R, Bocquet A, et al. Review of the multiple aspects of neurofilament functions, and their possible contribution to neurodegeneration[J]. Mol Neurobiol, 2008, 38(1): 27-65.
- [7] Shea TB, Chan WK. Regulation of neurofilament dynamics by phosphorylation[J]. Eur J Neurosci, 2008, 27(8): 1893-1901.
- [8] Sun J, Li J, Cheng G, et al. Effects of hypothermia on NSE and S-100 protein levels in CSF in neonates following hypoxic/ischaemic brain damage[J]. Acta Paediatr, 2012, 101(8): e316-320.
- [9] 刘克宇, 张重梅, 王琪, 等. 血清 TNF- $\alpha$  和 S100B 检测在新生儿缺氧缺血性脑病中的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 875-876.
- [10] 王会民, 刘克宇, 张重梅, 等. S100B 和脐血铅水平与缺氧缺血性脑病新生儿神经精神运动评分的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(15): 1716-1717.

(收稿日期:2012-12-15)

(上接第 1088 页)

- [6] 程鹏, 钟丽民, 沈杰, 等. 抗突变型瓜氨酸波形蛋白检测在类风湿关节炎中的意义[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24(11): 1028-1032.
- [7] Sasaki S, Iwata H, Ishiguro N, et al. Detection of stromelysin in synovial fluid and serum from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. Clin Rheumatol, 1994, 13(2): 228-233.
- [8] Yoshihara Y, Obata K, Fujimoto N, et al. Increased levels of stromelysin-1 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in sera from patients with rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 1995, 38(7): 969-975.

- [9] Yamanaka H, Matsuda Y, Tanaka M, et al. Serum matrix metalloproteinase 3 as a predictor of the degree of joint destruction during the six months after measurement, in patients with early rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(4): 852-858.
- [10] Mahmoud RK, El-Ansary AK, El-Eishi HH, et al. Matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-1 levels in sera and synovial fluids in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. Ital J Biochem, 2005, 54(3/4): 248-257.

(收稿日期:2012-12-16)