

• 临床检验研究论著 •

可溶性 B7-H4 在类风湿性关节炎中的诊断价值探讨*

莫 莉, 姜 健, 姚炯涛, 谭兴权

(深圳市福田区中医院检验科, 广东深圳 518034)

摘 要:目的 探讨可溶性 B7-H4(sB7-H4)在类风湿性关节炎(RA)中的诊断价值。方法 应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 67 例 RA 患者, 72 例骨性关节炎(OA)与 75 例健康人血清 sB7-H4、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体、葡萄糖 6-磷酸异构酶(GPI)水平, 免疫比浊法测定类风湿因子(RF)。比较分析 sB7-H4 在 RA 诊断中的应用价值。结果 RA 患者血清 sB7-H4 水平明显高于对照组和 OA 组, 差异有统计学意义($P<0.01$); sB7-H4 在 RA 诊断中的灵敏度高于 RF、抗 CCP 抗体、GPI, 特异性低于抗 CCP 抗体及 GPI; sB7-H4 与 RF、抗 CCP 抗体有良好的相关性; 联合检测 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 可提高 RA 的诊断率。结论 sB7-H4 在 RA 诊断中具有良好的临床应用前景。

关键词: 类风湿性关节炎; 酶联免疫吸附测定; 类风湿因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.013

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)15-1997-03

Diagnostic value of soluble B7-H4 in rheumatoid arthritis*

Mo Li, Jiang Jian, Yao Jiongtao, Tan Xingquan

(Department of Clinical Laboratory, Futian District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong 518034, China)

Abstract: **Objective** To investigate the diagnosis value of soluble B7-H4(sB7-H4) in rheumatoid arthritis (RA). **Methods** By using the ELISA sandwich method, the serum levels of soluble B7-H4, anti-cyclic citrullinated peptide(anti-CCP) antibody and glucose 6-phosphate isomerase(GPI) were detected in 67 cases of RA, 72 cases of osteoarthritis(OA) and 75 cases of healthy people. The immunoturbidimetric method was adopted to determine the serum rheumatoid factor(RF). Then the diagnostic value of sB7-H4 in RA was compared and analyzed. **Results** The serum level of soluble B7-H4 in the RA group was significantly higher than that in the control group and the OA group with statistically significant difference between them($P<0.01$). The sensitivity of sB7-H4 in diagnosing RA was higher than that of RF, anti-CCP antibody and GPI, but the specificity was lower than that of anti-CCP antibody and GPI. There was better correlation between sB7-H4 with RF and anti-CCP antibody. The combination detecting of sB7-H4, RF, anti-CCP antibody and GPI could increase the diagnostic rate of RA. **Conclusion** B7-H4 has better clinical application prospects in diagnosing RA.

Key words: rheumatoid arthritis; enzyme-linked immunosorbent assay; rheumatoid factor

类风湿关节炎(RA)是一种以关节滑膜炎为特征的自身免疫性疾病, RA 患者早期症状不明显, 需要实验室提供相关依据进行筛选。诊断指标如类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体、葡萄糖 6-磷酸异构酶(GPI)等对 RA 的诊断有一定的价值, 但这些指标有着特异性不强、灵敏度低等不足之处。因此, 筛选新的检测标志物对 RA 的早期诊断具有重要意义。负性共刺激分子 B7-H4 是新发现的 B7 家族的新成员。研究证实, RA 患者及牛Ⅱ型胶原诱导的 RA 小鼠滑膜组织内存在大量 B7-H4 阳性细胞^[1-2], 通过共刺激途径来诱导 T 细胞对自身抗原的免疫耐受应用于 RA 的临床检测和治疗^[3]。提示 B7-H4 参与了 RA 病理进程, B7-H4 可能是 RA 潜在诊断指标。本研究用双抗体夹心 ELISA 法, 定量检测 RA、OA 患者血清中 sB7-H4 水平, 比较分析 sB7-H4 与 RF、抗 CCP 抗体、GPI 在灵敏度、特异性、准确度的不同, 探讨 sB7-H4 在 RA 诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 3 月至 2013 年 5 月本院风湿门诊就诊及住院患者 214 例, 排除严重心肝肾疾病、糖尿病、高血压;

排除 2 月内曾用激素及长期服用慢作用抗风湿药难以停用者。其中 RA 患者 67 例(RA 组), 男 19 例, 女 48 例, 年龄 25~74 岁, 均符合 1987 年美国风湿病协会(ARA)修订的 RA 诊断分类标准; OA 患者 72 例(OA 组), 男 24 例, 女 48 例, 年龄 30~78 岁; 同期来本院体检的健康者 75 例作为对照组, 男 30 例, 女 45 例, 年龄 23~78 岁。3 组的性别与年龄对比差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 酶联微量反应板(Cloning 公司), 抗人 B7-H4 单克隆抗体(eBioscience 公司), 抗小鼠 B7-H4 多克隆抗体(广东医学院临床免疫学教研室制备), HRP 标记羊抗兔 IgG(北京博奥森生物技术有限公司), TMB 底物及显色剂(沈阳惠民公司)。抗 CCP 抗体、GPI 试剂(欧蒙公司), RF 试剂(上海科华生物公司)。判断标准: RF >20 U/mL 为阳性, 抗 CCP 抗体大于 5 U/mL 为阳性, GPI 抗原大于 0.2 mg/L 为阳性。东芝 TBA120FR 全自动生化分析仪, 瑞士帝肯全自动酶联免疫分析仪。

1.3 标本采集 各组均于清晨空腹抽取静脉血, 4 000 r/min 离心 15 min, 分离血清, -20℃冻存储备用。sB7-H4 双抗体夹

* 基金项目: 深圳市科技计划项目(201203190); 深圳市福田区卫生公益性科研项目(FTWS201239)。 作者简介: 莫莉, 女, 主管技师, 主要从事临床检验工作及研究。

心 ELISA 法的建立参见文献[4]。

1.4 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;非正态分布的资料采用 $M(1/4 \sim 3/4)$ 表示,组间比较采用 t 检验或秩和检验;计数资料用中位数或百分比,采用 χ^2 检验;相关性用 Spearman 相关分析。用 SPSS 13.0 软件包进行统计处理,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 各组 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 检测结果

组别	<i>n</i>	B7-H4(μg/L)	RF(U/mL)	抗 CCP 抗体(U/mL)	GPI(mg/L)
RA 组	67	41.54±11.97*	214.33±140.76*	284.92±81.97*	49.91±18.12*
OA 组	72	30.74±10.06	120.46±59.35	66.83±25.75	2.64±0.85
对照组	75	24.35±10.72	10.82±5.67	10.94±5.36	0.09±0.10

*: $P < 0.01$,与 OA 组及对照组比较。

2.2 sB7-H4 与 RF、抗 CCP 抗体、GPI 相关性分析 将 67 例 RA 患者血清 sB7-H4 水平分别与 RF、抗 CCP 抗体、GPI 水平进行单因素直线相关分析,结果显示 sB7-H4 与 RF、抗 CCP 抗体呈正相关(r 分别为 0.496,0.506, $P < 0.01$),与 GPI 无相关性。

2.3 RA、OA 组及对照组血清 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 诊断阳性率比较 通过 ROC 曲线分析,sB7-H4 的最佳诊断值为 26.22 ng/mL,RA 组的血清 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 诊断阳性率明显高于 OA 组和对照组($P < 0.01$),见表 2。sB7-H4 在 RA 诊断中的灵敏度(64.18%)和准确性(78.46%),高于抗 CCP 抗体及 GPI,特异性(74.00%)低于抗 CCP 抗体。

表 2 RA 组、OA 组及对照组 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 阳性率比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	sB7-H4	RF	抗 CCP 抗体	GPI
RA 组	67	43(64.18)	46(68.66)	40(59.70)	37(55.22)
OA 组	72	3(4.17)*	22(30.56)*	5(6.94)*	18(25.00)*
对照组	75	1(1.33)*	4(5.33)*	2(2.67)*	5(6.67)*

*: $P < 0.01$,与 RA 组比较。

2.4 RA 组 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 诊断效能比较 见表 3。sB7-H4 的敏感度最高 72.15%,抗 CCP 抗体的特异度最高 92.55%,抗 CCP 抗体的阳性预测值最高 90.46%,sB7-H4 的阴性预测值最高 82.37%。联合检测提升特异度为 96.40%,阳性预测值可提升到 98.50%。

表 3 B7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 单独或联合检测诊断 RA 的性能评价(%)

项目	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
sB7-H4	72.15	77.58	70.64	82.37
RF	69.31	73.19	76.94	81.98
抗 CCP 抗体	61.72	92.55	90.46	75.65
GPI	58.43	80.29	83.63	68.14
联合检测	56.86	96.40	98.50	67.30

3 讨 论

类风湿性关节炎发病率为 0.95%左右,未及时治疗患者的 2 年致残率达 50%,可导致患者生存期降低 10%左右^[5],因

2 结 果

2.1 各组 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 水平的比较 RA 组的血清 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 浓度明显高于 OA 组和对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。该结果提示,sB7-H4 在 RA 诊断中具有潜在应用的价值。

此早期诊断和治疗对避免残疾及提高生存率有重大意义。1987 年类风湿协会修订的 RA 分类诊断标准依靠临床表现、X 线以及 RF 的检测。RF 对系统性红斑狼疮、干燥综合征等其他免疫性疾病甚至健康老年人亦可能检出阳性,因此有必要筛选新的诊断指标。

对 RA 的发病机制研究证实,T 细胞起主导作用,该细胞群迁移到病变关节,识别特定的抗原肽后,释放多种炎症因子促进滑膜细胞异常增殖和血管翳形成,从而导致关节软骨和软骨下骨的破坏^[6-7]。T 细胞的有效活化和效应的发挥需要共刺激信号,负性共刺激分子 B7-H4 是新发现的 B7 家族中新成员,郭国宁等^[2]用免疫组化方法证实了 RA 患者及牛Ⅱ型胶原诱导的 RA 小鼠滑膜组织内存在大量 B7-H4 阳性细胞,提示 B7-H4 参与并调节了关节炎的病理进程。OA 和类风湿性关节炎同为关节疾病,但 RA 病理特征为慢性滑膜炎而 OA 则以关节老化的退行性变为特征,以 OA 作为疾病对照组,检测了 RA 组、OA 组和对照组的 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 水平,对它们在 RF 诊断中的应用价值进行了探讨。

RA 组的血清 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 浓度明显高于 OA 组和对照组($P < 0.01$)。说明 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 能将 RA 组与 OA 组及对照组区分开,可作为检验指标应用于 RA 的诊断。各组的阳性率统计中 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 亦能将 RA 组与 OA 组及对照组区分开($P < 0.01$),说明 sB7-H4 可作为 RA 检验指标之一。研究者检测 sB7-H4 敏感度、特异度和阳性预测值和阴性预测值分别为 72.15%、77.58%、70.64%、82.37%,敏感度和阴性预测值高,特异度和阳性预测值低,单独采用 sB7-H4 诊断 RA 易导致误诊。

2009 年美国风湿病学学会和欧洲抗风湿病联盟提出了新 RA 分类标准,将抗 CCP 抗体和 RF 共同作为 RA 的血清学分标准^[8]。实验结果中 RF 敏感度和特异度分别为 69.31%、73.19%,与文献^[8]的结果接近,敏感度与 sB7-H4 相近,特异度低于 sB7-H4。检测结果中抗 CCP 抗体敏感度、特异度和阳性预测值和阴性预测值分别为 61.72%、92.55%、90.46%、75.65%,特异度高而灵敏度低,阳性预测值高而阴性预测值低,单独采用抗 CCP 抗体诊断 RA 易导致漏诊,sB7-H4 敏感度高于抗 CCP 抗体,但特异度低于抗 CCP 抗体。

GPI 参与 RA 的滑膜病变过程^[9],是近来 RA 诊断指标研究热点之一,检测结果中 GPI 的敏感度、特异度和阳性预测值和阴性预测值分别为 58.43%、80.29%、83.63%、68.14%,敏

感度和阴性预测值低,易导致漏诊。sB7-H4 与之比较敏感度更高,但特异性略低。此外,本研究结果显示在 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体和 GPI4 个检测指标中,sB7-H4 的阳性预测值为 70.64%,为 4 个指标中最低,而 sB7-H4 的阴性预测值达 82.37%,优于另外 3 个诊断指标。

将 sB7-H4 水平分别与 RF、抗 CCP 抗体、GPI 水平进行相关分析,结果显示 sB7-H4 与 RF、抗 CCP 抗体呈正相关(r 分别为 0.496、0.506, $P < 0.01$),而与 GPI 无相关性。高滴度 RF 常提示 RA 病情较重,进展快,骨破坏严重,抗 CCP 抗体阳性的 RA 患者骨破坏较阴性者严重,因此 sB7-H4 阳性及高水平可能提示 RA 病情严重,预后不良,sB7-H4 水平与 RA 病情严重程度及预后的相关性有待进一步研究。

由于 RA 的发病机制至今未明,临床检验的诊断策略是多指标联合检测。本研究中联合检测 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI,特异度提升为 96.40%,阳性预测值可提升到 98.50%,可避免单一检测局限性,减少漏诊,sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 检验组合指导临床诊断有一定应用价值。

综上所述,血清 sB7-H4 水平有助于类风湿性关节炎的诊断;sB7-H4 在类风湿性关节炎诊断中的灵敏度高于 RF、抗 CCP 抗体、GPI,特异性低于抗 CCP 抗体及 GPI;sB7-H4 与 RF、抗 CCP 抗体有良好的相关性;sB7-H4 阳性及高水平可能提示 RA 病情严重,预后不良,联合检测 sB7-H4、RF、抗 CCP 抗体、GPI 可提高类风湿性关节炎的诊断率。sB7-H4 在类风湿性关节炎诊断中具有良好的临床应用前景。

参考文献

[1] Azuma T, Zhu G, Xu H, et al. Potential role of decoy B7-H4 in the

pathogenesis of rheumatoid arthritis: a mouse model informed by clinical data[J]. PLoS Med, 2009, 6(10): e1000166.

- [2] 郭国宁, 尚永军, 朱国宴, 等. B7-H4 在类风湿关节炎组织内的表达及分布研究[J]. 现代免疫学, 2011, 31(2): 130-134.
- [3] Kamimura Y, Kobori H, Piao J, et al. Possible involvement of soluble B7-H4 in T cell-mediated inflammatory immune responses[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 389(2): 349-53.
- [4] 胡国艳, 郑淑华, 刘伟, 等. 检测可溶性 B7-H4 ELLSA 夹心法的建立[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(8): 831-833.
- [5] Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis[J]. Lancet, 2010, 376(9746): 1094-108.
- [6] McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. Nat Rev Immunol, 2007, 7(6): 429-442.
- [7] Thiolat A, Semerano L, Pers YM, et al. Interleukin-6 receptor blockade enhances CD39⁺ regulatory T cell development in rheumatoid arthritis and in experimental arthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(2): 273-283.
- [8] Polido-Pereira J, Vieira-Sousa E, Fonseca JE. Rheumatoid arthritis: What is refractory disease and how to manage it[J]. Autoimmun Rev, 2011, 10(11): 707-713.
- [9] 张亮, 吴振安, 刘明华, 等. 葡萄糖-6-磷酸异构酶抗原联合血清抗环瓜氨酸肽抗体诊断类风湿性关节炎的临床研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(22): 2482-2485.

(收稿日期: 2014-02-10)

(上接第 1996 页)

的内流增加,从而增加细胞周期 fos 和 mRNA 基因的表达,将细胞由静止诱导至分裂期,最终加快平滑肌的增殖速度^[9-10]。血管中膜平滑肌向内膜下的迁移及增殖是早期动脉粥样硬化的病理学改变,血管内皮祖细胞可通过再生发育或直接合成的方式转化为血管内皮细胞,从而修复受损血管,在血管系统发挥正常功能中起着重要的作用。血清 Hcy 水平升高时,血管内皮祖细胞衰老加快且再生发育受到抑制,从而损伤及血管内皮,加速缺血缺氧。本项研究表明,不同年龄阶段脑梗死患者的血清 Hcy 浓度均明显高于健康人,说明在脑梗死的发生发展过程中, Hcy 起着非常重要的作用,与相关研究结果一致^[11]。

综上所述,脑梗死的发生与血清 Hcy 水平有着密切的关系,但 Hcy 水平与血脂及 hs-CRP 无明显相关性,高同型半胱氨酸血症是脑梗死发生的独立危险因素,可作为监测疾病病情的可靠指标。

参考文献

[1] Towfighi A, Markovic D, Ovbiagele B. Pronounced association of elevated serum homocysteine with stroke in subgroups of individuals: a nationwide study[J]. J Neurol Sci, 2010, 298(1/2): 153-157.

[2] Cui R, Moriyama Y, Koike K A, et al. Serum total homocysteine concentrations and risk of mortality from stroke and coronary heart disease in Japanese: the JACC study[J]. Atherosclerosis, 2008, 198(2): 412-418.

- [3] 李娟. 同型半胱氨酸、D-二聚体、超敏 C 反应蛋白测定在急性脑梗死患者中的临床应用价值[J]. 中国医药指南, 2013, 11(4): 443-444.
- [4] 中华神经学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 临床荟萃, 1988, 29(8): 367-368.
- [5] 荆军. 高同型半胱氨酸与脑梗死[J]. 山东医药, 2008, 48(1): 147-148.
- [6] 巩娟瑜. 急性脑梗死患者血清超敏 C 反应蛋白、氧化低密度脂蛋白及同型半胱氨酸水平的相关性研究[J]. 临床医学工程, 2013, 20(9): 1129-1130.
- [7] 耿洁, 赵建国, 张琦, 等. 急性脑梗死患者两种证型血浆同型半胱氨酸与超敏 C-反应蛋白的检测与其临床意义[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(20): 2701-2702.
- [8] Zeng X, Dai J, Remick DG, et al. Homocysteine mediated expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human monocytes[J]. Circ Res, 2003, 93(4): 311-320.
- [9] 杨国栋, 王士列, 李年春, 等. 高同型半胱氨酸血症与脑梗死的相关性分析[J]. 医学信息, 2011, 24(1): 85-86.
- [10] 王博, 毛蕾, 沈滔. 急性脑梗死患者血胆红素、高敏 C 反应蛋白和同型半胱氨酸的表达及其临床意义[J]. 中国医药导报, 2013, 10(13): 39-41.
- [11] 巩娟瑜. 急性脑梗死患者血清超敏 C 反应蛋白、氧化低密度脂蛋白及同型半胱氨酸水平的相关性研究[J]. 临床医学工程, 2013, 20(9): 1129-1130.

(收稿日期: 2014-03-13)