

• 论 著 •

AKA、CCP、RA33、RF、ESR 联合检测在类风湿性关节炎中的应用

欧阳娟¹, 余东阳¹, 李 真², 余 卉¹, 刘少平¹, 邵亚苹^{1△}
(湖北省科技学院附属天门市第一人民医院: 1. 检验科; 2. 儿科, 湖北天门 431700)

摘 要:目的 探讨联合检测血清中抗角蛋白抗体(抗 AKA)、抗环瓜氨酸抗体(抗 CCP)、抗 RA33 抗体、类风湿因子(RF)及红细胞沉降率(ESR)在诊断类风湿关节炎(RA)中的应用价值。方法 收集该院 2014 年 6 月至 2015 年 5 月,经确诊的 RA 患者 100 例,疑似 RA 病例 60 例,对照组经确诊为非 RA 的其他自身免疫性疾病患者 120 例,分别用间接免疫荧光法(IFA)检测每组病例中的抗 AKA 抗体,用 ELISA 法检测抗 CCP 抗体和抗 RA33 抗体,用速率散射比浊法检测 RF,用魏氏法检测 ESR,并对各个诊断指标的 diagnostic 性能进行评价。结果 抗 AKA 抗体、抗 CCP 抗体、抗 RA33 抗体、RF 及 ESR 5 种检测指标在 RA 组中的检出率依次为 64.0%、75.0%、44.0%、84.0% 和 51.0%,5 项并联后的检出率(灵敏度)为 97.0%,串联后的检测特异度为 89.2%;在 RA 疑似组中 5 种检测指标的检出率依次为 16.7%、31.7%、13.3%、20.0%、15.0%;在对照组中 5 种检测指标的检出率依次为 0.8%、2.5%、1.7%、0.8% 和 5.8%,5 种指标在 RA 组中的检出率显著高于疑似 RA 组,差异有统计学意义($P<0.001$),疑似 RA 组和对照组相比 5 种指标的检出率差异有统计学意义($P<0.001$),5 项并联检测的灵敏度为 97.0%,显著高于单项检测灵敏度($P<0.05$),5 项串联检测的特异度最高达到 100.0%,也显著高于单项检测特异度($P<0.05$),并联检测的漏诊率最低,阴性预测值最高,串联检测的误诊率最低,阳性预测值最高,并联检测的约登指数最大。结论 抗 CCP 抗体和 RF 单独检测具有较好的灵敏度和特异度,而 5 种指标联合检测具有更高的灵敏度和特异度,可以更好地降低漏诊率和误诊率,大大地提高诊断效率,从而对 RA 的早期诊断具有重要的临床意义。

关键词: 类风湿性关节炎; 抗角蛋白抗体; 抗环瓜氨酸肽抗体; 抗 RA33 抗体; 类风湿因子; 红细胞沉降率
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.07.005 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)07-0880-03

Application of combined detection of AKA antibody, anti-CCP antibody, anti-RA33 antibody, RF and ESR in rheumatoid arthritis

OU Yangjuan¹, YU Dongyang¹, LI Zhen², YU Hui¹, LIU Shaoping¹, Shao Yaping^{1△}
(1. Department of Clinical laboratory; 2. Department of Pediatrics, Tianmen Municipal First People's Hospital, Hubei Institute of Science and Technology Tianmen, Hubei 431700, China)

Abstract: **Objective** To investigate the application value of combined detection of antikeratin (AKA) antibody, anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibody, anti-RA33 antibody, RF and ESR in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA). **Methods** One hundred cases of RA and 60 cases of suspected RA in our hospital from June 2014 to May 2015 were collected. One hundred and twenty cases of non-RA other autoimmune diseases served as the control group. The indirect immunofluorescence assay (IFA) was used to detect anti-KA antibody, anti-CCP antibody and anti-RA33 antibody were detected by using ELISA. The rate scatter turbid assay was used to detect RF. The Westergren method was used to detect ESR. The diagnostic performance of each diagnostic indicator was evaluated. **Results** The detection rates of anti-KA antibody, anti-CCP antibody, anti-RA33 antibody, RF and ESR in the RA group were in turn 64%, 75%, 44%, 84% and 51% respectively, the detection rate (sensitivity) of 5-indicator parallel detection were 97%, the specificity of 5-indicator series detection was 89.2%; in the suspected RA group, the detection rates of 5-indicator were in turn 16.7%, 31.7%, 13.3%, 20%, 15% respectively, which in the control group were in turn 0.8%, 2.5%, 1.7%, 0.8% and 5.8% respectively. The detection rates of 5-indicator in the RA group was significantly higher than that in the suspected RA group, showing extremely significant difference ($P<0.001$), the detection rate of 5-indicator had extremely significant difference between the suspected RA group and control group ($P<0.001$), the sensitivity of five-indicator parallel detection was 97%, which was significantly higher than that of single indicator detection ($P<0.05$), the detection specificity of 5-indicator series detection was up to 100%, which was also significantly higher than that of single indicator detection ($P<0.05$), the missed diagnosis rate of parallel detection was minimal, while the negative predictive value was highest, the misdiagnosis rate of series detection was lowest, the positive predictive value was highest, the Youden index of parallel detection was largest. **Conclusion** The single detection of anti-CCP antibody and RF have good sensitivity and specificity, but 5-indicator combined detection has higher sensitivity and specificity, which can better reduce the missed diagnosis rate and misdiagnosis rate, can greatly improve the efficiency of diagnosis, and has an important clinical significance for the early diagnosis of RA.

Key words: RA; anti-AKA antibody; anti-CCP antibody; anti-RA33 antibody; RF; ESR

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种常见的以累及周围关节为主的多系统性、炎症性的自身免疫性疾病,其临床特征表现为对称性的,大小关节滑膜的炎性反应,并且浸润其下层软骨和骨,使骨关节造成不可逆的破坏。初期症状

作者简介:欧阳娟,女,主管技师,主要从事临床免疫学检验工作。△ 通信作者, E-mail: 535963252@qq.com。

包括指关节肿胀疼痛,在关节部位出现晨僵,若滑膜炎持久反复发作,可导致关节内软骨和骨质的破坏、关节功能障碍,并最终致残废。类风湿关节炎属难治性疾病,发病率高,致残率高,严重危害着人类的健康。据最近报道,我国的患病率为 0.20%~0.93%^[1]。目前 RA 的诊断主要依据临床表现、X 线改变以及联合类风湿因子检测做出诊断,通常符合上述 3 个标准者已是 RA 进展期或晚期,骨关节已损坏,因而 RA 的早期诊断尤其血清学相关指标的检测,成为控制该疾病进展迫切需要解决的任务。目前,国内外的学者已经发现很多与 RA 相关的血清学诊断指标,主要有类风湿性因子(RF)、抗核周因子抗体(APF)、抗角蛋白抗体(AKA)、RA33 抗体(anti-RA33)、抗环瓜氨酸肽抗体(anti-CCP)、抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体(anti-MCV)、葡萄糖-6-磷酸异构酶(GPI)等^[2]。本研究旨在通过对确诊的 RA 患者,疑似的 RA 患者和非 RA 的自身免疫性疾病患者中单独及联合检测相关血清学指标,分析比较其诊断效能,探讨各个指标在联合检测中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集该院 2013 年 6 月至 2015 年 5 月,经确诊的 RA 患者 100 例,其中男 65 例,女 35 例,年龄 40~70 岁,平均(51.0±10.5)岁,所有病例均符合 1987 年美国风湿病学会(ACR)的 RA 分类诊断标准^[3]。疑似 RA 病例 60 例,其中男 28 例,女 32 例,年龄 35~75 岁,平均(55.0±14.0)岁。对照组经确诊为非 RA 的其他自身免疫性疾病患者 120 例,年龄 40~72 岁,平均(58.0±12.5)岁,其中系统性红斑疮患者 55 例,干燥综合征 33 例,混合型结缔组织病 18 例,自身免疫性肝病 5 例,多发性心肌炎 7 例,系统性硬化症 2 例。

1.2 试剂与检测方法

1.2.1 标本采集 所有病例均清晨空腹采集静脉血 5 mL,并尽快分离血清,于 7 d 内完成检测。

1.2.2 试剂与方法 AKA 购自德国欧蒙公司,采用间接免疫荧光法,马赛克上包被的抗原组织为大鼠的食管组织,阳性判断滴度为≥1:10;抗 CCP、抗 RA33 试剂盒均购自德国欧蒙公司,采用 ELISA 法,阳性判断浓度均为≥1:20 IU/mL;RF 试剂购自德国西门子公司,采用速率散射比浊法检测,阳性判断浓度为≥1:20 IU/mL;ESR 采用魏氏法测定,其中男性≥15 mm/h,女性≥1:20 mm/h 判断为阳性;所有实验过程均按照试剂盒的要求规范操作。

1.2.3 实验结果 采用实验诊断效能的评价指标(灵敏度、特异度、漏诊率、误诊率),收益评价指标(阳性预测值和阴性预测值),可靠性评价指标(约登指数),串联试验指 5 项指标均为阳性方可判断为 RA 阳性,并联试验指 5 项指标中有一项为阳性即可判断为 RA 阳性^[4]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件对数据进行统计分析,组间的阳性检出率比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 个实验组中 AKA、抗 CCP 抗体、抗 RA33 抗体、RF 和 ESR 阳性检出率的比较 RA 组中 5 种指标的阳性检出率依次为 64.0%,75.0%,44.0%,84.0%,51.0%,RF 的检出率最高;与疑似 RA 组及对照组相比,差异有统计学意义($P<0.001$),疑似 RA 组中 5 种指标的阳性检出率依次为 16.7%、31.7%、13.3%、20.0%、15.0%,与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.001$),见表 1。

2.2 3 个实验组中 AKA、抗 CCP 抗体、抗 RA33 抗体、RF 和

ESR 阳性数的分布情况比较 RA 组中 5 种指标的检测中,有 1 项、2 项、3 项、4 项、5 项阳性比例依次为 38.0%、22.0%、18.0%、10.0%、9.0%、9.0%,5 项串联阳性比例为 9.0%,5 项并联阳性比例为 97.0%,RA 疑似组中 5 种指标的检测中,有 1 项、2 项、3 项、4 项、5 项阳性比例依次为 46.7%、20.0%、3.3%、0.0、0.0、0.0,5 项串联阳性比例为 0.0,5 项并联阳性比例为 42.0%,在 RA 组和 RA 疑似组中单项的阳性率最高,分别为 38.0%和 46.7%,5 项并联的阳性比例分别为 97.0%和 70.0%,各指标与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.001$)。见表 2。

表 1 5 种抗体在 3 个实验组中检出率的比较[n(%)]						
组别	n	AKA	抗 CCP	抗 RA33	RF	ESR
RA 组	100	64(64.0)	75(75.0)	44(44.0)	84(84.0)	51(51.0)
RA 疑似组	60	10(16.7)	19(31.7)	8(13.3)	12(20)	9(15)
对照组	120	1(0.8)	3(2.5)	2(1.7)	1(0.8)	7(5.8)
χ^2 *		33.797	29.057	16.076	64.00	20.736
χ^2 #		14.827	29.057	8.272	19.163	4.150
P*		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
P#		0.001	0.001	0.004	0.001	0.042

注:*表示疑似 RA 组与 RA 组相比;#表示对照组与疑似 RA 组相比。

表 2 3 个实验组中 5 种指标阳性比例的分布情况						
5 种指标 阳性分布	RA 组		RA 疑似组		对照组	
	n	检出率(%)	n	检出率(%)	n	检出率(%)
有 1 项(+)	100	38(38.00)	60	28(46.7)	120	12(10.00)
有 2 项(+)	100	22(22.00)	60	12(20.00)	120	1(0.83)
有 3 项(+)	100	18(18.00)	60	2(3.30)	120	0(0.00)
有 4 项(+)	100	10(10.00)	60	0(0.00)	120	0(0.00)
有 5 项(+)	100	9(9.00)	60	0(0.00)	120	0(0.00)
5 项串联(+)	100	9(9.00)	60	0(0.00)	120	0(0.00)
5 项并联(+)	100	97(97.00)	60	42(70.00)	120	13(10.83)

表 3 5 种指标单独检测与联合检测对 RA 组的 诊断性能的比较(%)							
项目	灵敏度	特异度	漏诊率	误诊率	阳性预 测值	阴性预 测值	约登 指数
AKA	64.0	99.2	36.0	0.8	95.8	76.8	63.2
抗 CCP	75.0	97.5	25.0	2.5	96.2	82.4	72.5
抗 RA33	44.0	98.3	56.0	1.7	95.7	67.8	42.3
RF	84.0	99.2	16.0	0.8	98.8	88.1	83.2
ESR	51.0	98.3	49.0	1.7	96.2	70.7	49.5
5 项串联	9.0	100.0	91.0	0.0	100.0	56.9	9.0
5 项并联	97.0	89.2	3.0	10.8	88.2	97.3	86.2

2.3 RA 组中 5 种指标的检测中,单独检测与联合检测的诊断性能比较 5 项指标并联检测的灵敏度最高达到 97.0%,显著高于各个指标单项检测的灵敏度($P<0.05$),特异度为 89.2%,虽然有所降低,但是与单项检测相比差异无统计学意

义($P>0.05$),漏诊率为 3%,阴性预测值最高,5 项串联的特异度达到 100.0%,误诊率最低,阳性预测值最高;诊断正确指数中,约登指数也最大,为 86.2%,也显著高于各单项检测的指数($P<0.05$),见表 3。

2.4 RA 疑似组中 5 种指标的检测中,单独检测与联合检测的诊断性能比较 5 项指标并联检测的灵敏度最高达到 33.3%,也显著高于各个指标单项检测的灵敏度($P<0.05$),特异度为 89.2%,与单项检测相比差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4 5 种指标单独检测与联合检测对 RA 疑似组的诊断性能的比较(%)

项目	灵敏度	特异度	漏诊率	误诊率	阳性 预测值	阴性 预测值	Youd en 指数
AKA	16.7	99.2	83.3	0.8	90.9	70.4	15.9
抗 CCP	31.7	97.5	68.3	2.5	86.4	74.1	29.2
抗 RA33	13.3	98.3	86.7	1.7	80.0	74.1	11.6
RF	20.0	99.2	63.3	0.8	95.7	75.8	35.9
ESR	15.0	98.3	85.0	1.7	81.8	69.8	13.5
5 项串联	—	—	—	—	—	—	—
5 项并联	33.3	89.2	66.7	10.8	60.6	72.8	22.5

注:—表示因 5 项串联的阳性比例为 0,数据缺失。

3 讨 论

RA 是一种以关节滑膜炎及增生为主要病理改变的自身免疫性疾病之一,发病 2 年即可出现不可逆性的骨关节破坏。该病发病原因不明确,且尚无有效的治疗方法。大量文献显示早期诊断、早期治疗能有效控制病情,减少骨关节的破坏。随着基础医学的发展,AKA 抗体、抗 RA33 抗体、抗 CCP 抗体等身免疫性抗体的相继发现,可以在 RA 临床症状未出现时,即可早期发现并采取相应的干预措施,而且具有一定的敏感度和特异度。AKA 是由 Young 等于 1979 年首先在 RA 患者的血清中检测到,它是一种不溶性纤维蛋白,相对分子质量为 40×10^3 ,为构建细胞骨架关键组分之一^[5]。经本研究可以发单独检测 AKA 具有很高的特异度,达到 99.2%,但是灵敏度较低,仅仅为 64.0%,而由于 AKA 的检测采用 IIF 法,导致结果的判断有较强主观性,不易标准化,所以单独应用的该指标不适合在临床广泛应用。抗 RA33 抗体是 1989 年 Hassfeld 发现的一种自身抗体,相对分子质量为 33×10^3 ,故叫抗 RA33 抗体^[6]。抗 RA33 抗体对 RA 诊断敏感度国内外结果不一,大多介于 20%~40%^[7],这也与本研究的结果基本一致。而且这种抗体与 RF 很少存在交叉反应,疾病的不同时期均可以出现,特别是在 RF 检测阴性的时候,血清中也可以产生该抗体,因而有利于不典型和早期 RA 的诊断。2000 年, Schellekens 等^[8]工合成了一种环化肽,即 CCP, Esalatmanesh 通过研究 RA 患者的 ROC 曲线发现抗 CCP 抗体浓度与 RA 的疾病活动度相关。大部分文献报道中,诊断 RA, 抗 CCP 抗体比 RF 具有更高的特异度,较好的灵敏度,具有早期诊断价值。RF 与类风湿关节炎的发生与预后也有着十分密切的联系。RF 是位于人或动物 IgG 分子 Fc 片段上的抗体之一,有 IgG、IgA、IgM、IgD、IgE 5 种类型,类风湿疾病常为 IgM 型,RA 患者阳性检出率可达 50%~90%^[9]。虽然阳性率比较高,但是 RF 也可出现于系统性红斑狼疮、硬化病、多发性心肌炎,自身免疫性肝病、

原发性干燥综合征、感染等,某些健康者尤其是老年人也可经常可以出现血清 RF 阳性,所以特异性不好,容易导致误诊,所以临床中也不适宜单独应用。

本研究中,采用 100 例 RA 患者、60 例疑似 RA 患者以及 120 例非 RA 患者的其他自身免疫性疾病患者,分析各个实验组中 AKA、抗 CCP 抗体、抗 RA33 抗体、RF 和 ESR 阳性检出率,判断这 5 种指标的联合检测在 RA 诊断中的应用价值,通过对实验结果的分析发现:在 RA 组中,单独检测中,RF 的灵敏度最高 84.0%,RA33 的灵敏度最低 44.0%,联合检测的灵敏度为 97.0%明显要高于各个单独检测指标,而同时也具有较好的特异度 89.2%;在 RA 疑似组中,联合检出率为 33.0%,也明显高于非 RA 的对照组 13.0%,说明联合检测可以更好地发现亚临床型的 RA 患者,对早期的诊断有一定的指导意义。

若动态监测疑似 RA 组患者的各项指标,跟踪随访一定的年限,可以更好地说明联合检测对 RA 早期诊断与病情迁延进展、疾病严重程度都存在一定的关系,这也是后期需要进一步研究的课题。

综上所述,该五项指标的联合检测可以显著的提高临床对 RA 诊断的灵敏度和特异度,降低误诊率和漏诊率,提高诊断的正确性,并且对疾病的早期诊断、治疗以及 RA 的预后判断都具有十分重要的临床意义。

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] 张娟,梅枚芳. 抗 CCP 抗体、AKA、RF 及 GPI 检测类风湿关节炎的临床意义[J]. 哈尔滨医科大学学报,2012,46(5):492-495.

[3] 蒋明,朱立平,林孝义. 风湿病学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1998;372-376.

[4] Liu RY,Wang KZ,Wang CS,et al. Evaluation of medial acetabular wall bone stock in patients with developmental dysplasia of the hip using a helical computed tomography multilane reconstruction technique[J]. Acta Radio,2009,50(7):797.

[5] Hassfeld W,Steiner G,Hartmuth K,et al. Demonstration of a new anti-nuclear antibody(anti-RA33) that is highly specific for rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 1989,32(12):1515-1520.

[6] 裴春红,赵春生. 多指标联合检测在类风湿关节炎诊断中的临床价值分析[J]. 中国医学创新,2012,9(1):92-93.

[7] Steiner G,Smolen J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance[J]. Arthritis Res,2002,4(Suppl2):S1-5.

[8] Schellekens K,Damali R,Jamali A,et al. Serum anti-cyclic citrullinated peptide antibodies may predict disease activity in rheumatoid arthritis [J]. Rheumatol Int, 2012, 32(12):3799-3805.

[9] 彭乃杰,夏菲,李克诚. 抗环瓜氨酸肽抗体在预测类风湿性关节炎临床诊断中的应用叨[J]. 放射免疫学杂志, 2013,26(2):217-219.