

论著 · 临床研究

抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b 及抗链球菌溶血素 O 检测在类风湿关节炎急性阶段的诊断价值*

高 明^{1,2}, 杨晓英^{1,2}, 毛晓莉^{1,2△}

(1. 上海交通大学附属第六人民医院南院输血科, 上海 201499; 2. 上海市奉贤区中心医院输血科, 上海 201499)

摘 要:目的 探讨抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 检测在类风湿关节炎急性阶段的诊断价值。方法 收集 67 例类风湿关节炎急性阶段患者为病例组, 选取院内体检健康者 50 例为对照组。采用酶联免疫吸附试验检测抗 β_2 糖蛋白 I 抗体, 流式细胞术检测血小板膜糖蛋白 GP I b 的表达, 免疫比浊法检测抗链球菌溶血素 O 的水平。采用 Pearson 分析进行相关分析, 利用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、血小板膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 诊断类风湿关节炎急性阶段的曲线下面积(AUC)。结果 病例组抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 水平均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。Pearson 相关性分析中, 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 与类风湿关节炎急性阶段呈正相关($r = 0.514, 0.620, 0.710$)。ROC 曲线分析显示, 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 的 AUC 分别为 0.82、0.82、0.91, 最佳诊断界值分别为 21.84 RU/mL、14.79%、51.32 IU/mL。结论 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 检测对类风湿关节炎急性阶段具有一定的诊断价值, 可作为类风湿关节炎急性阶段的辅助诊断指标。

关键词: 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体; 膜糖蛋白; 抗链球菌溶血素 O; 类风湿关节炎急性阶段

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.05.017

中图法分类号: R593.22; R446.1

文章编号: 1673-4130(2019)05-0574-05

文献标识码: A

Diagnostic value of anti- β_2 glycoprotein I antibody, membrane glycoprotein GP I b and anti-streptolysin O in acute stage of rheumatoid arthritis*

GAO Ming^{1,2}, YANG Xiaoying^{1,2}, MAO Xiaoli^{1,2△}

(1. Department of Blood Transfusion, South Hospital, Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201499, China; 2. Department of Blood Transfusion, Fengxian District Central Hospital, Shanghai 201499, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of anti- β_2 glycoprotein I antibody, membrane glycoprotein GP I b and anti-streptolysin O in the acute stage of rheumatoid arthritis. **Methods** Sixty-seven patients with acute rheumatoid arthritis were selected as case group, and 50 healthy persons were selected as control group. Anti- β_2 glycoprotein I antibody was detected by ELISA, platelet membrane glycoprotein GP I b expression was detected by flow cytometry, and anti-streptolysin O was detected by immunoturbidimetry. Pearson analysis was used for correlation analysis. The area under curve (AUC) of anti- β_2 glycoprotein I antibody and platelet membrane glycoprotein GP I b and anti-streptolysin O in the diagnosis of acute rheumatoid arthritis was analyzed by ROC curve. **Results** The anti- β_2 glycoprotein I antibody, membrane glycoprotein GP I b and anti-streptolysin O levels in the case group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). Pearson correlation analysis showed that anti- β_2 sugar protein I antibody, membrane glycoprotein GP I b, anti-streptolysin O were positively correlated with the acute phase of rheumatoid arthritis ($r = 0.514, 0.620, 0.710$); ROC curve analysis showed that the AUC of anti- β_2 glycoprotein I antibody, membrane glycoprotein GP I b and anti-streptolysin O were 0.82, 0.82, 0.91, respectively, and the best diagnostic cutoff values were 21.84 RU/mL, 14.79%, 51.32 IU/mL, respectively. **Conclusion** The anti- β_2 glycoprotein I antibody, membrane glycoprotein GP I b and anti-streptolysin O detection have certain diagnostic value in the a-

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81572034); 上海市卫生和计划生育委员会青年基金(20164Y0156)。

作者简介: 高明, 男, 主管技师, 主要从事细胞形态学及输血检验研究。 △ 通信作者, E-mail: 1294750886@qq.com。

本文引用格式: 高明, 杨晓英, 毛晓莉. 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b 及抗链球菌溶血素 O 检测在类风湿关节炎急性阶段的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(5): 574-578.

cute stage of rheumatoid arthritis, and can be used as an auxiliary diagnostic index for the acute stage of rheumatoid arthritis.

Key words: anti- β_2 glycoprotein I antibody; membrane glycoprotein; anti-streptococcal hemolysin O; acute stage of rheumatoid arthritis

类风湿关节炎急性阶段(ASRA)是一种病因未明的慢性、以炎性滑膜炎为主的系统性疾病, ASRA 的发病可能与遗传、感染、性激素等有关。一旦发病, 随着病情的发展进程而逐渐影响患者的生活质量, 所以早期诊断、无创诊断, 有利于缩短病程, 大大改善患者预后^[1-5]。抗 β_2 糖蛋白 I 抗体是抗磷脂抗体的主要组成部分, 是沟通免疫与凝血两大系统的重要桥梁, 在 ASRA 患者中会出现一定程度的升高^[6]。膜糖蛋白 GP I b 是血小板发生病变的敏感指标, 研究发现在 ASRA 患者中具有一定的诊断价值^[7]。抗链球菌溶血素 O 是 A 组链球菌的代谢产物之一, 可以溶解人红细胞, 具有很强的抗原性, 在 ASRA 患者的血清中通常检测到抗链球菌溶血素 O 值的升高^[8]。以上指标在临床检测中广泛开展, 但对 ASRA 的诊断价值未知, 本研究采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析相关指标的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2018 年 1 月上海交通大学附属第六人民医院南院收治的 67 例 ASRA 患者为病例组, 其中男 25 例, 女 42 例, 平均(33.84±9.50)岁。选取院内体检健康者 50 例为对照组, 其中男 23 例, 女 27 例, 平均(34.60±5.70)岁, ASRA 患者按照《类风湿关节炎急性阶段诊断标准》筛选入组。本研究获上海交通大学附属第六人民医院南院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 膜糖蛋白 GP I b 检测 病例组和对照组均收集乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂) 7.2 mg 抗凝血 4.0 mL, 1 500 r/min 离心 5 min, 分离上层的富血小板血浆, 加 1% 甲醛(PMA)室温固定, 使用磷酸盐缓冲液(PBS)将血小板的浓度调整至(2.5~3.5)×10⁷/L。50 μ L CD42b-FITC (Becton Dickinson 公司)与 100 μ L 血小板溶液振荡混匀, 避光常温孵育 30 min, 加 2 mL 1×溶血素, 室温反应 15 min, 1 500 r/min 离心 5 min。弃上清, 以 2 mL PBS 洗涤 2 遍, 最后以 1% 的甲醛固定 30 min, 上机获取细胞 10 000 个检测。上机测试分析, Beckman EPICSX 型流式细胞仪上测定荧光平均荧光强度(Sample FL1 Median)的阳性百分标记率, 记录结果。

1.2.2 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体检测 病例组和对照组均收集无添加剂全血 5.0 mL, 采用酶联免疫吸附试验间接法检测待测样本血清中抗 β_2 糖蛋白 I 抗体水平, 3 000 r/min 离心 15 min。取血清 100 μ L 加入至特异性抗原包被的微孔反应板中, 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 洗

板、拍板, 加入 50 μ L(1 滴左右)酶结合物, 充分混匀, 封板, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 再次洗板、拍板, 加入显色液 A、B 各 50 μ L(1 滴左右), 充分混匀, 封板, 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min, 加入 50 μ L(1 滴左右)终止液, 混匀。用酶标仪读数(波长 450 nm), 空白对照孔校零, 读取各孔吸光度(A)值。

1.3 抗链球菌溶血素 O 检测 病例组和对照组均收集无添加剂全血 5.0 mL, 采用免疫比浊法检测待测样本血清中抗链球菌溶血素 O 水平, 样本离心后, 在全自动生化分析仪上进行检测, 测定波长为 540 nm, 读取 A 值, 对照标准曲线得出结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行分析, 连续变量行 Shapiro-Wilk 法进行数据的正态性检验, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验, 以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。Pearson 相关性分析以相关系数 *r*>0.300 为有相关性, 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线), 分析抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 水平在 ASRA 诊断中的应用价值。

2 结果

2.1 病例组与对照组抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 的表达水平分析 两组抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 水平差异均有统计学意义(*P*=0.000、0.000、0.000), 见图 1、2 和表 1。

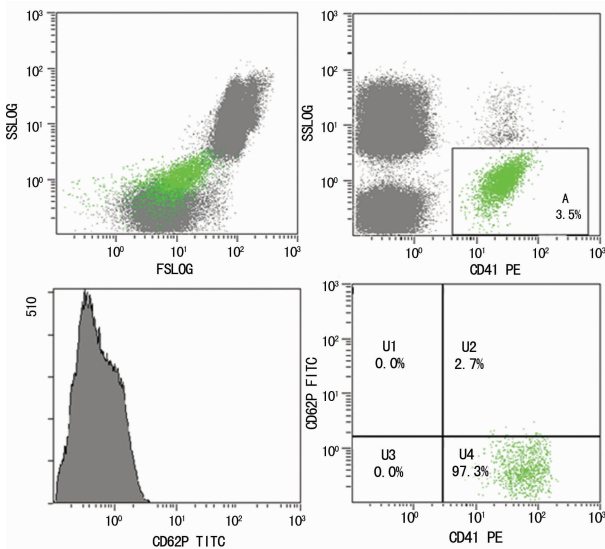


图 1 膜糖蛋白 GP I b 低表达流式荧光图

2.2 病例组各项指标与疾病的相关性分析 Pearson 相关性分析显示, 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GP I b、抗链球菌溶血素 O 与 ASRA 呈正相关。见

表 2。

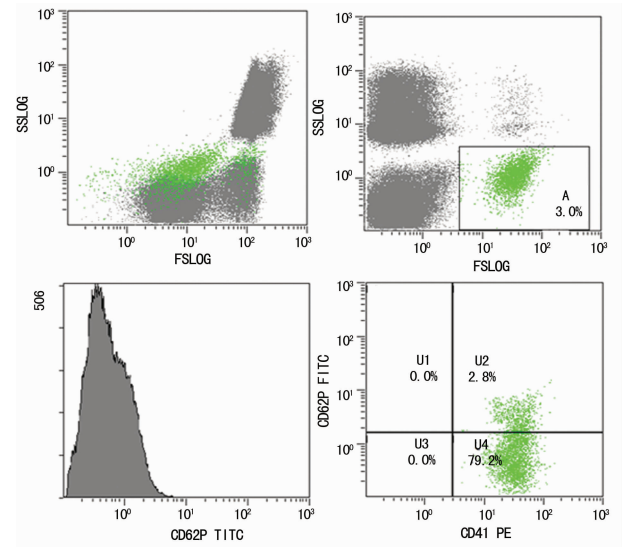


图 2 膜糖蛋白 GPIIb 高表达流式荧光图

表 1 病例组和对照组抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖、蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	抗 β_2 糖蛋白 I 抗体 (RU/mL)	膜糖蛋白 GPIIb (%)	抗链球菌溶血素 O (IU/mL)
病例组	67	23.97 $\pm$ 7.11*	14.19 $\pm$ 6.81*	76.78 $\pm$ 32.04*
对照组	50	15.98 $\pm$ 6.01	5.12 $\pm$ 3.79	22.68 $\pm$ 17.29

注：与对照组比较，* $P < 0.01$

表 2 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 与 ASRA 的相关性分析

自变量	r^2	r	P
抗 β_2 糖蛋白 I 抗体	0.264	0.514	0.00
膜糖蛋白 GPIIb	0.384	0.620	0.00
抗链球菌溶血素 O	0.504	0.710	0.00

2.3 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 对 ASRA 的诊断价值 ROC 曲线分析显示,抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 判断 ASRA 的灵敏度和特异度较好(均 $P = 0.00$)。 β_2 糖蛋白 I 抗体对 ASRA 的最佳诊断界值为 21.84 RU/mL,此时的灵敏度为 0.746,特异度为 0.920,约登指数为 0.666,kappa 值为 0.645。膜糖蛋白 GPIIb 对 ASRA 的最佳诊断界值为 14.79%,此时的灵敏度为 0.672,特异度为 0.940,约登指数为 0.612,kappa 值为 0.584。抗链球菌溶血素 O 对 ASRA 的最佳诊断界值为 51.32 IU/mL,此时的灵敏度为 0.836,特异度为 0.940,约登指数为 0.776,kappa 值为 0.761。见表 3、图 3。

表 3 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 与 ASRA 的 ROC 曲线下面积分析

项目	曲线下面积	P	95%CI
抗 β_2 糖蛋白 I 抗体	0.82	0.00	0.734~0.908
膜糖蛋白 GPIIb	0.82	0.00	0.740~0.898
抗链球菌溶血素 O	0.91	0.00	0.846~0.967

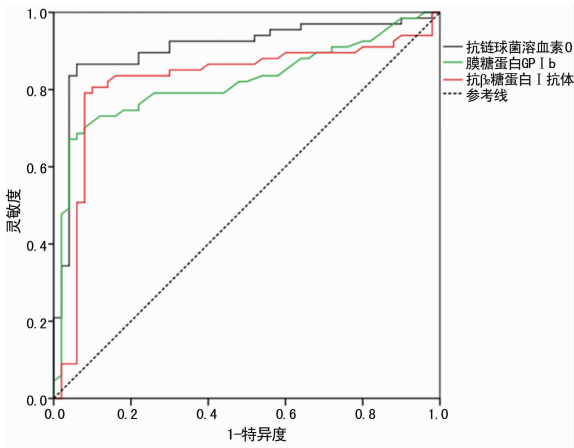


图 3 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 单项检测诊断 ASRA 的 ROC 曲线

3 讨 论

抗 β_2 糖蛋白 I 抗体是病理状态下抗磷脂抗体分布到细胞膜外,当抗磷脂抗体与血清中的 β_2 糖蛋白 I 型结合后即暴露出抗原位点,从而诱导产生的一类自身抗体^[9]。对抗磷脂抗体综合征(其灵敏度 30%~60%,特异度 98%)和系统性红斑狼疮具有一定的诊断价值,在 ASRA 患者中可见升高,但具体诊断价值笔者查阅文献未见详细报道^[6,10]。已有研究表明,ASRA 发病机制可能是由于凝血系统与免疫系统共同作用导致的,前期筛查发现血小板膜糖蛋白 GPIIb 在 ASRA 患者中有一定程度的升高^[7,11-12]。同时,研究表明,类风湿关节炎的发病可能与某些微生物的感染有关,感染后引起异常免疫反应,链球菌也可能混杂在其间,部分参与了感染,因而出现了抗链球菌溶血素 O,类风湿关节炎患者抵抗力较差,容易受到链球菌的侵袭,在临床上常见到类风湿关节炎患者伴随有链球菌感染^[13-17]。目前主要应用于临床的抗链球菌溶血素 O 诊断效能并不能完全满足临床需求,存在一定的诊断盲区,故本研究尝试将抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 联合研究,以探讨其在 ASRA 中的诊断价值,提高其诊断效能。

本研究结果显示,ASRA 病例组的抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 与对照组相比差异有统计学意义,认为抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 可以作为诊断 ASRA 的潜在指标。进一步相关性分析显示,抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 与 ASRA 呈正相关,故抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 具有诊断 ASRA 的效能。采用 ROC 曲线分析得出抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 各检测指标的详细诊断性能,其中抗链球菌溶血素 O 的诊断效能最为突出。

4 结 论

综上所述,抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、膜糖蛋白 GPIIb、抗链球菌溶血素 O 是 ASRA 诊断的良好指标,有

助于 ASRA 的早期诊断,为临床及早对病情进行干预、监测提供有价值的信息。但是已有研究报道抗链球菌溶血素 O 并不能像红细胞沉降率、C-反应蛋白一样作为判断病情严重程度和衡量治疗效果的指标^[16-17]。因此,在类风湿关节炎的检查中不宜单独使用抗链球菌溶血素 O 判断类风湿关节炎病情的发展,抗链球菌溶血素 O 仅限于在 ASRA 中或与其他检测指标联合诊断评估病情。

参考文献

- [1] 常晓天,郑亚冰. 类风湿性关节炎瓜氨酸化反应研究的最新进展[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(2): 279-283.
- [2] 卢月,曹雅晶,钱瑞琴. IL-17 在类风湿性关节炎发病机制中的作用[J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(9): 855-859.
- [3] 童晓鹏,张敏. 类风湿性关节炎新型自身抗原视黄醇结合蛋白 1 类似蛋白相关分析研究[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(7): 976-978.
- [4] GOUVEIA V M, LOPES-DE-ARAUJO J, COSTA L S, et al. Hyaluronic acid-conjugated pH-sensitive liposomes for targeted delivery of prednisolone on rheumatoid arthritis therapy[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2018, 13(9): 1037-1049.
- [5] ZHANG N, XU C, LI N, et al. Folate receptor-targeted mixed polysialic acid micelles for combating rheumatoid arthritis: in vitro and in vivo evaluation[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1182-1191.
- [6] 李玉珍. 抗 β_2 -糖蛋白 I 抗体在 RSA 患者血清中的表达及意义[J]. 山东医药, 2007, 51(20): 69.
- [7] 谢则金,王厚照,林一. CD62p、IL-6 和 hs-CRP 检测在类风湿性关节炎中的临床价值[J]. 检验医学, 2017, 32(11): 966-969.
- [8] 孙长俭,王晓艳,徐彩姝,等. 临床抗链球菌溶血素“O”、类风湿因子检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(21): 2608-2609.
- [9] 刘发河,曾海莲,郑小江,等. 抗 CCP、RF、CRP、抗链球菌溶血素 O 对类风湿关节炎的诊断意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(8): 583-585.
- [10] 黄启当,李泽泳,吴晓昀,等. 抗核抗体联合抗心磷脂抗体、抗精子抗体和抗 β_2 糖蛋白 I 抗体检测在女性不孕不育中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(7): 915-916.
- [11] 罗敏虹,朱浪静,钟燕平,等. 维持性血液透析患者血小板膜糖蛋白 I $\beta\alpha$ 和相关标志物的表达及意义[J]. 临床肾脏病杂志, 2018, 22(2): 87-91.
- [12] 赵万辉,王泽筠,亓琳,等. 抗 CCP 抗体和抗 MCV 抗体等多种检测对类风湿性关节炎的诊断价值[J]. 检验医学, 2017, 32(11): 975-978.
- [13] 陈燦琼,赵迪,任方,等. 抗氨甲酰蛋白抗体与类风湿性关节炎的相关性分析[J]. 检验医学, 2018, 33(1): 26-30.
- [14] 池继敏,张峰,张静,等. 关节液各检验指标与关节炎类型的相关性[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(1): 63-65.
- [15] 孙长俭,王晓艳,徐彩姝,等. 临床抗链球菌溶血素“O”、类风湿因子检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(21): 2608-2609.
- [16] 周晶晶,汪国生,李向培,等. 血清抗链球菌溶血素 O 检测在强直性脊柱炎中的临床意义[J]. 安徽医科大学学报, 2013, 48(4): 419-422.
- [17] 张淑琼,王凡. 奥林巴斯 AU5400 检测血清抗链球菌溶血素 O 的测量范围评价[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(7): 929-930.

(收稿日期:2018-09-20 修回日期:2018-11-12)

(上接第 573 页)

- 患者的肝功能与 HBV-DNA 病毒载量关系研究[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(12): 2188-2191.
- [7] 黄伟,刘会春,李宗狂,等. 胆道支架联合 125I 粒子腔内照射与姑息性胆肠内引流治疗胰头癌的疗效比较[J]. 中华放射学杂志, 2017, 51(1): 47-52.
- [8] PAIELLA S, SANDINI M, GIANOTTI L, et al. The prognostic impact of para-aortic lymph node metastasis in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2016, 42(5): 616-624.
- [9] SVORONOS C, TSOULFAS G, KATSOURAKIS A, et al. Role of extended lymphadenectomy in the treatment of pancreatic head adenocarcinoma: review and meta-analysis [J]. *ANZ J Surg*, 2014, 84(10): 706-711.
- [10] 周扬,汪洪骏. 胰头癌淋巴结微转移的发生规律及其与患者预后的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39(9): 664-667.
- [11] BHATTI L, PEACOCK O, AWAN A K, et al. Lymph node ratio versus number of affected lymph nodes as predictors of survival for resected pancreatic adenocarcinoma [J]. *World J Surg*, 2010, 34(4): 768-775.
- [12] CHEN Y, GAO S G, CHEN J M, et al. Serum CA242, CA199, CA125, CEA and TSGF are biomarkers for the efficacy and prognosis of cryoablation in pancreatic cancer patients[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71(3): 1287-1291.
- [13] 郭学青,高宏伟,李晓阳. 血清 miR-21 与 CA199 联合检测对胰腺癌诊断的临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(5): 400-403.
- [14] INAL A, KOS F T, ALGIN E, et al. Prognostic factors for gemcitabine-refractory patients with advanced pancreatic cancer: a retrospective analysis of a multicentre study (anatolian society of medical oncology) [J]. *Contemp Oncol(Pozn)*, 2015, 19(2): 125-129.
- [15] 高威,盛伟伟,董明,等. 胰腺癌术后肝转移的临床病理学特点[J]. 中国医科大学学报, 2015, 44(7): 644-647.
- [16] 刘凤永,王茂强,段峰,等. 胰腺癌肝转移的介入治疗[J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(6): 331-335.

(收稿日期:2018-09-13 修回日期:2018-12-02)