

肽酰基精氨酸脱亚氨酶-4、抗环瓜氨酸肽抗体联合检测 在类风湿关节炎诊断中的应用价值

胡恒贵¹, 秦淑国¹, 张长礼², 杜宏斌³, 李环如⁴, 黄峰¹, 韩军¹

[摘要] **目的:** 研究肽酰基精氨酸脱亚氨酶-4 (PADI-4)、抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)联合检测在类风湿关节炎(RA)诊断中的价值。**方法:** 用酶联免疫吸附试验双抗体夹心法检测 58 例 RA 患者(RA 组)、40 例其他风湿性疾病患者(非 RA 组)和 30 名健康志愿者(健康对照组)的血清 PADI-4、抗 CCP 抗体、抗聚角蛋白微丝蛋白抗体(AFA)、抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体(抗 MCV 抗体)和抗 RA33 抗体的浓度,并对其受试者工作特征曲线、灵敏度、特异度、相关性和诊断效能进行分析。**结果:** RA 患者血清中 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体的浓度均显著高于非 RA 组和健康对照组($P < 0.01$);采用受试者工作特征曲线,PADI-4 和抗 CCP 抗体诊断 RA 的最佳临界值为 1.284 U/L 和 26.365 RU/mL,此时的灵敏度为 62.1% 和 81.1%,特异度为 91.4% 和 95.7%;PADI-4 与 AFA、抗 RA33 抗体、抗 MCV 抗体均呈明显正相关关系($P < 0.01$);PADI-4 与抗 CCP 抗体无相关关系($P > 0.05$)。在多种抗体联合检测中,PADI-4、抗 CCP 抗体均为阳性诊断 RA 的特异度高达 100.0%,单项检测 PADI-4 为 91.4%,抗 CCP 抗体为 95.7%。**结论:** PADI-4、抗 CCP 抗体联合检测能提高 RA 的特异性和灵敏度,有助于对 RA 的诊断。

[关键词] 类风湿关节炎;肽酰基精氨酸脱亚氨酶;抗环瓜氨酸肽抗体;抗 RA33 抗体;抗聚角蛋白微丝蛋白抗体;突变型瓜氨酸波形蛋白

[中图分类号] R 593.22

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2016.10.007

The application value of the combined detection of peptidylarginine deaminase-4 and anti-cyclic citrullinated peptide antibody in the diagnosis of rheumatoid arthritis

HU Heng-gui¹, QIN Shu-guo¹, ZHANG Chang-li², DU Hong-bin³, LI Huan-ru⁴, HUANG Feng¹, HAN Jun¹

(1. Department of Laboratory, 3. Department of Rheumatism, 4. Department of Joint Surgery, The General Hospital of Wanbei Coal and Electricity Group, Suzhou Anhui 234000; 2. Suzhou Medical Examination Centre, Suzhou Anhui 234000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the value of the combined detection of peptidylarginine deaminase-4 (PADI-4) and anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibody in the diagnosis of rheumatoid arthritis (RA). **Methods:** The levels of PADI-4, anti-CCP antibody, anti-MCV antibody, AFA antibody and anti-RA33 antibody in 58 patients with RA (RA group), 40 patients with other rheumatoid disease (non-RA group) and 30 healthy people (control group) were detected by ELISA. The ROC curve, sensitivity, specificity, relevance and diagnostic effectiveness in all cases were analyzed. **Results:** The serum levels of PADI-4, anti-CCP antibody, anti-MCV antibody, AFA antibody and anti-RA33 antibody in RA patients were significantly higher than those in non-RA group and control group ($P < 0.01$). The ROC curve showed that the best critical value of PADI-4 and anti-CCP antibody in the diagnosis of RA were 1.284 U/L and 26.365 RU/mL, the sensitivity and specificity of PADI-4 and anti-CCP antibody were 62.1% & 81.1% and 91.4% & 95.7%, respectively. PADI-4 was positive correlation with AFA antibody, anti-RA33 antibody and anti-MCV antibody ($P < 0.01$), but the PADI-4 was not correlation with anti-CCP antibody ($P > 0.05$). Among the combined detection of multiple antibodies, the specificity of the PADI-4 and anti-CCP antibody in the diagnosis of RA was 100.0%, and the positive detection of PADI-4 and anti-CCP antibody were 91.4% and 95.7%, respectively. **Conclusions:** The combined detection of PADI and anti-CCP antibody can improve the specificity and sensitivity of RA, which can help the diagnosis of RA.

[Key words] rheumatoid arthritis; peptidylarginine deiminases-4; anti-Cyclic citrullinated peptide antibody; anti-RA33 antibody; anti-filament aggrement antibody; anti-mutated citrillinated vimentin

[收稿日期] 2014-09-22

[基金项目] 安徽省宿州市科技局科研项目 (sz2012017)

[作者单位] 皖北煤电集团总医院 1. 检验科, 3. 风湿科, 4. 关节外科, 安徽 宿州 234000; 2. 安徽省宿州市医学检验中心, 234000

[作者简介] 胡恒贵(1974 -), 男, 硕士, 主管检验师。

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一类以慢性、对称性、多关节炎为主要表现的常见系统性自身免疫性疾病,患者体内存在多种自身抗原和相应的自身抗体。其侵犯的靶器官主要是关节软骨,也可侵犯浆膜、肺、心脏、血管、神经、眼等组织器

官。减少 RA 致残的关键在于早期诊断, 早期治疗^[1]。2010 年新增了抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)作为诊断标准^[2]。研究^[3]发现, 抗 CCP 抗体对 RA 具有较高的敏感性和特异性, 亦优于类风湿因子, 对于提高 RA 特别是早期 RA 的诊断具有肯定的作用, 可作为 RA 早期诊断的血清学指标。近年来发现^[4], 肽酰基精氨酸脱亚氨酶-4 (PADI-4) 与 RA 有很强的相关性, 影响多种瓜氨酸化多肽特异性自身抗体的产生, 提示肽酰基精氨酸脱亚氨酶-4 可能参与了 RA 的发生。本研究就联合检测 RA 患者血清中 PADI-4、抗 CCP 抗体对 RA 诊断的价值作一探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2011-2013 年皖北煤电集团总医院风湿免疫科门诊及住院 RA 患者 58 例(RA 组), 其中男 26 例, 女 32 例; 年龄 31~77 岁; 所有患者均符合美国风湿病学会在 2009 年修订的 RA 诊断分类标准^[5]。选择同期门诊及住院除 RA 外的其他风湿性疾病患者 40 例(非 RA 组), 年龄 30~40 岁; 其中系统性红斑狼疮 20 例, 多发性肌炎/皮肌炎 7 例, 原发性干燥综合征 4 例, 未分化结缔组织病 3 例, 强直性脊柱炎 3 例, 白塞病、反应性关节炎、

自身免疫性肝炎各 1 例。选择 30 名健康志愿者作为健康对照组, 年龄 29~45 岁, 均为我院健康体检人员。

1.2 试剂和仪器

PADI-4、抗 CCP 抗体、抗聚角蛋白微丝蛋白抗体(AFA)、抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体(抗 MCV 抗体)和抗 RA33 抗体由德国 R&D 公司提供, 均采用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法, 检测仪器为洗板机和酶标仪, 严格按照仪器和试剂说明书操作以保证结果的可靠。

1.3 方法

所有研究对象均在检测前采集静脉血 3 mL, 收集血清标本。所有标本均在 -40℃ 保存, 一次冻融后分别检测 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体的浓度。

1.4 统计学方法

采用方差分析、 q 检验、 χ^2 检验、直线相关分析以及四格表的诊断性试验分析。

2 结果

2.1 3 组血清 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体浓度比较

RA 组患者血清 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体浓度均明显高于非 RA 组和健康对照组($P < 0.01$), 而非 RA 组患者血清抗 MCV 抗体浓度亦明显高于健康对照组($P < 0.01$)(见表 1)。

表 1 3 组患者 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体浓度比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	PADI-4/ (U/L)	抗 CCP 抗体/ (RU/mL)	AFA/ (ng/L)	抗 MCV 抗体/ (ng/L)	抗 RA33 抗体/(U/L)
RA 组	58	2.653 ± 2.719	195.001 ± 202.121	9.104 ± 4.668	13.983 ± 3.293	46.442 ± 13.392
非 RA 组	40	0.872 ± 0.292**	12.613 ± 8.864**	2.056 ± 0.427**	6.506 ± 2.844**	16.152 ± 5.645**
健康对照组	30	0.793 ± 0.243**	11.576 ± 5.213**	1.324 ± 0.389**	4.087 ± 1.454 $\Delta\Delta$	14.043 ± 3.836**
F	—	15.33	28.41	86.16	150.74	162.61
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
M_s 组内	—	3.412	18 659.74	10.028	7.959	95.136

q 检验: 与 RA 组比较 ** $P < 0.01$; 与非 RA 组比较 $\Delta\Delta P < 0.01$

2.2 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体在 RA 诊断中的灵敏度和特异度

PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体对 RA 诊断的灵敏度和特异度见表 2。

2.3 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体在 RA 诊断正常最佳临界点

PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体临界值分别为 1.284、26.365、3.345、6.838 和 23.205 U/L。受试者工作特征曲线下面积分别为: 0.794、0.863、0.778、0.712 和 0.715(见图 1)。

2.4 RA 患者血清 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗

MCV 抗体和抗 RA33 抗体阳性结果及相关性

RA 患者 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体的阳性率分别为 62.1%、81.1%、65.5%、72.4% 和 62.1%。PADI-4 与抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体差异均无统计学意义($P > 0.05$)。PADI-4 与抗 CCP 抗体无相关关系($r = 0.122, P > 0.05$), 与 AFA、抗 MCV 抗体、抗 RA33 抗体均呈显著正相关关系($r = 0.776, r = 0.816$ 和 $r = 0.895, P < 0.01$)(见表 3)。

2.5 5 种指标联合检测结果比较

RA 患者上述 5 种指标中 1 种指标阳性对 RA 诊断的特异度为 89.5

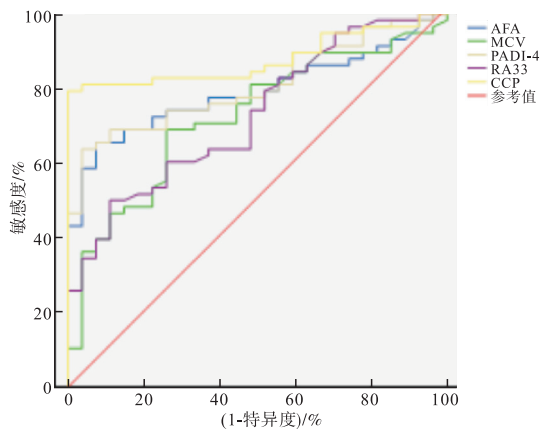


图1 PADI-4、抗CCP抗体、AFA、抗MCV抗体和抗RA33抗体检测方法的ROC曲线

表3 RA患者血清PADI-4、抗CCP抗体、AFA、抗MCV抗体和抗RA33抗体检测结果比较(n)

PADI-4	抗CCP抗体			AFA			MCV			RA33		
	+	-	合计	+	-	合计	+	-	合计	+	-	合计
+	26	10	36	32	4	36	32	4	36	33	3	36
-	20	2	22	6	16	22	10	12	22	3	19	22
合计	46	12	58	38	20	58	42	26	58	36	22	58
χ^2	2.70			0.10			1.79			0.017		
P	>0.05			>0.05			>0.05			>0.05		

~96.1%, 灵敏度为 64.4% ~ 83.1%, 2 种指标联合检测均为阳性对 RA 诊断的特异度为 91.4% ~ 100.0%, 灵敏度为 44.8% ~ 55.2%, 3 种指标联合检测均为阳性对 RA 诊断的特异度为 100.0%, 灵敏度为在 39.6% ~ 41.3%。在诊断特异度为 100.0% 时, PADI-4 和抗 CCP 抗体联合检测的灵敏度为 44.8% (见表 4)。

表4 5种指标联合检测对RA诊断的特异度和灵敏度

分组	n	PADI-4 + 抗CCP抗体	PADI-4 + AFA	PADI-4 + 抗MCV抗体	PADI-4 + 抗RA33抗体	PADI-4 + 抗CCP抗体 + AFA	PADI-4 + 抗CCP 抗体 + 抗MCV抗体	PADI-4 + 抗CCP 抗体 + 抗RA33抗体
RA组	58	26	32	32	32	23	24	24
对照组	70	0	2	6	6	0	0	0
特异度/%	—	100.0	97.1	91.4	91.4	100.0	100.0	100.0
灵敏度/%	—	44.8	55.2	55.2	55.2	39.7	41.4	41.4

瓜氨酸分子上有天然的不同抗原决定簇, 使患者血清中的 ACPA 存在异质性, 而合成肽链中仅包含一部分抗原决定簇, 故只能检测出这部分抗原决定簇相对应的抗体, 从而导致不具有相关性。本文采用 ELISA 方法, 避免了间接免疫荧光法的生物薄片的制作、操作步骤繁琐的问题。而 ELISA 操作简便, 结果可以量化, 稳定可靠, 适于广泛应用于临床检

3 讨论

2009 年美国风湿病学学会和欧洲抗风湿病联盟共同提出了新的 RA 分类标准, 将抗 CCP 抗体作为 RA 的血清学指标之一^[4]。RA 患者关节滑膜液和血清抗 CCP 抗体的水平均远远高于非 RA 患者, 且滑膜液和血清抗 CCP 抗体有很高的相关性^[6]。本研究中抗 CCP 抗体检测的阳性率为 81%, 而其检测的特异度近 97%。故抗 CCP 抗体是诊断 RA 的良好生物学指标。

PADI-4 存在于大多数 RA 患者血清和关节液中, 能够协助 B 细胞的分化与成熟, 产生瓜氨酸蛋白抗体, 导致自身免疫病的发生。此外, 大多数 RA 患者血清中的抗体为含有非标准化瓜氨酸残基的氨基酸, 例如抗 MCV 抗体、抗 RA33 抗体和 AFA 等, 均可识别瓜氨酸抗原表位^[7], 统一称为 ACPA, 可存在于 RA 患者的滑膜液、滑膜细胞和血清中, 它们与抗 CCP 抗体在化学结构上具有相关性, 但比抗 CCP 抗体具有更多的瓜氨酸化抗原决定簇。

本文通过 ELISA 方法对 3 组研究对象血清进行检测。结果显示, 在 RA 组中 PADI-4、抗 CCP 抗体、AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体浓度均明显高于非 RA 组及健康对照组 ($P < 0.01$), 对灵敏度和特异度分析显示, 抗 CCP 抗体最优, PADI-4 其次。这与蒋红英等^[8-9]的实验结果相似。通过相关性分析, PADI-4 与 AFA、抗 MCV 抗体和抗 RA33 抗体均呈明显正相关关系, 而与抗 CCP 抗体无相关关系, 与国内研究^[10]结果一致。可能为 RA 患者体内的

测。对 5 项指标分别联合检出 RA 分析显示, 临床上 RA 患者早期往往症状不明显, 需要实验室提供相关依据进行筛选, 对联合检测的数据是否出现两项或两项以上阳性结果显示, 当联合检测特异度为 100% 时 PADI-4 和抗 CCP 抗体组合的灵敏度最高。

综上所述, 为了弥补单一的抗 CCP 抗体对 RA

(下转第 1287 页)

块稳定性以及冠状动脉狭窄程度可以反映 ACS 的病情。CAG 诊断 ACS 具有较高的特异性,可以直接显示患者冠状动脉的病变范围与病变程度。但 CAG 属于创伤性检查,且对仪器设备、技术水平、操作步骤要求均较高,易引发并发症,具有一定风险性。因此,本研究选择 DCG 为检查手段,将其诊断准确率及应用价值与 CAG 进行对比分析。

DCG 是一种使用特殊记录仪器连续不间断监控患者机体 24 h 心电活动详细信息的方法,能够获得 10~14 万个心动周期信息,具有多通道、大容量的特点,可以连续 24 h 记录患者日常生活中全部心电信号,完整记录心肌缺血发作过程,对诊断 ACS 提供了确凿证据^[7]。该检测方式可以提高对心律失常的检出率,对检出频发室性期前收缩、成对室性和窦性心动过速等均具有较大优势。DCG 在软件自动分析与心电信号记录方面取得了较大发展,不仅可以有效发现各种心律失常与 ST-T 异常变化,还可以反映出心肌缺血程度、持续时间与昼夜节律,为临床分析患者日常生活与临床特征的关系提供了重要参考^[8]。本研究结果显示,DCG 诊断 ACS 的灵敏度为 87.50%,特异度为 85.71%,误诊率 14.29%,漏诊率 12.50%,阳性预测值 96.92%,阴性预测值 57.14%,一致性分析 Kappa 指数为 0.609,2 种方法检查结果呈高度一致性($P < 0.01$)。DCG 诊断冠状动脉单支、双支病变和三支或左主干病变阳性率差异有统计学意义($P < 0.01$),提示 DCG 对多支病变较为敏感。本研究还发现,DCG 诊断轻度、中度和

重度狭窄病变的阳性率差异有统计学意义($P < 0.01$)。因此,我们认为,临床上对于 ACS 的诊断采用 DCG 检查方式,有助于敏感反映出冠状动脉的病变程度,提高疾病的诊断正确率。

综上所述,DCG 与 CAG 诊断 ACS 具有较高的一致性,但 DCG 诊断冠状动脉双支病变、三支或左主干病变和中度、重度狭窄的阳性率较高。临床诊断时,采用 DCG 检查有助于提高 ACS 的临床确诊率,为疾病的进一步治疗提供重要参考依据。

[参 考 文 献]

- [1] 潘锋,邓少丽,马志成,等.血清铁蛋白在急性冠状动脉综合征临床应用研究中的作用[J].重庆医学,2015,44(9):1184.
- [2] 周小玲,周光荣,唐勇军.85 例急性冠状动脉综合征患者的动态心电图诊断研究[J].中国医药导刊,2013,15(3):412.
- [3] 蔡宏华,陈欣欣,邓兆敏.动态心电图与普通心电图在急性冠状动脉综合征诊断中的比较[J].齐齐哈尔医学院学报,2013,34(10):1432.
- [4] 黄兵,张建议,叶长青.动态心电图在急性冠状动脉综合征诊断中的临床价值[J].浙江临床医学,2013,15(3):412.
- [5] 黄兵.急性冠脉综合征患者动态心电图与冠脉病变程度的相关性分析[D].桂林:桂林医学院,2013.
- [6] 中华医学会.临床诊疗指南:心血管分册[M].北京:人民卫生出版社,2009:67.
- [7] 张兆国,马宏艳.动态心电图对急性短暂性心肌缺血的诊断价值(附 1 例报告)[J].江苏实用心电学杂志,2014,23(5):364.
- [8] 李寅.动态心电图对急性冠状动脉综合征患者的诊断意义[J].实用医学杂志,2011,27(18):3346.

(本文编辑 马启)

(上接第 1284 页)

诊断的不足,联合筛选检测能综合各自优点,PADI-4 和抗 CCP 抗体的联合筛选是性价比最高的组合,根据检测条件,选择适当的项目组合,可以有助于提高 RA 的诊断水平。

[参 考 文 献]

- [1] 张泰春.类风湿性关节炎的基础与临床研究进展[J].中国医药信息导报,2007,22:21.
- [2] 吕方,李兴福.2010 年美国风湿病学会联合欧洲抗风湿病联盟的类风湿关节炎分类标准解读[J].诊断学理论与实践,2010,9(4):307.
- [3] CHO SY, KANG SY, LEE HJ, *et al.* A comparative evaluation of the diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor in rheumatoid arthritis[J]. Korean J Lab Med, 2008, 28(1):39.
- [4] GOLDBACH-MANSKY R, LEE J, MCCOY A, *et al.* Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset[J]. Arthritis Res, 2000, 2(2):236.

- [5] 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.
- [6] 张炯,邹和建,陈宇明,等.抗环瓜氨酸肽抗体和葡萄糖-6-磷酸异构酶抗原对类风湿关节炎诊断价值的比较[J].中华风湿病学杂志,2008,12(1):33.
- [7] VOSSRNAAR ER, DESPRES N, LAPOINTE E, *et al.* Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin [J]. Arthritis Res Ther, 2004, 6(2):1.
- [8] 蒋红英,石青峰.3 种血清指标检测在类风湿关节炎诊断中的应用[J].检验医学与临床,2011,8(11):1322.
- [9] 黄晶,林花,王永新,等.抗环瓜氨酸肽抗体、抗角蛋白抗体、抗核周因子抗体和类风湿因子联合检测在老年类风湿关节炎诊断中的意义[J].中国老年学杂志,2010,30(10):1362.
- [10] 钱龙,史恒星,李向培,等.类风湿关节炎患者血清肽酰基精氨酸脱亚氨酶-4 水平及其意义[J].中华内科杂志,2011,50(2):107.

(本文编辑 周洋)