

# 血清多项自身抗体检测对类风湿关节炎的诊断价值\*

冯婧<sup>1,2</sup>, 喻晓雯<sup>2</sup>, 吴斌<sup>2</sup>, 黄山<sup>3</sup> (1. 贵州医科大学, 贵阳 550000;

2. 重庆市中医院中医药防治自身免疫性疾病重庆市重点实验室, 重庆 400000;

3. 贵州省临床检验中心, 贵阳 550000)

**摘要:**目的 探讨多项自身抗体对类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的诊断价值。方法 检测150例RA组、100例非RA组和100例健康对照组的类风湿因子(rheumatoid factor, RF, 包括IgA-RF, IgG-RF和IgM-RF), 抗环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide, CCP)抗体, 抗角蛋白抗体(anti-keratin antibodies, AKA), 抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)和抗核抗体谱(antinuclear antibody spectrum, ANAs), 比较各自对RA的诊断意义。结果 各指标敏感度分别为IgG-RF(19.3%), ANAs(24.0%), ANA(36.7%), AKA(50.7%), 抗CCP抗体(79.3%), IgA-RF(81.3%), IgM-RF(93.3%); 特异度分别为IgM-RF(55.5%), ANAs(66.0%), ANA(67.5%), IgA-RF(77.0%), IgG-RF(94.5%), 抗CCP抗体(94.5%)和AKA(96.5%); 各指标组间阳性率均存在差异, 且差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。与抗CCP抗体进行一致性分析, Kappa值分别为ANAs(-0.051), ANA(0.130), IgG-RF(0.187), IgM-RF(0.449), AKA(0.482)和IgA-RF(0.628); 受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)的线下面积(area under curve, AUC)分别为IgG-RF(0.704), IgA-RF(0.870), IgM-RF(0.902)和抗CCP抗体(0.909), 自身抗体联合检测, 敏感度和特异度分别为96.0%和99.5%。结论 IgA-RF与抗CCP抗体诊断RA高度一致, 两者均是诊断RA较理想的指标, 联合检测多项自身抗体能提高早期RA诊断准确度, 降低漏诊率和误诊率。

**关键词:** 类风湿因子; 抗环瓜氨酸肽抗体; 抗角蛋白抗体; 抗核抗体; 类风湿关节炎

中图分类号: R593.22; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)05-009-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.05.003

## Diagnostic Value of Serum Multiple Autoantibodies in Rheumatoid Arthritis

FENG Jing<sup>1,2</sup>, YU Xiao-wen<sup>2</sup>, WU Bin<sup>2</sup>, HUANG Shan<sup>3</sup>

(1. Guizhou Medical University, Guiyang 550000, China; 2. the Laboratory of Traditional Chinese Medicine to Prevent and Treat Autoimmune Disease in Chongqing, Chongqing 400000, China; 3. Guizhou Provincial Center for Clinical Laboratory, Guiyang 550000, China)

**Abstract:** **Objective** To explore auto-antibodies for diagnosis of rheumatoid arthritis. **Methods** The rheumatoid factors (IgA-RF, IgG-RF, IgM-RF), anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibody, anti-keratin antibodies (AKA), anti-nuclear antibody (ANA), anti-nuclear antibody spectrum (ANAs), were detected in 150 RA groups, 100 non-RA group, and 100 healthy controls group. **Results** The sensitivity were IgG-RF (19.3%), ANAs (24.0%), ANA (36.7%), AKA (50.7%), anti-CCP (79.3%), IgA-RF (81.3%) and IgM-RF (93.3%) respectively. The specificity were IgM-RF (55.5%), ANAs (66.0%), ANA (67.5%), IgA-RF (77.0%), IgG-RF (94.5%), anti-CCP (94.5%) and AKA (96.5%), and there were significant differences in the positive rates among the indicators, and the differences was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The consistency analysis and dominance analysis of auto-antibodies and anti-CCP antibodies which the in RA group, Kappa were ANAs (-0.051), ANA (0.130), IgG-RF (0.187), IgM-RF (0.449), AKA (0.482) and IgA-RF (0.628) respectively. The ROC curve analysis showed the AUC of IgG-RF, IgA-RF, IgM-RF and anti-CCP antibodies were 0.704, 0.870, 0.902 and 0.909 respectively. By combining detection of various auto-antibodies, the sensitivity and specificity were 96.0% and 99.5% respectively for RA. **Conclusion** IgA-RF and anti-CCP antibody were highly consistent in the diagnosis of RA, both of which are ideal indicators for the diagnosis of RA. Combined detection of multiple autoantibodies can improve the diagnostic accuracy of early RA and reduce the rate of missed diagnosis and misdiagnosis.

**Keywords:** rheumatoid factors; anti-cyclic citrullinated peptide antibody; anti-keratin antibodies; anti-nuclear antibody; rheumatoid arthritis

类风湿关节炎(RA)是一种最常见的自身免疫性疾病(autoimmune diseases, AID), 以手、足小关节的多关节性、对称性、侵蚀性炎症为主要特征, 可

致关节畸形及功能丧失, 并可累及关节以外的其他脏器。RA严重影响人们的生活质量, 早期诊断与合理的治疗对预后和改善生活质量至关重要<sup>[1]</sup>。

\* 基金项目: 重庆市科技局项目基金(NO: cstc2018jxj1130084), 重庆市卫健委项目基金(NO: ZY201801009), 重庆市科技局项目基金(NO: cstc2018jcyjAX0771)。

作者简介: 冯婧(1990—), 女, 研究生在读, 研究方向: 临床检验诊断, E-mail: 312479010@qq.com。

通讯作者: 黄山, E-mail: huangshan263@sina.com。

自身抗体是 RA 的早期诊断依据,常见的有类风湿因子(RF),抗 CCP 抗体和 AKA 等。本文通过分析自身抗体 IgA-RF, IgG-RF, IgM-RF, 抗 CCP 抗体, AKA, ANA, ANAs 与 RA 临床诊断的关系,为临床诊断提供参考依据。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2016 年 1 月~2018 年 7 月重庆市中医院类风湿关节炎患者(RA 组)共 150 例。入组标准:均符合 2010 年美国风湿病协会修订的 RA 诊断标准。其中男性 36 例,女性 114 例,年龄 34~86 岁,平均年龄  $58.2 \pm 11.9$  岁。非 RA 组选自同时期本院住院非 RA 患者,均符合相应疾病的国际诊断标准。本组包括舍格伦综合征 29 例,未分化关节炎 27 例,系统性红斑狼疮 12 例,系统硬化症 11 例,未分化结缔组织病 8 例,银屑病关节炎 5 例,混合性结缔组织病 4 例,强直性脊柱炎 4 例。其中男性 16 例,女性 84 例,年龄 15~85 岁,平均年龄  $53.1 \pm 14.8$  岁。健康对照组 100 例来自同时期本院的健康体检者,其中男性 30 例,女性 70 例,年龄 18~85 岁,平均年龄  $54.8 \pm 10.9$  岁。

1.2 试剂与仪器 试剂均购自德国欧蒙实验诊断试剂有限公司;SYNERGY 酶标仪,LEICA DM500 荧光显微镜;EUROBIotMaster 44 欧蒙印迹仪。

1.3 方法 酶联免疫法检测 RF 和抗 CCP 抗体, RF  $\geq 20$  RU/ml 为阳性,抗 CCP 抗体  $\geq 5$  RU/ml

为阳性。间接免疫荧光法检测 ANA 和 AKA, ANA 1:100 稀释,以 Hep-2 细胞和猴肝为基质,镜下见特异性荧光模型为阳性,AKA 1:10 稀释,以大鼠食管角质层冰冻切片为底物,镜下见特异性板层状荧光为阳性。免疫印迹法检测 ANAs,根据模条颜色深浅判断结果。具体操作严格按照说明书进行。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 进行统计学处理,当  $P < 0.05$  时,差异具有统计学意义。率比较采用  $\chi^2$  检验;一致分析采用 Kappa 检验;对定量资料作受试者特征曲线(receiver operating characteristic, ROC) 计算 ROC 曲线下面积(area under the curve, AUC);联合检测时并联试验检测敏感度,串联试验检测特异度。

## 2 结果

2.1 各指标检测结果、敏感度和特异度分析 见表 1。对 RA 组、非 RA 组和健康对照组三组实验数据进行分析,发现各个组间阳性率均存在差异,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );对各指标敏感度进行比较分析, IgM-RF 的敏感度最高(93.3%),其次为 IgA-RF(81.3%)和抗 CCP 抗体(79.3%),对各指标特异度进行比较分析,结果显示 AKA 的特异度最高(96.5%),其次为抗 CCP 抗体(94.5%)和 IgG-RF(94.5%)。对各指标敏感度和特异度综合性分析,发现 IgA-RF 和抗 CCP 抗体较好。

2.2 各指标与抗 CCP 抗体一致性分析 见表 2。

表 1 各项指标组间阳性率差异、敏感度和特异度

检测项目	阳性率(%)			$\chi^2$	P	敏感度(%)	特异度(%)
	RA 组(n=150)	非 RA 组(n=100)	健康对照组(n=100)				
IgA-RF	81.3	30.0	16.0	120.78	0.00	81.3	77.0
IgG-RF	19.3	9.0	2.0	18.62	0.00	19.3	94.5
IgM-RF	93.3	55.0	34.0	100.11	0.00	93.3	55.5
抗 CCP 抗体	79.3	10.0	1.0	201.87	0.00	79.3	94.5
AKA	50.7	5.0	2.0	105.66	0.00	50.7	96.5
ANA	36.7	54.0	11.0	35.47	0.00	36.7	67.5
ANAs	24.0	57.0	11.0	54.76	0.00	24.0	66.0

表 2 各项指标与抗 CCP 抗体一致性

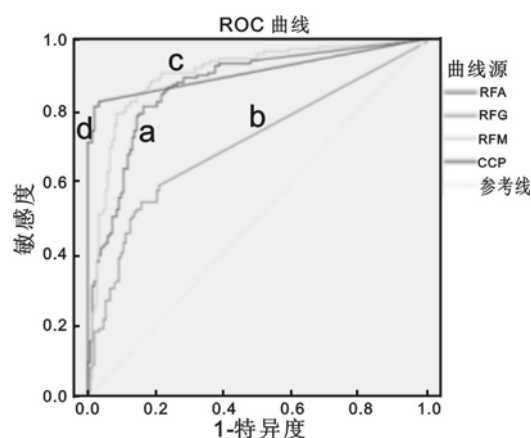
检测项目	$\kappa$	P
IgA-RF	0.628	0.000
IgG-RF	0.187	0.000
IgM-RF	0.449	0.000
AKA	0.482	0.000
ANA	0.130	0.015
ANAs	-0.051	0.334

注: $\kappa < 0.4$  一致性较差,  $0.4 < \kappa \leq 0.6$  为中度一致,  $0.6 < \kappa \leq 0.8$  为高度一致,  $\kappa > 0.8$  一致性极好。

将各指标与抗 CCP 抗体进行 Kappa 一致性分析,发现 IgA-RF 与抗 CCP 抗体高度一致( $\kappa = 0.628$ ); IgM-RF, AKA 与抗 CCP 抗体中度一致( $\kappa$  分别为 0.449, 0.482),其余各项一致性均较差( $\kappa < 0.4$ )。

2.3 定量资料 ROC 曲线及 AUC 值 对定量资料 IgA-RF, IgG-RF, IgM-RF 和抗 CCP 抗体作 ROC 曲线并计算 AUC 值,经分析可知 IgA-RF, IgG-RF 对 RA 的诊断价值中等(AUC 分别为

0.870, 0.704), IgM-RF, 抗 CCP 抗体对 RA 的诊断价值较高(AUC 分别为 0.902, 0.909)。



注: AUC 0.5~0.7 为诊断价值较差, 0.7~0.9 为诊断价值中等, >0.9 为诊断价值较高。

图1 IgA-RF, IgG-RF, IgM-RF 和抗 CCP 抗体诊断 RA 的 ROC 曲线

2.4 各指标联合检测的敏感度和特异度 见表3。随着 RF, 抗 CCP 抗体, AKA, ANA 和 ANAs 联合项目的增加, 敏感度和特异度也随之上升, 敏感度最高可达 96.0%, 特异度最高可达 99.5%。

表3 各项指标联合检测敏感度和特异度(%)

检测项目	敏感度	特异度
RF <sup>△</sup>	94.7	98.0
RF <sup>△</sup> +抗 CCP 抗体	94.7	99.0
RF <sup>△</sup> +抗 CCP 抗体+AKA	95.3	99.0
RF <sup>△</sup> +抗 CCP 抗体+AKA+ANA	95.3	99.0
RF <sup>△</sup> +抗 CCP 抗体+AKA+ANA+ANAs	96.0	99.5

注: <sup>△</sup>: IgA-RF, IgG-RF, IgM-RF 联合检测。

3 讨论 RF 是一组能够识别变性免疫球蛋白 IgG Fc 段的自身抗体, 包括 IgA-RF, IgG-RF 和 IgM-RF 三种亚型, 是美国风湿病协会(American college of rheumatology, ACR)的诊断标准之一<sup>[2]</sup>。RF 不仅存在于 RA 患者中, 也存在于其他自身免疫性疾病(如舍格伦综合征、系统性红斑狼疮、混合性结缔组织疾病等)和健康人中<sup>[3]</sup>。由于传统诊断标准<sup>[2]</sup>对 RA 的早期诊断价值有限, 2010 年 ACR 与欧洲抗风湿病联盟(European league against rheumatism, EULAR)共同制定了 RA 诊断分类的新标准, 将抗 CCP 抗体列为新的血清学标志物<sup>[1]</sup>。有研究提出抗 CCP 抗体较 RF 出现更早, 抗 CCP 抗体阳性患者关节损害更严重、预后较差, 其已成为诊断早期 RA 和侵蚀性关节损害的特异性指标<sup>[4]</sup>。在本研究中抗 CCP 抗体具有较高的

敏感度、特异度与文献报道相符<sup>[1,5]</sup>, 对抗 CCP 抗体进行 RA 诊断准确度分析, 其 AUC 为 0.909 具有较高诊断价值, 可见抗 CCP 抗体可作为诊断 RA 的一个较理想的指标。经分析发现 IgA-RF 具有较好的敏感度和特异度, 高于相关报道<sup>[6-7]</sup>, 其在诊断 RA 方面和抗 CCP 抗体高度一致, 还具有中等的诊断价值, 高于 AHMED 等<sup>[6]</sup>人的报道, 并且 JONSSON 等<sup>[7-9]</sup>学者认为 IgA-RF 和 RA 的关节外表现(类风湿结节、舍格伦综合征)存在显著相关性, 所以 IgA-RF 阳性值得临床重视。分析本实验结果发现 IgG-RF 在三组的阳性率均很低, 敏感度低于文献报道<sup>[7-8,110]</sup>, 但具有中等的诊断价值, 其原因有待进一步研究。此外, 在本研究中 IgM-RF 特异度最低, 但敏感度和 AUC 均高于国内外报道<sup>[6-11]</sup>。

近年来研究发现, AKA 和抗核周因子抗体的靶抗原为丝集蛋白, 该抗原位点用于合成 CCP, 所以也有学者认为抗 CCP 抗体是以上两种自身抗体共同靶抗原位点, 可以替代 APF 及 AKA<sup>[3]</sup>。但通过分析本实验中抗 CCP 抗体和 AKA 的一致性, 发现两者中度一致, 故认为抗 CCP 抗体不能替代 AKA。在本研究中 AKA 的敏感度和特异度与报道<sup>[10-13]</sup>不一致, 可能是因为在本次实验中运用间接免疫荧光法检测 AKA, 实验室之间的判读存在差异。随着研究的深入, 有文献报道<sup>[13-14]</sup> ANA 和 ANAs 在 RA 患者血液中阳性率也较高, 本研究与报道相符, 而敏感度和特异度存在差异, 可能是间接免疫荧光法的判读对 ANA 结果的影响, 此外, ANAs 抗原不同结果亦会有差异。有学者<sup>[13-14]</sup>发现 ANA 阳性的 RA 患者预后较差, 因此 ANA 阳性的 RA 患者, 值得临床重视。单独检测任何一种自身抗体对诊断 RA 均存在局限性, 因此, 通过对比实验结果发现, 联合检测 RF, 抗 CCP 抗体, AKA, ANA 和 ANAs 敏感度和特异度均明显高于单一抗体检测, 并且与相关报道结果相符<sup>[12-13,15]</sup>, 所以, 联合检测自身抗体能减少漏诊和误诊, 提高 RA 的早期诊断准确度。

综上所述, IgA-RF 与抗 CCP 抗体诊断 RA 高度一致, 两者各自诊断价值较高; 单独检测任何一种自身抗体均存在局限性, 联合检测 RF, 抗 CCP 抗体, AKA, ANA 和 ANAs 可以提高 RA 早期诊断准确度, 降低漏诊率和误诊率。

#### 参考文献:

- [1] MATUSZEWSKA A, MADEJ M, WILAND P. Immunological markers of rheumatoid arthritis [J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2016, 70:251-257.

(下转 15 页)