

[文章编号] 1674-8115(2013)03-0323-04

· 论 著 ·

血清抗环瓜氨酸肽抗体水平对幼年特发性关节炎的诊断价值

郭桂梅, 何威逊, 朱光华, 王娟

(上海市儿童医院 上海交通大学附属儿童医院肾脏风湿科, 上海 200040)

[摘要] **目的** 探讨血清抗环瓜氨酸肽(anti-CCP)抗体对幼年特发性关节炎(JIA)的诊断价值。**方法** 采用ELISA法对68例因不明原因发热和关节痛疑诊为JIA患儿进行血清anti-CCP抗体水平检测,并结合临床资料及相关实验室检查指标进行综合分析。**结果** 68例疑诊JIA患儿中,多关节型JIA 10例,全身型JIA 13例,少关节型JIA 8例,与附着点炎症相关的JIA 13例;其他风湿性疾病11例,血液与肿瘤疾病8例,感染性疾病5例。多关节型JIA患儿的血清anti-CCP水平显著高于全身型、少关节型和附着点炎症相关的JIA患儿,差异有统计学意义($P < 0.05$)。以血清anti-CCP抗体 ≥ 15.8 RU/mL为阳性阈值,根据受试者工作特征(ROC)曲线计算曲线下面积为0.80,其对多关节型JIA诊断的敏感度为80%,特异度为67.6%。多关节型JIA患儿血清anti-CCP水平与血清C反应蛋白水平呈正相关($r = 0.764, P = 0.017$)。**结论** 血清anti-CCP可作为临床诊断多关节型JIA的血清学指标之一,15.8 RU/mL是较为适宜的诊断界限值。

[关键词] 抗环瓜氨酸肽抗体;幼年特发性关节炎;受试者工作特征曲线;诊断

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2013.03.014

[中图分类号] R593.2; R44

[文献标志码] A

Significance of serum anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in diagnosis of juvenile idiopathic arthritis

GUO Gui-mei, HE Wei-xun, ZHU Guang-hua, WANG Juan

(Department of Nephrology and Rheumatology, Children's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200040, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical significance of serum anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in diagnosis of juvenile idiopathic arthritis (JIA). **Methods** Serum anti-CCP antibodies of 68 children suspected of JIA with fever and arthritis of unknown causes were determined by ELISA, and comprehensive analysis was carried out with clinical data and related laboratory findings. **Results** Among the 68 children suspected of JIA, there were 10 cases of polyarticular JIA, 13 cases of systemic onset JIA, 8 cases of oligoarticular JIA and 13 cases of enthesitis related JIA. There were 11 cases of other rheumatoid diseases, 8 cases of neoplastic diseases of blood and 5 cases of infectious diseases. The serum anti-CCP level in children suspected of polyarticular JIA was significantly higher than those in children suspected of systemic onset JIA, oligoarticular JIA and enthesitis related JIA ($P < 0.05$). With serum anti-CCP ≥ 15.8 RU/mL as the positive threshold value, the area under receiver operating characteristic curve was 0.80, and the sensitivity and specificity in diagnosis of polyarticular JIA were 80% and 67.6% respectively. The serum anti-CCP level was positively related to serum C-reaction protein level in children suspected of polyarticular JIA ($r = 0.764, P = 0.017$). **Conclusion** Serum anti-CCP can be used for the diagnosis of polyarticular JIA, and 15.8 RU/mL may be a suitable cut-off level.

[Key words] anti-cyclic citrullinated peptide antibodies; juvenile idiopathic arthritis; receiver operating characteristic curve; diagnosis

抗环瓜氨酸肽(anticyclic citrullinated peptide antibody, anti-CCP)抗体是环状聚丝蛋白的多肽片段,是以IgG型为主的一种自身抗体。2000年国外首次报道抗CCP抗体的检测对成人风湿性关节炎

(rheumatoid arthritis, RA)的诊断具有良好的敏感性和特异性,阳性者通常出现严重的关节骨质破坏,是新的RA血清学标志物。与成人RA不同,JIA临床表现和实验室检测结果呈现多样性,且不局限于关

[作者简介] 郭桂梅(1971—),女,副主任医师,博士;电子邮箱:chengguimei@126.com。

节病变,提示 JIA 是一种异质性疾病,血清 anti-CCP 是否适用于 JIA 的诊断尚不明确。本研究通过对以发热和关节痛为主要表现的患儿进行血清 anti-CCP 水平检测,了解血清 anti-CCP 在各型 JIA 患儿中的分布情况,初步探讨 anti-CCP 对 JIA 诊断的应用价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2008 年 9 月—2010 年 8 月,在上海交通大学附属儿童医院肾脏风湿科病房和门诊就治的疑诊 JIA 患儿 68 例,其中男性 42 例,女性 26 例,平均年龄(8.1 ± 4.1)岁,病程(5.5 ± 3.8)个月,均为该院初诊患者。样本采集时,患儿均处于疾病急性期,部分仅接受过非甾体抗炎药治疗。JIA 的分类标准与临床分型依据国际风湿病学联盟(ILAR)儿科专家组修正的 JIA 分类标准^[1]。本研究经本院伦理委员会批准,所有样本采集均获受试对象及家长知情同意。

1.2 血清 anti-CCP 抗体水平检测

采用 ELISA 法检测血清 anti-CCP 抗体水平,严格按照试剂盒(上海富苑科芯生物技术公司)说明书进行操作。步骤简述如下:空腹采集外周血,分离血清, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。检测时用样品稀释缓冲液按 1:50 比例稀释。包被好的微孔板条放置在酶标板架上,将待测血清、标准品和对照品加入反应孔,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$,封板膜封好,室温($20\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$)温育 1 h;洗板 3 次后,加入酶标抗体,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$,室温下温育 30 min;洗板 5 次,显色,室温下避光反应 30 min;每孔加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 终止液,轻轻震荡混匀,终止反应。采用酶标检测仪于波长 450 nm 处读出吸光度值,绘制标准曲线,应用相对单位(RU/mL)进行定量测定。结果判定:anti-CCP 抗体 $< 25\text{ RU/mL}$ 为阴性,anti-CCP 抗体 $\geq 25\text{ RU/mL}$ 为阳性。

1.3 炎症指标检测

所有患儿同时检测红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)和血清 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平,若 $\text{ESR} > 20\text{ mm/h}$, $\text{CRP} > 8\text{ mg/L}$,则提示异常。

1.4 统计学方法

采用 SPSS Version 13.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以例数和百分率表示。对相关指标的比较和分析,分别采用方差齐性分析、*t* 检验和直线相关性分析;绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料

68 例疑诊 JIA 患儿中, JIA 44 例,其中多关节型 JIA 10 例,全身型 JIA 13 例,少关节型 JIA 8 例,与附着点炎症相关的 JIA 13 例;另外,其他风湿性疾病患儿 11 例(8 例系统性红斑狼疮,3 例川崎病),8 例为血液/肿瘤疾病(急性淋巴细胞白血病 4 例,淋巴瘤 3 例,嗜血组织细胞增多症 1 例),感染性疾病 5 例(3 例骨髓炎,1 例软组织感染,1 例 EB 病毒感染)。

2.2 血清 anti-CCP 抗体检测结果

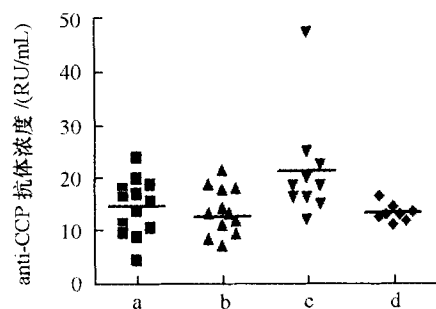
68 例患儿中,仅 2 例($2/68, 2.9\%$) JIA 患儿的血清 anti-CCP 抗体阳性($\geq 25\text{ RU/mL}$)占 JIA 患儿的 4.55%,临床分型为多关节型 JIA。统计学分析结果显示:JIA 患儿血清 anti-CCP 抗体水平与其他风湿性疾病、血液/肿瘤疾病和感染性疾病患儿比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 1)。

在 44 例 JIA 患儿中,多关节型 JIA 患儿的血清 anti-CCP 抗体浓度为(21.08 ± 3.14)RU/mL,与全身型 JIA 的(12.53 ± 1.59)RU/mL、少关节型 JIA 的(13.14 ± 0.59)RU/mL 和与附着点炎症相关的 JIA 的(14.34 ± 1.50)RU/mL 相比,多关节型 JIA 患儿血清 anti-CCP 抗体水平明显增高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)(图 1)。

表 1 血清 anti-CCP 抗体浓度及阳性率

Tab 1 Concentrations and positive rates of serum anti-CCP antibodies

病种	n	浓度/(RU/mL)	阳性率/%
JIA	44	15.12 ± 7.04	4.55
其他风湿性疾病	11	14.31 ± 4.00	0
血液与肿瘤疾病	8	15.36 ± 3.97	0
感染性疾病	5	13.82 ± 2.50	0



注: a 为附着点炎症相关的 JIA, b 为全身型 JIA, c 为多关节型 JIA, d 为少关节型 JIA。

图 1 不同类型 JIA 患儿血清 anti-CCP 浓度的检测结果

Fig 1 Serum anti-CCP concentrations in children with different types of JIA

2.3 血清 anti-CCP 抗体对多关节型 JIA 诊断的特异度和敏感度

以血清 anti-CCP 抗体 ≥ 15.8 RU/mL 为阳性阈值,根据 ROC 曲线计算曲线下面积为 0.80,对多关节型 JIA 诊断的敏感度为 80%,特异度为 67.6%,约登指数为 0.476(图 2)。

2.4 多关节型 JIA 患儿血清 anti-CCP 抗体与 ESR 和 CRP 的相关性

多关节型 JIA 患儿血清 anti-CCP 抗体水平与 ESR 无相关性($r=0.284, P>0.05$),与 CRP 呈显著正相关($r=0.764, P=0.017$)(图 3)。

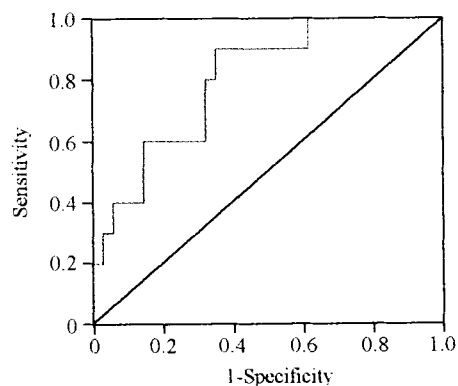


图 2 多关节型 JIA 患儿 anti-CCP 抗体 ROC 曲线

Fig 2 ROC curve for anti-CCP antibodies in polyarticular JIA

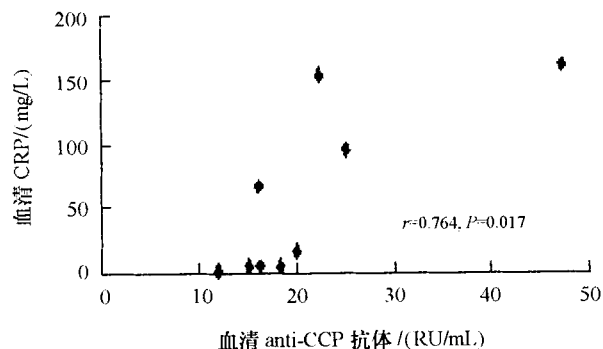


图 3 血清 anti-CCP 抗体与 CRP 的相关性

Fig 3 Correlation between serum anti-CCP and CRP

3 讨论

1998 年 Schellekens 和 Girbal Neuhause 通过对基因文库中各个序列号的 filaggrin 氨基酸进行分析,合成了以瓜氨酸代替精氨酸的约 20 个氨基酸残基的肽链,并证实瓜氨酸是 RA 患者血清中抗 filaggrin 相关抗体识别的主要抗原决定簇。随后将一条由 19 个氨基酸残基组成的瓜氨酸肽链中的两个丝氨酸替换为半胱氨酸,形成与 β -转角具有相似结构的二硫键,合成环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide, CCP)。采用环瓜氨酸肽为抗原基质用 ELISA 法检

测 RA 患者血清中 anti-CCP 抗体的水平,在疾病的早期阶段即可出现阳性,可以作为判断 RA 病情的生物学标记。

成人的 RA 大多数仅表现为关节的病变,可导致关节畸形和残疾,anti-CCP 抗体阳性的 RA 患者预后不佳,发展为严重关节损害的概率高于 anti-CCP 抗体阴性的患者。Manivelavan 等^[2]对 60 例 RA 患者进行分组,评价疾病活动性,提出 anti-CCP 抗体不仅是 RA 的早期诊断指标,而且是鉴别侵蚀性、非侵蚀性 RA 的灵敏指标。anti-CCP 抗体对 RA 的病情严重程度以及快速的放射学进展(rapid radiographic progression, RRP)有预测价值^[3,4]。高滴度的 anti-CCP 抗体与 ACR 疾病活动指数一致^[5]。对 298 例有关节病变的系统性红斑狼疮(SLE)患者的研究^[6]发现,发生关节侵蚀改变组血清 anti-CCP 抗体水平明显增高。儿童 JIA 是影响多器官系统的全身性疾病,临床表现不一,其中仅多关节型 JIA 的临床发展和实验室指标与 RA 较为一致,提示 RA 的早发病状态。JIA 患儿早期骨关节病变不明显,如能得到及时、有效的治疗,发生关节严重损毁的概率较低。JIA 患儿 anti-CCP 抗体检出率很低。Tebo 等^[7]检测了 334 例 JIA 患者,anti-CCP 抗体阳性率为 14.3%。本研究中的患儿都处于疾病急性期,因发热、关节痛表现就诊,无关节严重破坏,JIA 患儿血清 anti-CCP 抗体的阳性率总体来说较低,仅 2 例(2/68, 2.9%)患儿血清 anti-CCP 抗体水平增高。JIA 患儿血清 anti-CCP 抗体水平与其他风湿性疾病患儿相比,差异无统计学意义。进一步根据 JIA 患儿的临床表现进行分型,发现 10 例多关节型 JIA 患儿血清 anti-CCP 抗体含量明显高于其他类型的 JIA 患儿,提示血清 anti-CCP 抗体可以为多关节型 JIA 的诊断提供线索。

血清 anti-CCP 抗体阳性主要见于 IgM RF(+) 的多关节型 JIA 以及关节侵蚀或关节腔狭窄破坏的患儿^[8,9]。与全身型 JIA 相比,多关节型 JIA 患儿血清 anti-CCP 抗体明显增高,关节腔狭窄和软骨下骨囊性变更常见^[10]。Gilliam 等^[11]认为血清中 IgG 型 anti-CCP 抗体对多关节型 JIA 表现出最高的阳性预测值(positive predictive value, PPV),特别是在 RF(+)组,其敏感度为 56.3%,而特异度达到 93.9%,是 JIA 关节损害的独立危险因素。本研究中的病例,根据 ROC 曲线计算曲线下面积,以血清 anti-CCP 抗体 ≥ 15.8 RU/mL 为阳性阈值,对多关节型 JIA 诊断的敏感度为 80%,特异度为 67.6%。血清 anti-CCP 抗体可以作为临床诊断多关节型 JIA 的血清学指标

之一,15.8 RU/mL可能是比较适宜的诊断界限值。

ESR和CRP是临床上监测JIA患儿炎症反应状态和判断疾病严重程度最常用的指标,回归分析发现CRP与JIA患儿滑膜炎相关^[12]。本研究中多关节型JIA组患儿血清anti-CCP抗体含量与CRP呈显著正相关,而与ESR水平无显著相关。因此,血清anti-CCP抗体与CRP有望作为评价多关节型JIA病情的生物学指标组合。

本研究对血清anti-CCP抗体对JIA的诊断意义进行了初步探讨。来自欧洲的大样本研究发现,anti-CCP抗体阳性的RA患者应用生物制剂abatacept(细胞毒T淋巴细胞抗原-4抗体,CTLA-4Ig)治疗效果良好^[13],而anti-CCP抗体阴性的早期RA患者对关节腔局部注射倍他米松的反应较差^[14]。anti-CCP抗体在多关节型JIA患儿关节损害中的作用以及对治疗反应的预测价值还有待长期、大样本及多中心的随访研究加以证实。

[参考文献]

- [1] Petty RE, Southwood TR, Manners P, et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001 [J]. 2004, 31(2): 390-392.
- [2] Manivelavan D, C K V. Anti-cyclic citrullinated Peptide antibody: an early diagnostic and prognostic biomarker of rheumatoid arthritis [J]. J Clin Diagn Res, 2012, 6(8): 1393-1396.
- [3] Visser K, Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, et al. A matrix risk model for the prediction of rapid radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis receiving different dynamic treatment strategies: post hoc analyses from the BeSt study [J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(7): 1333-1337.
- [4] Shidara K, Inoue E, Hoshi D, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody predicts functional disability in patients with rheumatoid arthritis in a large prospective observational cohort in Japan [J]. Rheumatol Int, 2012, 32(2): 361-366.
- [5] Khan AH, Jafri L, Hussain MA, et al. Diagnostic utility of anti-citrullinated protein antibody and its comparison with rheumatoid factor in rheumatoid arthritis [J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2012, 22(11): 711-715.
- [6] Taraborelli M, Inverardi F, Fredi M, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in systemic lupus erythematosus patients with articular involvement: a predictive marker for erosive disease? [J]. Reumatismo, 2012, 64(5): 321-325.
- [7] Tebo AE, Jaskowski T, Davis KW, et al. Profiling anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with juvenile idiopathic arthritis [J]. Pediatr Rheumatol Online J, 2012, 10(1): 29.
- [8] van Rossum M, van Soesbergen R, de Kort S, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis [J]. J Rheumatol, 2003, 30(4): 825-828.
- [9] Gupta R, Thabab MM, Vaidya B, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis [J]. Indian J Pediatr, 2010, 77(1): 41-44.
- [10] Ozawa R, Inaba Y, Mori M, et al. Definitive differences in laboratory and radiological characteristics between two subtypes of juvenile idiopathic arthritis: systemic arthritis and polyarthritis [J]. Mod Rheumatol, 2012, 22(4): 558-564.
- [11] Gilliam BE, Reed MR, Chauhan AK, et al. Evidence of fibrinogen as a target of citrullination in IgM rheumatoid factor-positive polyarticular juvenile idiopathic arthritis [J]. Pediatr Rheumatol, 2011, 9(1): 8-17.
- [12] Gilliam BE, Chauhan AK, Low JM, et al. Measurement of biomarkers in juvenile idiopathic arthritis patients and their significant association with disease severity: a comparative study [J]. Clin Exp Rheumatol, 2008, 26(3): 492-497.
- [13] Gottenberg JE, Ravaud P, Cantagrel A, et al. Positivity for anti-cyclic citrullinated peptide is associated with a better response to abatacept: data from the 'Orencia and Rheumatoid Arthritis' registry [J]. Ann Rheum Dis, 2012, 71(11): 1815-1819.
- [14] Hetland ML, Østergaard M, Ejbjerg B, et al. Short- and long-term efficacy of intra-articular injections with betamethasone as part of a treat-to-target strategy in early rheumatoid arthritis: impact of joint area, repeated injections, MRI findings, anti-CCP, IgM-RF and CRP [J]. Ann Rheum Dis, 2012, 71(6): 851-856.

[收稿日期] 2012-10-08

[本文编辑] 王淑平