

· 专题笔谈 ·

类风湿关节炎免疫学诊断方法及其临床意义

邵晓凤 栗占国

类风湿关节炎(RA)是一种以慢性破坏性多关节炎为主要表现的全身性自身免疫病。以双手、腕、膝、踝和足关节的对称性多关节炎为主,可伴有发热、贫血、皮下结节及淋巴结肿大等关节外表现,血清中可出现多种自身抗体。RA的发病为抗原驱动、T淋巴细胞介导,且与遗传相关的过程。但迄今为止,RA病因和发病机制尚不完全明确,而且缺乏特异性诊断方法。

近年来,RA的免疫学诊断方法发展较快,诸如抗角蛋白抗体(AKA)、抗核周因子抗体(APF)、抗聚丝蛋白抗体(AFA)、抗RA-33以及抗P68等自身抗体的发现,使临床对RA的诊断率显著提高。现在,这些发现已受到风湿(免疫)专科医师的关注,并被广泛应用于临床(表1)。此外,在不典型RA中,尤其是早期和老年RA患者中,这些自身抗体也具有重要的诊断意义;同时,若RA患者具有高滴度自身抗体或者抗体谱较广,往往提示病情较重,也说明这些自身抗体对临床预后评估及指导用药有很好的参考价值。现将近年新发现的这些自身抗体及其临床意义介绍如下。

表1 类风湿关节炎血清中主要自身抗体的评价情况

抗体	敏感度(%)	特异度(%)
RF	60~78	76~86
APF	49~86	78~90
AKA	33~73	87~95
AFA	36~54	94~99
抗CCP抗体	42~72	97~99
抗Sa抗体	27~40	79~98
抗RA33抗体	25~47	85~99
ACF	56~67	85~93
抗P68抗体	35~64	91~93
Cit-C II抗体	50~88	90~94
MCV	70~82	91~95

注:RF:类风湿因子;CCP:抗环瓜氨酸多肽抗体;ACF:抗瓜氨酸化纤维蛋白原抗体;Cit-C II:瓜氨酸化II型胶原;MCV:抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体

一、类风湿关节炎主要自身抗体的性质及临床意义

1. 隐性类风湿因子(hidden rheumatoid factor, HRF): HRF是与自身IgG结合而活动被隐蔽的RF,常规检测IgM-RF的方法不能测出。研究发现,RF阴性的RA患者HRF高达65%~75%,且抗体存在与疾病活动有关。国内何菁等^[1]报道,HRF在活动性RA患者中敏感度为59%,特异度为88%,提示HRF可显著提高RF的检出率。

2. APF:APF是抗人颊黏膜上皮细胞核周颗粒的抗体,主要是IgG型,可通过间接免疫荧光方法检测。APF在RA患者中的敏感度为48.6%~86%,特异度为72.7%~90%^[2]。APF与AKA密切相关,绝大多数AKA阳性患者,血清APF也阳性。RA早期即可出现APF,许多RF阴性患者APF亦可为阳性,该类患者往往预后差。

3. AKA:AKA是以大鼠食管上皮为底物,用间接免疫荧光法检测到的一种抗体。AKA在RA中的阳性率为33%~73%,特异度为87%~95%。早期RA患者,甚至在确诊前数年即可出现AKA阳性。AKA阳性与RF和抗RA33/RA36抗体无关,因此该抗体可对RF阴性或抗RA33/RA36抗体阴性的RA患者提供诊断指标,且与疾病活动性及严重程度有关。

4. AFA:近年研究发现,RA患者血清中有一种抗人表皮细胞提取的聚丝蛋白(filaggrin)的抗体,即AFA。该抗体敏感度为35.9%~54.0%,特异度为93.7%,尤其对RA早期诊断很有价值。

5. CCP:人们在研究AKA、APF过程中发现,瓜氨酸是抗聚丝蛋白相关抗体识别的主要组成性抗原决定簇成分,后人工合成了抗环瓜氨酸抗体^[3]。ELISA法检测该抗体在RA中敏感度为41.7%~68.0%,特异度为99%^[4]。至少70%RA患者在疾病早期即可出现该抗体。

6. 抗Sa抗体(anti-Sa antibody):在RA患者血清、滑液及人体正常组织,如脾和胎盘中富含抗Sa抗体的靶抗原。随后Vossenaar等^[5]研究表明,抗Sa抗体主要靶抗原是瓜氨酸波形蛋白。抗Sa抗体在RA中敏感度为27%~40%,在早期RA的敏感度为23.5%,特异度为79%~98%^[6-7]。抗Sa抗体阳性组晨僵及关节受累较重,ESR增高,故抗Sa抗体可用于早期诊断,其滴度与疾病的活动性相关。Hayem等研究表明,抗Sa抗体与HLA-DRB1*0401有很强相关性,二者同时出现提示RA病情较严重^[8]。抗Sa抗体与RF、AKA、APF均有相关性,但与RA33无相关性。

7. 抗RA-33/36(anti-RA33/36 antibody):抗RA-33是对Hela细胞的核蛋白产生的特异性抗体,靶抗原是相对分子质量为33000的核蛋白,与hnRNP有交叉反应。抗RA-33在早期RA中可以出现,其特异度可高达99%,敏感度为35.8%。抗RA-33滴度消长与病情及用药无关。通常RA33总与RA-36同时出现,而后者更具特异性。

8. ACF:研究发现,蛋白质的瓜氨酸化可能与RA的自身T淋巴细胞活化、抗体形成和炎症反应密切相关^[9-10]。Nielen等^[11]对ACF在早期关节炎中的诊断和预后价值进行

研究,证实 ACF 在 RA 中的敏感度(55.8%)和特异度(92.6%)与抗 CCP 抗体相近,而且在对 RA 早期诊断的敏感度高于 IgM-RF,并与 RA 的影像学进展相关。国内赵义等^[12]报道,ACF 对 RA 的敏感度、特异度分别为 67.21% 和 84.84%,并与 ESR、抗 CCP 抗体、AKA 相关。

9. 抗 P68 抗体(anti-P68 antibody):抗 P68 抗体也称抗内质网免疫球蛋白结合蛋白(binding protein, Bip)抗体,是 Blass 等^[13]从滑膜总蛋白成分中分离出的一种与 RA 相关的糖蛋白成分(GPR),相对分子质量为 68 000,属于热休克蛋白 HSP70 家族,命名为 P68。国内孙晓云等^[14]报道,该抗体在 RA 患者中的敏感度为 67.8%,特异度为 91.3%,在早期 RA 患者中的阳性率为 54%,该抗体且与病程、RF、双手 X 线分期等相关。

10. 抗瓜氨酸化 II 型胶原抗体(anti-citrullinated collagen type II):II 型胶原(C II)是关节内的主要蛋白成分之一。许多研究证实,II 型胶原参与 RA 病理过程。国内田昕等^[15]研究瓜氨酸化 II 型胶原结果显示,C II 经瓜氨酸化后,RA 血清对其敏感度从 33.7% 提高到 50.3%,特异度从 80.3% 提高到 90.0%。并且发现,瓜氨酸化的 C II 肽与抗 CCP 抗体有一定的相关性,与国外 Burkhardt 等^[16]研究结果一致。提示抗瓜氨酸化 II 型胶原及其抗体可能在 RA 发病及病理过程中发挥重要作用。

11. 抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体(anti-mutated citrullinated vimentin antibody, MCV):波形蛋白经由肽酰精氨酸亚氨酶(PAD)的瓜氨酸化后蛋白结构发生变化,增加了潜在的蛋白决定簇(瓜氨酸),与 CCP 抗体相比较,特异度和敏感度均提高。Bang 等^[17]检测 1 149 例 RA 患者的 MCV,结果显示,抗 MCV 抗体在 RA 患者的特异度为 95%,敏感度为 82%。同时,发现抗 MCV 抗体滴度与疾病活动性相关,因此认为在诊断准确性及预后判断上都占有优势。国内冯蕊等最近研究显示,抗 MCV 在 RA 患者中敏感度为 78%,特异度为 95%,与国外报道结果相似^[18]。

二、类风湿关节炎自身抗体的研究及展望

RA 是抗原驱动、T 淋巴细胞介导的全身性自身免疫病。目前认为,感染和自身免疫反应是 RA 发病的中心环节,自身抗原处于 RA 发病的始动环节,是 RA 发病机制的关键,但驱动关节炎的抗原性质尚未明确,越来越多的资料表明自身抗原在 RA 发病机制中起着驱动关节炎和软骨破坏的关键作用。故自身抗体的研究和发展对 RA 的诊断和治疗及探索发病机制均有重要意义。

近年来,关于自身抗原的研究发展很快,不少学者通过蛋白印迹法及双向电泳等方法寻找 RA 发病的相关自身抗原。以双向电泳和生物质谱技术为核心的蛋白质组学研究手段,以及噬菌体展示技术已应用于 RA 致病机制的探索。本实验室安媛等通过对血清蛋白质差异比较,发现早期 RA 中髓系相关蛋白(MRP)14、MRP8、血清淀粉样蛋白(SA)A1、SAA2 和泛素含量明显高于正常人,从而认为 MRP14 / MRP8, SAA1/SAA2 和泛素可能在 RA 致病过程中发挥作

用^[19]。李茹等^[20]成功构建了高质量的 RA 滑膜 T7 噬菌体展示 cDNA 文库,为下一步 RA 自身抗原的筛选奠定了基础。

目前已发现多种自身抗原通过诱导免疫反应、促进炎症发生、发展等参与 RA 的发病。例如,人软骨糖蛋白(HCgp)-39 在 RA 患者的关节软骨及滑膜高表达,并与病情活动相关^[21]; II 型胶原可诱发胶原性关节炎,并与许多细菌和病毒存在共同表位,与 RA 活动及侵袭性有关;聚合素(aggrecan)在 RA 患者中降解加速,可能导致关节软骨的破坏;P68 可刺激 RA 患者外周血及滑液 T 淋巴细胞增生;钙蛋白酶抑制剂(calpastatin)是钙蛋白酶的天然抑制剂,RA 中钙蛋白酶抑制剂对钙蛋白酶的抑制作用减弱,从而导致软骨基质降解,最终引起关节破坏;葡萄糖 6-磷酸异构酶(GPI)及 GPI 抗体在 RA 患者中高表达,RA 关节软骨表面有 GPI 的线性沉积及 GPI-抗-GPI 免疫复合物沉积,关节沉淀的 GPI 免疫复合物可激活补体替代途径,GPI 还可介导炎细胞向关节局部迁移。这些抗原研究均提示关节外抗原是启动引起特异性关节病变的机制之一^[22]。

而抗瓜氨酸化蛋白抗体(ACPA)则成为最近研究的热点。有关瓜氨酸化如何打破自身耐受而发生免疫损伤的机制尚待研究,推测此过程可能与遗传因素相关,最近的研究发现瓜氨酸化的肽比非瓜氨酸肽更易与 DR₄ 分子结合,并能明显激活 HLA-DRB1 * 0401 转基因鼠的 CD₄⁺ T 淋巴细胞,从而诱发自身免疫反应^[10]。Suzuki 等^[23]对日本人群的大样本病对照研究发现,肽酰基精氨酸脱亚氨酶(PAD) IV 基因上的单一核苷酸多态性与 RA 有显著的相关性。以上研究说明瓜氨酸化蛋白可能通过 HLA-DR、PAD 等遗传因素的参与介导了 RA 的发病。

综上所述,新的 RA 相关抗原及其抗体的研究将在分子水平对认识 RA 的发病机制产生重要影响。

参 考 文 献

- [1] 何菁,贾汝琳,韩蕾,等. 隐性类风湿因子在类风湿关节炎诊断中的意义. 中华风湿病学杂志, 2001, 5: 24-27.
- [2] Veys EM, De keyser F, DE Vlam K, et al. The antiperinuclear factor. Clin. Exp Rheumatol, 1991, 8: 429-432.
- [3] Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. Arthritis Rheum, 2000, 43: 155.
- [4] Pinheiro GC, Scheinberg MA, Aparecida DS, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in advanced rheumatoid arthritis. Ann Intern Med, 2003, 139: 234.
- [5] Vossenaar ER, Despres N, Lapointe E, et al. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. Arthritis Res Ther, 2004, 6: R142-150.
- [6] El-Gabalawy HS, Wilkins JA. Anti-Sa antibodies: prognostic and pathogenetic significance to rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther, 2004, 6: 86-89.
- [7] 许尚栋,唐福林,史立. 抗 Sa 抗体在类风湿关节炎中的意义. 中华内科杂志, 1998, 37: 330-332.
- [8] Hayem G, Chazerain P, Combe B, et al. Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult arthritis. J Rheumatol, 1999, 26: 7-13.
- [9] Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, et al. PAD,

- agrowing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays*, 2003, 25:1106-1118.
- [10] Hill JA, Southwood S, Sette A, et al. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1 * 0401MHC class II molecule. *J Immunol*, 2003, 171:538-541.
- [11] Nielen MM, van der Horst AR, van Schaardenburg D, et al. Antibodies to citrullinated human fibrinogen (ACF) have diagnostic and prognostic value in early arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64:1199-1204.
- [12] 赵义, 田昕, 栗占国. 抗瓜氨酸化纤维蛋白原抗体的检测及其在类风湿关节炎中的临床意义. *北京大学学报*, 2006, 38:350.
- [13] Blass S, Specker C, Lakomek HJ, et al. Novel 68 kDa autoantigen detected by rheumatoid arthritis specific antibodies. *Ann Rheum Dis*, 1995, 54:355-360.
- [14] 孙晓云, 穆荣, 栗占国. 抗 p68 抗体的检测及其在类风湿关节炎中的意义. *中华风湿病学杂志*, 2004, 8:528-530.
- [15] 田昕, 毕黎琦, 栗占国. 抗瓜氨酸化 II 型胶原抗体的检测及其与类风湿关节炎的相关性研究. *中华医学杂志*, 2006, 86:2334.
- [16] Burkhardt H, Sehnert B, Bockermann R, et al. Humoral immune response to citrullinated collagen type II determinants in early rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol*, 2005, 35:1643-1652.
- [17] Bang H, Lüthke K, Burmester GR, et al. Mutated citrullinated vimentin as a candidate autoantigen for diagnosis and monitoring of disease activity in Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65:144.
- [18] 冯蕊, 李永哲, 赵冠飞, 等. 抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体在类风湿关节炎诊断中的意义. *中华风湿病学杂志*, 2006, 11:686-689.
- [19] 安媛, 蒲海, 何思志, 等. 早期类风湿关节炎患者和正常人血清蛋白质组学分析比较. *中华医学杂志*, 2005, 85:1261.
- [20] 李茹, 陈巧林, 赖蓓, 等. 类风湿关节炎滑膜组织 T7 噬菌体展示 cDNA 文库的构建. *中国免疫学杂志*, 2005, 21:936.
- [21] Matsumoto T, Tsurumoto T. Serum YKL-40 levels in rheumatoid arthritis: correlations between clinical and laboratory parameters. *Clin Exp Rheumatol*, 2001, 19:655-660.
- [22] Schaller M, Burton DR, Ditzel HJ. Autoantibodies to GPI in rheumatoid arthritis: linkage between an animal model and human disease. *Nat Immunol*, 2001, 2:746-753.
- [23] Suzuki A, Yamada R, Chang X, et al. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet*, 2003, 34:395-402.

(收稿日期:2006-12-27)

(本文编辑:李建陵)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于论文写作中的作者署名与志谢

我国著作权法公布以来,已得到社会各界的广泛重视,作为医学科技期刊必须不折不扣地执行著作权法。为此将本刊对作者署名和志谢的有关要求重申如下。

一、作者署名的意义和应具备的条件

1. 署名的意义:(1)标明论文的责任人,文责自负。(2)医学论文是医学科技成果的总结和记录,是作者辛勤劳动的成果和创造智慧的结晶,也是作者对医学事业作出的贡献,并以此获得社会的尊重和承认的客观指标,是应得的荣誉,也是论文版权归作者的一个声明。(3)作者署名便于编辑、读者与作者联系,沟通信息,互相探讨,共同提高。作者姓名在文题下按序排列,排序应在投稿时确定,在编排过程中不应再作更改;作者单位名称及邮政编码脚注于同页左下方。

2. 作者应具备下列条件:(1)参与选题和设计,或参与资料的分析和解释者。(2)起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者。(3)能对编辑部的修改意见进行核修,在学术界进行答辩,并最终同意该文发表者。以上3条均需具备。仅参与获得资金或收集资料者不能列为作者,仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者。其他对该研究有贡献者应列入志谢部分。对文章中的各主要结论,均必须至少有1位作者负责。在每篇文章的作者中需要确定1位能对该论文全面负责的通讯作者。通讯作者应在投稿时确定,如在来稿中未特殊标明,则视第一作者为通讯作者。第一作

者与通讯作者不是同一人时,在论文首页脚注通讯作者姓名、单位及邮政编码。作者中如有外籍作者,应附本人亲笔签名同意在本刊发表的函件。集体署名的论文于文题下列署名单位,于文末列整理者姓名,并于论文首页脚注通讯作者姓名、单位和邮政编码。集体署名的文章必须将对该文负责的关键人物列为通讯作者。通讯作者只列1位,由投稿者决定。

二、志谢

在文后志谢是表示感谢并记录在案的意思。对给予实质性帮助而又不能列为作者的单位或个人应在文后给予志谢。但必须征得被志谢人的书面同意。志谢应避免以下倾向:(1)确实得到某些单位或个人的帮助,甚至用了他人的方法、思路、资料,但为了抢先发表,而不公开志谢和说明。(2)出于某种考虑,将应被志谢人放在作者的位置上,混淆了作者和被志谢者的权利和义务。(3)以名人、知名专家包装自己的论文,抬高论文的身份,将未曾参与工作的,也未阅读过该论文的知名专家写在志谢中。被志谢者包括:(1)对研究提供资助的单位和个人、合作单位。(2)协助完成研究工作和提供便利条件的组织和个人。(3)协助诊断和提出重要建议的人。(4)给予转载和引用权的资料、图片、文献、研究思想和设想的所有者。(5)作出贡献又不能成为作者的人,如提供技术帮助和给予财力、物力支持的人,此时应阐明其支援的性质。(6)其他需志谢者。