

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2014.03.019

环瓜氨酸肽抗体在类风湿性关节炎诊断中的意义研究进展

许笃亮 综述 黄健 审校

(内蒙古医科大学第二附属医院, 内蒙古 呼和浩特 010030)

摘要 类风湿性关节炎是临床上常见的慢性全身性自身免疫性疾病,环瓜氨酸肽抗体作为其临床上的早期诊断指标倍受关注,其水平对于预测临床药物的疗效以及疾病的发展有重大意义。

关键词 类风湿性关节炎;环瓜氨酸肽抗体

中图分类号:R593.22 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2014)06-208-04

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种原因不明的以对称性、小关节、多关节病变为主的异质性、系统性自身免疫性疾病,以女性多发,可发生于任何年龄。发病2a即可出现不可逆转的骨关节破坏,随着病情演变,可逐渐侵犯全身关节,造成肌肉萎缩、关节变形,晚期可强直和畸形、功能严重受损。其病理特征为慢性滑膜炎,侵犯下层的软骨和骨,造成关节破坏,使患者的生活质量受到严重影响,如不积极治疗可致残疾,因此,早期诊断、干预是降低其病变程度的关键。迄今为止,特别是在疾病的早期阶段,临床上尚未发现一种既可作为常规检查,又有特异性的早期实验室诊断指标。目前RA早期诊断主要依靠临床表现、影像学检查以及类风湿因子(rheumatoid factor, RF)的检测来判断,符合诊断标准的患者常已出现骨关节的破坏,失去最好的治疗时机。而寻找特异、敏感的实验室指标又是RA早期诊断的难点。现就RA的早期诊断相关指标作一综述。

1 环瓜氨酸肽抗体可作为RA早期诊断指标

美国风湿病协会(ACR)于1987年制定了RA的7条诊断标准。而RF异常是其中唯一的实验室标准。RF敏感性较高,但特异性较差,RF在许多风湿免疫系统疾病中均可检测到,如皮肤炎、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎、干燥综合征等^[1],因此,这不利于RA的诊断,对于早期诊断更加困难。因此,学者们一直探寻比RF更有诊断价值的指标,这些工作促进了环瓜氨酸肽抗体检测的发展。

Nicaise-Roland P等^[2]报道了RA滑膜炎持续存在与瓜氨酸相关自身抗体的产生及其在关节腔内的沉积有关。瓜氨酸是存在于人类少数蛋白

质上的由转录后精氨酸残基酶修饰而成的一种氨基酸,包括丝集蛋白、中间丝集蛋白。位于人颊黏膜细胞内角质透明蛋白颗粒中的中间丝集蛋白,在细胞分化时发生脱磷酸化,在精氨酸酶的作用下转化为瓜氨酸,从而刺激机体产生抗瓜氨酸抗体^[3]。Berglin E等^[4]的研究显示,抗环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide, CCP)抗体是由RA患者B淋巴细胞分泌的特异性较高的抗体,正常人群和其他疾病的B淋巴细胞不分泌抗-CCP抗体。

抗-CCP抗体是针对抗核周因子、抗角蛋白抗体、抗聚角蛋白微丝蛋白抗体等的共同抗原决定簇-瓜氨酸肽的特异性抗体,其优点是敏感性好,特异性高,从而提高了临床对RA检测的水平^[5-6]。

Yousefghahari B等^[7]用ELISA方法检测到RA患者的抗-CCP抗体,发现其在RA中敏感性高达85%,特异性高达96%,因其较高的诊断特异性和较好的敏感性而得到公认,成为美国风湿病协会/欧洲抗风湿病联盟(ACR/EULAR)2010新分类标准推荐的检测指标^[8]。抗-CCP抗体在RA早期即可出现,是RA骨侵蚀显著的危险因子,在抗-CCP抗体阳性的RA患者中,骨破坏较严重^[9-10],且抗-CCP抗体与关节影像学的改变也密切相关,抗-CCP抗体水平越高,RA患者病变越严重^[11]。有研究发现,抗-CCP对RA的诊断灵敏度65%~70%,特异度为95%^[12-14],国内有学者也证实抗-CCP对RA有较高的敏感性和特异性。近年来,国内有些学者^[15]发现在RA典型临床症状出现数年前抗-CCP即可呈现阳性,比RF出现早,且特异性高。2007年,欧洲风湿病组织将抗-CCP抗体检验列入对RA,早期的临床判断标准^[16-17],2010年,

ACR 联合 EULAR 颁布新的 RA 诊断标准,也增加了抗-CCP 的检测,确立了抗-CCP 在 RA 诊断中的地位^[18],有利于 RF 阴性和临床症状不典型患者的诊断。

2 环瓜氨酸肽抗体可作为 RA 严重程度的预测指标

大多数 RA 患者早期症状不典型,当其完全符合 RA 诊断分类标准时已经出现了 X 线的骨关节侵蚀性改变,甚至肉眼可见的关节畸形。因此,RA 的早期诊断非常重要,这也促使国内外学者积极寻找诊断 RA 的特异的血清学指标。

Sun J 等^[19]的 meta 分析显示,抗-CCP 抗体具有更高的 RA 的诊断特异性,其敏感性和特异性分别为 57%、96%,并且发现抗-CCP 抗体是骨关节出现影像学改变的高危因素。有研究^[20-21]发现抗-CCP 阳性的 RA 患者关节侵蚀性病变更严重,抗-CCP 是一种衡量 RA 患者关节损害程度及预后的良好血清学指标,无论抗-CCP 水平如何,其阳性者就有可能出现影像学的进展,而抗-CCP 抗体水平较高者,更容易出现影像学的进展。另外有学者发现^[22],抗-CCP 阳性组患者往往病情活动性指标高于阴性组,抗-CCP 可预测两年后是否发生骨侵蚀。对抗-CCP 水平与 X 线分期进行分层分析,结果发现,随着骨侵蚀程度的加重,血清抗-CCP 水平也显著提高,不同 X 线分期的抗-CCP 水平之间存在着显著性差异,即抗-CCP 滴度越高,骨质破坏越重,说明抗-CCP 水平与骨侵蚀的严重程度相关^[11]。这些都表明大多数 RA 患者有永久性骨破坏,且多发生于疾病早期,因而,对于怀疑 RA 的初诊患者,建议至少拍摄双手及腕关节 X 线片,有助于早期治疗。

3 环瓜氨酸肽抗体可作为观察 RA 临床用药疗效的指标

RA 患者病情处于活动期时往往血沉(ESR)和 C-反应蛋白(C-RP)可以出现明显升高,其与 RA 的疾病活动性相关,持续增高的 ESR 和 CRP 与关节侵蚀密切相关,预示着不良的预后。吴殿臣等^[10]对 RA 骨破坏和疾病活动程度与特异性自身抗体的相关性的研究认为,对 RA 患者给予传统的缓解病情的抗风湿药物(DMARDs)治疗后,关节肿痛有不同程度的缓解,ESR 和 CRP 指标可以下

降,但对于关节的破坏不能起到有效的抑制作用,尤其是抗-CCP 抗体阳性患者。应及早对此类患者进行临床干预,并制定个体化的治疗方案(比如生物制剂),以延缓 RA 病情的进展,提高患者的生活质量。

国外的一项随机对照试验中,选取了早期 RA 患者 508 人,给予病人不同的治疗方案且检测抗-CCP 抗体的变化。试验比较了上阶梯治疗、单一序贯疗法、初始治疗选用甲氨喋呤和英夫利昔单抗、初始治疗选用甲氨喋呤及柳氮磺胺吡啶和强的松 4 种治疗方案,通过抗-CCP 抗体滴度的检测显示:在使用英夫利昔单抗治疗期间,滴度显著下降^[23]。Bos WH 等对 188 名 RA 患者使用阿达木单抗治疗 28 周后的自身抗体检测中,抗-CCP 抗体滴度和 RFIgM 滴度显著下降,同时 ESR 和 CRP 的滴度也明显下降^[24]。有研究显示,艾拉莫德(Iguratimod, T-614)不仅能抑制 IL-1、IL-6、TNF 等细胞因子及免疫球蛋白的产生^[25],同时抑制 COX-2,而不影响 COX-1^[26],且对其他 DMARDs 药物无效的患者亦有效^[27]。陈瑞林等^[28]证实,患有类风湿性关节炎的患者应用过 TNF- α 拮抗剂后抗-CCP 滴度有一定程度的降低。国内学者同样在监测药物疗效方面的研究中,对接受 24 周治疗的患者根据疗效不同分组,其结果可见抗-CCP 抗体浓度随着治疗效果而发生改变,动态监测可以作为考察药物疗效的观察指标,同时它还可提示 RA 的严重程度。另外,抗-CCP 已经作为观察类风湿关节炎临床药物治疗疗效的指标,药物治疗后抗-CCP 滴度可有不同程度的降低^[29-30]。

综上所述,作为独立的血清学指标,抗-CCP 在 RA 的早期诊断中占有非常重要地位,其对疾病的严重程度可做出一定程度的评估,而且可评估临床用药疗效,所以抗-CCP 的检测,对 RA 的早期诊断、控制病变发展和观察用药物后的疗效有着重要的意义,弥补了类风湿因子特异度相对较低的缺陷,抗-CCP 可视为新的 RA 血清学诊断指标。

但是,探寻高亲和力的抗-CCP 抗体成为目前研究该抗体在 RA 发病机制中作用的难题。现阶段的研究表明,多种基因表位与 RA 的发病相关,而在抗-CCP 抗体的检测中,一种为杂交瘤技术产生的针对瓜氨酸化蛋白的单抗;一种为层析纯化的人血清抗体。前者识别多个瓜氨酸表位以及侧链

氨基酸表位,特异性差;后者来源于数个病人,又缺乏多样性,很难获得亲和力高的抗体。基于抗-CCP 抗体在 RA 中的重要地位,可建立一个高亲和力的抗-CCP 抗体库,从而可进一步研究其在 RA 发病机制以及治疗方面所产生的重要作用,为 RA 的靶点治疗提供依据。

参考文献:

- [1] Aleksandrova EN, Novikov AA, Nasonov EL. The role of biomarkers in diagnostics and forecasting of effectiveness of modern therapy of rheumatoid arthritis[J]. *Klin Lab Diagn*, 2013(8):3-13.
- [2] Nicaise-Roland P, Nogueira L, Demattei C, et al. Autoantibodies to citrullinated fibrinogen compared with anti-MCV and anti-CCP2 antibodies in diagnosing rheumatoid arthritis at an early stage: data from the French ESPOIR cohort[J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(3): 357-362.
- [3] Kakumanu P, Sobel ES, Narain S, et al. Citrulline dependence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in systemic lupus erythematosus as a marker of deforming/erosive arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2009, 36 (12): 2682-2690.
- [4] Berglin E, Padyukov L, Sundin U, et al. A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. [J]. *Arthritis Res Ther*, 2004, 6(4): R303-R308.
- [5] Goldman K, Gertel S, Amital H. Anti-citrullinated peptide antibodies is more than an accurate tool for diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. *Isr Med Assoc J*, 2013, 15(9): 516-519.
- [6] Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. [J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43(1): 155-163.
- [7] Yousefghahari B, Alhoeei S, Soleimani-Amiri MJ, et al. Comparison of sensitivity and specificity of anti-CCP and anti-MCV antibodies in an Iranian cohort of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Caspian J Intern Med*, 2013, 4(3): 702-706.
- [8] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(9): 2569-2581.
- [9] Lubahn C, Schaller JA, Shewmacker E, et al. Preclinical efficacy of sodium narsitatin to reduce inflammation and joint destruction in rats with adjuvant-induced arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(12): 3751-3760.
- [10] 吴殿臣, 张正宇, 谭魁麟, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体与类风湿关节炎骨侵蚀的相关性[J]. *江苏大学学报*, 2010, 20(4): 324-326.
- [11] Ohmura K, Terao C, Maruya E, et al. Anti-citrullinated peptide antibody-negative RA is a genetically distinct subset: a definitive study using only bone-erosive ACPA-negative rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2010, 49 (12): 2298-2304.
- [12] Debaugnies F, Servais G, Badot V, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies: a comparison of different assays for the diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. *Scand J Rheumatol*, 2013, 42(2): 108-114.
- [13] Afzal N, Karim S, Mahmud TE, et al. Evaluation of anti-CCP antibody for diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. *Clin Lab*, 2011, 57 (11-12): 895-899.
- [14] Gao F, Ren L, Zhang CQ, et al. Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody for rheumatoid arthritis in a Chinese population: a meta-analysis [J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(10): 3201-3218.
- [15] 宋婕, 章金春, 王听听, 等. 抗 CCP 抗体与 RF 联合检测在类风湿关节炎中的诊断价值[J]. *临床血液学杂志*, 2013, 26(6): 417-419.
- [16] Gossec L, Combesse C, Rincheval N, et al. Relative clinical influence of clinical, laboratory, and radiological investigations in early arthritis on the diagnosis of rheumatoid arthritis. Data from the French Early Arthritis Cohort ESPOIR [J]. *J Rheumatol*, 2010, 37(12): 2486-2492.
- [17] 林国聪. 抗-CCP 与 RF 检测对类风湿性关节炎的临床意义[J]. *中国医学创新*, 2012, 9(8): 82-83.
- [18] Mjaavatten MD, Bykerk VP. Early rheumatoid arthritis: the performance of the 2010 ACR/EULAR criteria for diagnosing RA[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2013, 27(4): 451-466.
- [19] Sun J, Zhang Y, Liu L, et al. Diagnostic accuracy of combined tests of anti cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis: a meta-analysis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2014, 32 (1): 11-21.
- [20] Barnabe C, Xiong J, Pope JE, et al. Factors associated with time to diagnosis in early rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2014, 34(1): 85-92.
- [21] Kim HH, Kim J, Park SH, et al. Correlation of anti-cyclic citrullinated antibody with hand joint erosion score in rheumatoid arthritis patients[J]. *Korean J Intern Med*, 2010, 25(2): 201-206.
- [22] da Mota LM, Cruz BA, Brenol CV, et al. 2011 Consensus of the Brazilian Society of Rheumatology for diagnosis and early assessment of rheumatoid arthritis[J]. *Rev Bras Reumatol*, 2011, 51(3): 199-219.
- [23] de Vries-Bouwstra JK, Goekoop-Ruiterman YP, Verpoort KN, et al. Progression of joint damage in early rheumatoid arthritis: association with HLA-DRB1, rheumatoid factor, and anti-citrullinated protein antibodies in relation to differ-

- ent treatment strategies[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(5): 1293-1298.
 - [24] Bos WH, Bartelds GM, Wolbink GJ, et al. Differential response of the rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies during adalimumab treatment in patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2008, 35(10): 1972-1977.
 - [25] Mucke HA. Iguratimod: a new disease-modifying antirheumatic drug[J]. *Drugs Today (Barc)*, 2012, 48(9): 577-586.
 - [26] Tanaka K, Yamaguchi T. Pharmacological properties and clinical efficacy of the synthetic anti-rheumatic drug, iguratimod (Kolbet®/Careram®)[J]. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2012, 140(6): 285-292.
 - [27] Ishiguro N1, Yamamoto K, Katayama K, et al. Concomitant iguratimod therapy in patients with active rheumatoid arthritis despite stable doses of methotrexate: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. [J]. *Mod Rheumatol*, 2013, 23(3): 430, 439.
 - [28] 陈瑞林, 陶怡, 林泽英, 等, 阿达木单抗治疗类风湿关节炎的疗效和安全性[J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(2): 152-155, 166.
 - [29] Loulergue P, Tubach F, Salmon D, et al. Bacteremia in patients receiving TNF-alpha antagonists—a prospective multicenter study[J]. *J Infect*, 2013, 67(6): 524-528.
 - [30] Sarsour K, Greenberg J, Johnston JA, et al. The role of the FcγRIIIa polymorphism in modifying the association between treatment and outcome in patients with rheumatoid arthritis treated with rituximab versus TNF-α antagonist therapies [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2013, 31(2): 189-194.
- (收稿日期 2014-05-15)
- +++++
- (上接第 207 页)
- [5] Yang M, Yan M, Zhang R, et al. Side population cells isolated from human osteosarcoma are enriched with tumor-initiating cells[J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(10): 1774-1781.
 - [6] Lohberger B, Rinner B, Stüendl N, et al. Aldehyde dehydrogenase 1, a potential marker for cancer stem cells in human sarcoma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43664.
 - [7] Fujii H, Kanya H, Toshifumi T, et al. Reduced expression of INK4a /ARF genes in stem-like sphere cells from rat sarcomas[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(3): 773-778.
 - [8] Kelly SE, Di Benedetto A, Greco A, et al. Rapid selection and proliferation of CD133⁺ cells from cancer cell lines: chemotherapeutic implications[J]. *PLoS One*, 2010, 5(4): e10035.
 - [9] Takeda N, Jain R, LeBoeuf MR, et al. Interconversion between intestinal stem cell populations in distinct niches[J]. *Science*, 2011, 334(6061): 1420-1424.
 - [10] 曲绍政, 李书忠, 高甲科, 等. 骨肉瘤干细胞的分离与鉴定[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(14): 2641-2648.
 - [11] Basu-Roy U, Seo E, Ramanathapuram L, et al. Sox2 maintains self renewal of tumor-initiating cells in osteosarcomas [J]. *Oncogene*, 2012, 31(18): 2270-2282.
 - [12] Liu PY, Zhang WB, Wang J, et al. Inhibitory effect and significance of rapamycin on the mammalian target of rapamycin signaling pathway in osteosarcoma stem cells and osteosarcoma cells[J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2013, 35(3): 175-180.
 - [13] Yamaoka E, Hiyama E, Sotomaru Y, et al. Neoplastic transformation by TERT in FGF-2-expanded human mesenchymal stem cells[J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(1): 5-11.
 - [14] Burns JS, Kristiansen M, Kristensen LP, et al. Decellularized matrix from tumorigenic human mesenchymal stem cells promotes neovascularization with galectin-1 dependent endothelial interaction[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e21888.
 - [15] Amaral AT, Manara MC, Berghuis D, et al. Characterization of human mesenchymal stem cells from ewing sarcoma patients. Pathogenetic implications[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e85814.
 - [16] Berman SD, Yuan TL, Miller ES, et al. The retinoblastoma protein tumor suppressor is important for appropriate osteoblast differentiation and bone development[J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(9): 1440-1451.
 - [17] Wang X, Kua HY, Hu Y, et al. P53 functions as a negative regulator of osteoblastogenesis, osteoblast-dependent osteoclastogenesis, and bone remodeling[J]. *J Cell Biol*, 2006, 172(1): 115-125.
 - [18] Tu B, Du L, Fan QM, et al. STAT3 activation by IL-6 from mesenchymal stem cells promotes the proliferation and metastasis osteosarcoma[J]. *Cancer Lett*, 2012, 325(1): 80-88.
 - [19] Yang X, Wang YP, Liu FX, et al. Increased invasiveness of osteosarcoma mesenchymal stem cells induced by bone morphogenetic protein-2[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2013, 49(4): 270-278.
 - [20] Baglio SR, Devescovi V, Granchi D, et al. MicroRNA expression profiling of human bone marrow mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation reveals Osterix regulation by miR-31[J]. *Gene*, 2013, 527(1): 321-331.
 - [21] Naujokat C, Steinhart R. Salinomycin as a Drug for Targeting Human Cancer Stem Cells [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 950658.
 - [22] Rainusso N, Brawley VS, Ghazi A, et al. Immunotherapy targeting HER2 with genetically modified T cells eliminates tumor-initiating cells in osteosarcoma[J]. *Cancer Gene Ther*, 2012, 19(3): 212-217.
- (收稿日期 2014-02-13)