

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.32.019
文章编号: 1005-8982 (2018) 32-0096-05

血清 14-3-3 η 、DD、anti-CCP 及 CRP 检测 对鉴别诊断 RA 的临床意义

谭立明¹, 王巧花², 曾婷婷¹, 隆婷婷², 管晓琳², 吴洋¹,
田永建¹, 余建林¹, 陈娟娟¹, 李华¹

(1. 南昌大学第二附属医院 检验科, 江西 南昌 330006; 2. 南昌大学公共卫生学院,
江西 南昌 330000)

摘要: 目的 探讨 14-3-3 η 蛋白、D-二聚体 (DD)、抗环瓜氨酸多肽抗体 (anti-CCP) 及 C 反应蛋白 (CRP) 联合检测对类风湿关节炎 (RA) 鉴别诊断的临床意义。**方法** 采用 ELISA 法检测 3 组患者的 14-3-3 η 蛋白、anti-CCP, 胶乳免疫比浊法检测 DD, 速率散射比浊法检测 CRP, 比较分析各检测指标对 RA 鉴别诊断的价值。**结果** RA 组血清各指标和指标阳性率均显著高于其他风湿性疾病组和对照组 ($P < 0.05$); 14-3-3 η 蛋白、DD 和 anti-CCP 的 ROC 曲线下面积分别为 0.971、0.779 及 0.863 ($P < 0.05$), 对诊断 RA 准确性较高; DD 和 anti-CCP 并联时敏感性最高, 为 97.68%, DD 和 anti-CCP 串联时特异性最高, 为 99.42%。**结论** 14-3-3 η 蛋白、DD 水平在 RA 患者中显著升高, 是诊断 RA 的理想指标, DD 和 anti-CCP 联合检测对鉴别诊断 RA 有较大价值。

关键词: 类风湿关节炎; 14-3-3 η 蛋白; D-二聚体; anti-CCP; C 反应蛋白

中图分类号: R446.42

文献标识码: A

Significance of serum 14-3-3 η , D-dimer, anti-CCP and CRP in diagnosis of RA

Li-ming Tan¹, Qiao-hua Wang², Ting-ting Zeng¹, Ting-ting Long², Xiao-lin Guan², Yang Wu¹,
Yong-jian Tian¹, Jian-lin Yu¹, Juan-juan Chen¹, Hua Li¹

(1. Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006,
China; 2. School of Public Health, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330000, China)

Abstract: Objective To explore the significance of detecting serum D-dimer, 14-3-3 η protein, anti-CCP and CRP in diagnosis of rheumatoid arthritis (RA). **Methods** Serum samples of 64 RA patients, 155 non-RA patients and 40 healthy controls from the Second Affiliated Hospital of Nanchang University were collected. The levels of 14-3-3 η protein and anti-CCP were measured by enzyme linked immunosorbent assay. D-dimer was detected with latex immunoturbidimetric assay. And CRP was determined by rate nephelometry (RN). The levels of the indicators and their diagnostic utilities were evaluated and compared then. **Results** Serum levels of D-dimer, 14-3-3 η , anti-CCP and CRP in the RA group were remarkably higher than those in the non-RA group and the healthy group, the differences among groups were statistically significant ($P < 0.05$); so were the positive rates ($P < 0.05$). According to the ROC curve based on the serum levels detected, the AUC of 14-3-3 η protein, D-dimer and anti-CCP were 0.971, 0.779 and 0.863 respectively ($P < 0.05$), which had high accuracy for RA diagnosis. The combination of D-dimer and

anti-CCP had the highest sensitivity of 97.68%, and the highest specificity of 99.42%. **Conclusions** Serum 14-3-3 η protein and D-dimer levels remarkably increase in RA patients, and are ideal indexes for RA diagnosis, combined detection combination of D-dimer and anti-CCP has better value for RA diagnosis.

Keywords: rheumatoid arthritis; 14-3-3 η protein; D-dimer; anti-CCP; CRP

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是临床常见的自身免疫疾病, 以慢性进行性关节病变为主, 病程达 5 ~ 10 年者, 致残率高达 60%^[1]。有学者报道多种自身抗体能从 RA 患者血清中检出, 已被应用于临床诊断^[2-3]。抗环瓜氨酸多肽抗体 (anti-cyclic citrullinated peptide antibody, anti-CCP) 为诊断 RA 的高特异性指标, C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 对 RA 病情的活动性有参考价值^[4-5]。14-3-3 η 蛋白是广泛表达于真核生物的酸性可溶性二聚体蛋白, 其与 RA 的研究逐渐增多, 可作为 RA 早期标志物^[6]。血液凝固/纤溶系统中, 交联纤维蛋白可分解为 D-二聚体 (D-dimer, DD), RA 患者 DD 的变化可能与关节炎症相关^[7]。本研究旨在探究 14-3-3 η 蛋白、DD、anti-CCP 及 CRP 对 RA 鉴别诊断的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 6 月 -2017 年 6 月于南昌大学第二附属医院门诊和住院的 2 个月内确诊的早期 RA 患者 64 例作为 RA 组。患者年龄 21 ~ 83 岁, 入选标准均符合 2010 年美国风湿病协会 (american rheumatism association, ARA) 和欧洲抗风湿联盟 (the european league against rheumatism, EULAR) 类风湿性关节炎诊断标准^[8]。选取同期本院收治的其他疾病患者 155 例作为其他风湿性疾病组。其中, 系统性红斑狼疮患者 61 例, 年龄 25 ~ 81 岁; 强直性脊柱炎患者 19 例, 年龄 13 ~ 41 岁; 原发性干燥综合征患者 36 例, 年龄 25 ~ 70 岁; 混合性结缔组织病患者 39 例, 年龄 4 ~ 70 岁。选取同期来本院行体检的健康群众 40 例作为对照组, 年龄 35 ~ 83 岁。纳入标准: 研究对象签署知情协议书, 并且自愿参与; 患者诊断明确, 影像、临床学资料详实; 对入选患者的资料再次评估, 排除合并其他自身免疫性疾病; 健康体检者各系统常规检查无异常。排除标准: 合并严重心脑血管疾病、慢性肝脏疾病、肾脏疾病、肺部疾病、甲状腺疾病、糖尿

病及血液病; 妊娠或哺乳期妇女。所有患者均符合相关指南诊断标准, 并经风湿免疫科医生确认。所有标本均在患者知情同意条件下获得, 本研究经南昌大学第二附属医院伦理委员会批准许可。

1.2 方法

患者入院后空腹采静脉血 3.0 ml, 静置 30 min 后 3 000 r/min 离心 15 min 备用。血清 14-3-3 η 蛋白、anti-CCP 水平均采用 ELISA 法测定, 人 14-3-3 η 蛋白 ELISA 试剂盒购自美国 Flarebio 生物技术有限责任公司, anti-CCP 试剂盒购自上海科新生物技术股份有限公司; DD 采用胶乳免疫比浊法测定, DD 检测试剂盒购自日本积水医疗科技 (中国北京) 有限公司; CRP 采用美国贝克曼公司的 IMMAGE 800 型全自动特定蛋白分析系统及配套试剂, 通过速率散射比浊法测定。操作均严格遵循各试剂说明书及南昌大学第二附属医院质量管理标准进行。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计学软件和 MedCalc 作图软件, 计数资料以率 (%) 或构成比表示, 比较用 χ^2 检验; 正态分布资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用方差分析, 两两比较用 LSD- t 检验; 偏态分布以中位数和四分位间距 $M (P_{25}, P_{75})$ 表示, 比较用非参数 Kruskal-Wallis 检验, 两两比较用 Nemenyi 检验, 绘制受试者特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组患者一般资料比较

RA 组平均年龄 (52.00 \pm 15.50) 岁, 其他风湿性疾病组平均年龄 (43.50 \pm 19.75) 岁, 对照组平均年龄 (53.23 \pm 11.13) 岁, 3 组比较, 差异无统计学意义 ($F = 1.020, P = 0.512$)。RA 组男女性比例为 19/45, 其他风湿性疾病组为 34/121, 对照组为 10/30, 3 组比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.564, P = 0.640$)。

2.2 3 组患者血清 14-3-3 η 蛋白、DD、anti-CCP 及 CRP 水平比较

3 组患者血清 DD 和 CRP 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), RA 组高于其他两组。3 组患者 14-3-3 η 蛋白和 anti-CCP 水平比较, 经非参数 Kruskal-Wallis 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), RA 组高于其他两组。见表 1。

表 1 血清 14-3-3 η 蛋白、D 二聚体、anti-CCP 及 CRP 水平比较

组别	14-3-3 η [ng/ml, M (P ₂₅ , P ₇₅)]	DD/ (μ g/ml, $\bar{x} \pm s$)	Anti-CCP [RU/ml, M (P ₂₅ , P ₇₅)]	CRP/ (mg/L, $\bar{x} \pm s$)
RA 组 (n=64)	3.60 (1.45, 5.75)	3.56 \pm 0.75	290.25 (125.37, 1 590.41)	29.33 \pm 10.51
其他风湿性疾病组 (n=155)	1.60 (0.75, 4.25)	1.21 \pm 0.25	86 (16.25, 343)	15.50 \pm 3.50
对照组 (n=40)	0.10 (0.02, 0.34)	0.23 \pm 0.20	18.67 (5.35, 30.12)	6.20 \pm 1.40
F/Z 值	2.605	38.525	2.712	29.162
P 值	0.000	0.000	0.000	0.001

表 2 3 组患者血清 14-3-3 η 蛋白、DD、anti-CCP 及 CRP 阳性率比较 例 (%)

组别	14-3-3 η	DD	Anti-CCP	CRP
RA 组 (n=64)	33 (51.6)	31 (48.4)	51 (80.0)	50 (78.1)
其他风湿性疾病组 (n=155)	10 (6.6)	38 (24.5)	16 (10.3)	49 (31.6)
对照组 (n=40)	1 (2.5)	3 (7.5)	2 (5.0)	1 (2.5)
χ^2 值	40.432	35.137	99.125	26.535
P 值	0.001	0.000	0.000	0.000

2.4 各标志物的诊断效能

各标志物对 RA 诊断敏感性最高的是 DD, anti-CCP 对 RA 诊断的特异性、阳性预测值、约登指数及阳性似然比最大, 表明 anti-CCP 及 DD 对 RA 诊断价值较大。见表 3。

2.5 各标志物的 ROC 曲线分析

根据 RA 组的血清 14-3-3 η 蛋白、DD、anti-

2.3 3 组患者血清 14-3-3 η 蛋白、DD、anti-CCP 及 CRP 阳性率比较

3 组患者血清 14-3-3 η 蛋白、DD、anti-CCP 及 CRP 阳性率比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), RA 组的血清 14-3-3 η 蛋白、DD、anti-CCP 及 CRP 阳性率高于其他风湿性疾病组及对照组。见表 2。

CCP 及 CRP 水平绘制 ROC 曲线, anti-CCP 和 14-3-3 η 蛋白对 RA 诊断价值较高。见表 4 和附图。

2.6 各指标两两联合试验诊断效率

将检测指标两两联合, 进行串并联分析, 计算联合后诊断 RA 的敏感度、特异性和约登指数。并联检测可显著提高诊断敏感性, 其中 DD 和 anti-CCP 并联时最高, 为 97.68%; 串联检测可显著增大诊断特异性,

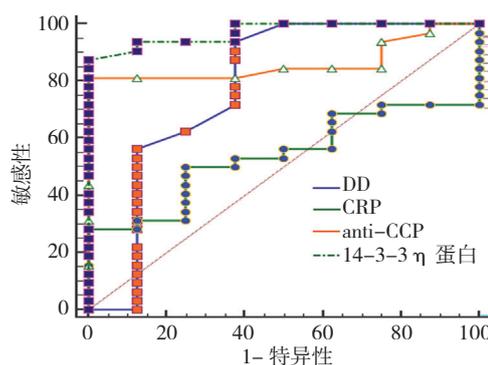
表 3 各标志物的诊断性能评价

标志物	敏感性 /%	特异性 /%	准确性 /%	阳性预测值	阴性预测值	阳性似然比	阴性似然比	约登指数
14-3-3 η	63.41	90.24	0.77	86.67	71.15	6.50	0.41	0.54
DD	89.12	87.56	0.85	94.12	30.43	7.16	0.12	0.77
Anti-CCP	78.67	95.30	0.84	96.52	45.12	16.7	0.22	0.79
CRP	65.82	56.25	0.79	86.67	34.21	1.50	0.61	0.22

其中, DD 和 anti-CCP 串联时最高, 为 99.42%, 所以联合检测对 RA 诊断意义更大。见表 5。

表 4 各标志物的 ROC 曲线参数

标志物	AUC	P 值	95%CI	
			下限	上限
DD	0.779	0.000	0.620	0.895
CRP	0.539	0.001	0.375	0.698
anti-CCP	0.863	0.001	0.718	0.951
14-3-3 η	0.971	0.000	0.862	0.999



注: 对角线为参考线, 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 为诊断价值高。

附图 各标志物的 ROC 曲线

表 5 各指标两两联合试验的诊断效率

方法	并联			串联	
	敏感性 /%	特异性 /%	约登指数	特异性 /%	约登指数
14-3-3 η 和 DD 联合	96.02	79.01	0.75	98.79	0.55
14-3-3 η 和 anti-CCP 联合	92.20	86.00	0.78	94.48	0.44
14-3-3 η 和 CRP 联合	87.49	50.76	0.38	95.73	0.37
DD 和 anti-CCP 联合	97.68	83.44	0.81	99.42	0.70
DD 和 CRP 联合	96.28	49.25	0.45	94.56	0.53
anti-CCP 和 CRP 联合	92.71	53.61	0.46	97.94	0.50

3 讨论

RA 为自身免疫性疾病, 危重时可导致患者致残性关节炎和功能障碍, 甚至可因多器官受累而死亡^[9-10]。近年来, 有报道指出 RA 患者血清和关节滑膜液中 DD、14-3-3 η 蛋白含量较正常者显著上升^[6, 11]。

类风湿因子可随 RA 病情发展而升高, 但与病情发展并不完全一致, CRP 虽为病情活动指标, 但属非特异性指标^[12]。有研究报道 RA 患者血清中 DD 含量升高, 可作为病情活动的敏感指标^[13]。本研究发现 RA 患者 DD 含量高于其他风湿性疾病组和对照组, 且其在 RA 组的阳性率也更高。DD 对 RA 的敏感性为 89.12%, 特异性为 87.56%, 提示 DD 对 RA 的诊断具有较大价值。

Anti-CCP 是含有瓜氨酸抗原表位的环状聚丝蛋白的多肽片段, 主要为 IgG 型。SCHELLEKENS 等^[14]检测 RA 患者血清中 anti-CCP, 发现 anti-CCP 对 RA 特异性高达 98%, 结论与本研究结果 (特异性 95.3%) 大致相同。

CRP 对 RA 的敏感性为 65.82%, 较已有研究结果

80.9% 低, 其原因可能与受试对象地域差异及炎症程度治疗干预和所用试剂有关, 特异性仅为 56.25%, 单独检测 CRP 对 RA 诊断的价值不大。

14-3-3 η 蛋白可产生抗 14-3-3 η 蛋白自身抗体, 是对目前 RA 血清学诊断体系的有益补充^[15]。联合本研究结果: 14-3-3 η 蛋白与 DD 并联敏感性 (96.02%), 串联特异性 (98.79%) 均显著高于单独检测 14-3-3 η 和 DD 的敏感性、特异性。14-3-3 η 、DD 与 anti-CCP 串联诊断时, 其特异性可达 94.48% 和 99.42%。DD 与 anti-CCP 并联检测时, 特异性和敏感性最高, 约登指数最大; 14-3-3 η 蛋白与 anti-CCP 并联检测时, 约登指数为 0.78。14-3-3 η 与 DD 并联检测时, 敏感性显著升高, 为 96.02%; 串联检测时, 特异性显著升高, 为 98.79%, 均高于单独检测时的敏感性和特异性。14-3-3 η 蛋白联合 DD 检测对 RA 的早期诊断具有较大意义。

14-3-3 η 在 RA 组的血清水平和阳性率均高于其他风湿性疾病组和对照组。14-3-3 η 对 RA 诊断的特异性较 DD 和 CRP 高, 稍低于 anti-CCP, 且其 ROC 曲线下面积最大。MAKSYMOWYCH^[16]等研究认为

14-3-3 η 蛋白能够提高 RA 诊断的敏感性, 弥补当前用于 RA 诊断的血清学指标的不足, 其结论与本研究一致, 表明 14-3-3 η 蛋白在提高 RA 诊断水平及预后上价值较高。

综上所述, 14-3-3 η 蛋白及 DD 标志物可作为 RA 诊断的辅助指标, 且其与 anti-CCP 和 CRP 联合检测的意义远大于单独检测的意义, 对于及时控制患者病情、监控活动性和改善预后有重要意义。

参 考 文 献:

- [1] MIOSSEC P. Rheumatoid arthritis: still a chronic disease[J]. *Lancet*, 2013, 381(9870): 884-886.
- [2] WUNDERLICH C, OLIVIERA I, FIGUEIREDO C P, et al. Effects of DMARDs on citrullinated peptide autoantibody levels in RA patients-A longitudinal analysis[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2017, 46(6): 709-714.
- [3] WANG M Y, WANG X B, SUN X H, et al. Diagnostic value of high-frequency color doppler ultrasonography examination in combination with anti-cyclic citrullinated peptide antibody testing in rheumatoid arthritis patients[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(3): 905-908.
- [4] GADEHOLT O, WECH T, SCHUH S, et al. Anti-CCP status determines the power doppler oscillation pattern in rheumatoid arthritis: a prospective study[J]. *Rheumatol Int*, 2016, 36(12): 1671-1675.
- [5] DANILA M I, WESTFALL A O, RAMAN K, et al. The role of genetic variants in CRP in radiographic severity in African Americans with early and established rheumatoid arthritis[J]. *Genes Immun*, 2015, 16(7): 446-451.
- [6] CARRIER N, MAROTTA A, DE BRUM-FERNANDES A J, et al. Serum levels of 14-3-3eta protein supplement C-reactive protein and rheumatoid arthritis-associated antibodies to predict clinical and radiographic outcomes in a prospective cohort of patients with recent-onset inflammatory polyarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(10): 37-40.
- [7] CHEN L, LU Y, CHU Y, et al. Tissue factor expression in rheumatoid synovium: a potential role in pannus invasion of rheumatoid arthritis[J]. *Acta Histochem*, 2013, 115(7): 692-697.
- [8] ALETAHA D, NEOGI T, SILMAN A J, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative[J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(9): 1580-1588.
- [9] STACK R J, VAN TUYL L H, SLOOTS M, et al. Symptom complexes in patients with seropositive arthralgia and in patients newly diagnosed with rheumatoid arthritis: a qualitative exploration of symptom development[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2014, 53(9): 1646-1653.
- [10] XU N, ZHAO S, XUE H, et al. Associations of perceived social support and positive psychological resources with fatigue symptom in patients with rheumatoid arthritis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): 173-177.
- [11] NAKAO S, TAKATA S, UEMURA H, et al. Early ambulation after total knee arthroplasty prevents patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis from developing postoperative higher levels of D-dimer[J]. *J Med Invest*, 2010, 57(1-2): 146-151.
- [12] FLEISCHMANN R M, VAN DER HEIJDE D, GARDINER P V, et al. DAS28-CRP and DAS28-ESR cut-offs for high disease activity in rheumatoid arthritis are not interchangeable[J]. *RMD Open*, 2017, 3(1): 382-385.
- [13] BLACHERE N E, PARVEEN S, FRANK M O, et al. High-titer rheumatoid arthritis antibodies preferentially bind fibrinogen citrullinated by peptidylarginine deiminase 4[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(5): 986-995.
- [14] SCHELLEKENS G A, VISSER H, DE JONG B A, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide[J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43(1): 155-163.
- [15] MAKSYMOWYCH W P, MAROTTA A. 14-3-3 η : a novel biomarker platform for rheumatoid arthritis[J]. *Clinical & Experimental Rheumatology*, 2014, 32(5 Suppl 85): 155-158.
- [16] MAKSYMOWYCH W P, BOIRE G, VAN S D, et al. 14-3-3eta autoantibodies: diagnostic use in early rheumatoid arthritis[J]. *Journal of Rheumatology*, 2015, 42(9): 1587-1600.

(李科 编辑)