

瓜氨酸化人乳头状瘤病毒 47 E₂³⁴⁵⁻³⁶² 抗原肽抗体在早期类风湿关节炎诊断中的意义

李桂叶*, 孙晓麟*, 李 云, 贾汝琳, 贾 园, 栗占国[△]

(北京大学人民医院风湿免疫科, 北京 100044)

[摘 要] **目的:** 类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 患者血清中存在高滴度的特异性针对瓜氨酸化的人乳头状瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 47 型 E₂ 蛋白的 345-362 多肽 (human papilloma virus peptide, HPVP) 抗原的抗体, 探讨该抗体在早期 RA 临床诊断中的意义。 **方法:** 以 HPVP 及瓜氨酸化 HPVP 为抗原, 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测 101 例病程小于 1 年的早期 RA (early RA, E-RA) 患者, 149 例其他结缔组织病患者以及 40 名正常对照血清中相关抗体的水平。并与 RA 患者临床相关资料和实验室指标进行统计学分析。 **结果:** (1) E-RA 患者组血清中 IgG、IgM 型抗瓜氨酸化 HPVP 抗体的阳性率 (分别为 62.4% 和 66.3%) 均高于其他对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 而 E-RA 患者组及其他对照组血清的抗 HPVP 抗体阳性率差异无统计学意义; (2) 抗瓜氨酸化 HPVP 的 IgG 型和 IgM 型抗体在 E-RA 诊断中的敏感性分别为 62.4% 和 66.3%, 特异性分别为 89.4% 和 86.6%; (3) 抗瓜氨酸化 HPVP 的 IgG 型和 IgM 型抗体在 IgM-RF 阴性患者中的阳性率分别是 59.4% 和 71.9%, 在抗环瓜氨酸肽 (anticyclic citrullinated peptide, anti-CCP) 抗体阴性的患者中阳性率分别为 39.4% 和 51.5%, 在抗核周因子 (antiperinuclear factor, APF) 三者皆阴性的患者中阳性率分别为 54.5% 和 72.7%; (4) 与 E-RA 临床及实验室指标比较显示, 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体的阳性组较阴性组疾病活动度 DAS28 高 [IgG (6.3 ± 1.0) vs. (5.6 ± 0.9), $P = 0.002$; IgM (6.2 ± 1.1) vs. (5.6 ± 0.8), $P = 0.008$], X 线 III 期以上改变比例高 [IgG 56.1% vs. 21.2%, $P = 0.001$; IgM 50.9% vs. 29.4%, $P = 0.036$]、抗 CCP 抗体阳性率高 [IgG 96.8% vs. 55.3%, $P = 0.001$; IgM 89.6% vs. 64.7%, $P = 0.023$]。另外, 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体阳性组 ESR 水平高于阴性组 [IgG (70.3 ± 32.4) vs. (51.9 ± 27.8), $P = 0.004$; IgM (67.4 ± 31.5) vs. (53.8 ± 27.7), $P = 0.035$]。 **结论:** 抗瓜氨酸化 HPVP 的 IgG 型和 IgM 型抗体在 E-RA 的诊断中具有较好的敏感性和特异性, 尤其对血清阴性患者的诊断有重要的参考价值, 该抗体的产生与 E-RA 患者疾病活动度与关节破坏有关。

[关键词] 关节炎, 类风湿; 乳头状瘤病毒, 人; 瓜氨酸

[中图分类号] R593.22 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2013)03-0458-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-167X.2013.03.023

Significance of anti-citrullinated human papilloma virus-47 E₂³⁴⁵⁻³⁶² peptide antibodies in diagnosis of early-stage rheumatoid arthritis

LI Gui-ye, SUN Xiao-lin, LI Yun, JIA Ru-lin, JIA Yuan, LI Zhan-guo[△]

(Department of Rheumatology and Immunology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the prevalence and the diagnostic values of antibodies to the citrullinated HPVP in early-stage rheumatoid arthritis. **Methods:** Antibodies against HPVP and citrullinated HPVP were detected by ELISA in the sera of 101 patients with early-stage RA, 149 patients with other rheumatic diseases and 40 healthy controls. The prevalence and diagnostic values of these antibodies for early-stage RA were analyzed by statistical software. **Results:** (1) The prevalence of IgG, IgM antibodies to citrullinated HPVP in early-stage RA were significantly higher than that in the patients with other rheumatic diseases as well as in the healthy individuals. (2) The diagnostic sensitivity of IgG and IgM citrullinated HPVP antibodies in early-stage RA were 62.4% and 66.3% respectively and the specificity value of the two antibody isotypes were 88.7% and 89.6%, similar to that of the anti-CCP antibody. (3) The positivity rates of IgG and IgM antibodies against citrullinated HPVP were 59.4% and 71.9% in IgM-RF

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划, 2010CB529100)、教育部留学回国启动基金 (jw11432) 和北京大学人民医院研究与发展基金 (RDB2010-08) 资助 Supported by the National Basic Research Program of China (973 Program, 2010CB529100), the Ministry of Education Abroad Fund (jw11432), and the Peking University People's Hospital Research and Development Funds (RDB2010-08)

[△] Corresponding author's e-mail, hi_mel779@163.com

* These authors contributed to this work equally

网络出版时间: 2013-3-21 9:17:22 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20130321.0917.004.html>

negative early-stage RA patients, and 39.4% and 51.5% in anti-CCP antibody negative early-stage RA patients. (4) The DAS28 score [IgG (6.3 ± 1.0) vs. (5.6 ± 0.9), $P=0.002$; IgM (6.2 ± 1.1) vs. (5.6 ± 0.8), $P=0.008$], X-ray stages (IgG 56.1% vs. 21.2%, $P=0.001$; IgM 50.9% vs. 29.4%, $P=0.036$), anti-CCP antibodies (IgG 96.8% vs. 55.3%, $P=0.001$; IgM 89.6% vs. 64.7%, $P=0.023$) in citrullinated HPVPP positive patients were higher than those of citrullinated HPVP negative patients. Additionally, the levels of ESR [IgG (70.3 ± 32.4) vs. (51.9 ± 27.8), $P=0.004$; IgM (67.4 ± 31.5) vs. (53.8 ± 27.7), $P=0.035$] in citrullinated HPVP positive patients were higher than those of negative patients ($P<0.05$). **Conclusion:** IgG and IgM antibodies to citrullinated HPVP are highly sensitive and specific novel biomarkers for early-stage RA diagnosis, and are related to disease activity and joint damage.

KEY WORDS Arthritis, rheumatoid; Papillomavirus, human; Citrulline

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以多关节侵蚀性滑膜炎为特征的系统性自身免疫病,病情进展迅速,骨质破坏在第1年最快,因此针对早期RA的准确诊断至关重要。近年来的大量研究表明,瓜氨酸化修饰在RA自身抗原致病机制中具有重要意义,瓜氨酸化抗原作为RA最特异的一类抗原介导了RA自身免疫反应和抗体的产生^[1-4]。目前,RA的病因仍不明确,病原体的抗原可能由于存在与人体自身蛋白相似的结构,通过分子模拟机制引发RA的自身免疫反应^[5]。多项研究发现,RA发病和EB病毒、细小病毒、人类单纯疱疹病毒等病原密切相关^[6-8]。本课题组近年的研究发现,人乳头状瘤病毒(human papilloma virus, HPV)-47 E₂³⁴⁵⁻³⁶² 抗原肽(human papilloma virus peptide, HPVP)与RA自身抗原聚丝蛋白的表位具有同源性,且RA患者体内存在高滴度的针对该病毒瓜氨酸化抗原肽的自身抗体,提示HPV感染及其抗原可能在RA的发病中发挥一定作用^[9]。本研究进一步通过酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测了早期RA患者以及其他风湿性疾病患者血清中相应抗体的水平,并分析该抗体与早期RA的其他临床和实验室指标之间的关系,为明确该抗原肽在早期RA中的临床诊断意义和进一步认识HPV抗原参与RA致病的可能作用提供了实验依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

(1)E-RA(early-ER)组:101例,均为2010年1月至2011年8月北京大学人民医院风湿免疫科住院患者。所有患者均符合2010年美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR)和欧洲抗风湿病联盟(European League Against Rheumatism, EULAR)提出的RA分类标准^[10],且病程≤1年,其中男性26例,女性75例,年龄14~81岁,平均55

岁。(2)其他风湿性疾病组:149例,其中男性24例,女性125例,年龄14~83岁,平均49.2岁。包括系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)31例,原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS)30例,骨关节炎(osteoarthritis, OA)38例,皮炎/多发性肌炎(polymyositis/dermatomyositis, DM/PM)20例,系统性硬化症(systemic sclerosis, SSC)30例。以上病例全部来自2010年1月至2011年8月在北京大学人民医院住院患者,均符合国内或国际相应的诊断标准。(3)正常对照组40名,均来自我院健康体检者,其中男性8名,女性32名,年龄20~67岁,平均50.9岁。上述3组病例的年龄、性别分布差异无统计学意义。各组血清均来源于临床检验的剩余标本。

本研究开始前经北京大学人民医院伦理委员会审查批准,所有参与者均签署知情同意书。

1.2 HPVP的多肽序列的合成

选取HPV47转录调节蛋白E₂蛋白的第345~362位氨基酸构成的抗原肽序列(GNTRGRG-RGRQGRAGSSG),以固相合成法合成,高效液相层析法进行纯化;以瓜氨酸替代其第348位上的精氨酸,合成瓜氨酸化HPVP,方法同前。

1.3 血清抗体检测

(1)ELISA方法检测RA和对照组血清中抗HPVP及抗瓜氨酸化HPVP抗体的水平:以含0.25%(体积分数)戊二醛的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)稀释HPVP及瓜氨酸化HPVP,质量浓度10 mg/L($\mu\text{g}/\text{mL}$),包被96孔板,100 μL /孔,4℃过夜,加入3%(质量分数)牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)-PBS,100 μL /孔,37℃封闭2 h,洗板;加入体积比1:100患者或健康对照血清,100 μL /孔,37℃孵育1.5 h,洗板;加入体积比1:13 000稀释的辣根过氧化物酶标记的山羊抗人IgG(中杉金桥)或体积比1:10 000稀释的辣根过氧化物酶标记的兔抗人IgM(Sigma)或1:10 000稀释的辣根过氧化物酶标记的山羊抗人IgG(中杉金桥)或体积比1:10 000稀释的辣根过氧化物酶标记的兔抗人IgM(Sigma)或1:10 000稀释的辣根过氧化物酶标记的山羊抗人IgG(中杉金桥)或体积比1:10 000稀释的辣根过氧化物酶标记的兔抗人IgM(Sigma)。

物酶标记的兔抗人 IgA (Sigma)。37 °C 孵育 45 min, 洗板 5 次; 加入 TMB 显色液, 避光反应 10 min, 以 2.5 mol/L 硫酸终止反应, 450 nm、570 nm 读取光密度 (D) 值。所有样品均做复孔, 每板均设阳性对照和阴性对照。根据 ROC 曲线选择诊断 RA 的最佳临界点。 AU 值 = $(D_{\text{肽}} - D_{\text{非特异背景}})_{\text{待测血清}} / (D_{\text{肽}} - D_{\text{非特异背景}})_{\text{标准血清}} \times 100\%$, 标准血清为阳性血清池。

(2) 抗 CCP 抗体试剂盒由欧盟医学实验诊断有限公司提供, RF-IgM 试剂盒由上海德波生物技术有限公司提供, 抗 CCP 抗体和 RF 均采用 ELISA 方法测定。

1.4 E-RA 组相关临床及实验室资料的采集

所有 RA 患者的临床及实验室资料均由北京大学人民医院多中心早期 RA 资料库中获得。临床资料包括性别、年龄、病程、晨僵时间、皮下结节、肺部损害、疾病活动性评分 (disease activity score 28, DAS28) 和 X 线表现; 实验室指标包括红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、免疫球蛋白 IgG、IgM、IgA、IgM-RF、抗环瓜氨酸肽 (anticyclic citrullinated peptide, anti-CCP) 抗体、抗角蛋白抗体 (anti-keratin antibody, AKA)、抗核周因子 (antiperinuclear factor, APF)。关节 X 线分期: I 期为正常或关节面下骨质

疏松; II 期为骨质疏松, 关节周围软组织肿胀, 关节间隙正常或有轻微的关节面骨质侵蚀或破坏, 但无关节畸形; III 期为明显的关节面下骨质侵蚀和破坏, 关节间隙变窄或消失, 但无纤维性或骨性强直, 及关节半脱位畸形; IV 期为除以上两期表现外, 合并有关节纤维性或骨性强直^[11]。

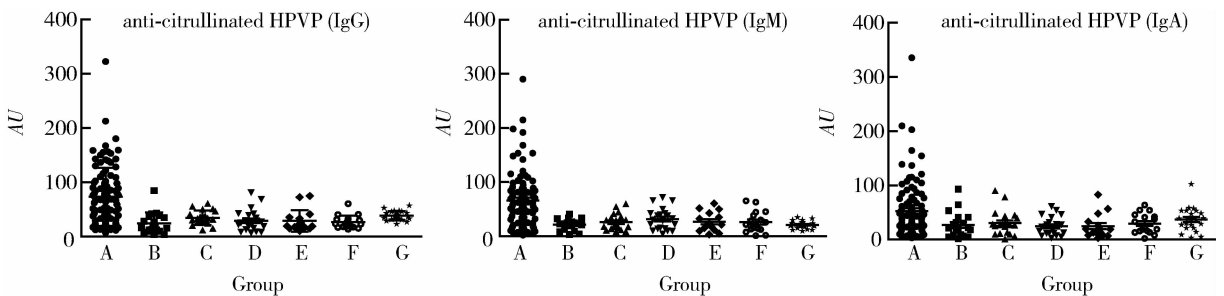
1.5 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件, 组间率的比较采用 χ^2 检验, 正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 两变量之间相关性分析采用 Spearman 相关性分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 抗 HPVP 抗体与抗瓜氨酸化 HPVP 抗体在 RA 和其他风湿性疾病患者滴度比较

抗瓜氨酸化 HPVP 抗体 (IgG, IgM, IgA) 滴度 (AU 值) 在 E-RA 患者血清中的水平明显高于其他风湿性疾病组及健康对照组 (P 均 < 0.01), 而在各对照组间差异均无统计学意义 (图 1)。E-RA 患者血清中抗 HPVP 抗体 (IgG, IgM, IgA) 的滴度较各对照组差异均无统计学意义 (图 2)。



A, RA; B, SLE; C, pSS; D, OA; E, DM/PM; F, SSc; G, HC.

图 1 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体不同亚型在 RA、其他风湿性疾病患者及健康对照滴度 (AU 值) 比较

Figure 1 Values of anti-citrullinated HPVP antibodies in RA and controls

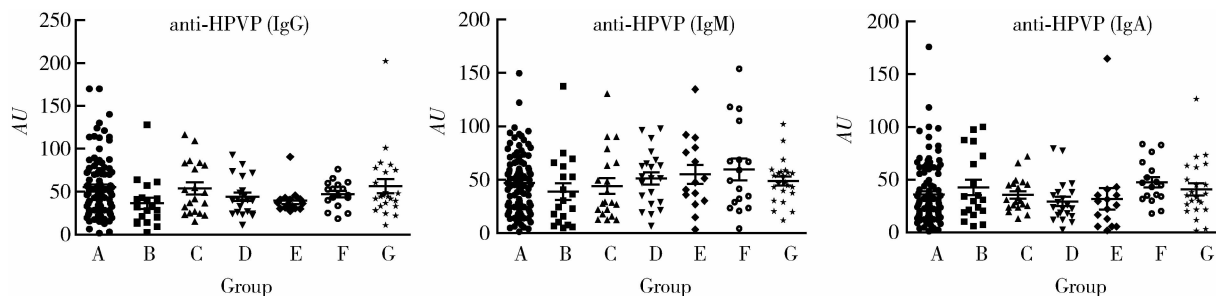
2.2 抗瓜氨酸化 HPVP 不同抗体亚型、抗 CCP 抗体、IgM-RF 敏感性、特异性比较

抗瓜氨酸化 HPVP 抗体 IgG、IgM、IgA 不同亚型 AU 值的最佳临界点通过绘制 ROC 曲线得到, 其 cut-off 值分别为 44.6、40.8 和 68.2。不同亚型抗瓜氨酸化 HPVP 抗体和抗 CCP 抗体和 IgM-RF 在 RA 组及各对照组的阳性率见表 1, 经卡方检验, E-RA 组所检测抗体阳性率均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 各项检验灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值比较见表 2。所评价的指标中 IgG、IgM 型抗瓜氨酸化 HPVP 抗体对 E-RA 诊断的灵敏度、特异度与抗 CCP 抗体相当, 差异无统计学意义。

2.3 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体在主要 RA 自身抗体检测为阴性的 E-RA 诊断中的意义

抗瓜氨酸化 HPVP 抗体 IgG 型、IgM 型在 IgM-RF 检测为阴性的 E-RA 患者中的阳性率分别是 59.4% 和 71.9%, 高于抗 CCP 抗体在该组患者中的阳性率; 在 AKA、APF 和 IgM-RF 均为阴性的 E-RA 患者中, 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体 IgG 型、IgM 型阳性率分别为 54.5% 和 72.7%, 同样高于抗 CCP 抗体阳性率 (表 3)。在抗 CCP 抗体阴性的早期 RA 患者中, 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体 IgG 型、IgM 型的阳性率分别是 39.4% 和 51.5%。由此可见, 检测 IgG 型、IgM 型抗瓜氨酸化 HPVP 抗体对尚处于发病早期阶

段,IgM-RF、AKA、APF 及抗 CCP 等自身抗体检测为 阴性的 E-RA 患者的诊断具有很好的补充意义。



A, RA; B, SLE; C, pSS; D, OA; E, DM/PM; F, SSc; G, HC.

图2 抗 HPVP 抗体不同亚型在 RA、其他风湿性疾病患者及健康对照滴度(AU 值)比较

Figure 2 Values of anti-HPVP antibodies in RA and controls

表1 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体、抗 CCP 抗体、IgM-RF 在不同疾病中的阳性率比较

Table 1 Positivity for anti-citrullinated HPVP, anti-CCP, IgM-RF in E-RA and controls

Group	No. of patients	anti-citrullinated HPVP			anti-CCP, n (%)	IgM-RF, n (%)
		IgG, n (%)	IgM, n (%)	IgA, n (%)		
E-RA	101	63 (62.4)	67(66.3)	29(28.7)	68 (67.3)	69 (68.3)
SLE	31	1 (3.2)	1(3.2)	2 (6.5)	3 (9.7)	7 (22.6)
OA	38	4 (10.5)	8(21.0)	4 (10.5)	4 (8.3)	7 (18.4)
SS	30	6 (20)	3(10)	0 (0)	3 (10)	9 (30)
SSc	30	3 (10)	3(10)	1 (3.3)	1 (3.3)	6 (20)
DM/ PM	20	2 (10)	4(20)	1 (5)	2 (10)	5 (25)
HC	40	4 (10)	6(15)	5 (12.5)	0 (0)	0 (0)

E-RA, early rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus rythematosus; OA, osteoarthritis; SS, Sjögren's syndrome; SSc, systemic sclerosis; DM/PM, polymyositis/dermatomyositis; HC, normal control; HPVP, human papilloma virus peptide; anti-CCP, anticyclic citrullinated peptide; RF, rheumatoid factor; No. of patients, number of patients.

表2 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体及抗 CCP 抗体、IgM-RF 对 RA 的诊断价值比较

Table 2 The diagnostic values of anti-citrullinated HPVP, anti-CCP, IgM-RF in E-RA

	Sensitivity/%	Specificity/%	Positive predictive value/%	Negative predictive value/%
anti-citrullinated HPVP				
IgG	62.4	89.4	75.9	81.6
IgM	66.3	86.6	72.8	82.8
IgA	28.7	93.1	69.0	71.0
anti-CCP	67.3	93.1	84.0	84.2
IgM-RF	68.3	82.0	67.0	82.9

Abbreviations as in Table 1.

2.4 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体与 E-RA 的临床和实验室指标之间的关系

2.4.1 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体与 E-RA 临床特点的关系

在 E-RA 患者中,抗瓜氨酸化 HPVP 抗体各亚型阳性组与阴性组在性别、年龄、病程、晨僵、皮下结节及肺部损害上差异无统计学意义。IgG 型、IgM 型抗瓜氨酸化 HPVP 抗体阳性组患者的疾病活动指数

DAS28 评分均高于阴性组 [IgG(6.3 ± 1.0) vs. (5.6 ± 0.9), $P=0.002$; IgM (6.2 ± 1.1) vs. (5.6 ± 0.8), $P=0.008$], 且呈线性相关 (IgG $r=0.342$, $P<0.001$; IgM $r=0.347$, $P<0.001$)。此外,抗瓜氨酸化 HPVP 抗体各亚型阳性组中 X 线发生 III 期以上改变的患者比例也高于阴性组 (IgG 56.1% vs. 21.2%, $P=0.001$; IgM 50.9% vs. 29.4%, $P=0.036$, 表 4)。

表 3 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体与抗 CCP 抗体在 RA 相关自身抗体阴性患者中的比较

Table 3 The prevalence of anti-citrullinated HPVP and anti-CCP in sera-negative RA

Group	No. of patients	anti-citrullinated HPVP			anti-CCP, n (%)
		IgG, n (%)	IgM, n (%)	IgA, n (%)	
RF(-)	32	19(59.4)	23 (71.9)	9 (28.1)	10 (31.3)
AKA (-)	48	28 (58.3)	34 (70.8)	12 (25.0)	20 (41.7)
APF (-)	45	26 (57.8)	32 (71.1)	14 (31.3)	17 (37.8)
anti-CCP (-)	33	13 (39.4)	17 (51.5)	5 (15.2)	-
RF + AKA + APF (-)	22	12 (54.5)	16 (72.7)	6 (27.3)	5 (22.7)

Abbreviations as in Table 1; AKA, anti-keratin antibody; APF, antiperinuclear factor.

表 4 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体与 RA 相关临床和实验室指标之间的关系

Table 4 Anti-citrullinated HPVP antibodies and clinical and laboratory features of RA

	anti-citrullinated HPVP (IgG)			anti-citrullinated HPVP (IgM)		
	Negative	Positive	P	Negative	Positive	P
DAS28	5.6 ± 0.9	6.3 ± 1.0	0.002	5.6 ± 0.8	6.2 ± 1.1	0.008
ESR/(mm/h)	51.9 ± 27.8	70.3 ± 32.4	0.004	53.8 ± 27.7	67.4 ± 31.5	0.035
CRP/(mg/L)	22.0 ± 18.1	33.9 ± 30.0	0.028	29.3 ± 24.6	34.8 ± 32.5	0.396
IgM-RF	196.6 ± 240.9	244.3 ± 345.2	0.461	196.9 ± 235.7	241.3 ± 341.7	0.504
AKA	16/36	34/62	0.217	20/34	30/64	0.180
APF	17/36	36/62	0.204	21/34	32/64	0.184
anti-CCP	18/38	50/63	0.001	18/34	50/67	0.023
X-ray stages						
≤ II	27/33	25/57	0.001	24/34	28/57	0.036
≥ III	7/33	32/57	0.001	10/34	29/57	0.036

Abbreviations as in Table 3.

2.4.2 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体与 E-RA 相关实验室指标之间的关系 抗瓜氨酸化 HPVP 抗体阳性组的抗 CCP 抗体阳性率(IgG 96.8% vs. 55.3%, $P = 0.001$; IgM 89.6% vs. 64.7%, $P = 0.023$)和 ESR 水平平均高于阴性组[IgG (70.3 ± 32.4) vs. (51.9 ± 27.8), $P = 0.004$; IgM (67.4 ± 31.5) vs. (53.8 ± 27.7), $P = 0.035$], 两组间 AKA、APF 及 IgM-RF 等差异均无统计学意义。

3 讨论

类风湿关节炎是一种致畸性自身免疫疾病, 抗瓜氨酸化蛋白抗体的出现是 RA 的特异性表现之一^[12-14]。Scheuekens 等^[1]选取 profilaggrin 的一段富含 R-G 的 306 - 324 氨基酸序列合成多肽 (PF³⁰⁶⁻³²⁴) 及瓜氨酸化 PF³⁰⁶⁻³²⁴, 结果发现, RA 患者中抗瓜氨酸化 PF³⁰⁶⁻³²⁴ 抗体增高, 并且其阳性率随着瓜氨酸化程度的增高而增高。进一步的研究发现, 将瓜氨酸化 PF³⁰⁶⁻³²⁴ 多肽环化后形成的环瓜氨酸多肽抗体在 RA 中具有很高的特异性^[1]。目前,

抗 CCP 抗体的检测已成为 RA 临床诊断检测 ACPA 最重要的参考指标之一, 但相当比例的 RA 患者, 特别是较多处于发病早期的 RA 患者体内的 ACPA 难以用抗 CCP 试剂检测出, 增加了早期 RA 临床诊断的困难。

近年来, 一系列研究发现, HPV 感染与 SLE 等自身免疫病的发病相关^[15-16], RA 患者体内存在针对瓜氨酸化的 HPVP 抗原肽的抗体, 提示 HPV 及其抗原可能参与了 RA 自身免疫反应的发生^[9]。为进一步明确 HPVP 抗原在 RA 疾病活动和 RA 临床诊断中的意义, 本研究采用 ELISA 方法检测 101 例早期 RA 患者, 149 例其他风湿性疾病对照及 40 例正常对照血清中相关抗体的水平, 同时检测各组血清中抗 CCP 抗体及 IgM-RF 的水平。综合研究结果发现, 所评价的指标中 IgG、IgM 型抗瓜氨酸化 HPVP 抗体对早期 RA 诊断价值优于 IgM-RF, 而与抗 CCP 抗体差异无统计学意义, 这表明 IgG、IgM 型抗瓜氨酸化 HPVP 抗体在对 RA 的早期诊断价值与抗 CCP 抗体相当。本研究以 HPVP 为抗原包板通过 ELISA

方法对各组血清中抗 HPVP 抗体也做了检测,结果发现与健康对照组相比,抗 HPVP 抗体在以上各种风湿病中均有较低的滴度和阳性率,而且各组之间差异无统计学意义,这说明抗瓜氨酸化 HPVP 抗体所针对的主要抗原表位为含有瓜氨酸化的基团,而瓜氨酸化 HPVP 引起的自身免疫反应对早期 RA 具有很高特异性。另外,本研究在对抗瓜氨酸化 HPVP 抗体与 E-RA 相关自身抗体的分析中发现,抗瓜氨酸化 HPVP 抗体 IgG 型、IgM 型在 IgM-RF、AKA、APF 阴性的 E-RA 患者中的阳性率较抗 CCP 抗体显著增高,而在抗 CCP 抗体阴性的 E-RA 患者中,抗瓜氨酸化 HPVP 抗体 IgG 型、IgM 型阳性率也分别达到 39.4% 和 51.5%。这表明,IgG、IgM 型瓜氨酸化 HPVP 抗体在自身抗体检测呈阴性的 RA 患者中具有很好的参考价值,可作为临床诊断中抗 CCP 抗体的重要补充。

在影像学表现上,抗瓜氨酸化 HPVP 抗体阳性组 X 线改变明显较阴性组严重,提示该抗体阳性患者骨质破坏的程度更为严重。近年的研究已经证明 ACPA 的出现和滴度与早期 RA 患者的骨质侵蚀呈正相关,与本研究中的结果一致。此外,该抗体 IgG、IgM 型阳性者疾病活动的相关指标 ESR、DAS28 均显著增高,提示抗瓜氨酸化 HPVP 抗体阳性与较高的 RA 的疾病活动程度相关。

总之,IgG、IgM 型瓜氨酸化 HPVP 抗体在 E-RA 的诊断中具有较高的敏感性和特异性,对 IgM-RF、AKA、APF 阴性的 E-RA 患者的诊断价值明显优于抗 CCP 抗体,并可作为对抗 CCP 抗体阴性的早期 RA 诊断的重要辅助参考指标;同时,该抗体的增高与疾病活动及病情严重程度相关。

参考文献

[1] Scheuekens 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

[2] 赵义, 田昕, 栗占国, 等. 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[J]. *北京大学学报: 医学版*, 2006, 38(4): 350 - 355.

[3] 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[J]. *中华医学杂志*, 2006, 86(33): 2334 - 2338.

[4] Federico P, Cristina T, Consuelo A, et al. Deiminated Epstein-Barr virus nuclear antigen I is a target of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(3): 733 - 741.

[5] Münz C, Lünemann JD, Getts MT, et al. Antiviral immune responses: triggers of or triggered by autoimmunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(4): 246 - 258.

[6] Blaschke S, Schwarz G, Moneke D, et al. Epstein-Barr virus infection in peripheral blood mononuclear cells, synovial fluid cells, and synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2000, 27(4): 866 - 873.

[7] Takahashi Y, Murai C, Shibata S, et al. Human parvovirus B19 as a causative agent for rheumatoid arthritis[J]. *Immunol Med Sci*, 1998, 95(14): 8227 - 8232.

[8] Alvarez-Lafuente R, Fernandez-Gutierrez B, de Miguel S, et al. Potential relationship between herpes viruses and rheumatoid arthritis; analysis with quantitative real time polymerase chain reaction[J]. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64(9): 1357 - 1359.

[9] Shi JX, Sun XY, Zhao Y, et al. Prevalence and significance of antibodies to citrullinated human papilloma virus-47 E2345 - 362 in rheumatoid arthritis[J]. *J Autoimmun*, 2008, 31(2): 131 - 135.

[10] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/Europe an League Against Rheumatism collaborative initiative[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(9): 2569 - 2581.

[11] Steinbrocker O, Traeger CH, Batterman RC. Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis[J]. *J Am Med Assoc*, 1994, 140(8): 659 - 662.

[12] Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, et al. PAD, a growing family of citrullinating enzymes; genes, features and involvement in disease[J]. *Bioessays*, 2003, 25(11): 1106 - 1118.

[13] György B, Tóth E, Tarcsa E, et al. Citrullination: a posttranslational modification in health and disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(10): 1662 - 1677.

[14] Baeten D, Peene I, Union A, et al. Specific presence of intracellular citrullinated proteins in rheumatoid arthritis synovium; relevance to antifilaggrin autoantibodies[J]. *Arthritis Rheum*, 2001, 44(10): 2255 - 2262.

[15] Klumb EM, Pinto AC, Jesus GR, et al. Are women with lupus at higher risk of HPV infection[J]. *Lupus*, 2010, 19(13): 1485 - 1491.

[16] Nath R, Mant C, Luxton J, et al. High risk of human papilloma-virus type 16 infections and of development of cervical squamous intraepithelial lesions in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 57(4): 619 - 625.

(2012-07-04 收稿)

(本文编辑:王 蕾)