论著

文章编号:1000-5404(2008)08-0732-03

血清葡萄糖6-磷酸异构酶在类风湿关节炎诊断中的意义

方勇飞[1,2],牟方祥[1],王 欢[3],戴裕光[1,2] ([1]第三军医大学西南医院中西医结合科,重庆 400038;[2]解放军军医进修学院中医科,北京 100853;[3]解放军91867部队医院检验科,浙江 义乌 322000)

摘 要:目的 探讨葡萄糖6-磷酸异构酶(glucose-6- phosphate isomerase, GPI)在类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)诊断中的意义。**方法** 用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)双抗体夹心法检测108例RA患者、42例系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者、50例其他风湿病患者及112例健康体检者血清GPI浓度,RA患者同时检测了抗环瓜氨酸肽抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibody, anti-CCP)、类风湿因子(rheumatoid factor, RF)。**结果** GPI浓度:RA患者为(1.840±2.821)μg/ml,SLE患者为(0.143±0.426)μg/ml,其他风湿病患者为(0.074±0.279)μg/ ml,健康体检者为(0.092±0.232)μg/ml。RA患者血清中GPI浓度显著高于SLE、其他风湿病患者和健康体检者($P<0.01$)。Spearman等级相关分析显示RA患者GPI浓度与类风湿因子(RF)浓度呈显著正相关($r=0.622$, $P<0.01$),与其他检测指标无相关性。**结论** GPI浓度大于0.209 μg/ml时对RA的诊断有较高的特异性,其特异性可达93.7%,敏感性为56.5%。表明GPI的变化在RA诊断有较重要的意义。

关键词: 葡萄糖6-磷酸异构酶; 类风湿关节炎;酶联免疫吸附实验

中图法分类号: R345.8;R446.1;R593.22 **文献标识码:** A

Diagnostic value of glucose-6-phosphate isomerase in rheumatoid arthritis

FANG Yong-fei[1,2], MU Fang-xiang[1], WANG Huan[3], DAI YU-guang[1,2] ([1]Department of Traditional Chinese Medicine, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]Department of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100853; [3]No. 91867 Hospital of PLA, Yiwu 322000, Zhejiang, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of glucose-6-phosphate isomerase (GPI) in rheumatoid arthritis (RA). **Methods** ELISA was used to measure the serum concentration of GPI in 108 patients with RA, 42 patients with systemic lupus erythematosus (SLE), 50 patients with other autoimmune diseases and 112 normal controls. The levels of rheumatoid factor (RF) and anti-CCP antibodies were also assayed for RA patients. **Results** Serum GPI level in RA patients were (1.840±2.821) μg/ml, while (0.143±0.426) μg/ml in SLE patients, (0.074±0.279) μg/ml in other autoimmune diseases and (0.092±0.232) μg/ml in normal controls. There was significant statistical difference among RA, SLE, other autoimmune diseases and the normal controls ($P<0.01$). Spearman rank correlation analysis showed the concentration of GPI was positively correlated with RF level ($r=0.622$, $P<0.01$), but not with other parameters. **Conclusion** Serum GPI might be a new marker in diagnosis of RA. The serum concentions of GPI over the cut off value 0.209 μg/ml has a remarkable specificity in diagonising RA.

Key words: glucose-6-phosphate isomerase; rheumatoid arthritis; enzyme-linked immunosorbent assay

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种常见的系统性自身免疫性疾病,在我国的患病率为0.32%~0.36%。目前RA的诊断主要依靠临床症状,类风湿因子(rheumatoid factor, RF)在RA患者中的阳性率为60%~70%,特异性较低。一些新的自身抗体如抗角蛋白抗体(anti-keratin antibody, anti-AKA)、抗环瓜氨酸肽抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibody, anti-CCP)、葡萄糖6-磷酸异构酶(glucose-6-phosphate isomerase, GPI)等开始受到重视。GPI位于细胞质中,是一种具有多种功能的蛋白酶。2004年,Schubert等[1]报道GPI与RA有关,并指出在RA患者关节滑液和血浆中存在高滴度、可溶性GPI分子,提出检测血清GPI抗原可作为RA的诊断指标之一,有较好的敏感性和特异性。本研究检测RA患者、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,

作者简介:方勇飞,男,湖南省岳阳市人,博士研究生,主任医师,教授,主要从事风湿病的中西医结合基础与临床方面的研究,发表论文20余篇。电话:(023)68754135,E-mail: fyfalan@163.com

通信作者:戴裕光,电话:(023)68765205

收稿日期:2007-11-13;修回日期:2007-12-01

SLE)患者、其他风湿病患者及健康体检者血清 GPI 浓度,观察其在各种风湿病患者之间,以及与正常对照组间的阳性率和升高程度是否有差异,分析其在 RA 中的诊断意义。

1　资料与方法

1.1　研究对象

RA 患者血清取自于我院 2006 年 11 月至 2007 年 5 月在风湿免疫科已确诊的门诊及住院患者 108 例,其中男性 29 例,女性 79 例,年龄 17 ~ 79(45 ± 14)岁。SLE 患者 42 例,其中男性 6 例,女性 36 例,年龄 12 ~ 58(33 ± 10)岁。其他风湿患者 50 例,其中骨关节炎(OA)患者 17 例,未分化结缔组织病 15 例,强直性脊柱炎(AS)13 例,痛风患者 5 例,年龄 22 ~ 76(47 ± 13)岁,其中男性 10 例,女性 40 例。上述疾病均符合美国风湿病学会相应疾病诊断或分类标准[2]。对照:健康体检者样本共 112 例。

1.2　方法

1.2.1　标本采集　　采集静脉血 3 ml,分离提取血清,-70 ℃冰箱保存,实验时一次冻融后测定。

1.2.2　GPI 测定　　采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA),试剂盒和标准品由上海北加生化试剂公司提供。

1.2.3　抗 CCP 抗体检测　　应用 ELISA 法,抗 CCP 抗体检测试剂盒由日本 MBL 公司提供。

1.2.4　RF 检测　　采用速率散射比浊法,试剂由美国 BEACKMAN 公司提供,全自动化学发光分析仪 ACCESS 检测。

1.3　统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件,因样本值呈偏态分布且方差不齐,故多组样本及两样本之间的比较采用非参数秩和检验。诊断最佳临界值的确定采用受试者工作特性曲线(receiver operating characteristic curve, ROC),最佳临界值选取灵敏度与特异度之和为最大时的测量值。GPI、CCP 与 RF 在 RA 中特异性与敏感性比较采用 χ^2 检验,数据之间的相关性采用两变量偏态分布的 Spearman 等级相关分析。

2　结果

2.1　各组 GPI 浓度

RA 患者血清 GPI 浓度为(1.840 ± 2.821)μg/ml,RA 患者血清中 GPI 浓度显著高于其他患者和健康体检者[SLE 患者(0.143 ± 0.426)μg/ml,其他风湿患者(0.074 ± 0.279)μg/ml,健康体检者(0.092 ± 0.232)μg/ml($P < 0.01$)。

2.2　GPI 对 RA 诊断的 ROC 曲线

工作特性曲线显示当 GPI 值为 0.209 μg/ ml,其敏感性和特异性的预测值分别为 56.5%、93.7%,两者之和最大(图 1)。

2.3　GPI 在 RA 中的特异性及敏感性

根据 ROC 曲线,选取 3 个点,分别计算不同浓度 GPI 的敏感性与特异性。以 0.209 μg/ml 为临界值,其敏感性为 56.5%(61/108)、特异性为 88.2%;以 0.33 μg/ml 为临界值,其敏感性为 49.1%(53/108)、特异性为 91.7%;以 2.0 μg/ml 为临界值,其敏感性为 28.7%(31/108)、特异性为 99.2%。

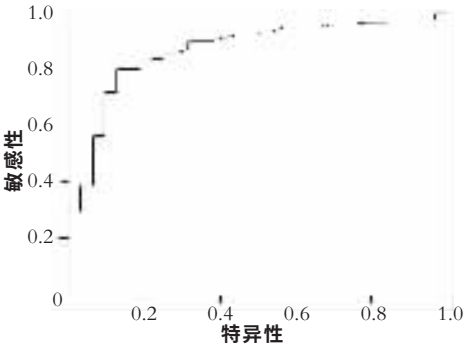


图 1　GPI 对 RA 诊断的 ROC 曲线

2.4　GPI、抗 CCP 抗体与 RF 在 RA 中的特异性与敏感性

在 RA 患者中,GPI、CCP 与 RF 的敏感性分别 56.5%(61/108)、43.5%(47/108)和 75.9%(82/108),特异性分别为 88.2%、93.2% 和 79.3%。经 χ^2 检验,GPI 的敏感性高于抗 CCP,特异性高于 RF($P < 0.01$)。

2.5　RA 患者 GPI 值与抗 CCP 抗体、RF 的相关性分析

RA 患者 GPI 值与 RF 具有相关性($r = 0.622$, $P < 0.01$),与抗 CCP 无相关性($r = 0.102$, $P > 0.05$)。

3　讨论

葡萄糖 6-磷酸异构酶(GPI)最早于 1968 年在非球性红细胞溶血性贫血中被认识,它是一种催化 6-磷酸葡萄糖向 6-磷酸果糖转化的重要酶,普遍存在于细细胞质内。近年来研究表明,RA 患者血清和关节液中 GPI 浓度均显著升高,且部分患者可检测到抗 GPI 抗体[3-8]。Schaller 等[9,10]发现 RA 患者滑膜血管内皮细胞表达 GPI 明显增高,而在 RA 患者心包、皮肤、结缔组织和子宫内膜的血管内皮细胞中 GPI 表达不增高。这些研究表明 GPI 和抗 GPI 抗体可能参与了 RA 的滑膜病变过程,GPI 可作为 RA 新的标记物,在 RA 的临床诊断中发挥重要作用。

本实验通过 ELISA 方法检测 RA 患者血清中 GPI 的浓度,结果显示 RA 患者血清中 GPI 浓度为(1.840 ± 2.821)μg/ml,显著高于 SLE、其他风湿病患者和健康体检者($P < 0.01$)。国内相关研究也显示了相似的结果:如鲍春德等[11]测定 GPI 在 RA 患者中的浓度为(2.4 ± 5.0)μg/ml,正常对照组为浓度为(0.12 ± 0.08)μg/ml,当 GPI 浓度高于 0.33 μg/ml 时特异性为 28%。卿之驹等[12]检测 46 例 RA 患者血清中 GPI 浓度为(0.996 ± 0.574)μg/ml,6 例 RA 患者关节液中 GPI 浓度为(1.012 ± 0.358)μg/ml,30 例献血员血清中 GPI 浓度为(0.064 ± 0.042) μg/ml,12 例非 RA 患者关节液中 GPI 浓度为(0.059 ± 0.036) μg/ml。本试验所测得 GPI 浓度与国内的报道有一定的差异性,这

可能是由于选取的患者之间个体差异和不同的实验条件所致。上述研究均显示,GPI 浓度的升高在 RA 患者中具有较高的特异性,可作为 RA 诊断的特异性指标之一。

诊断最佳临界值的确定采用受试者工作特性曲线(ROC),最佳临界值选取灵敏度与特异度之和最大的测量值[13]。本研究中当 GPI 值 >0.209 μg/ml 的敏感性与特异性之和最大,所以我们选取 0.209 μg/ml 为临界值。当 GPI 值 > 0.209 μg/ml,其敏感性为 56.5%,特异性为 88.2%,且随着 GPI 浓度升高,其特异性也升高。当 GPI 值 >2.0 μg/ml 时,特异性可达 99.2%,敏感性 28.7%(31/108)。国内有报道采用 0.33 μg/ml 为临界值[11,12],在本研究中若选取该值,则敏感性和特异性分别为 49.1% 和 90.7%,由此可见敏感性降低,特异性提高不明显。

在 RA 患者中,GPI、CCP 与 RF 的敏感性分别 56.5%、45.4% 和 75.9%,特异性分别为 88.2%、93.2% 和 79.3%。GPI 的敏感性高于抗 CCP 抗体,而低于 RF,特异性高于 RF,经统计学检验有显著性差异。GPI 的特异性与抗 CCP 抗体相比无明显差异。以上结果表明,GPI 与 RF、抗 CCP 抗体相比,有一定的优势。此外,本研究还显示 GPI 与 RF 呈正相关性(r = 0.0622,P <0.01),而与抗 CCP 抗体无关,目前与此相似研究的文献[11,12]报道不尽一致,考虑这些研究的样本量均较小,GPI 与 RF 的相关性尚难下定论,需要进一步扩大样本以获取更可靠的证据。

目前,GPI 作为一种新的 RA 标记物,其在 RA 诊断中的意义已获得国内外多项研究结果的支持,但其正常参考值的确定尚存在差异,敏感性与特异性不尽相同,GPI 参与 RA 发病的具体机制尚需进一步研究。

参考文献:

[1] Schubert D, Maier B, Morawietz L, *et al*. Immunization with glucose-6-phosphate isomerase induces T cell-dependent peripheral polyarthritis in genetically unaltered mice [J]. J Immunol, 2004, 172(7): 4503-4509.

[2] Arnett F C, Edworthy S M, Bloch D A, *et al*. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 1988, 31(3): 315-324.

[3] Kamradt T, Schubert D. The role and clinical implications of G6PI in experimental models of rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7(1): 20-28.

[4] Schaller M, Stohl W, Tan S M, *et al*. Raised levels of anti-glucose-6-phosphate isomerase IgG in serum and synovial fluid from patients with inflammatory arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2005, 64(5): 743-749.

[5] Matsumoto I, Zhang H, Muraki Y, *et al*. A functional variant of Fc-gamma receptor ⅢA is associated with rheumatoid arthritis in individuals who are positive for anti-glucose-6-phosphate isomerase antibodies [J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7(6): R1183-R1188.

[6] Muraki Y, Matsumoto I, Chino Y, *et al*. Glucose-6-phosphate isomerase variants play a key role in the generation of anti-GPI antibodies: possible mechanism of autoantibody production [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 323(2): 518- 522.

[7] Nandakumar K S, Holmdahl R. Antibody-induced arthritis: disease mechanisms and genes involved at the effector phase of arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2006, 8(6): 223.

[8] Matsumoto I, Muraki Y, Yasukochi T, *et al*. The exploration of joint-specific immunoreactions on immunoglobulins G of anti-glucose-6-phosphate isomerase antibody-positive patients with rheumatoid arthritis [J]. Int J Mol Med, 2005, 16(5): 793-800.

[9] Schaller M, Burton D R, Ditzel H J. Autoantibodies to GPI in rheumatoid arthritis: linkage between an animal model and human disease [J]. Nat Immunol, 2001, 2(8): 746-753.

[10] Schaller M, Stohl W, Benoit V, *et al*. Patients with inflammatory arthritic diseases harbor elevated serum and synovial fluid levels of free and immune-complexed glucose-6-phosphate isomerase (G6PI)[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 349(2): 838-845.

[11] 鲍春德, 叶 萍, 陈晓翔, 等. 血清中 6-磷酸葡萄糖异构酶抗原升高在类风湿关节炎中的意义探讨[J]. 中华风湿病学杂志, 2005, 9(5): 277-279.

[12] 卿之驹,贾 凯,秦立新. 葡萄糖 6-磷酸异构酶在类风湿关节炎中的诊断意义[J]. 实用预防医学, 2005, 12(3): 481-482.

[13] 陈志伟. 类风湿关节炎诊治进展[J]. 实用临床医药杂志, 2007, 11(4): 12-15.

(编辑 栗 嘉)

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中,引用英文文献的比例很高,但有不少作者将英、美人的姓名搞错,以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是:名-名-姓,"名"可以有 1 个、2 个或 3 个,但"姓"只有 1 个。因此,从书籍或期刊中的姓名转录到文献时,要将次序调整为姓-名-名。姓是不可以简写的;"名"可以缩写,用第一个字母大写,不用缩写点。数据库在著录作者姓名时,已经调整为姓-名-名,可照录。

例如:John Quincy Public 写为 PUBLIC J Q。

本刊编辑部