

• 临床检验研究论著 •

HLA-B27 检测对强直性脊柱炎诊断的临床意义

刘永杰¹, 张小芳², 张运刚², 李海新², 李守霞^{2△}

(邯郸市中心医院: 1. 器械科; 2. 检验科, 河北邯郸 056001)

摘要:目的 探讨人类白细胞抗原(HLA)-B27 对强直性脊柱炎(AS)的诊断价值。方法 选择 2 768 例疑诊 AS 患者作为研究对象, 其中 600 例为确诊 AS 患者。采用流式细胞术进行血 HLA-B27 检测。结果 2 768 例疑诊 AS 的患者中, HLA-B27 阳性 598 例(21. 6%), 阴性 2 170 例(78. 4%)。男、女性患者 HLA-B27 阳性率的差异有统计学意义($P < 0. 05$); 20~<40 岁的 AS 疑诊患者 HLA-B27 阳性率显著高于其他年龄段的阳性率($P < 0. 05$)。600 例 AS 确诊患者中, HLA-B27 阳性 536 例(89. 3%)。结论 HLA-B27 检测结合临床表现有助于 AS 的早期诊断。

关键词:流式细胞术; 脊柱炎, 强直性; HLA 抗原

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 10. 022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)10-1285-02

Clinical significance of HLA-B27 detection in diagnosis of ankylosing spondylitis

Liu Yongjie¹, Zhang Xiaofang², Zhang Yungang², Li Haixin², Li Shouxia^{2△}

(1. Department of Medical Instruments; 2. Department of Clinical Laboratory, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic value of human leukocyte antigen(HLA)-B27 for ankylosing spondylitis (AS). **Methods** 2 768 patients with suspected AS were enrolled, including 600 patients with confirmed AS. Flow cytometry was performed to detect blood HLA-B27. **Results** Among 2 768 patients with suspected AS, 598(21. 6%) patients were found HLA-B27 positive and 2 170(78. 4%) patients negative. Difference of HLA-B27 positive rates between male and female patients was statistically significant($P < 0. 05$). HLA-B27 positive rate of patients aged 20~<40 years was significantly higher than the others ($P < 0. 05$). Among 600 patients with confirmed AS, 536 cases(89. 3%) was found HLA-B27 positive. **Conclusion** HLA-B27 detection combined with clinical manifestations contribute to early diagnosis of AS.

Key words: flow cytometry; spondylitis, ankylosing; HLA antigens

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)-B27 属于 HLA I 类分子, 含有 2 条链: 一条为重链, 位于第 6 号染色体, 由 HLA 基因编码; 另一条为轻链, 位于第 15 号染色体, 非 HLA 基因编码。在内质网中, HLA-B27 重链具有异常折叠倾向, 并且可以形成二聚体表达于细胞表面, 参与疾病的发病过程^[1]。HLA-B27 与多种脊柱关节病(spondyloarthropathy, SpA)相关, 尤其强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS), 其与后者的高度相关性已得到证实^[2]。近年来还发现 HLA-B27 与多种器官、系统的炎症改变及部分感染性疾病相关^[3]。AS 多见于青少年, 起病 10 年内即可出现严重的关节功能障碍, 当脊柱、骶髂关节和髋关节发生病变后, 病变不可逆转^[4]。AS 主要根据患者临床表现及计算机断层扫描(computer tomography, CT)进行诊断, 由于其诊断敏感性低, 患者从出现症状到确诊, 平均滞后 5~6 年, 使治疗延误^[5-6]。在一般人群中, HLA-B27 的检出阳性率仅为 5%~10%, 而 AS 患者高达 80%~95%^[2]。AS 治疗的关键时期是在影像学检测提示骶髂关节炎前, 因此, AS 的早期诊断具有重要意义^[7]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 4 月至 2013 年 6 月于邯郸市中心医院骨科、免疫科门诊就诊及住院的疑诊 AS 患者, 共 2 768 例, 其中, 男 1 502 例, 女 1 266 例; 年龄 10~79 岁, 平均 36. 5

岁。根据 1984 年纽约修订的 AS 诊断标准^[8], 其中 600 例为确诊 AS 患者。

1.2 主要仪器与试剂 主要仪器为 FACS Calibur 全自动双激光四色流式细胞分析分选系统(美国 BD Biosciences 公司)。主要试剂: Calibrite 四色校准微球试剂盒(批号 340486、340487)、HLA-B27 检测试剂盒(批号 340183)、荧光标记抗体[HLA-B27-异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)/CD3-藻红蛋白(phycoerythrin, PE)]、溶血素、FL1 Calibration Beads 均购自美国 BD Biosciences 公司。

1.3 检测方法 应用流式细胞术检测 HLA-B27 抗原的表达, 将单克隆抗体与外周血共孵育, 裂解红细胞, 无须分离单个淋巴细胞, 洗涤固定后上机检测。(1)抽取外周静脉血 1 mL, 加入乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)-K₂抗凝的真空采血管中颠倒混匀, 将 30 μ L HLA-B27/CD3-PE 荧光抗体加入流式细胞仪专用试管底部, 再加入 50 μ L 充分混匀的抗凝血, 低速混匀 3 s, 室温避光静置 15~20 min;(2)加入 2 mL 溶血素, 低速混匀, 室温避光静置 10~12 min, 待红细胞完全裂解后, 300 $\times$ g 离心 5 min, 弃上清液;(3)加入 2 mL 磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)洗涤, 低速混匀, 300 $\times$ g 离心 5 min, 弃上清液;(4)加入 250 μ L 含 1%多聚甲醛的 PBS, 低速混匀后上机检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,计数资料用率表示,率的比较采用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2 768 例疑诊 AS 的患者中,HLA-B27 阳性 598 例(21.6%),阴性 2 170 例(78.4%)。不同性别、不同年龄的 AS 疑诊患者 HLA-B27 阳性率见表 1,男性患者 HLA-B27 阳性率为 29.5%(443/1 502),女性 12.24%(155/1 266),二者差异有统计学意义($P<0.05$);20~<40 岁的 AS 疑诊患者 HLA-B27 阳性率显著高于其他年龄段的阳性率($P<0.05$)。600 例 AS 确诊患者中,HLA-B27 阳性 536 例(89.3%)。

表 1 不同性别、不同年龄疑诊 AS 的患者 HLA-B27 阳性率的比较[%(n/n)]

年龄段(岁)	男性	女性	合计
10~<20	18.4(82/443)	11.0(17/155)	16.6(99/598)
20~<40	64.0(283/443)	49.0(76/155)	60.2(360/598)
40~<60	16.0(71/443)	33.5(52/155)	20.7(124/598)
60~<80	1.6(7/443)	6.5(10/155)	2.5(15/598)
合计	74.0(443/598)	26.0(155/598)	100.0(598/598)

3 讨 论

AS 是一类主要累及骶髂关节和脊柱关节的慢性炎症疾病,目前病因未明,一般认为,遗传和环境因素与其发病有[9-13]。AS 多见于青少年,起病 10 年内即可出现严重的关节功能障碍,当脊柱、骶髂关节和髋关节发生病变后,病变不可逆转[4]。HLA-B27 于 1968 年被首次发现[14-16],它是第 6 号染色体 HLA 基因 B 座一个等位基因的表达产物。AS 患者中 HLA-B27 阳性率高达 80% 以上,而健康人群中 HLA-B27 阳性率仅为 5%~10%,中国一般人群为 3%~7%[17]。HLA-B27 检测结合 SpA 的疑似表现有助于早期发现 AS 患者,以实现早期诊断。赖建铭等[18]通过对 AS 家系调查发现,HLA-B27 阳性的幼年 AS 患者中 69% 有 SpA 家族史,其中 90% 为一级亲属,说明 AS 有明显的家族聚集性。

研究发现,AS 与 HLA-B27 有明显相关性,如某患者诊断为 AS 的可能性为 50%,经检查患者 HLA-B27 阳性,则诊断 AS 的概率提高到 95% 左右,否则降至 3%[19]。因此,HLA-B27 检测在 AS 的诊断和鉴别诊断中有重要意义。本研究显示,不同性别的 AS 疑诊患者 HLA-B27 阳性率的差异有统计学意义($P<0.05$);20~<40 岁的 AS 疑诊患者 HLA-B27 阳性率显著高于其他年龄段的阳性率($P<0.05$)。600 例 AS 确诊患者中,HLA-B27 阳性率为 89.3%。因此,HLA-B27 检测结合 SpA 的疑似表现有助于 AS 的早期诊断,但对 HLA-B27 阴性的疑似患者也要给予同样的重视,以免漏诊和误诊。

参考文献

[1] Colbert RA, Delay ML, Klenk EI, et al. From HLA-B27 to spondyloarthritis: a journey through the ER[J]. Immunol Rev, 2010, 233(1):181-202.

[2] Rostom S, Dougados M, Gossec L. New tools for diagnosing spondyloarthropathy[J]. Joint Bone Spine, 2010, 77(2):108-114.

[3] Sheehan NJ. HLA-B27: what's new[J]. Rheumatology (Oxford), 2010, 49(4):621-631.

[4] Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, et al. Ankylosing spondylitis and HL-A 27[J]. Lancet, 1973, 1(7809):904-907.

[5] Rudwaleit M. New approaches to diagnosis and classification of axial and peripheral spondyloarthritis[J]. Curr Opin Rheumatol, 2010, 22(4):375-380.

[6] Khan MA. Thoughts concerning the early diagnosis of ankylosing spondylitis and related diseases[J]. Clin Exp Rheumatol, 2002, 20(6 Suppl 28):S6-10.

[7] 曾庆馀. 着力强直性脊柱炎早期诊断的研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2000, 4(6):335-336.

[8] van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria[J]. Arthritis Rheum, 1984, 27(4):361-368.

[9] Salvarani C, Fries W. Clinical features and epidemiology of spondyloarthritides associated with inflammatory bowel disease[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(20):2449-2455.

[10] Végvári A, Szabó Z, Szántó S, et al. The genetic background of ankylosing spondylitis[J]. Joint Bone Spine, 2009, 76(6):623-628.

[11] De Langhe E, Lories R, Maenaut K, et al. The kaleidoscopic presentation of the spondyloarthritis concept in a female patient[J]. Joint Bone Spine, 2011, 78(6):638-640.

[12] Braun J. Epidemiology and prognostic aspects of ankylosing spondylitis[J]. Radiologe, 2004, 44(3):209-210.

[13] Burgos-Vargas R. The juvenile-onset spondyloarthritides[J]. Rheum Dis Clin North Am, 2002, 28(3):531-560.

[14] Gran JT, Teisberg P, Olaisen B, et al. HLA-B27 and allotypes of complement components in ankylosing spondylitis[J]. J Rheumatol, 1984, 11(3):324-326.

[15] Mathieu A, Cauli A, Fiorillo MT, et al. HLA-B27 and ankylosing spondylitis geographic distribution as the result of a genetic selection induced by malaria endemic? A review supporting the hypothesis[J]. Autoimmun Rev, 2008, 7(5):398-403.

[16] Mathieu A, Paladini F, Vacca A, et al. The interplay between the geographic distribution of HLA-B27 alleles and their role in infectious and autoimmune diseases: a unifying hypothesis[J]. Autoimmun Rev, 2009, 8(5):420-425.

[17] 陈蕊雯, 王勇, 孙树汉, 等. 强直性脊柱炎易感基因的研究进展[J]. 遗传学报, 2005, 32(10):1108-1114.

[18] 赖建铭, 吴凤岐, 郭玉红, 等. 幼年强直性脊柱炎临床特点和 HLA-B27 亚型的相关性研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2004, 8(10):617-619.

[19] 王昌富, 杨国元, 张万胜. 生物素亲和素系统抗人球蛋白试验[J]. 中华血液学杂志, 1992, 13(9):488-489.