

• 论 著 •

HLA-B27 抗原检测在强直性脊柱炎诊断中的意义

林蔚,肖平,吴祖常

(佛山市第一人民医院临床医学研究所,广东 528000)

摘要:目的 探讨 HLA-B27 抗原表达与强直性脊柱炎(AS)的相关性,及其对 AS 诊断和鉴别诊断的意义。方法 采用流式细胞术检测人类白细胞抗原 B27(HLA-B27),纳入研究的包括 354 例疑似 AS 患者、35 例确诊 AS 患者和 30 例确诊类风湿性关节炎(RA)患者。结果 354 例疑似 AS 患者的 HLA-B27 总阳性率为 22.0%,确诊 AS 患者 HLA-B27 的阳性率为 85.7%,均高于 RA 组($P < 0.05$)。AS 患者中男性占 77.1%,女性占 22.9%,且发病年龄主要集中在青壮年时期;AS 患者 HLA-B27 抗原检测用于 AS 诊断的灵敏度为 85.7%,特异度为 100.0%。结论 HLA-B27 抗原的检测对 AS 患者的早期诊断和鉴别诊断具有重要意义。

关键词:强直性脊柱炎; 人类白细胞抗原 B27; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)03-0371-02

The clinical significance of HLA-B27 antigen detection in the diagnosis of ankylosing spondylitis

Lin Wei, Xiao Ping, Wu Zuchang

(Institute of Clinical Medicine, the First People's Hospital of Foshan City, Foshan, Guangdong, 528000, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the expression of human leukocyte antigen B27 (HLA-B27) antigen and ankylosing spondylitis (AS), and its implications for the diagnosis and differential diagnosis of AS. **Methods** Flow cytometry was used to detect HLA-B27. 354 suspected AS patients, 35 patients final diagnosed with AS and 30 patients diagnosed with rheumatoid arthritis (RA) were enrolled in the study. **Results** The positive rate of HLA-B27 in 354 patients with suspected AS was 22.0%, in patients diagnosed with AS was 85.7%, which was higher than the RA group ($P < 0.05$). In AS patients, Males accounted for 77.1%, females accounted for 22.9%, and the patients' age mainly concentrated in youth. The sensitivity and specificity of HLA-B27 test was 85.7% and 100.0% respectively in the diagnosis of AS. **Conclusion** HLA-B27 antigen detection is important for early diagnosis and differential diagnosis of AS patients.

Key words: ankylosing spondylitis; human leukocyte antigen B27; flow cytometry

强直性脊柱炎(AS)是一种高致残性的自身免疫性疾病,病因未明,主要症状为骶髂关节痛,其次是髌关节痛,腰腿痛常伴晨僵,夜间加重,活动后减轻等,多见于青壮年男性,16~32岁发病较多,多数患者呈隐匿发病,常常不能引起人们的重视。该疾病的诊断主要依据临床症状和影像学检查,但在疾病早期骨骼未发生改变,影像学特征不明显,临床症状与其他骨性疾病相似,容易发生漏诊和误诊,且误诊者以类风湿性关节炎(RA)患者居多。国内的流行病学调查表明,AS在中国汉族人群中的发病率为0.2%~0.45%^[1]。家族调查结果显示,HLA-B27阳性的AS患者一级亲属中,近半数HLA-B27抗原阳性,其中又有近半数罹患本病;同卵双生子HLA-B27阳性和AS的一致率则超过50%,提示本病与HLA-B27阳性具有相关性。因此,HLA-B27抗原的检测在该病的诊断及鉴别诊断中有重要意义。流式细胞仪使用单克隆抗体及荧光素,可多参数同时测定,不需要分离淋巴细胞,操作简便,具有高灵敏度、特异度,标本之间、不同实验室之间可重复性好,因此被广泛用于HLA-B27抗原的检测。本研究旨在探讨本地区AS发病与HLA-B27抗原表达的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照1984年纽约修订的AS诊断标准^[2],选取2012年在本院确诊为AS的35例患者,其中男28例、女7例,作为AS组;按照1987年美国风湿学会所修正的RA诊断标准,选取同期于本院确诊为RA的30例患者,其中男12例、女18例,作为RA组。另外,选取具有腰腿疼痛症状的本院同期疑似AS患者354例作为疑似AS组。

1.2 仪器与试剂 使用的主要仪器为美国BD公司FACS

Calibur流式细胞仪。试剂主要为美国Becton Dickinson公司的HLA-B27试剂盒,其中包括单克隆荧光抗体HLA-B27 FITC/CD3 PE,HLA-B27标准微球,溶血素。

1.3 方法

1.3.1 标本采集与处理 采集静脉血2 mL,用肝素抗凝。在测定管中加入30 μ L抗HLA-B27 FITC/CD3 PE抗体和60 μ L肝素抗凝全血,混匀后室温避光染色15 min。加入2 mL溶血素,300 \times g离心5 min,弃上清。用PBS洗涤1次,300 \times g离心5 min,弃上清。加0.5 mL含1%多聚甲醛的PBS悬浮细胞,置于4~8 $^{\circ}$ C冰箱待测。

1.3.2 检测与结果判断 (1)用HLA-B27试剂盒中的标准微球调整仪器设置,设定阈值。(2)流式细胞术法结果判定:用HLA-B27软件获取15 000个细胞,HLA-B27自动软件首先通过FSC-SSC这两个参数的组合,区分经裂解红细胞处理后外周血白细胞中淋巴细胞、单核细胞和粒细胞三个群体。然后在前向角FSC-荧光FL2点图上确定CD3强阳性细胞群体的位置,设定一个CD3⁺T淋巴细胞门,软件随后自动检测T淋巴细胞B27的表达强度,如果大于或等于仪器设定的阈值报告阳性,否则报告阴性。见附图1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

1.4 统计学处理 数据分析采用SPSS19.0统计软件,计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 AS患者的年龄及性别分布情况 AS患者中男性多于女性,男女比例为3.4:1.0,其中以青壮年的发病率比较高,

见表 1。

表 1 AS 患者的年龄及性别分布情况[n(%)]

年龄(岁)	AS 女性患者	AS 男性患者
≥40	1(2.9)	7(20.0)
<40	7(20.0)	20(57.1)
合计	8(22.9)	27(77.1)

2.2 HLA-B27 阳性率的比较 AS 患者 HLA-B27 阳性率为 85.7%，高于 RA 患者(P<0.05)。AS 患者 HLA-B27 抗原的阴性率为 14.3%。HLA-B27 抗原的灵敏度为 85.7%，特异度为 100.0%。见表 2。

表 2 疑似 AS 患者、AS 患者与 RA 患者的 HLA-B27 阳性率的比较

组别	检测例数(n)	阳性例数(n)	阳性率(%)
疑似 AS 组	354	78	22.0
AS 组	35	30	85.7
RA 组	30	0	0.0

3 讨 论

HLA-B27 抗原是一种免疫遗传标记抗原,为显性遗传。在免疫系统中主要负责细胞间的相互识别,诱导免疫反应和调节免疫应答。HLA-B27 分子可以和一些自身肽段结合,形成复合体在自身细胞膜上表达后,能被相应的 CD8⁺ T 细胞识别,从而导致 T 细胞对自身靶细胞的杀伤,造成组织变性,器官受损。AS 的病因目前尚未完全阐明,大多认为与遗传、感染、免疫、环境等因素有关^[3-4]。AS 呈常染色体显性遗传,家族聚集性是该病的重要特征,由此表明遗传因素在发病机制中的重要作用^[5]。HLA-B27 抗原阳性的患者应进行家系调查,有利于 AS 的早期发现,并对早期患者采取预防或治疗措施^[6],如对 HLA-B27 抗原阳性但无症状者或 AS 患者的子女可及时预防和治疗呼吸道,消化道的细菌感染以免诱发本病。

本研究中确诊为 AS 的受检者男女之比为 3.4 : 1.0,而我 国近年男、女发病比例从 2 : 1 至 10 : 1 均有报道,这种差异除可能与地区、种族的不同有关外,还可能与女性 AS 患者病情相对较轻,医生对女性患者的临床表现认识不足导致诊断率低有关^[7-8]。在不同年龄组中,<40 岁的 AS 患者占 77.1%,≥40 岁 AS 患者占 22.9%,这提示 AS 的发病与年龄和性别有重要关联,即青壮年男性的发病率比较高。本研究中,HLA-B27 抗原与 AS 高度相关,因此建议腰背痛 3 个月以上,伴晨僵及活动后疼痛减轻的患者应及时进行 HLA-B27 抗原的检测,若阳性者,则进行骶髂关节 CT 检查,以达到早期诊断和早期治疗。

AS 以脊柱为主要病变部位,累及骶髂关节和周围大关节,该病起病隐匿、病程长、迁延不愈、致残率高^[9],因临床症状不典型,而纽约标准的条件又过于严格,当影像学有所表现时,往往疾病已存在相当长时间,造成该病误诊漏诊率高,因此 HLA-B27 的检测已成为临床诊断和鉴别诊断 AS 的重要指标^[10]。目前检测 HLA-B27 的方法有微量淋巴细胞毒试验 (MLCT)、ELISA 法、流式细胞仪法、序列特异引物引导的 PCR 反应等。其中 MLCT 方法操作虽较为简单,但实验条件难以控制,加之 HLA 高度多态性等因素的影响,易出现误判错判;ELISA 法操作简单、快速,无需特殊仪器,适用于大样本量的筛选试验^[11];后 2 种方法实验要求高,且均需价格昂贵仪器而难以普及。洪俊等^[12]认为流式细胞仪检测 HLA-B27 抗原的表达无须分离淋巴细胞且操作简单,比传统的 MLCT 节约时间,且检测结果更敏感、准确、客观、容易判读,标准化程

度高^[13]。因此,目前国际上常规用流式细胞法检测 HLA-B27。本研究中检测 HLA-B27 抗原的灵敏度和特异度均较高,分别为 85.7%和 100.0%。

应用流式细胞术检测 HLA-B27 为 AS 的早期诊断、鉴别诊断、早期治疗提供一个重要手段,但不是特异的,并不能对 AS 确诊,X 线平片、CT 等影像学表现具有肯定的诊断意义。本研究显示,虽然 HLA-B27 阳性结果与临床确诊结果具有较高的一致性,但是在目前临床诊断过程中,HLA-B27 检测结果并不起决定性作用,阳性结果中仍有一定数量的病例未被确诊为 AS、本实验室未被确诊为 AS 的病例 HLA-B27 均为阴性,可能与病例数和地域有关,同时,被确诊的病例中,也有一定数量为阴性结果。虽然 HLA-B27 阳性不能作为 AS 的诊断依据,但对早期及不典型 AS 的诊断有重要的参考价值,对于 1 级和轻度的 2 级改变 X 线平片往往难以肯定诊断,需要结合临床病史和 HLA-B27 检测结果才能确诊。所以对疑为 AS 患者进行 HLA-B27 抗原的检测有助于提高早期诊断 AS 的可能性,为此类患者的诊断和鉴别诊断提供线索,可弥补 X 线不能早期诊断 AS 的不足^[11],可见 HLA-B27 和影像学检测对 AS 的诊断是互补的。

总之,通过用流式细胞仪来检测 HLA-B27 抗原,结合临床表现和影像学检查,不仅可以提高诊断 AS 的准确性,还可以作为早期诊断 AS 和鉴别诊断的指标,使更多的患者得到早期诊断,尽早进行预防或及时治疗。

参考文献

- [1] Zeng QY, Chen R, Darmawan J, et al. Rheumatic diseases in China [J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(1): 1-11.
- [2] 刘波, 邱萌. HLA-B27 表达阴性的早中期强直性脊柱炎患者调查 [J]. *中国医药导报*, 2011, 8(12): 63-64.
- [3] Whang PG, Goldberg G, Lawrence JP, et al. The management of spinal injuries in patients with ankylosing spondylitis or diffuse idiopathic skeletal hyperostosis: a comparison of treatment methods and clinical outcomes [J]. *J Spinal Disord Tech*, 2009, 22(2): 77-85.
- [4] 游浩, 程翠年, 张卉, 等. 强直性脊柱炎病因及其发病机制的研究进展 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2012, 20(9): 77-79.
- [5] 沈玉娥, 施海玲. 强直性脊柱炎遗传病机制研究进展 [J]. *海军医学杂志*, 2011, 32(6): 425-427.
- [6] 秦学军, 王炯波, 李敬华. 5 例强直性脊柱炎家族遗传学研究 [J]. *齐鲁护理杂志*, 2005, 11(4): 379-380.
- [7] 倪吴花, 胡晓霞, 章圣辉, 等. 强直性脊柱炎 867 例 HLA-B27 的表达及意义 [J]. *实用医学杂志*, 2008, 24(9): 1511-1513.
- [8] 李满意, 杨林江, 岳荣华. 男性和女性强直性脊柱炎临床特点对比分析 [J]. *中国医药导报*, 2008, 5(31): 39-40.
- [9] 刘波. 两种方法检测强直性脊柱炎患者 HLA-B27 的应用比较 [J]. *中华全科医学*, 2012, 10(5): 789.
- [10] Brown MA. Human leucocyte antigen-B27 and ankylosing spondylitis [J]. *Intern Med J*, 2007, 37(11): 739-740.
- [11] 宋秀军, 江其生. 强直性脊柱炎 HLA-B27 检测及其临床意义 [J]. *放射免疫学杂志*, 2010, 23(3): 315-316.
- [12] 洪俊, 饶永彩. 流式 HLA-B27 测定法在强直性脊椎炎诊断中的临床价值 [J]. *职业与健康*, 2012, 28(6): 693-695.
- [13] 刘毓刚, 李琳, 吴丽娟, 等. 流式细胞法检测人类白细胞抗原 B27/B7 表达在诊断强直性脊柱炎中的价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(2): 138-140.