

# HLA-B27/B7 检测在强直性脊柱炎 诊断中的价值分析

马小龙 刘春燕

作者单位: 665000 普洱市, 云南省普洱市人民医院检验科

通讯作者: 马小龙, Email: 13141596@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.03.011

**【摘要】** 目的 探讨人类白细胞抗原(HLA)-B27<sup>+</sup>/B7<sup>-</sup>百分比及平均荧光强度(MnX)检测对强直性脊柱炎(AS)患者的诊断和临床分级价值。方法 选择2014年1月至2015年4月普洱市人民医院收治的确诊AS患者38例为AS组,其他原因引起的腰腿痛患者40例为非AS组,同期本院体检健康志愿者30例为健康对照组。用流式细胞仪检测3组HLA-B27<sup>+</sup>/B7<sup>-</sup>百分比及平均MnX,并结合影像学检查结果进行临床分级评估。结果 AS组HLA-B27<sup>+</sup>/B7<sup>-</sup>百分比[(92.21±3.30)%比(46.04±2.11)%、(29.57±1.25)%]和平均MnX(13.7±0.5比1.5±0.1、2.1±0.1)均明显高于非AS组及健康对照组( $P$ 均<0.05),AS组HLA-B27阳性率显著高于非AS组及健康对照组[92.1%(35/38)比12.5%(5/40)、3.3%(1/30), $P$ 均<0.05];X线I~IV级HLA-B27百分比差异无统计学意义[分别为(92.03±3.05)%、(91.44±2.85)%、(93.65±3.10)%、(90.65±2.77)%, $P$ 均>0.05],I、II、III和IV级之间平均MnX比较差异有统计学意义(分别为5.3±0.2、7.6±0.3、19.0±1.2、24.6±1.9, $P$ 均<0.05)。结论 HLA-B27百分比及平均MnX对AS的诊断、临床分级和早期预测有一定的价值。

**【关键词】** 强直性脊柱炎;人类白细胞抗原B27;荧光强度

## Clinical value of HLA-B27/B7 detection for diagnosis for ankylosing spondylitis

MA Xiao-long, LIU Chun-yan. Department of Laboratory Medicine, Puer People's Hospital in Yunnan Province, Puer 665000, China

**【Abstract】 Objective** To evaluate the human leukocyte antigen (HLA)-B27<sup>+</sup>/B7<sup>-</sup> percent and mean fluorescence (MnX) for diagnosis and clinical classification in ankylosing spondylitis (AS). **Methods** Thirty-eight patients with AS (AS group) and 40 patients with back leg pain without AS (non-AS group), and 30 healthy controls (health control group) admitted to Puer People's Hospital in Yunnan Province from January 2014 to April 2015 were enrolled. HLA-B27<sup>+</sup>/B7<sup>-</sup> percent and MnX were determined by flow cytometry (FCM), which were combined with iconography for clinical classification in AS. **Results** HLA-B27<sup>+</sup>/B7<sup>-</sup> percent [(92.21±3.30)% vs. (46.02±2.11)%, (29.57±1.25)%] and MnX (13.7±0.5 vs. 1.5±0.1, 2.1±0.1) in AS group were significantly higher than those in non-AS group and health control group ( $P$  all < 0.05), and HLA-B27 positive percent in AS group was significantly higher than that of non-AS group and health control group [92.1% (35/38) vs. 12.5% (5/40), 3.3% (1/30),  $P$  all < 0.05]. There was no significant difference in HLA-B27 positive percent among grade I to IV of X-ray [(92.03±3.05)%, (91.44±2.85)%, (93.65±3.10)%, (90.65±2.77)%, respectively,  $P$  all > 0.05], and there were significant difference in MnX among grade I, II, III and IV (5.3±0.2, 7.6±0.3, 19.0±1.2, 24.6±1.9, respectively,  $P$  all < 0.05). **Conclusion** The determination of HLA-B27 percent and MnX could be an effective method for diagnosis, clinical classification and early finding of AS.

**【Key words】** Ankylosing spondylitis; Human leukocyte antigen B27; Fluorescence

强直性脊柱炎(AS)是一种自身免疫性疾病,具有慢性、进行性、炎症性等特点,是关节病中最常见的疾病之一,呈世界范围分布,不同种族及国家的发

病率亦不同,我国AS的发病率约为0.3%,全世界的总发病率为0.9%<sup>[1]</sup>。AS伴常染色体隐性遗传,有明显的家族聚集发病趋势<sup>[2]</sup>,以青年男性发病率较

高,病变常累及骶髂关节和中轴关节,易发生全脊柱强直,致残率极高。AS 的诊断主要依据临床症状、体征和 X 线检查,但临床表现与类风湿关节炎、骨关节炎等极度相似, X 线的改变仅在病情发展到一定程度时才能被观察到,特别是早期改变( I 级和 II 级)很难被临床医师发现。早在 1973 年,国外研究已发现人类白细胞抗原 B27(HLA-B27)的表达与 AS 高度相关<sup>[3]</sup>。本研究旨在探讨外周血淋巴细胞 HLA-B27/B7 百分比和荧光强度(MnX)以及影像学检查在 AS 患者临床诊断与临床分级等方面的价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2014 年 1 月至 2015 年 4 月入住普洱市人民医院被确诊为 AS 的患者 38 例为 AS 组,诊断符合 1984 年修订纽约标准; X 线表现分级符合修订纽约标准;其中男性 25 例,女性 13 例;平均年龄(28.9±12.1)岁。同期选择其他原因如类风湿关节炎、骨关节炎引起的腰腿痛患者 40 例为非 AS 组,其中男性 26 例,女性 14 例;平均年龄(40.5±10.6)岁。以同期 30 例体检健康志愿者作为健康对照组,其中男性 20 例,女性 10 例;平均年龄(31.4±13.1)岁。

### 1.2 检测指标及方法

**1.2.1 外周血细胞 HLA-B27/B7 检测** 取各组受试者清晨空腹静脉血 2 mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝,加入混匀全血 50 μL,同型对照组加入异硫氰酸荧光素(FITC)标记 IgG2a 和藻红蛋白(PE)标记 IgG1 抗体 10 μL,测定管加入 HLA-B27-FITC/HLA-B7-PE 抗体 10 μL。避光孵育 30 min 后分别加入 Optilyse C 裂解液(美国 Beckman Coulter 公司)混匀 30 min,离心 5 min,加入 500 μL 磷酸盐缓冲液(PBS)混匀,再次离心,加入 500 μL PBS 混匀上机检测。用流式细胞仪检测 HLA-B27/B7 百分比及 MnX。取健康志愿者 HLA-B27 阳性率及平均 MnX 为参考范围,以 HLA-B27 阳性率 > 60%、平均 MnX > 5 记为 AS 阳性诊断<sup>[4]</sup>。

**1.2.2 影像学检查** 所有 AS 患者接受 X 线检查,由 2 名以上有经验的放射科医师确定其骶髂关节炎分级,依据骶髂关节的 X 线表现,按照修订纽约标准分为 0~IV 5 级:0 级为正常; I 级为可疑异常; II 级为轻度异常,可见局限性侵蚀、硬化,但关节间隙正常; III 级为明显异常,呈中度或进展性骶髂关节炎,伴有侵蚀、硬化、关节间隙增宽、狭窄或部分

强直一项或一项以上改变; IV 级为严重异常,完全性关节强直。

**1.3 统计学处理** 使用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析,计数资料以例数或百分比表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组 HLA-B27<sup>+</sup>/B7<sup>-</sup> 的百分比及平均 MnX 比较** AS 组 HLA-B27<sup>+</sup>/B7<sup>-</sup> 百分比及平均 MnX 均显著高于非 AS 组及健康对照组,差异均有统计学意义( $P$  均 < 0.05)。见表 1。

**2.2 各组 HLA-B27 阳性率比较** AS 组 HLA-B27 阳性率显著高于非 AS 组及健康对照组,差异有统计学意义( $P$  均 < 0.05)。见表 1。

表 1 各组 HLA-B27/B7 百分比、平均 MnX 及 HLA-B27 阳性率比较

组别	例数 (例)	HLA-B27 <sup>+</sup> /B7 <sup>-</sup>		HLA-B27
		百分比(%)	平均 MnX	阳性率[% (例)]
健康对照组	30	29.57±1.25	2.1±0.1	3.3(1)
非 AS 组	40	46.04±2.11	1.5±0.1	12.5(5)
AS 组	38	92.21±3.30 <sup>ab</sup>	13.7±0.5 <sup>ab</sup>	92.1(35) <sup>ab</sup>

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与非 AS 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

**2.3 X 线检查不同分级 AS 患者 HLA-B27 百分比及平均 MnX 比较** X 线检查不同分级 AS 患者 HLA-B27 百分比及平均 MnX 比较差异均无统计学意义( $P$  均 > 0.05), III、IV 级平均 MnX 较 I、II 级明显升高,差异有统计学意义( $P$  均 < 0.05)。见表 2。

表 2 X 线检查显示不同分级 AS 患者 HLA-B27 百分比及平均 MnX 比较

分级	例数 (例)	HLA-B27	
		百分比(%)	平均 MnX
I 级	7	92.03±3.05	5.3±0.2
II 级	10	91.44±2.85	7.6±0.3
III 级	12	93.65±3.10	19.0±1.2 <sup>ab</sup>
IV 级	9	90.65±2.77	24.6±1.9 <sup>ab</sup>

注:与 I 级比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 II 级比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

## 3 讨论

HLA-B27 属于 I 型主要组织相容性复合体(MHC)基因,位于第 6 号染色体的短臂上, DNA 片段长约 3 600 kb,在机体中所有有核细胞上均有表达,在淋巴细胞表面含量丰富。早在 1973 年,人们就已发现 HLA-B27 抗原的表达与 AS 呈高度相关,超过 90% 的 AS 患者 HLA-B27 抗原表达为阳性,普通人群的阳性率仅为 5%~10%<sup>[5]</sup>,由于 AS 症状

与许多疾病相似而难以确诊,因此检测 HLA-B27 对 AS 诊断有重要意义。HLA-B27 抗原的表达除与 AS 有关外,还与反应性关节炎、银屑病关节炎有一定相关性<sup>[6]</sup>。

AS 为血清阴性脊柱关节病,病变几乎全部累及骶髂关节,多沿脊柱向上蔓延,椎间盘及附近韧带常发生钙化和骨性强直<sup>[7]</sup>。到目前为止,研究发现感染、遗传和免疫等因素与 AS 的发生关系密切,但其确切的发病机制仍尚未明确。齐亚军等<sup>[8]</sup>通过分析近年来有关 AS 发病机制的研究发现,氧化/抗氧化系统失衡在 AS 的发生发展中起着至关重要的作用。长期以来,研究者针对 AS 的治疗进行了大量的临床研究,并在缓解临床症状、减少不良反应等方面取得明显疗效<sup>[9]</sup>;但 AS 患者病情不能逆转,对患者的生存质量有重要影响,因此早期诊断和治疗非常必要。虽然目前有关 HLA-B27 与 AS 之间的关联尚未明确,但其与 AS 的高度相关性已得到公认。如 AS 已出现 X 线所见的特征性脊柱改变和骶髂关节炎症变化时,已经错过了最佳治疗时机,致残率极高,但其发病隐匿,临床症状和 X 线表现与多种疾病类似,容易误诊,因此早期检测 HLA-B27 对诊断 AS 有重要意义。

刘湘等<sup>[10]</sup>采用病例对照研究方案,使用聚合酶链反应-序列特异性引物(polymerase chain Reaction-quence specific primer, PCR-SSP)高分辨技术检测 HLA-B27 亚型,分析 HLA-B27 基因亚型与 AS 的相关性,探讨 HLA-B27 基因亚型检测的临床意义,结果显示,PCR-SSP 法能检测出 29 个 HLA-B27 亚型(B\*2701~B\*2730,其中 B\*2722 除外),B\*2702~B\*2704、B\*2706、B\*2713 亚型可能与 AS 的发病有关。裴兵<sup>[11]</sup>的研究选择了 187 份 AS 患者标本,分别进行流式细胞术 HLA-B27 抗原检测和 PCR-SSP 基因型检测,结果显示,两种检测技术均能有效检测到标本中的 HLA-B27,且流式细胞仪检测 HLA-B27 的敏感度为 100%,特异度为 96.7%,准确度为 98.7%,适合于 AS 患者临床大规模样本量的筛查。本研究结果也表明,AS 患者 HLA-B27 抗原阳性率及平均 MnX 明显高于健康对照组,且虽然Ⅲ级以上伴 HLA-B27 阳性患者与Ⅰ级、Ⅱ级患者抗原阳性率差异无统计学意义,但Ⅲ级以上患者平均 MnX 明显高于Ⅰ、Ⅱ级。值得提出的是,本研究 38 例 AS 患者中有 3 例 HLA-B27 阴性,40 例非 AS 组中有 5 例 HLA-B27 阳性,而 30 例健康志愿者

有 1 例 HLA-B27 阳性。流式细胞术所用的单克隆抗体在检测 HLA-B27 时会与多种其他 HLA 抗原,特别是 HLA-B7 发生交叉反应,对检测结果造成影响。35 例 HLA-B27 阳性患者中有 4 例检测结果为 HLA-B27<sup>+</sup>/B7<sup>+</sup>,调查这 4 例双阳性病例发现,有 3 例为确诊 AS 后经抗肿瘤坏死因子抗体、免疫抑制等药物治疗的患者,1 例系类风湿关节免疫抑制治疗后 HLA-B27<sup>+</sup>/B7<sup>+</sup> 表达。所以药物干扰 HLA-B27 的表达存在一定的假说,需要更多研究进一步证实。

尽管 HLA-B27 阳性暂不能列入世界卫生组织(WHO)诊断 AS 的标准,HLA-B27 阳性不能代替 X 线证据,但其在 AS 诊断、治疗、预后方面的重要性已被临床医师认可。值得一提的是,首先,AS 出现骶髂关节影像方面的改变,韧带骨化至少需要发病后 3 年<sup>[12]</sup>,早期诊断、治疗尤为重要。其次,HLA-B27 检测能更大程度避免 X 线对患者的伤害,减轻其经济负担。所以,临床医师对 HLA-B27 阳性应给予重视,特别是平均 MnX 对临床分级和病情严重程度、治疗效果的重要性尚需要更多的研究加以证实。

#### 4 参考文献

- Santos FP, Bastos E, Ligeiro D, et al. Genetic basis of ankylosing spondylitis. *Acta Reumatol Port*, 2007, 32: 243-252.
- Brophy S, Calin A. Ankylosing spondylitis: interaction between genes, joints, age at onset, and disease expression. *J Rheumatol*, 2001, 28: 2283-2288.
- Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A. Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet*, 1973, 1: 904-907.
- 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术. 北京:人民军医出版社, 2010, 228-232.
- 袁玉华,王学谦. B27 在强直性脊柱炎发病中的作用研究进展. *中华风湿病学杂志*, 2002, 6: 113-115.
- 黄彦弘,伍沪生,宋慧. 未分化脊柱关节病分类标准的临床验证. *中华风湿病学杂志*, 2002, 6: 165-168.
- 鲁琳,周伟生. 强直性脊柱炎的影像学诊断研究进展. *医学影像学杂志*, 2005, 15: 322-325.
- 齐亚军,刘健,曹云祥,等. 氧化应激与强直性脊柱炎. *中国中西医结合急救杂志*, 2013, 21: 315-317.
- 施欣红. 正清风痛宁与雷公藤多甙治疗强直性脊柱炎的比较研究. *中国中西医结合急救杂志*, 2003, 10: 154-154.
- 刘湘,宁勇,姚群峰,等. 强直性脊柱炎患者 HLA-B27 基因亚型检测的临床意义. *实用检验医师杂志*, 2010, 2: 143-146.
- 裴兵. 探讨流式细胞术检测 HLA-B27 在强直性脊柱炎中的临床应用价值. *实用检验医师杂志*, 2012, 4: 31-34.
- 肖征宇,曾庆余. 对强直性脊柱炎和脊柱关节炎的认识. *中华风湿病学杂志*, 2013, 17: 289-292.

(收稿日期: 2016-07-26)

(本文编辑: 邸美仙)