

• 论 著 •

疑似强直性脊柱炎患者 HLA-B27 检测与分析

杨永昌, 范永谦, 张琳琳, 樊卫红, 贾志凌, 赵满仓

(北京军区总医院检验科, 北京 100700)

摘要:目的 通过对 872 例强直性脊柱炎(AS)疑似患者 HLA-B27 抗原的检测, 分析 HLA-B27 抗原与 AS 的相关性及其临床意义。**方法** 选取 872 例 AS 疑似患者外周血, 采用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞膜上的 HLA-B27/B7 抗原, 并对患者的表达情况进行分析。**结果** 872 例 AS 疑似患者男女比例为 1.8 : 1, HLA-B27 抗原总阳性率为 27.29%, 男女患者阳性率分别为 32.50% 和 17.95% ($P < 0.05$), 男女患者 B27⁺/B7⁻ 单抗表达率(%) 分别为 39.16 ± 42.79 和 20.96 ± 33.86 ($P < 0.05$), 平均荧光强度分别为 5.35 ± 5.44 和 3.35 ± 3.87 ($P < 0.05$), 差别显著。**结论** 用流式细胞技术检测 T 淋巴细胞 HLA-B27 的有助于 AS 的诊断和鉴别诊断。

关键词: 人类白细胞抗原 B27; 强直性脊椎炎; 流式细胞仪测定

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.08.009

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)08-1034-02

Detection and analysis of HLA-B27 antigen in patients with suspected ankylosing spondylitis

Yang Yongchang, Fan Yongqian, Zhang Linlin, Fan Weihong, Jia Zhiing, Zhao Mancang

(Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Beijing Military Area, Beijing 100700, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between suspected ankylosing spondylitis and HLA-B27 antigen by detecting the positive frequency of HLA-B27 antigen in 872 suspected AS patients, and evaluate its clinical significance. **Methods** The positive frequency of HLA-B27 on the T lymphocyte membrane were detected by flow cytometer in 872 suspected AS patients. **Results** Among the 872 suspected AS patients the ratio between male and female was 1.8 : 1, the positive rate of antigen HLA-B27 was 27.29%, and the male and female patients' positive rates of HLA-B27 antigen were 32.50% and 17.95%, respectively ($P < 0.05$). The male and female patients' expression percentage of B27⁺/B7⁻ monoclonal antibody were 39.16 ± 42.79 and 20.96 ± 33.86, respectively ($P < 0.05$). The male and female patients' mean fluorescence intensity of B27⁺/B7⁻ monoclonal antibody were 5.35 ± 5.44 and 3.35 ± 3.87, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** The patients with AS are strongly associated with HLA-B27 antigen. Detection of HLA-B27 antigen expression intensity in suspected AS patients with FCM is helpful to diagnosis and differential diagnosis of AS.

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

强直性脊柱炎(AS)是一种以骶髂关节和附着点炎症为主要症状的疾病, 是四肢大关节, 以及椎间盘纤维环及其附近结缔组织纤维化和骨化, 以及关节强直为病变特点的慢性炎性疾病。HLA 抗原系统是目前所知人类最复杂得多态系统, 与多种疾病有关, 其中 HLA-B27 抗原与 AS 有着高度的相关性^[1-2]。由于 AS 临床症状与许多疾病相似而难以确诊, 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^[3]。近年来, 流式细胞术(FCM)广泛应用于临床上, FCM 具有速度快, 精度高, 准确性好等优点, 是一种快捷、高效易于掌握和开展的 HLA-B27 检测方法^[4]。本文采用流式细胞术检测本院 872 例疑似 AS 患者 HLA-B27 抗原表达情况, 并结合临床资料进行分析, 以了解其在北京地区不同性别和年龄的 AS 疑似患者中的分布及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 872 例疑似 AS 患者为 2012 年 7 月至 2014 年 6 月本院门诊及住院患者。其中男 560 例, 女 312 例, 年龄 1~90 岁, 平均(34.95 ± 14.26)岁。

1.2 主要仪器与试剂 仪器采用美国贝克曼公司的 Beckman-Coulter EPICS-XL 型流式细胞仪进行检测, 单克隆抗体

HLA-B27-FITC/HLA-B7⁻ PE、溶血素、鞘液由贝克曼公司提供。

1.3 方法 按照仪器操作规程, 取流式专用上样管, 分别在测定管和对照管加入 10 μL (HLA-B27-FITC/HLA-B7⁻ PE) 和 (IgG2a-FITC/IgG1-PE) 单克隆抗体, 每管中加入 50 μL 混匀的 EDTA 抗凝全血, 混匀后室温避光 15 min, 然后加入溶血素 500 μL, 混匀后室温避光 15 min, 加入 500 μL 鞘液, 1 200 r/min 离心 5 min, 弃上清, 加入 500 μL 鞘液, 震荡混匀后上机检测。

1.4 数据分析及结果判读 利用流式细胞仪自带的软件进行数据分析。先通过 FS-SS 双参数圈定淋巴细胞设门, 每个测定管取淋巴细胞数不少于 10 000 个, 分析淋巴细胞中 HLA-B27⁺/HLA-B7⁻ 细胞群的荧光强度和百分比, 且二者同时大于 8.0 和 80% 才能判断为 HLA-B27 阳性, 否则报告为阴性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析。患者年龄和 B27⁺/B7⁻ 单抗表达率以及平均荧光强度用均值 $\bar{x} \pm s$ 表示; HLA-B27 阳性率采用百分率表示。患者年龄和 B27⁺/B7⁻ 单抗表达率以及平均荧光强度的比较分别采用 t 检验, HLA-B27 阳性率比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计

学意义。

2 结 果

2.1 HLA-B27 在不同年龄段的疑似患者中的表达情况 患者发病年龄和 HLA-B27 阳性人数主要集中在 20~49 岁,分别占总人数 72.25%和总阳性人数的 76.47%,见表 1。

2.2 HLA-B27 在不同性别的疑似患者中的表达情况 在临床就诊的疑似 AS 患者中,男性患者明显多于女性,男女比例为 1.8:1;男性就诊年龄明显低于女性($P<0.05$),男性的 HLA-B27 阳性率,平均荧光强度, $B27^{+}/B7^{-}$ 单抗表达率均明显高于女性($P<0.05$),见表 2。

表 2 不同性别疑似患者的 HLA-B27 抗原表达情况

| 性别 | <i>n</i> | 年龄($\bar{x}\pm s$,岁) | 阳性[<i>n</i> (%)] | 平均荧光强度($\bar{x}\pm s$,%) | $B27^{+}/B7^{-}$ 单抗表达率($\bar{x}\pm s$,%) |
|----|----------|------------------------|-------------------|----------------------------|--|
| 男性 | 560 | 32.37±13.14* | 182(32.50)* | 5.35±5.44* | 39.16±42.79* |
| 女性 | 312 | 39.60±15.01 | 56(17.95) | 3.35±3.87 | 20.96±33.86 |
| 合计 | 872 | 34.95±14.26 | 238(27.29) | 4.62±5.01 | 32.50±40.70 |

*: $P<0.05$,与女性相比。

3 讨 论

AS 属于慢性炎症性疾病,主要影响髋关节、腰椎、脊柱及旁软组织 and 外周关节,症状严重者会出现关节强直和脊柱畸形,一般好发于青壮年男性,其致残率较高,因此,早期诊断就显得尤为重要。而 AS 又是一种慢性疾病,其病程往往长达 10、20 年,骶髂关节骨质没有发生病变时 X 线片很难诊断,因此,HLA-B27 在强直性脊柱炎的诊断中具有很高的价值^[5]。目前 HLA-B27 检测手段主要有血清学方法如微量淋巴细胞毒试验(CDC)、特异性多聚酶链反应 PCR-SSP 等;近年来,随着 FCM 在临床上应用的日益广泛,FCM 以其强大、精确的细胞分析能力,被认为是当前分析 HLA-B27 最好方法^[6]。

有关 AS 患者与 HLA-B27 表达的相关性的研究国内外已有很多学者进行研究和报道,有研究显示强直性脊柱炎病人 HLA-B27 阳性率高达 90%左右,健康人群中 HLA-B27 阳性率仅为 8%。而 HLA-B27 阳性者强直性脊柱炎发病率可达 15%~20%,普通人群中发病率仅为 0.1%~0.2%,强直性脊柱炎患者一级亲属中患者与本病的可能性是一般人群的 20~30 倍^[7]。本研究结果显示,疑似患者男女比例约为 1.8:1(见表 2),差异有显著性,说明北京地区疑似 AS 患者具有明显的性别差异,就诊年龄以 20~<40 岁青壮年为主,占总人数的 54.93%,<20 岁占 9.98%,40~<60 岁占 25.21%,≥60 岁占 3.78%(见表 1),和以往文献报道一致^[8-9]。表 2 数据显示男性就诊年龄比女性患者平均低 7 岁($P<0.05$),男性患者 HLA-B27 阳性率和 $B27^{+}/B7^{-}$ 单抗表达率以及平均荧光强度都明显高于女性,这可能与男性患者发病较早,病程进展较快有关。为了减轻 AS 对男性青壮年劳动力身体健康的危害,早期诊断具有相当重要的意义,不仅可以控制病情的进展、减少畸形发生还可以维持和改善功能。因此,对青壮年患者和病程较短的患者应及时检测 HLA-B27,以便早期诊断和治疗。

除 AS 与 HLA-B27 存在密切关联外,在银屑病性关节炎的 HLA-B27 阳性率为 50%~60%^[10],由于本研究选取样本为临床疑似 AS 的相关症状人群,在 872 例疑似 AS 患者 HLA-B27 抗原总阳性率 27.29%,明显高于正常人群的 HLA-B27 阳性率 8%。本研究对北京地区疑似 AS 患者进行 HLA-B27 检测,为临床诊断、鉴别诊断和治疗提供强有力的依据,且

表 1 不同年龄段就诊患者的 HLA-B27 抗原表达情况

| 年龄(岁) | 检测人数[<i>n</i> (%)] | 阳性(<i>n</i>) | 阳性率(%) |
|--------|---------------------|----------------|--------|
| <20 | 87(9.98) | 21 | 8.82 |
| 20~<30 | 293(33.60) | 102 | 42.86 |
| 30~<40 | 186(21.33) | 46 | 19.32 |
| 40~<50 | 151(17.32) | 34 | 14.29 |
| 50~<60 | 103(11.81) | 26 | 10.92 |
| ≥60 | 52(5.96) | 9 | 3.78 |
| 合计 | 872(100.00) | 238 | 100.00 |

对 AS 的预防具有积极意义,由于本文数据不包括临床症状和辅助检查结果,虽然男女患者在 HLA-B27 阳性率和 $B27^{+}/B7^{-}$ 单抗表达率以及平均荧光强度比较差异有统计学意义($P<0.05$),但还不能表明 HLA-B27 抗原表达强度和临床表现呈正相关,因此,HLA-B27 抗原表达强度与 AS 患者的病情严重程度和进展的关系还需要做进一步研究。

参考文献

[1] Breweton DA, Hart FD. Ankylosing spondylitis and HLA-B27[J]. Lancet,1973,1(13):904-907.

[2] Schlosstein L, Terasaki PI, Bluestone R, et al. High association of an HL-A antigen, W27, with ankylosing spondylitis[J]. New Eng J Med, 1973, 288(14):704-706.

[3] Brown MA. Human leucocyte antigen-B27 and ankylosing spondylitis[J]. Intern Med J, 2007, 37(11):739-740.

[4] 梅四清,洪俊,张平安,等.探讨流式 HLA-B27 平均荧光强度用于原发强直性脊椎炎及继发性脊椎炎的鉴别诊断[J].四川医学,2008,29(6):761-763.

[5] 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.

[6] 李梦远,姚中强,刘湘. HLA-B27 与强直性脊柱炎免疫学机制的研究进展[J].生理科学进展,2011,42(1):28-38.

[7] 托娅,张军力. 内蒙古地区疑似强直性脊柱炎患者 HLA-B27 抗原阳性率观察[J].分子诊断与治疗杂志,2013,5(5):311-314.

[8] 张剑波,周彬,吴小丹,等.四川地区汉族强直性脊柱炎患者 HLA-B27 抗原阳性频率和表达强度的联合观察[J].四川医学,2008,29(8):1071-1073.

[9] 李桂琴,王萍,秦学军,等.中国北方强直性脊柱炎患者中 HLA-B27 阳性频率的联合观测[J].中日友好医院学报,1999,13(3):151-153.

[10] Ebringer A, Rashid T. B27 disease is a new autoimmune disease that affects millions of people[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 11(10):112-120.