

ROC 曲线设置流式细胞术检测 HLA-B27 的临界值在强直性脊柱炎诊断和鉴别诊断中的应用

张 静^a, 董松武^b, 孙 峰^a

(亳州市人民医院 a. 检验科; b. 心内科, 安徽亳州 236800)

摘要: **目的** 应用 ROC 曲线设定诊断强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 的人类白细胞抗原 (Human leukocyte antigen, HLA-B27) 荧光临界值, 评价其在 AS 诊断和鉴别诊断中的效能。**方法** 利用流式细胞术对 40 例 AS 患者和 169 例与 AS 患者症状相近的其他关节病患者及健康对照进行 HLA-B27 荧光表达强度检测, 比较各组荧光值差异, 并进行 ROC 曲线分析, 根据 Youden 指数计算出临界值, 并与原设定临界值的诊断效能进行比较。**结果** AS 组的荧光检测值、阳性率和对照组比较差异均具有统计学意义 ($F=40.45$, $P < 0.05$), 以试剂盒给定的荧光临界值 146 为临界值, ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.92, 诊断 AS 的敏感度、特异度、漏诊率、误诊率和准确度分别为 90.00%, 91.72%, 10.00%, 8.28% 和 91.39%, 阳性预测值、阴性预测值和 Youden 指数分别为 72.00%, 97.48% 和 0.82。根据 Youden 指数确定最佳诊断临界值为 151.50, 其诊断敏感度、特异度、漏诊率、误诊率和准确度分别为 90.00%, 93.49%, 10.00%, 6.51% 和 92.82%, 阳性预测值、阴性预测值和 Youden 指数分别为 76.60%, 97.53% 和 0.83。**结论** 进口试剂盒设置的诊断临界值略低, 实验室可在不影响诊断敏感度的前提下调整临界值, 提高诊断 AS 的特异度。

关键词: 强直性脊柱炎; 类风湿关节炎; 临界值; HLA-B27; 流式细胞术

中图分类号: R539.23; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2020) 06-153-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2020.06.037

Application of ROC Curve of Setting HLA-B27 Critical Value in the Diagnosis and Differential Diagnosis of Ankylosing Spondylitis

ZHANG Jing^a, DONG Song-wu^b, SUN Feng^a

(a.Department of Clinical Laboratory; b.Department of Cardiology, Bozhou People's Hospital, Anhui Bozhou 236800, China)

Abstract: Objective To set the threshold value of HLA-B27 fluorescence detection level by using the ROC curve and evaluate its efficiency in the diagnosis and differential diagnosis of ankylosing spondylitis(AS). **Methods** Used flow cytometer from American BD company to detect the fluorescence intensity express levels of HLA- B27 from 40 patients with AS and 169 non-AS patients (as control group) . According to the corresponding Youden index, obtained cut-off level by using the ROC curve analysis, comparing the diagnostic efficiency with the kit set. **Results** The difference of the fluorescence intensity express levels of HLA- B27 and the positive rate between the two groups were statistically significant ($F=40.45$, $P<0.05$).According to the cut-off level of BD company (146) , the area under the ROC curve,the sensitivity, the specificity, the missed diagnosis rate,the misdiagnosis rate,Youden index and the accuracy were 0.92, 90.00%, 91.72%, 10.00%, 8.28%, 0.82 and 91.39%,respectively.The positive predictive value, negative predictive value and Youden index were 72.00%, 97.48% and 0.82,respectively. According to Youden indexof determine, the optimal diagnostic critical value,the corresponding diagnostic sensitivity,the specificity,the missed diagnosis rate,the misdiagnosis rate,the accuracy ,the positive predictive value,the negative predictive value and Youden index were 151.50, 90.00%, 93.49%, 10.00%, 6.51%, 92.82%, 76.60%, 97.53% and 0.83,respectively. **Conclusion** The diagnostic threshold of the imported kit reagent was slightly lower.The laboratory can raise the threshold without affecting the diagnostic sensitivity, the specificity of the diagnose of AS could be raised, and flow cytometer could be more useful for the clinical diagnosis and differential diagnosis.

Keywords:ankylosing spondylitis; rheumatoid arthritis; the critical value; HLA-B27; flow cytometry

BREWERTON 等人^[1]于 1937 年提出 HLA-B27 抗 (AS) 的发病高度相关, 90% 以上 AS 患者携带原的表达与强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, HLA-B27 基因, 且不同种族的人群表达阳性率不

作者简介: 张静 (1986-), 女, 硕士, 副主任检验师, 主要从事分子生物学和免疫学研究, E-mail: zhangjingdongsongw@163.com。

通信作者: 董松武 (1981-), 男, 硕士, 副主任医师, E-mail: dongsongwu@163.com。

同, HLA-B27 的检测对于没有明显症状的早期 AS 的辅助诊断有较高的应用价值。目前我院使用 BD 公司的流式细胞仪检测 HLA-B27, 其诊断临界点是以白种人的表达水平建立的, 国内较少报道以国人的表达水平建立的临界值, 本文将经临床确诊的 AS 患者作为研究组, 与 AS 患者症状相近的类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 患者、骨性关节炎患者 (osteoarthritis, OA)、腰椎间盘突出 (Lumbar Intervertebral disc Herniation, LIDH)、痛风 (gout) 患者和健康体检者 (healthy controls, HC) 合并作为对照组, 对其进行 HLA-B27 的荧光值检测, 分析探讨流式细胞术 (flow cytometer, FCM) 检测 HLA-B27 临界值的设置及对诊断和鉴别诊断 AS 的影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象 本院 2016 年 1 月 ~ 2019 年 7 月收治的符合诊断要求^[2]的 AS 患者 40 例作为研究组, 男性 32 例, 女性 8 例, 年龄 15 ~ 72 岁; RA 患者 40 例, 男性 4 例, 女性 36 例, 年龄 32 ~ 73 岁; OA 患者 22 例, 男性 3 例, 女性 19 例, 年龄 47 ~ 79 岁; LIDH 等腰痛病患者 26 例, 男性 11 例, 女性 15 例, 年龄 26 ~ 78 岁; 痛风患者 31 例, 男性 29 例, 女性 2 例, 年龄 18 ~ 75 岁; 健康体检者 50 例, 男性 22 例, 女性 28 例, 年龄 13 ~ 74 岁, 此五组合并为对照组。

1.2 仪器和试剂 仪器为 BD FACSCalibur 双激光四色分选流式细胞仪, 试剂盒为 HLA-B27 检测试剂盒 (BD 公司)。

1.3 方法 所有研究对象均空腹抽取 2ml 静脉血, 乙二胺四乙酸二钾抗凝, 由检验师按照规定操作程序进行检测并记录结果。

1.4 统计学分析 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理, 正态分布检验采用 SW 检验, 符合正态分布的数据以均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 率的比较采用卡方检验, 采用 ROC 曲线分析检测指标的诊断效能, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间 HLA-B27 的检测荧光值比较 见表 1。

表 2 不同临界值诊断 AS 的效能

临界值	敏感度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)	漏诊率 (%)	误诊率 (%)	Youden 值	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
146.00	90.00	91.72	91.39	10.00	8.28	0.82	72.00	97.48
151.50	90.00	93.49	92.82	10.00	6.51	0.83	76.60	97.53

3 讨论

AS 是一种主要累及骶髋关节和脊柱关节、主要与遗传因素有关的病因未明的自身免疫性慢性炎症疾病, 目前 AS 的诊断标准^[2]是以临床表现和影像学检查为主要依据, 该病早期症状与 LIDH, RA 和 OA 等相似, 有一定的漏诊误诊率, 明确诊断时

AS 组和其余各组进行单因素方差分析, 各组荧光值比较差异具有统计学意义 ($F=40.45, P < 0.05$), 进一步行两两比较, AS 患者与 RA 组、OA 组、LIDH 组和痛风组比较荧光值差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 其余各组之间两两比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组检测 HLA-B27 荧光值比较

组别	n	荧光值 ($\bar{x} \pm s$)	阳性率 [n (%)]
AS	40	159.27 \pm 22.04	36(90.00)
RA	40	102.60 \pm 20.99	3 (7.50)
OA	22	110.95 \pm 31.96	3 (13.64)
LIDH	26	105.50 \pm 23.67	2 (7.69)
GOUT	31	105.29 \pm 26.94	5(16.13)
HC	50	98.88 \pm 14.34	1(2.00)

2.2 ROC 曲线分析 见图 1。以 AS 为研究组, 所有非 AS 患者合并为对照组, 以临床诊断为金标准, 做 ROC 曲线, 评价 HLA-B27 诊断 AS 的效能, AUC 为 0.92。根据 Youden 指数确定最佳诊断临界点为 151.50。

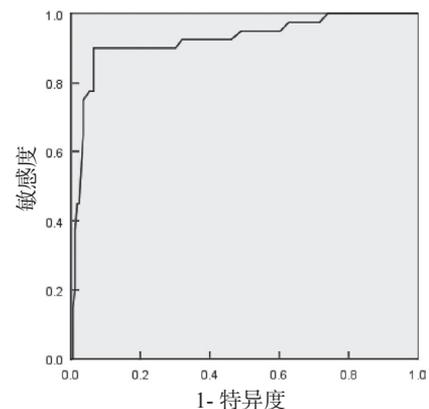


图 1 流式细胞术检测 HLA-B27 的 ROC 曲线

2.3 不同临界值诊断 AS 的效能 原装试剂盒设定荧光强度界值为 146, 根据 Youden 指数确定的诊断临界点为 151.50, 以两个不同临界值标准计算出的诊断效能详, 见表 2。

患者病程往往已进入中期阶段^[3], 延误早期治疗, 故而对疑为 AS 的患者进行 HLA-B27 抗原检测是很有必要的。

我院检测 HLA-B27 采用美国 BD 公司的流式细胞仪及配套试剂盒, FCM 检测 HLA-B27 抗原的荧光强度与 T 淋巴细胞表面 HLA-B27 表达水平有

关,其表达存在人种和个体差异,而且HLA-B27具有高度多态性,亚型众多,并非所有亚型都与AS相关^[4],不同地区、民族和人种之间HLA-B27基因亚型分布有差异^[5]。我国是一个多民族国家,不同民族间HLA-B27的基因型与AS的相关性也有差异,陈亚豪等^[6-7]研究表明汉族人和维吾尔族人诊断AS的临界值有差距,蒙古族和汉族AS的阳性检出率也不同^[8],因此进口试剂盒所设置的临界值是否对我国AS的诊断和鉴别诊断有最高的诊断效率有待斟酌。本研究发现,AS组的荧光检测值、阳性率和所有非AS组比较差异均具有统计学意义($P<0.05$),用试剂盒设定的临界值146作为判断标准,敏感度为90.00%,特异度为91.72%,误诊率为8.28%,漏诊率为10.00%,Youden指数为0.82,ROC曲线下面积为0.92;根据Youden指数确定最佳诊断临界点为151.50,根据新的临界点诊断AS的敏感度为90.00%,特异度为93.49%,漏诊率为10.00%,误诊率为6.51%,Youden指数为0.83。应用新的临界值诊断的敏感度不变,特异度有所提高,但两者较为接近,差异无统计学意义,说明试剂盒所设定的界值较为可靠,和肖琳琳等^[9]人研究结果不一致,肖琳琳^[9]等人研究认为试剂盒设定的临界值对于诊断研究组的假阴性率过高,原设定临界值对于在国内的应用价值有待斟酌。在本研究中,由于AS起病隐匿,采用病例均为经过临床确诊的住院病人,有大量AS病人是门诊病人,或病例资料不完善而无法采用,是否会导致数据有所偏颇?后续我们会加大研究样本量,加大和风湿免疫科合作,将反应性关节炎、银屑病关节炎等与AS症状类似的其他脊柱关节病纳入非AS对照组做更为精确的验证。临床上早期诊断AS可以降低致残率,在本研究中根据新界值在敏感度不变的前提下提高特异度,对于临床更有指导意义。目前的诊断标准主要根据临床症状和影像学检查结果,巫翠萍等^[10]人研究确诊的AS患者和可疑AS患者HLA-B27检测结果与X线结果比较,HLA-B27检测结果与X光片在AS组时差异无统计学意义,但可疑AS组HLA-B27的阳性率明显高于X线结果,认为在AS的早期诊断中,检测HLA-B27有着重要的价值,因此若患者有腰骶疼痛等症状,影像学检查阴性,而HLA-B27阳性,在排除其他引起腰骶部疼痛疾病的情况下,需考虑AS早期。

我国是一个多民族国家,不同民族遗传背景、地区分布、生活习惯不同,在后续研究中我们会加大样本量,将更多的与AS症状相近的其他脊柱关节疾病组纳入研究,做更为精确的分析,HLA-B27在疑似AS患者的早期筛查中有不可替代的作用,应引起医患高度重视。

参考文献:

- [1] BREWERTON D A, HART F D, NICHOLLS A, et al. Ankylosing spondylitis and HLA-B27[J]. *Lancet*, 1973, 1(7809): 904-907.
- [2] VAN DER LINDEN S, Valkenburg H A, CATS A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing a proposal for modification of the New York criteria[J]. *Arthritis and Rheumatism*, 1984, 27(4): 361-368.
- [3] 艾金伟, 刘盈, 关向飞, 等. HLA-B27对中国人群强直性脊柱炎诊断价值的Meta分析[J]. *中国循证医学杂志*, 2016, 16(7): 802-808.
AI Jinwei, LIU Ying, GUAN Xiangfei, et al. Diagnostic value of HLA-B27 tests for ankylosing spondylitis in Chinese population: A meta-analysis[J]. *Chinese Journal of Evidence-Based Medicine*, 2016, 16(7): 802-808.
- [4] PALADINI F, TACCARI E, FIORILLO M T, et al. Distribution of HLA-B27 subtypes in Sardinia and continental Italy and their association with spondylarthropathies[J]. *Arthritis and Rheumatism*, 2005, 52(10): 3319-3321.
- [5] RANA M K, LUTHRA-GUPTASARMA M. Differences in conformational stability of the two alpha domains of the disease-associated and non-disease-associated subtypes of HLA-B27[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 94(A): 233-245.
- [6] 陈亚豪, 刘洋, 曹玲, 等. HLA-B27对维吾尔族与汉族强直性脊柱炎的诊断性能评价[J]. *新疆医学*, 2018, 48(4): 393-394, 398.
CHEN Yahao, LIU Yang, CAO Ling, et al. Evaluation of HLA-B27 in the diagnosis of ankylosing spondylitis in Uygur and Han nationalities [J]. *Xinjiang Medical Journal*, 2018, 48(4): 393-394, 398.
- [7] 李晓征, 白玉盛, 项欣, 等. 新疆维汉民族人类白细胞抗原B27阳性表达分布特点的研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(4): 107-109.
LI Xiaozheng, BAI Yusheng, XIANG Xin, et al. Study on the distribution of human leukocyte antigen B27 positive expression in uygur and han nationalities in Xinjiang[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2017, 32(4): 107-109.
- [8] 闫艳, 彭慧敏, 曹永艳. 流式细胞仪检测强直性脊柱炎患者的HLA-B27 100例[J]. *河北联合大学学报(医学版)*, 2012, 14(1): 63.
YAN Yan, PENG Huimin, CAO Yongyan, et al. Flow cytometry tests for HLA-B27 in 100 patients with ankylosing spondylitis[J]. *Journal of Hebei United University (Health Sciences)*, 2012, 14(1): 63.
- [9] 肖林林, 王璐璐, 赵卫卫, 等. ROC曲线在HLA-B27界值设置中的应用[J]. *检验医学*, 2016, 31(4): 338-339.
XIAO Linlin, WANG Lulu, ZHAO Weiwei, et al. Application of ROC curve in HLA-B27 threshold setting[J]. *Laboratory Medicine*, 2016, 31(4): 338-339.
- [10] 巫翠萍, 覃西, 赵莲. HLA-B27在诊断早期强直性脊椎炎中的应用价值[J]. *海南医学*, 2011, 22(23): 19-21.
WU Cuiping, QIN Xi, ZHAO Lian, et al. Value of HLA-B27 detection for the early diagnosis of ankylosing spondylitis[J]. *Hainan Medical Journal*, 2011, 22(23): 19-21.