

HLA-B27 表达量在评估 强直性脊柱炎患者疾病状况中的作用*

王平均^a, 孙灵迪^b, 武晓茜^b, 邵先安^b (解放军第123医院 a. 脊柱外科; b. 病理科, 安徽蚌埠 233015)

摘要:目的 通过检测人类白细胞抗原 B27(HLA-B27)蛋白表达量,结合强直性脊柱炎(AS)的疾病活动指数(BASDAI)评分,探讨 HLA-B27 表达量可能在 AS 疾病诊疗中的意义。方法 收集 120 例临床疑似 AS 病例和 50 例健康体检者的一般临床资料,包括性别、年龄、家族史等,对所收集病例的全血采用磁珠酶联免疫法检测 HLA-B27 蛋白表达量。采用 SPSS17.0 数据分析软件进行分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。结果 120 例疑似 AS 患者中,临床最终确诊为 AS 患者 55 例,其中人类 HLA-B27 检测阳性者 53 例(96.36%);50 例健康对照组中筛查 HLA-B27 检测阳性 2 例(4%)。53 例 HLA-B27 阳性 AS 患者 HLA-B27 表达量与 BASDAI 进行相关性分析显示:BASDAI 评分与 HLA-B27 蛋白质表达量(吸光度 A 值)呈正相关性($r=0.562$, $P=0.000$)。结论 在 AS 患者中 HLA-B27 表达量与 AS 疾病活动指数之间存在相关性,可以为疾病的状态评估提供参考。

关键词:人类白细胞抗原;表达量;强直性脊柱炎;疾病活动指数;相关

中图分类号:R593.23;R392.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2015)05-153-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.049

Roles of the Expression Intensity of HLA-B27 in Estimating Patients with Ankylosing Spondylitis

WANG Ping-jun^a, SUN Ling-di^b, WU Xiao-qian^b, SHAO Xian-an^b

(a. Department of Spine Surgical; b. Department of Clinical

Laboratory and Pathological, the 123 Hospital of PLA, Anhui Bengbu 233015, China)

Abstract: **Objective** It was little known to the roles of the intensity of HLA-B27 in AS. To investigate whether the expression intensity of HLA-B27 was associated with incidence of AS, the expression of HLA-B27 was detected in patients with AS. **Methods** 120 cases patients suspected with AS and 50 healthy volunteers were enrolled in the study. Main demographic and clinical characteristics of the subjects were collected, including age, sex, family history and disease activity index in AS. The expression of HLA-B27 protein were detected by immunomagnetic separation and enzyme-linked immunosorbent assay (IMS-ELISA) in all subjects. All experimental data were analyzed by SPSS17.0 software and P values <0.05 were considered to be significant. **Results** Firstly, there were 55 subjects that were finally diagnosed as AS patients among the 120 patients suspected with AS. There were 53 subjects with HLA-B27 positive (96.36%) in 55 patients with AS. Among the 50 healthy volunteers, there were only 2 of them HLA-B27 positive (4%). Further analysis showed that there was a positive correlation between BASDAI and the expression intensity of HLA-B27 protein ($r=0.562$, $P=0.000$). **Conclusion** There was a positive correlation between the expression intensity of HLA-B27 and the BASDAI in AS subjects. The expression of HLA-B27 intensity could provide important information for estimating the condition of AS patients.

Keywords: HLA-B27; expression intensity; ankylosing spondylitis; bath ankylosing spondylitis disease activity index; correlation

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一种慢性炎症性疾病,也是一种自身免疫性疾病。AS 在世界范围内的发病率约为 0.1%~1.4%, 在我国的发病率约为 0.24%。其多发于青壮年男性,男女患病率大约为 3:1^[1]。该病往往首先侵犯中轴骨骼,引发骶髂关节炎及骨骼强直,进而导致患者身体结构变形、功能受损、生活质量下降,给患者及其家庭带来沉重的负担^[2]。已有的研究表

明,遗传因素在 AS 的发病中起着非常重要的作用,而人类白细胞抗原(human leukocyte antigens, HLA) B27(HLA-B27)是决定 AS 疾病遗传易感性的关键遗传因素^[3,4]。Cauli 等^[5]研究发现,AS 患者外周血单核细胞 HLA-B27 表达水平比健康人高。黄建民等^[6]研究证实检测外周血 HLA-B27 mRNA 表达水平是监测 AS 一种有效可行的方法。

* 基金项目:南京军区医学科技课题资助项目(12MB015)。

作者简介:王平均(1965—),男,副主任医师,研究方向:脊柱外科的微创和分子诊断/治疗, Tel:13695557123。

通讯作者:邵先安,男,副教授,硕士生导师,研究方向:分子/基因免疫, E-mail: XAShao@126.com。

毕氏强直性脊柱炎疾病活动指数(bath ankylosing spondylitis disease activity index, BASDAI)是评价 AS 患者疾病活动度的重要工具之一,脊柱关节炎患者中 BASDAI 与炎症、血管生成、软骨及骨转换等均存在着密切关系,是有效且可靠的评价疾病活动指标^[7]。实际临床工作中,结合 BASDAI 评分结果,可以判断 AS 患者疾病活动情况,评估患者的疾病状态以及是否需要进一步强化治疗^[8]。

现有的文献研究显示,AS 患者中约 95% 的人 HLA-B27 检测阳性,而在正常人群中只有不到 10% 的人群 HLA-B27 检测呈阳性^[9]。尽管很多学者对 HLA-B27 在 AS 中的发病机制进行了大量研究并提出了多种假说,但 HLA-B27 在 AS 发病中的作用机制到目前为止仍未明了。目前大多研究集中在 HLA-B27 抗原及其基因亚型上,对 HLA-B27 抗原表达量与 AS 疾病状况的关系的研究却鲜见报道。我们在前期^[10]建立了对 AS 患者 HLA-B27 基因和蛋白表达进行检测的不同分析方法。本研究从采用 IMS-ELISA 法检测 AS 患者 HLA-B27 蛋白表达量入手,结合患者一般临床表现、BASDAI 评分等之间可能存在的相关性进行分析,探讨 HLA-B27 蛋白表达量测定在 AS 患者早期诊疗中的作用,以期 AS 的发病机制研究提供新的视点。

1 材料与方法

1.1 标本收集 于 2013 年 10 月~2014 年 8 月收集来自解放军第 123 医院骨科门诊就诊及住院疑似强直性脊柱炎患者 120 例,其中男性 78 例(65%),女性 42 例(35%),男女之比为 1.86:1,年龄 28.95 ± 9.67 岁。采集患者空腹外周静脉血 4 ml, EDTA 抗凝。随机收集体检健康者 50 例均来自体检中心健康自愿者,其中男性 32 例(64%),女性 18 例(36%),年龄 29.1 ± 10.34 岁,男女之比为 1.78:1。

1.2 试剂和仪器 HLA-B27 检测试剂盒(磁酶联免疫法,广州菲康生物技术有限公司),DNM-9602 酶标分析仪(北京普朗),S648 型电热恒温水浴箱(上海医疗仪器厂),80-2 型低速离心机(上海医疗器械有限公司手术器械厂),CX-201 垂直层流工作台(安徽蚌埠净化设备厂),微量可调移液器(德国 Eppendorf 公司)。

1.3 检测方法

1.3.1 IMS-ELISA 检测外周血 HLA-B27 表达: 严格按照试剂说明书要求操作,于 450 nm 波长处测定吸光度 A 值。判断标准:A 值 < 0.4 为 HLA-B27 检测阴性,A 值 ≥ 0.4 为 HLA-B27 检测阳性。

1.3.2 AS 的诊断参照有关标准^[11]。

1.3.3 对 AS 患者均进行疾病活动指数评分: 采用毕氏评分标准(BASDAI)^[7]。AS 病情活动指数(BASDAI)评分包括:①过去 1 周感受到的疲劳/困倦的总体程度;②过去 1 周感受到的颈痛、背痛和髋痛的总体程度;③过去 1 周感受到的其他关节疼痛/肿胀(不包括颈痛、背痛和髋痛)的总体程度;④过去 1 周感受到的由于触痛或压痛导致不适的总体程度;⑤过去 1 周在清醒后感受到的晨僵的总体程度;⑥清醒后晨僵持续多长时间。以上各项评分指标从 0~10,0 表示没有影响,10 表示程度极重。BASDAI 评分 $= 0.2[A+B+C+D+0.5(E+F)]$ 。BASDAI ≥ 4 说明 AS 患者处于活动期,BASDAI < 4 则 AS 患者处于稳定期。

1.4 统计学分析 应用 SPSS17.0 软件进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果 120 例患者临床最终确诊为 AS 55 例,非 AS 65 例。55 例 AS 患者中 HLA-B27 检测阳性者 53 例(96.36%)。50 例健康对照组中筛查 HLA-B27 检测阳性 2 例(4%)。对 HLA-B27 抗原蛋白表达量以吸光度值 A 来表示,53 例 AS 患者 HLA-B27 蛋白表达量 A 值为 0.59 ± 0.23 ,见图 1。BASDAI 评分为 4.80 ± 1.26 ,见图 2。

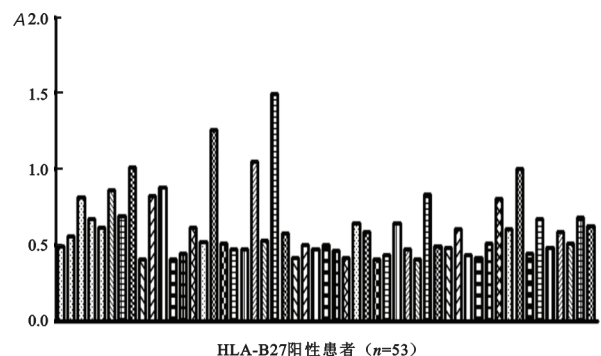


图1 HLA-B27 蛋白表达量(A 值)分布图

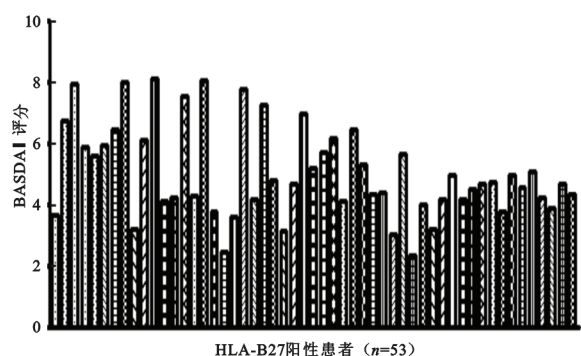


图2 BASDAI 评分结果分布图

进一步进行结合患者临床特征分析发现 AS

患者大多处于疾病活动期,HLA-B27 蛋白表达量与 AS 患者 BASDAI 评分之间具有正相关性($r=0.562, P=0.000$)(图 3)。提示 HLA-B27 表达量有可能作为 AS 病情活动度评估的客观指标。

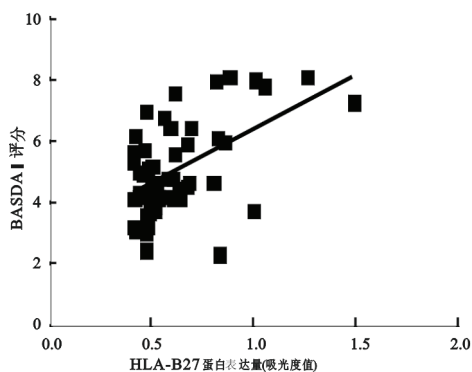


图3 HLA-B27 蛋白表达与 BASDAI 评分相关性分析

3 讨论 AS 是一种慢性免疫炎症性疾病,其发病机制未明。AS 患者多见于青壮年男性,严重者可导致脊柱强直、功能丧失,给患者和社会带来沉重的经济负担^[2]。因此,有效的临床检验对疾病的早期诊断、及时治疗具有重要的意义。研究发现,HLA-B27 在 AS 患者呈现的阳性率高达 90% 以上,而在正常人群中其阳性率却不到 10%。本研究 55 例 AS 患者中 HLA-B27 检测阳性者 53 例(96.36%),50 例健康人群中筛查到 HLA-B27 阳性 2 例(4%),表明 HLA-B27 与 AS 患者的发病有着密切的关联,与相关研究结果相似^[12,13]。AS 是一种临床表现复杂多样的系统性、全身性风湿性疾病,对其疾病严重程度衡量需全面评估,而 AS 疾病活动度指数是反映其严重程度的客观评价指标。目前 BASDAI 是最常用于评价 AS 患者疾病活动度的指标。杜旭娜等^[14]研究发现,即使在评价无外周关节受累的 AS 病情活动度时 BASDAI 仍是最有效的评价工具。如果 BASDAI ≥ 4 表示 AS 疾病处于活动期,而 BASDAI < 4 则表示 AS 疾病处于稳定期,BASDAI 分值越大的患者往往病情越严重。本研究中的 AS 患者大多处于疾病活动期,大多数 AS 患者病情比较严重;且 AS 患者 HLA-B27 表达量与 AS 疾病活动有关($r=0.562, P=0.000$)。因此,可以推断 HLA-B27 表达量可作为 AS 病情活动度评估的实验室指标,客观地反映 AS 患者病情严重程度。

本研究收集到的样本量相对较少,尤其是 HLA-B27 阴性 AS 患者所占的比例数,有待于在后续的实验加以完善。此外由于部分患者的依从性差等原因,在进行问诊时不能很好地给予配合致使我们部分临床资料缺乏完整性,由此我们也损失了一定的病例数。另外,对于健康人群 HLA-

B27 阳性其蛋白表达量是否有潜在的临床价值尚需要进一步的研究。

综上所述,本研究显示 HLA-B27 蛋白质表达量与 AS 患者疾病活动指数之间有正相关性,可能会为及早筛选、诊断 AS 并判断疾病活动情况提供依据。

参考文献:

- [1] Dean LE, Jones GT, Mac Donald AG, et al. Global prevalence of ankylosing spondylitis[J]. Rheumatology(Oxford), 2014, 53(4): 650-657.
- [2] Sieper J, Braun J, Kay J, et al. Sarilumab for the treatment of ankylosing spondylitis: results of a Phase II, randomised, double-blind, placebo-controlled study (ALIGN)[J]. Ann Rheum Dis, 2015, 74(6): 1051-1057.
- [3] Robinson PC, Brown MA. The genetics of ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis [J]. Rheum Dis Clin North Am, 2012, 38(3): 539-553.
- [4] Zhang L, Liu JL, Zhang YJ, et al. Association between HLA-B 27 polymorphisms and ankylosing spondylitis in Han populations: a meta-analysis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2011, 29(2): 285-292.
- [5] Cauli A, Dessole G, Vacca A, et al. Susceptibility to ankylosing spondylitis but not disease outcome is influenced by the level of HLA-B27 expression, which shows moderate variability over time[J]. Scandinavian Journal of Rheumatology, 2012, 41(3): 214-218.
- [6] 黄建民, 李荣需, 周玲, 等. 强直性脊柱炎与 HLA-B27 基因亚型动态定量表达的相关性研究[J]. 中国医学创新, 2013, 10(32): 143-145.
- [7] Huang JM, Li RX, Zhou L, et al. Investigation of relationship between AS and HLA-B27 gene subtype quantitative expression[J]. Medical Innovation of China, 2013, 10(32): 143-145.
- [8] Jiang YT, Yang MC, Wu HS, et al. The relationship between disease activity measured by the BASDAI and psychological status, stressful life events, and sleep quality in ankylosing spondylitis [J]. Clinical Rheumatology, 2015, 34(3): 503-510.
- [9] Pedersen SJ, Sørensen IJ, Garnero P, et al. ASDAS, BASDAI and different treatment responses and their relation to biomarkers of inflammation, cartilage and bone turnover in patients with axial spondyloarthritis treated with TNF α inhibitors [J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2011, 70(8): 1375-1381.
- [10] Bettencourt BF, Rocha FL, Alves H, et al. Protective effect of an ERAP1 haplotype in ankylosing spondylitis: investigating non-MHC genes in HLA-B27-positive individuals[J]. Rheumatology(Oxford), 2013, 52(12): 2168-2176.
- [11] 孙灵迪, 梅传忠, 王平均, 等. PCR-SBT 与 IMS-ELISA 法在强直性脊柱炎患者 HLA-B27 检测中的比较[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(2): 16-18.
- [12] Sun LD, Mei CZ, Wang PJ, et al. Comparison analysis of HLA-B27 detection by AS patients[J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(2): 16-18.

- [11] Sieper J, van der Heijde D, Dougados M, et al. Early response to adalimumab predicts long-term remission through 5 years of treatment in patients with ankylosing spondylitis[J]. *Annals Rheumatic Diseases*, 2012, 71(5):700-706.
- [12] 吴丽娟, 李茂圆, 刘霞, 等. 外周血淋巴细胞 HLA-B27 表达强度与强直性脊柱炎临床分期的关系[J]. *检验医学与临床*, 2014, 11(21):2971-2973.
- Wu LJ, Li MY, Liu X, et al. Relationship between expression intensity of HLA-B27 in peripheral blood lymphocyte and clinical stage of ankylosing spondylitis[J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2014, 11(21):2971-2973.
- [13] Yang T, Duan ZH, Wu SS, et al. Association of HLA-B27 genetic polymorphisms with ankylosing spondylitis susceptibility worldwide: a meta-analysis[J]. *Modern Rheumatology*, 2014, 24(1):150-161.
- [14] 张志坚, 奚永志, 孙玉英. 全基因组单核苷酸多态性与强直性脊柱炎遗传易感性的研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2011, 91(18):1289-1291.
- Zhang ZJ, Xi YZ, Sun YY. Progress of genetic susceptibility of the whole genome single nucleotide polymorphism and ankylosing spondylitis[J]. *National Medical Journal of China*, 2011, 91(18):1289-1291.

收稿日期:2015-04-16

修回日期:2015-06-17

(上接 152 页)三系造血细胞减少,非造血细胞成分增加是典型再障的表现。再障的发生是一个骨髓逐渐受累及功能逐渐衰竭的过程。在外周血出现典型的三系细胞减少前,可先出现一系或两系降低这些不典型表现。而不典型 AA 患儿外周血象出现早期改变时,骨髓象表现仍然可以不典型,可有骨髓增生活跃,或者骨髓增生轻度减低^[7],可能是因为此时不典型 AA 患儿骨髓仅累及一个细胞或二个细胞系。当骨髓干细胞受损增生减退时,首先会影响巨核细胞的增生程度,所以,巨核细胞数对于再障的诊断格外重要,只有巨核细胞低于正常和非造血细胞团存在才能诊断不典型再障。

不典型 AA 往往起病较隐匿,早期仅表现为血小板下降,易误诊为 ITP^[8]。本组诊断的不典型 AA 患儿病初的表现与 ITP 没有较大的差别,但是应用大剂量丙种球蛋白治疗 5 天,血小板上升不明显;结合骨髓涂片的特点,我们及时进行骨髓活检,发现骨髓增生低下,基质及脂肪组织明显增多,脂肪组织间散在分布之晚幼红细胞、粒细胞、淋巴细胞明显增多,巨核细胞明显减少,最后确诊为不典型 AA。因此,临床诊断时应严格参照再障与 ITP 以及其他相关疾病的诊断标准,对于血小板降低患儿,应仔细分析其他血细胞的特点,同时应参照骨髓穿刺结果,尤其是对骨髓涂片中巨核细胞数量在 70 以下,骨髓中非造血细胞易见的患儿,需要特别留意,当按照 ITP 治疗效果不佳时,应及时进行骨髓活检以明确诊断,减少误诊的发生几率,避免延误患儿的最佳治疗时机。

参考文献:

- [1] 杨崇礼. 再生障碍性贫血[M]. 2 版. 天津:天津科技翻译出版公司,2000:315.
- Yang CL. Aplastic anemia[M]. 2th. Edition. Tianjin: Tianjin Science and Technology Translation Publishing Company, 2000:315.
- [2] 胡群. 规范儿童免疫性血小板减少症的诊断治疗[J]. *临床儿科杂志*, 2011, 29(5):411-413.

Hu Q. Standardization of diagnosis and treatment of immune thrombocytopenia[J]. *Journal of Clinical Pediatrics*, 2011, 29(5):411-413.

- [3] 中华医学会儿科学分会血液学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗建议[J]. *中华儿科杂志*, 2013, 51(5):382-384.
- Pediatrics Hematology Group, Chinese Medical Association, 《Chinese Journal of Pediatrics》Editorial Board. Children with primary immune thrombocytopenia purpura diagnosis and treatment recommendations[J]. *Chinese Journal of Pediatrics*, 2013, 51(5):382-384.
- [4] 中华医学会儿科分会血液学组,《中华儿科杂志》编辑部. 儿童获得性再生障碍性贫血诊疗建议[J]. 2014, 52(2):103-106.
- Pediatrics Hematology Group, Chinese Medical Association, 《Chinese Journal of Pediatrics》Editorial Board. Children with acquired aplastic anemia treatment suggestions[J]. *Chin J Ped*, 2014, 52(2):103-106.
- [5] 戴晓宁, 赵义刚. 不典型再生障碍性细胞形态学特点及诊断探讨[J]. *临床血液学杂志(输血与检验版)*, 2009, 22(8):436-438.
- Dai XN, Zhao YG. Discussion atypical aplastic cell morphological characteristics and diagnosis[J]. *Journal of Clinical Hematology (Blood Transfusion and Laboratory Medicine Edition)*, 2009, 22(8):436-438.
- [6] Yang R, Han ZC. Pathogenesis and management of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: an update[J]. *Int J Hematol*, 2009, 71(1):18-24.
- [7] 周妮娜, 谢晓恬, 乔晓红, 等. 误诊为特发性血小板减少性紫癜的儿童再生障碍性贫血临床分析[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2011, 16(1):20-23.
- Zhou NN, Xie XT, Qiao XH, et al. Clinical analysis of children with aplastic anemia misdiagnosed as ITP[J]. *Journal of China Pediatric Blood and Cancer*, 2011, 16(1):20-23.
- [8] 谢晓恬. 儿童再生障碍性贫血的诊断与治疗[J]. *实用儿科临床杂志*, 2009, 24(3):234-237.
- Xie XT. Diagnosis and treatment of children with aplastic anemia[J]. *J Appl Clin Pediatr*, 2009, 24(3):234-237.

收稿日期:2015-04-02

修回日期:2015-06-24