

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 13. 005

强直性脊柱炎患者 HLA-B27 核酸、炎症指标、免疫指标的临床意义分析

张冬青,赵 娇,龙丽娟

中国人民解放军总医院第四医学中心检验科,北京 100048

摘 要:**目的** 探讨人类白细胞抗原 B27(HLA-B27)核酸、炎症指标、免疫指标在强直性脊柱炎(AS)患者中的临床意义。**方法** 纳入 73 例 AS 患者(AS 组)及 73 例健康体检者(健康对照组),检测外周血 HLA-B27 核酸、炎症指标[超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、前清蛋白(Prea)]、免疫指标[免疫球蛋白(Ig)A、IgG、IgM、IgE、补体 C3(C3)、补体 C4(C4)、血清总补体(CH50)]及抗链球菌溶血素 O(ASO)、类风湿因子(RF)、红细胞沉降率(ESR)。采用受试者工作特征曲线分析 HLA-B27 核酸、hs-CRP 和 ESR 对 AS 的诊断效能。**结果** AS 组 HLA-B27 核酸阳性率及 ESR、hs-CRP、ASO、IgA 水平显著高于健康对照组($P<0.05$),hs-CRP 在不同分级 AS 患者中比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);AS 组 Prea、RF、IgG、IgM、IgE、C3、C4、CH50 与健康对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。HLA-B27 核酸、hs-CRP 和 ESR 联合检测诊断 AS 的曲线下面积为 0.996(95%CI:0.991~0.999),大于各项指标单独诊断($P<0.05$)。**结论** HLA-B27 核酸、hs-CRP 及 ESR 联合检测能够有效提高 AS 的检出率,在 AS 的辅助诊断中发挥着重要作用。

关键词:强直性脊柱炎; 人类白细胞抗原 B27; 超敏 C 反应蛋白; 抗链球菌溶血素 O; 红细胞沉降率; 免疫球蛋白

中图法分类号:R593.23 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2023)13-1846-04

Analysis on clinical significance of HLA-B27 nucleic acid, inflammatory indicators
and immune indicators in patients with ankylosing spondylitis

ZHANG Dongqing, ZHAO Jiao, LONG Lijuan

Department of Clinical Laboratory, Fourth Medical Center, PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Abstract:**Objective** To explore the clinical significance of human leukocyte antigen B27 (HLA-B27) nucleic acid, inflammatory indexes and immunological indexes in the patients with ankylosing spondylitis (AS).
Methods Seventy-three patients with AS (AS group) and 73 subjects undergoing physical examination (healthy control group) were included. The levels of peripheral blood HLA-B27 nucleic acid, inflammatory indicators [hypersensitivity-C-reactive protein (hs-CRP), prealbumin (Prea)] and immune indexes [IgA, IgG, IgM and IgE, complement C3 (C3), complement C4 (C4), serum total complement (CH50)], antistreptolysin O (ASO), rheumatoid factor (RF) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) were detected. Receiver operating characteristic curve was used to analyze the diagnostic efficacy of HLA-B27 nucleic acid, hs-CRP and ESR.
Results The HLA-B27 nucleic acid positive rates, ESR, hs-CRP, ASO and IgA levels in the AS group were significantly higher than those in the healthy control group ($P<0.05$). The hs-CRP level had statistical difference among the patients with different grades of AS ($P<0.05$). The levels of Prea, RF, IgG, IgM, IgE, C3, C4 and CH50 had no statistical difference between the AS group and healthy control group ($P>0.05$). The area under the curve of HLA-B27 nucleic acid, hs-CRP and ESR combined detection in the diagnosis of AS was 0.996 (95%CI:0.991—0.999), which was greater than the individual diagnosis of various indicators ($P<0.05$).
Conclusion The combined detection of HLA-B27 nucleic acid, hs-CRP and ESR could effectively increase the AS detection rate and plays an important role in the AS assisted diagnosis.

Key words:ankylosing spondylitis; human leukocyte antigen B27; hypersensitivity-C-reactive protein; antistreptolysin O; erythrocyte sedimentation rate; immunoglobulin

强直性脊柱炎(AS)是一种以骶髂关节及椎旁小关节受累为主的具有慢性、进行性、炎症等特点的自身免疫性疾病,发病后期 X 线片典型表现为骶髂关节破坏,脊柱呈“竹节样”改变。该病是致畸、致残的关键原因。由于 AS 起病隐匿,患者早期症状不典型,出现影像学检查异常时,已经错过最佳治疗时机,因此,

早期诊断对 AS 的意义重大^[1]。人类白细胞抗原 B27 (HLA-B27)是一种主要组织相容性复合物Ⅰ类分子,大多表达于人类有核细胞和血小板表面,与 AS 的发生密切相关,是 AS 发病机制中的关键分子。目前研究表明,AS 的发病原因可能为遗传因素、环境因素、微生物感染、免疫功能紊乱等^[2]。因此,本研究检测了 AS 患者 HLA-B27 核酸、炎症指标、免疫指标水平,以期为 AS 的早期诊断提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 1 月至 2021 年 10 月本中心风湿科确诊的 73 例 AS 患者(AS 组),其中男 58 例、女 15 例,年龄 14~78 岁、平均(37.26±14.18)岁。纳入标准:符合美国风湿病协会 1984 年修订的纽约诊断标准及骶髂关节 X 线片表现。排除标准:合并感染性疾病患者;合并其他自身免疫性疾病患者;合并恶性肿瘤等消耗性疾病患者;孕期及哺乳期女性。选择同期在本中心进行体检的 73 例健康者作为健康对照组,其中男 49 例、女 24 例,年龄 13~88 岁、平均(40.26±17.53)岁。两组研究对象均知情同意本次研究。本研究已获得本中心医学伦理委员会批准实施。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 清晨分别采集两组研究对象空腹状态下静脉血 2 mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,用于外周血核酸的制备提取;采集静脉血 5 mL,注入分离胶促凝管中,于 2 h 内以 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清,置于一80℃环境保存,用于检测血清超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、抗链球菌溶血素 O(ASO)、类风湿因子(RF)、前清蛋白(Prea)、血清总补体(CH50)、免疫球蛋白(Ig)A、IgG、IgM、IgE、补体 C3(C3)、补体 C4(C4);采集静脉血 2 mL,注入枸橼酸钠抗凝管,用于检测红细胞沉降率(ESR)。

1.2.1 HLA-B27 核酸检测 采用艾康生物技术有限公司人类 HLA-B27 核酸检测试剂盒对所有研究对象进行核酸检测。PCR 循环参数:95℃ 3 min,循环 1 次;94℃ 15 s,60℃ 30 s,循环 40 次。采用 SLAN-96P 型实时荧光定量 PCR 仪(上海宏石有限公司)进行分析,得出 HLA-B27 核酸检测结果,将 AS 患者分

为 HLA-B27 核酸阳性组、HLA-B27 核酸阴性组 2 个亚组。

1.2.2 hs-CRP、ASO、RF、Prea、CH50、IgA、IgG、IgM、IgE、C3 和 C4 水平检测 使用罗氏 COBAS C701 模块生化分析仪、相关试剂和配套校准品组成的检测系统进行检测。

1.2.3 影像学检查 所有 AS 患者接受骶髂关节 X 线检查,依据放射性标准骶髂关节 X 线分级:0 级为正常,未出现骶髂关节改变;Ⅰ级为可疑异常,疑似关节存在硬化或侵蚀;Ⅱ级为轻度异常,可见局限性侵蚀、硬化,关节间隙并未出现明显改变;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、关节间隙增宽或狭窄或部分强直一项或一项以上改变;Ⅳ级为严重异常,基本处在完全性关节强直^[3]。根据影像学检查结果将 AS 患者分为Ⅰ级组、Ⅱ级组、Ⅲ级组、Ⅳ级组。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件对数据进行统计分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以百分率或例数表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析各指标的诊断效能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AS 组各亚组患者年龄分布及性别的比较 对 AS 各亚组患者年龄进行分析,发现Ⅳ级组患者的年龄大于其他 3 组,Ⅱ级组、Ⅲ级组、Ⅳ级组的男性患者比例明显高于Ⅰ级组,Ⅲ级组、Ⅳ级组的男性患者比例明显高于Ⅱ级组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 各组研究对象 HLA-B27 核酸、ESR、hs-CRP、Prea、ASO、RF 水平比较 AS 组 HLA-B27 核酸阳性率及 hs-CRP、ASO、ESR 水平显著高于健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),其中,hs-CRP 水平在不同亚组 AS 患者中比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 各组研究对象 IgA、IgG、IgM、IgE、C3、C4、CH50 水平比较 AS 组 IgA 水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 1 AS 各亚组患者性别、年龄比较[n 或 $\bar{x} \pm s$ 或 $n(\%)$]

组别	n	男	女	年龄(岁)	年龄分布				
					10~<20 岁	20~<30 岁	30~<40 岁	40~<50 岁	≥50 岁
Ⅰ级组	4	2	2	35.25±11.00	0(0.0)	2(50.0)	1(25.0)	1(25.0)	0(0.0)
Ⅱ级组	17	11 ^a	6	35.59±15.12	2(11.8)	6(35.3)	3(17.6)	3(17.6)	3(17.6)
Ⅲ级组	43	37 ^{ab}	6	34.81±13.39	3(7.0)	16(37.2)	11(25.6)	9(20.9)	4(9.3)
Ⅳ级组	9	8 ^{ab}	1	53.0±6.91 ^{abc}	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(33.3)	6(66.7)
合计	73	58	15	37.26±14.18	5(6.85)	24(32.88)	15(20.55)	16(21.92)	13(17.81)

注:与Ⅰ级组比较,^a $P<0.05$;与Ⅱ级组比较,^b $P<0.05$;与Ⅲ级组比较,^c $P<0.05$ 。

2.4 HLA-B27 核酸阳性组、HLA-B27 核酸阴性组 hs-CRP、ESR、ASO 和 IgA 检测结果比较 HLA-B27 核酸阳性组与 HLA-B27 核酸阴性组 AS 患者 hs-

CRP 水平、ESR 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 2 各组研究对象 HLA-B27 核酸及 ESR、hs-CRP、Prea、ASO、RF 水平比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]

组别	<i>n</i>	HLA-B27 核酸阳性	hs-CRP (mg/L)	Prea (g/L)	ASO (IU/mL)	RF (IU/mL)	ESR (mm/h)
健康对照组	73	0(0.0)	1.29±0.47	0.26±0.06	87.32±30.09	11.23±15.94	5.25±1.75
AS 组	73	62(84.9) ^a	20.03±7.17 ^a	0.22±0.06	118.25±42.83 ^a	7.64±5.18	22.06±8.17 ^a
Ⅰ级组	4	4(100.0)	5.00±1.69 ^a	0.18±0.08	87.89±38.65	6.80±1.07	7.50±2.38
Ⅱ级组	17	10(58.8)	11.22±6.45 ^{ab}	0.22±0.07	103.00±31.6	8.50±3.86	17.12±5.72 ^a
Ⅲ级组	43	40(93.0)	17.39±6.57 ^{abc}	0.23±0.06	115.27±47.57	6.93±2.74	18.35±6.10 ^a
Ⅳ级组	9	8(88.9)	38.27±13.97 ^{abcd}	0.18±0.07	144.85±51.35 ^a	9.77±5.96	44.78±10.17 ^{abcd}

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$;与Ⅰ级组比较,^b $P<0.05$;与Ⅱ级组比较,^c $P<0.05$;与Ⅲ级组比较,^d $P<0.05$ 。

表 3 各组研究对象 IgA、IgG、IgM、IgE、C3、C4、CH50 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IgA(g/L)	IgG(g/L)	IgM(g/L)	IgE(IU/mL)	C3(g/L)	C4(g/L)	CH50(U/mL)
健康对照组	73	2.15±0.70	11.95±2.58	1.03±0.47	64.66±24.65	1.22±0.20	0.27±0.09	49.41±11.67
AS 组	73	2.81±0.91 ^a	11.62±2.87	1.08±0.62	68.58±23.01	1.33±0.28	0.30±0.10	50.64±11.58
Ⅰ级组	4	2.25±0.59	10.93±0.60	0.99±0.29	20.97±7.22	1.35±0.15	0.36±0.08	55.20±2.03
Ⅱ级组	17	2.78±0.78 ^a	11.28±2.29	1.18±0.71	106.42±30.36	1.31±0.26	0.28±0.08	47.61±11.05
Ⅲ级组	43	2.81±0.81 ^a	11.54±3.04	1.01±0.35	58.95±18.95	1.32±0.31	0.28±0.11	50.64±12.11
Ⅳ级组	9	3.36±0.82 ^{ab}	12.98±3.52	1.25±0.85	44.57±10.79	1.38±0.27	0.37±0.08	54.38±9.09

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$;与Ⅰ级组比较,^b $P<0.05$ 。

表 4 HLA-B27 核酸阳性组、HLA-B27 核酸阴性组 hs-CRP、ESR、ASO 和 IgA 检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	hs-CRP(mg/L)	ESR(mm/h)	ASO(IU/mL)	IgA(g/L)
HLA-B27 核酸阴性组	11	11.03±3.72	15.27±5.33	104.82±34.62	2.22±0.48
HLA-B27 核酸阳性组	62	21.36±7.07	22.94±7.74	120.63±24.41	2.97±0.96

2.5 HLA-B27 核酸、hs-CRP 和 ESR 对 AS 的诊断价值 以 AS 作为阳性诊断,以对照作为阴性诊断,绘制 ROC 曲线,结果显示,HLA-B27 核酸、hs-CRP 和 ESR 单独诊断 AS 的曲线下面积(AUC)分别为 0.925(95%CI:0.875~0.974)、0.539(95%CI:0.440~0.639)、0.919(95%CI:0.877~0.960),3 项指标联合检测诊断 AS 的 AUC 为 0.996(95%CI:0.991~0.999),大于各项指标单独诊断($P<0.05$)。见表 5、图 1。

表 5 血清 HLA-B27 核酸、hs-CRP 和 ESR 在 AS 中的诊断效能

指标	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC	AUC 的 95%CI	<i>P</i>
HLA-B27 核酸	84.9	100.0	0.925	0.875~0.974	0.025
hs-CRP	63.9	97.3	0.539	0.440~0.639	0.021
ESR	98.6	75.3	0.919	0.877~0.960	0.049
3 项联合	97.3	98.6	0.996	0.991~0.999	0.003

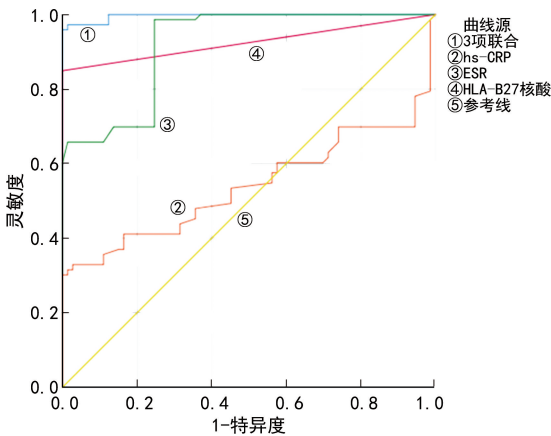


图 1 HLA-B27 核酸、hs-CRP 和 ESR 诊断 AS 的 ROC 曲线

3 讨 论

AS 是一种多因素共同参与的慢性炎症性疾病,目前认为遗传、环境、免疫与其有关^[4],以累及骶髂关节、附着点和中轴关节为主要病理特征^[5],可引起关节疼痛及僵硬,反复发作可出现功能障碍甚至致残,严重影响患者的生存质量^[6]。20 世纪 70 年代英国科

学家首次报道了 AS 与 HLA-B27 密切相关^[7],HLA-B27 属于 I 型主要组织相容性复合物基因,它的同源二聚体能够与淋巴细胞、粒细胞、自然杀伤细胞受体结合,参与多种细胞调控,从而在自身免疫性疾病的发生、发展中发挥作用。HLA-B27 在机体中有核细胞上均有表达,在淋巴细胞表面含量丰富,是免疫应答的标志物^[8]。有研究证实,90% 以上的 AS 患者 HLA-B27 核酸检测呈阳性^[9],HLA-B27 可作为 AS 临床诊断和治疗的重要实验室指标^[10-11]。本研究中,AS 患者男女比例约为 3.87:1,AS 患者 HLA-B27 核酸阳性率为 84.90%,而健康对照人群 HLA-B27 核酸阳性率为 0.0%,与其他研究结果相符^[12]。HLA-B27 核酸检测对 AS 的诊断具有重要的辅助作用,对于 HLA-B27 核酸阴性的 AS,此时联合炎症指标、免疫指标进行检测,有利于降低 AS 的漏检率。

hs-CRP 是一种急性时相反应蛋白,当机体出现炎症时血清 hs-CRP 水平迅速升高,48 h 即可达到峰值,有助于感染性疾病的诊断。AS 患者存在骶髂关节及其他类型的关节炎,由肝脏合成的 C 反应蛋白直接参与炎症反应。ESR 升高在一定程度上也反映了炎症或组织损伤,其升高程度与组织损伤程度有关。本研究中,AS 组患者的血清 hs-CRP、ESR 水平显著高于健康对照组,且 hs-CRP 在不同分级 AS 患者中比较均有差异,这与其他研究表明 hs-CRP 能反映 AS 患者炎症程度并与其呈正比的结论一致^[13]。虽然 hs-CRP 对于 AS 患者的诊断具有较低的灵敏度,ESR 对于 AS 患者的诊断具有较低的特异度,但是 hs-CRP、ESR 可以间接地反映炎症和组织损伤的存在,并且与严重程度有关。

ASO 是能够反映患者近期是否存在 A 群溶血链球菌感染的指标,链球菌感染会促进抗原呈递细胞活化,激活机体免疫,激活 T、B 淋巴细胞,促进肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素等炎症因子的释放,加重关节组织损伤,诱导 AS 的进展^[10]。本研究发现,AS 组 ASO 水平显著高于健康对照组。Ig 为机体免疫系统重要组成部分,作为活化 B 淋巴细胞的重要免疫抗体,在 AS 的发病中起一定作用。AS 作为一种慢性自身免疫性疾病,在活动期常发生 Ig 含量的异常,IgA 为微生物抗原,并与 hs-CRP 等炎症细胞因子水平密切相关。本研究结果显示,AS 组 IgA 水平显著高于健康对照组,IgA 水平与 AS 患者疾病活动密切相关^[14]。

HLA-B27 呈阳性的人群是 AS 的易感人群,但是阳性患者并不一定发病,hs-CRP、ASO、ESR 及 IgA 水平的变化可以反映 AS 病情进展情况,尽管它们不是 AS 的特异性诊断指标,但 hs-CRP、ESR 与 HLA-

B27 核酸联合检测对 AS 的诊断效能较高,有利于 AS 的辅助诊断,有助于改善患者的病情。

参考文献

[1] 高乐女,吴红,游荷霞,等. 7 829 例疑似强直性脊柱炎患者 HLA-B27 抗原阳性率及分型研究[J]. 第三军医大学学报,2020,42(12):1220-1224.

[2] 张曙琼,邵粉丽,孙洋. 强直性脊柱炎发病机制及药物调控研究进展[J]. 中国药理学通报,2022,38(12):1761-1766.

[3] 王军,王海英,刘明. 对强直性脊柱炎骶髂关节病变进行 MRI 及 CT 诊断的准确率分析[J]. 影像研究与医学应用,2022,6(8):7-9.

[4] 胡劲涛,柴乐,任伟凡,等. 强直性脊柱炎骨代谢的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(6):875-879.

[5] 刘彧. 强直性脊柱炎免疫遗传学发病机制的研究进展[J]. 中国临床医学,2019,26(1):117-121.

[6] 周海兵,罗志军,陈庆军,等. 人工全髋关节置换术治疗强直性脊柱炎中期、远期疗效观察[J]. 浙江中西医结合杂志,2018,28(11):947-949.

[7] BREWERTON D A, HART F D, NICHOLLS A. Ankylosing spondylitis and HL-A27[J]. Lancet,1973,1(7809):904-907.

[8] LIMKAMSIAN T C C, INDUMATHY S, HALIM H. Allelic association with ankylosing spondylitis fails to correlate with human leukocyte antigen B27 homodimer formation[J]. J Biol Chem,2019,294(52):20185-20195.

[9] PEDERSEN S J, MAKSYMOWYCH W P. The pathogenesis of ankylosing spondylitis: an update [J]. Curr Rheumatol Rep,2019,21(10):58.

[10] 陆锡平,王科,张庆祥,等. 强直性脊柱炎患者检测 HLA-B27、ASO 及免疫球蛋白表达的临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志,2020,12(9):1256-1280.

[11] PALADINI F, FIORILLO MT, TEDESCHI V. Ankylosing spondylitis: a trade off of hla-b27, erap, and pathogen interconnections? Focus on sardinia[J]. Front Immunol, 2019,10(1):35.

[12] 刘倩,马亮,岳德波,等. 强直性脊柱炎患者 T、B 及 NK 淋巴细胞亚群检测的临床价值[J]. 中日友好医院学报, 2021,35(5):276-279.

[13] 姚颖,雷洋,李莹,等. 强直性脊柱炎患者血清中 MMP-9、S100A12 及 CRP 水平变化及临床意义[J]. 颈腰痛杂志, 2022,43(5):690-692.

[14] YANG Z, ZHANG Z, LIN F, et al. Comparisons of neutrophil monocyte eosinophi and basophillymphocyte ratios among various systemic autoimmune rheumatic disease [J]. APMIS,2017,125(10):863-871.