DOI:10.16016/j.1000-5404.202001204

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

高乐女,吴 红,游芮霞,王 勇 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院风湿免疫科

[摘要] **目的** 通过对重庆地区疑似强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)的患者及部分亲属的人类白细胞表面抗原-B27(HLA-B27)阳性情况进行分析,了解该抗原不同表型在本地区疑似患者中分布的差异。**方法** 回顾性分析本院 2018 年 1 月 1 日至 2019 年 11 月 29 日诊治的重庆地区 7 829 例疑似 AS 的患者及部分亲属的临床资料,采用序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP)法检测血液标本所得的 HLA-B27 基因亚型的分型情况。**结果** 7 829 例数据中 HLA-B27 抗原阳性有 2 112 例,阳性率为 26.98%;其中男性阳性率显著高于女性(33.87% *vs* 18.58%,$P<0.01$)。其中 B*2704 型有 1 655 例(78.36%),B*2705/07 型有 358 例(16.95%)。有 46 例 HLA-B27 阳性者合并眼部疾病,其中 B*2704 型有 36 例(78.26%),并且以葡萄膜炎多见(34/46)。**结论** 重庆地区人群 AS 疑似病例 HLA-B27 抗原阳性率男性明显高于女性。HLA-B27 亚型以 B*2704、B*2705/07 为主,且前者是重庆地区 AS 的发病易感基因亚型。AS 合并眼部疾病者以葡萄膜炎多见,HLA-B27 基因亚型以 B*2704 型为主。

[关键词] HLA-B27;亚型;强直性脊柱炎

[中图法分类号] R195.4;R392.11;R593.23 [文献标志码] A

Positivity and genotype distribution of HLA-B27 antigen in 7 829 patients with suspected ankylosing spondylitis

GAO Lenyu, WU Hong, YOU Qingxia, WANG Yong Department of Rheumatology and Immunology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To analyze the positivity of human leukocyte surface antigen-B27 (HLA-B27) in patients with suspected ankylosing spondylitis (AS) and their relatives in Chongqing to understand the gender-specific distribution of HLA-B27 genotypes in the patients. **Methods** We retrospectively analyzed the clinical data of 7 829 patients with suspected AS and some of their relatives, who were diagnosed in Chongqing between January 1, 2018 and November 29, 2019. HLA-B27 genotypes were determined using a sequence-specific primer polymerase chain reaction (PCR-SSP). **Results** Of the 7 829 patients, 2 112 were positive for HLA-B27 antigen, with a positive rate of 26.98%. The positive rate of HLA-B27 antigen was significantly higher in the male than in the female patients (33.87% *vs* 18.58%, $P<0.01$). A total of 1 655 (78.36%) patients had a B*2704 genotype and 358 (16.95%) had a B*2705/07 genotype of HLA-B27 antigen. Forty-six of the HLA-B27-positive patients were found to have ocular diseases, among whom 36 (78.26%) patients had a B*2704 genotype; uveitis was the most frequent ocular disease in these patients (34/46). **Conclusion** The patients with suspected AS in Chongqing have a significantly higher rate HLA-B27 antigen positivity than the normal population, and the positive rate is significantly higher in male than in female patients. The HLA-B27 genotypes are predominantly B*2704 and B*2705/07, and the former is associated with AS susceptibility. Uveitis is common in HLA-B27-positive AS patients with ocular diseases, who have a predominant B*2704 genotype.

[**Key words**] HLA-B27; subtype; ankylosing spondylitis

Corresponding author: WANG Yong, E-mail: wangyyongjhy@126.com

[通信作者] 王 勇,E-mail:wangyongjhy@126.com

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一种常见的免疫介导的炎症性关节病,以骶髂关节的骨侵蚀、附着点炎及后期骨性强直为病理特征,好发于青年男性[1-2],我国发病率约为0.3%[3]。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。AS发病机制尚不明确,目前认为与遗传、免疫、环境与微生物相关[4]。20世纪70年代英国科学家首次报道了AS与人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)-B27基因密切相关[5],具有明显的家族聚集倾向。虽然随后的研究发现,亦存在非主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex,MHC)区域的高风险基因,但迄今为止所知的HLA与AS相关性最强者仍为HLA-B27。由于AS起病隐匿,患者早期表现常不典型,至出现影像学检查异常时,可能已错过最佳治疗时机。因此对AS的早期诊断意义重大。而研究表明AS患者HLA-B27抗原阳性率可达90%,健康对照人群只有7%左右[6-8],因此通过检测HLA-B27抗原辅助诊断疑似AS患者具有临床意义。AS与HLA-B27基因多态性密切相关,中国不同地区和种族的HLA-B27基因亚型分布有一定差异,不同地区的HLA-B27基因亚型与AS的关系也不完全相同[6]。本研究旨在通过回顾性分析重庆地区7 829例疑似强直性脊柱炎的患者及部分亲属的临床资料及血清标本HLA-B27抗原阳性率及基因亚型,了解该抗原阳性率及不同表型在重庆地区不同性别的疑似患者中分布的差异。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析2018年1月1日至2019年11月29日来本院风湿免疫科、关节外科、骨科及眼科门诊就诊及住院部收治的因为颈、腰、背部、骶髂关节疼痛,或合并眼部病变而疑诊为AS的总计7 829例患者。其中男性4 299例,女性3 530例,年龄3个月至87岁,中位年龄35岁。纳入标准:参考1984年修订的纽约AS有关标准[9]并进行部分修改。具体为:①有下腰部、背部的疼痛病史,晨僵3个月以上,症状于活动后减轻,休息无改善;②腰部在前后、左右方向上活动受限;③胸廓活动度低于同年龄、性别正常人;④双侧Ⅱ级以上骶髂关节炎或单侧骶髂关节炎Ⅲ级以上;⑤一级亲属确诊AS。至少满足①②③或符合④或⑤。排除标准:已明确诊断为单纯的类风湿关节炎、风湿性关节炎、痛风性关节炎及骨关节炎的患者。本研究得到医院伦理委员会批准(KY2020064)。

1.2 仪器与试剂

DYCP-44P型电泳仪(北京六一生物科技有限公司);DQD-96A型PCR检测系统(中国杭州博日科技有限公司);JY02S型紫外分析仪(北京君意东方电泳设备有限公司);电热恒温水槽(上海一恒科学仪器有限公司);XR96-B快速混匀器(江苏新康医疗器械有限公司);核酸提取或纯化试剂、HLA-B27基因分型测定试剂盒(PCR-SSP法)(天津市秀鹏生物技术开发有限公司)。

1.3 方法

采用序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP)检测HLA-B27亚型基因分型[8]。

1.3.1 模板DNA提取 采用中国天津市秀鹏生物技术开发有限公司的全血DNA提取试剂盒从ETDA抗凝的静脉全血中提取模板DNA,操作过程完全按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 PCR扩增 通过DQD-96A型PCR检测系统采用天津秀鹏生物技术有限公司的HLA-B27高分辨试剂盒进行检测,操作流程严格按照操作说明书进行并严防污染。

1.3.3 凝胶电泳及成像 配制2.5%琼脂糖凝胶,按要求将6 μL PCR反应产物转移至凝胶孔中,使用电泳仪在140 V电压下电泳10 min,电泳结束后将凝胶转移至紫外分析仪,参照试剂盒所附结果判读表判断结果。

1.4 统计学分析

数据分析采用SPSS 20.0统计软件。正态分布的计量资料用$\bar{x}\pm s$表示,偏态分布的计量资料采用中位数M(P25,P75)表示,计数资料以百分率(%)表示,比较采用χ^2检验,检验水准$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 HLA-B27检测结果

7 829例数据中HLA-B27抗原阳性有2 112例,阳性率为26.98%;其中男性阳性1 456例,阳性率33.87%,显著高于女性(656例,阳性率18.58%),差异有统计学意义($\chi^2=229.882$,$P<0.01$,表1)。

2.2 HLA-B27阳性人群性别及年龄分布

60岁以下的人群中,男性HLA-B27阳性率均较女性高,差异有统计学意义。而40岁以下的青年人群HLA-B27阳性率最高。见表1。

表 1 各年龄组不同性别 HLA-B27 阳性率比较

组别	男性			女性			合计		
	检测例数	阳性数	阳性率(%)	检测例数	阳性数	阳性率(%)	检测例数	阳性数	阳性率(%)
<20 岁	509	191	37.52[a]	236	34	14.41	745	225	30.20
20~29 岁	1 269	568	44.76[a]	735	176	23.95	2 004	744	37.13
30~39 岁	1 085	377	34.75[a]	829	198	23.88	1 914	575	30.04
40~49 岁	790	216	27.34[a]	884	156	17.65	1 674	372	22.22
50~59 岁	412	81	19.66[a]	563	65	11.55	975	146	14.97
≥60 岁	234	23	9.83	283	27	9.54	517	50	9.67
合计	4 299	1 456	33.87[a]	3 530	656	18.58	7 829	2 112	26.98

a:$P<0.01$,与女性相比

表 2 HLA-B27 基因分型结果

HLA-B27 基因亚型	例数	构成比(%)
B*2702	6	0.28
B*2704	1 655	78.36
B*2705/07	358	16.95
B*2706	5	0.24
B*2708/11/12	8	0.38
阳性但未分辨型别	80	3.79
合计	2 112	100.00

2.3 HLA-B27 基因分型

2 112 例 HLA-B27 阳性者,其中以 B*2704 型及 B*2705/07 型为主,分别有 1 655 例(78.36%)及 358 例(16.95%)。见表 2。

2.4 HLA-B27 与眼科疾病相关性

有 46 例 HLA-B27 阳性者合并眼部疾病,其中男性 30 例,女性 16 例,年龄 18~57(41.96±9.39)岁,并且以葡萄膜炎多见(共 34 例,其中双眼受累 5 例,左眼 12 例,右眼 17 例)。而眼部疾病者 HLA-B27 基因表型以 B*2704 型为主(36 例,78.26%)。见表 3。

3 讨论

AS 是一种主要累及中轴关节的慢性自身免疫性疾病,好发于青年男性,持续进展可引起中轴关节及骨结构改变、功能障碍,并可能导致外周关节炎、附着点炎、葡萄膜炎、肺及神经系统损害等关节外表现,而慢性炎症和病理性骨形成是 AS 的两个主要病理特点[10]。AS 新骨形成可直接导致脊柱放射学进展,致部分患者出现严重的关节强直和畸形,致残率较高,影响患者的生活质量[11-12]。而 2016 年国际脊柱关节炎协会和欧洲抗风湿病联盟推荐的更新中轴型脊柱关节炎管理指南指出,早期甚至在放射学阴性的中轴型脊柱关节炎患者中开始达标治疗更有利于改善患者症状[13]。因此 AS 的早期诊断意义重大。HLA-B27 是最早发现的与 AS 相关的风险因素,除 HLA-B 基因外,已确认≥36 个基因座与 AS 相关[14],包括非 MHC 以及 HLA-B27 基因以外的其他 HLA-B 等位基因。而有关肠道免疫、内质网氨基肽酶在 AS 发病中的作用近年来也有不少报道[1]。虽然目前全基因组相关研究已经确定并进一步证实了主要组织相容性复合物位点以外的易感基因的作用,然而 HLA-B27 在 AS 的发病机制中仍起重要作用,约占 AS 遗传率的 20.1%[15]。

表 3 HLA-B27 基因亚型与眼科疾病相关性

HLA-B27 基因分型	眼科疾病							合计[例(%)]
	虹膜炎	葡萄膜炎	视神经炎	视神经脊髓炎	视网膜血管炎	视网膜脱落	黄斑病	
B*2704	2	28	3		1	1	1	36(78.26)
B*2705/07		5		1				6(13.04)
阳性但未分型		1	2	1				4(8.70)
合计	2	34	5	2	1	1	1	46(100.00)

HLA-B27 抗原具有高度遗传多态性[6],有超过100个亚型。而通过聚合酶链式反应-序列特异性引物法(PCR-SSP)检测技术可以对大多数常见 HLA-B27 基因亚型进行高分辨检测,结果判断客观,敏感性和特异性高且可进行亚型分析。中国不同地区 AS 患者 HLA-B27 基因分型均以 B*2704 和 B*2705 两种亚型为主,而 B*2704 亚型与中国人群 AS 的关联程度更高,因此它被认为是与我国 AS 相关联的"优势亚型"[6]。我们研究发现,重庆地区疑似 AS 人群 HLA-B27 抗原阳性率为 26.98%,男性明显高于女性,主要出现在<40 岁的青年人群。同时重庆地区 AS 疑似人群 HLA-B27 亚型亦以 B*2704、B*2705/07 为主,且以前者更为多见。其中 AS 相关眼部损害者 HLA-B27 亚型主要以 B*2704 基因型为主,B*2705/07 基因型次之;AS 相关眼部疾病以葡萄膜炎最为多见,而该病与 HLA-B27 的 B*2704 基因型阳性更为相关。

AS 是一种原因不明的慢性自身免疫性疾病,主要发生在青年男性,以中轴关节受累为主,可引起关节疼痛、僵硬,终末期可致残。由于结缔组织形成和脊柱强直而发生的 AS 结构损伤不可逆[16],因此早期诊断和治疗是提高患者生活质量的重要手段。目前研究表明遗传因素、免疫、环境及其他因素共同参与 AS 致病,而 HLA-B27 为遗传因素中的主要因素,男性和 HLA-B27 的部分基因亚型为 AS 发病的危险因素。因此,HLA-B27 基因亚型检测对 AS 早期诊断具有较高价值,可作为重庆地区 AS 诊断的辅助指标。对于 HLA-B*2704 或 B*2705/07 阳性的疑似 AS 青年男性患者,可以尽早干预,以减轻或减缓其骨质破坏、关节强直和融合的发生,降低致残率,提高生活质量。而 PCR-SSP 法可以快速准确地检测 HLA-B27 基因亚型,对 AS 的辅助诊断具有重要意义。

参考文献:

[1] 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. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20180712.
LIU Y. Research progress of immunogenetic pathogenesis of ankylosing spondylitis[J]. Chin J Clin Med, 2019, 26(1): 117-121. DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20180712.

[2] 丁繁荣, 姜萍, 刘巍. 强直性脊柱炎发病机制的研究进展[J]. 山东医药, 2019, 59(17): 102-105. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.17.029.
DING F R, JIANG P, LIU W. Research progress in the pathogenesis of ankylosing spondylitis[J]. Shandong Med J, 2019, 59(17): 102-105. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.17.029.

[3] 何少娟, 蔡昭炜. HLA-B27 基因表达变化对强直性脊柱炎发生的影响[J]. 四川医学, 2019, 40(8): 807-810. DOI: 10.16252/j.cnki.issn!004-0501-2019.08.011.
HE S J, CAI Z W. Effect of HLA-B27 gene expression changes on the occurrence of ankylosing spondylitis[J]. Sichuan Med J, 2019, 40(8): 807-810. DOI: 10.16252/j.cnki.issn!004-0501-2019.08.011.

[4] SMITH J A. Update on ankylosing spondylitis: current concepts in pathogenesis[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2015, 15(1): 489. DOI: 10.1007/s11882-014-0489-6.

[5] BREWERTON D A, HART F D, NICHOLLS A, *et al*. Ankylosing spondylitis and HL-A 27[J]. Lancet, 1973, 1(7809): 904-907.

[6] 刘持翔, 刘冬冬, 黄常健. 中国人群 HLA-B*27 基因亚型与强直性脊柱炎的相关性研究[J]. 医疗装备, 2019, 32(11): 190-193. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2376.2019.11.119.
LIU C X, LIU D D, HUANG C J. Correlation study of the relationship between HLA-B*27 gene subtype and ankylosing spondylitis in Chinese population[J]. Med Equip, 2019, 31(11): 190-193. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2376.2019.11.119.

[7] RASHID T, WILSON C, EBRINGER A. Raised incidence of ankylosing spondylitis among Inuit populations could be due to high HLA-B27 association and starch consumption[J]. Rheumatol Int, 2015, 35(6): 945-951. DOI: 10.1007/s00296-014-3164-2.

[8] 白世杰, 托娅, 张保平, 等. 流式细胞术与 PCR-SSP 法检测 HLA-B27 的比对及 HLA-B27 亚型的研究[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(5): 586-587. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.05.004.
BAI S J, TUO Y, ZHANG B P, *et al*. Comparison of HLA-B27 detection by flow cytometry and SSPP-PCR and study on HLA-B27 subtype[J]. Lab Med Clin, 2016, 13(5): 586-587. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.05.004.

[9] VAN DER LINDEN S, VALKENBURG H A, CATS A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria[J]. Arthr Rheum, 1984, 27(4): 361-368. DOI: 10.1002/art.1780270401.

[10] 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. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2019.06.031.
HU J T, CAI L, REN W F, *et al*. Progress on research of bone metabolism in ankylosing spondylitis[J]. Chi J Osteoporos, 2019, 25(6): 875-879. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2019.06.031.

[11] 沈逸, 何东仪. 强直性脊柱炎新骨形成机制和研究现状[J]. 现代免疫学, 2017, 37(2): 142-145.
SHEN Y, HE D Y. Mechanism and research status on new bone formation of ankylosing spondylitis[J]. Curr Immunol,

2017, 037(002): 142-145.

[12] 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.
ZHOU H B, LUO Z J, CHEN Q J, *et al*. The mid and long term effect of total hip arthroplasty on ankylosing spondylitis [J]. Zhejiang J Integr Chin Western Med, 2018, 28(11): 947-949.

[13] 徐胜前, 黄烽. 应重视中轴型脊柱关节炎的达标治疗[J]. 中华内科杂志, 2019, 58(10): 705-708. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2019.10.001 .
XU S Q, HUANG F. Attention should be paid to the standard treatment of axial spondyloarthroarthritis [J]. Chin J Intern Med, 2019, 58(10): 705-708. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578- 1426.2019.10.001.

[14] BROWN M A, KENNA T, WORDSWORTH B P. Genetics of ankylosing spondylitis: insights into pathogenesis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2016, 12(2): 81-91. DOI: 10.1038/nrrheum.2015.133.

[15] CHEN B, LI J, HE C R, *et al*. Role of HLA-B27 in the pathogenesis of ankylosing spondylitis (Review)[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(4): 1943-1951. DOI: 10.3892/mmr.2017.6248.

[16] VAN DER HEIJDE D, BRAUN J, DEODHAR A, *et al*. Modified stoke ankylosing spondylitis spinal score as an outcome measure to assess the impact of treatment on structural progression in ankylosing spondylitis [J]. Rheumatology (Oxford), 2019, 58(3): 388-400. DOI: 10.1093/rheumatology/key128.

(**收稿**:2020-01-30;**修回**:2020-03-22)

(编辑 王 红)