

分析 HLA-DQA1 基因与干燥综合征患者临床特征的相关性

徐慧¹, 朱凌妍², 赵凯², 王慧², 王永福²

1. 包头医学院研究生院, 内蒙古包头 014040; 2. 包头医学院第一附属医院风湿免疫科, 内蒙古包头 014010

[摘要] 目的 探讨人类白细胞抗原 DQA1 (human leucocyte antigen-DQA1, HLA-DQA1) 与干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 患者临床特征的相关性。方法 选取 2022 年 8 月至 2023 年 8 月包头医学院第一附属医院收治的 242 例 SS 患者为研究对象, 根据 HLA-DQA1 检测结果, 将患者分为 HLA-DQA1 阳性组 ($n=147$) 和 HLA-DQA1 阴性组 ($n=95$)。比较两组患者的临床表现、实验室指标、唇腺活检和疾病活动度。采用受试者操作特征曲线分析 HLA-DQA1 对 SS 患者疾病活动度的诊断价值。结果 HLA-DQA1 阳性组患者的口干、眼干、紫癜占比和抗干燥综合征 A 抗体 (anti-Sjögren's syndrome A antibody, 抗 SSA 抗体)、抗干燥综合征 B 抗体 (anti-Sjögren syndrome's B antibody, 抗 SSB 抗体)、抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA) 阳性占比及免疫球蛋白 G 水平均显著高于 HLA-DQA1 阴性组 ($P<0.05$), 血红蛋白水平显著低于 HLA-DQA1 阴性组 ($P<0.05$); HLA-DQA1 阳性组患者的疾病活动度显著高于 HLA-DQA1 阴性组 ($P<0.05$)。HLA-DQA1、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体判断 SS 患者疾病活动度的曲线下面积分别为 0.593、0.534、0.593。三者联合判断 SS 患者疾病活动度的曲线下面积为 0.638。结论 HLA-DQA1 与 SS 患者的疾病活动度相关, 在 HLA-DQA1 阳性患者中, 口干、眼干、球蛋白血症、贫血和紫癜等症状更明显, 同时, 抗 SSA/SSB 抗体和 ANA 阳性率较高, 提示 HLA-DQA1 表达有助于判断 SS 患者的病情。

[关键词] 干燥综合征; HLA-DQA1; 抗 SSA 抗体; 抗 SSB 抗体

[中图分类号] R593.2; R392.2 **[文献标识码]** A **[DOI]** 10.3969/j.issn.1673-9701.2024.19.017

Analyzing the correlation between HLA-DQA1 gene and clinical characteristics of patients with Sjögren's syndrome

XU Hui¹, ZHU Lingyan², ZHAO Kai², WANG Hui², WANG Yongfu²

1. Graduate School of Baotou Medical College, Baotou 014040, Inner Mongolia, China; 2. Department of Rheumatology and Immunology, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010, Inner Mongolia, China

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between human leucocyte antigen-DQA1 (HLA-DQA1) and clinical characteristics of patients with Sjögren's syndrome (SS). **Methods** A total of 242 SS patients admitted to the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College from August 2022 to August 2023 were selected as the study objects. According to the HLA-DQA1 test results, the patients were divided into HLA-DQA1 positive group ($n=147$) and HLA-DQA1 negative group ($n=95$). The clinical manifestations, laboratory indicators, labial gland biopsy and disease activity were compared between two groups. Receiver operating characteristic curve was used to analyze the diagnostic value of HLA-DQA1 for disease activity in SS patients. **Results** The proportion of dry mouth, dry eye and purpura, the proportion of anti-SSA antibodies, anti-SSB antibodies, antinuclear antibody (ANA) positive and the level of immunoglobulin G in HLA-DQA1 positive group were significantly higher than those in HLA-DQA1 negative group ($P<0.05$), and the hemoglobin level was significantly lower than that in HLA-DQA1 negative group ($P<0.05$). The disease activity of HLA-DQA1 positive group was significantly higher than that of HLA-DQA1 negative group ($P<0.05$). The areas under the curve of HLA-DQA1, anti-SSA antibody and anti-SSB antibody to determine the disease activity of SS patients were 0.593, 0.534 and 0.593, respectively. The area under the curve of disease activity of SS patients judged by the three indexes combined was 0.638. **Conclusion** HLA-DQA1 is correlated with the disease activity of SS patients. In HLA-DQA1 positive patients, dry mouth, dry eyes, hyperglobulinemia, anemia and purpura were more obvious. Meanwhile, the positive rates of anti-SSA/SSB antibodies and ANA were higher, suggesting that HLA-DQA1 expression is helpful in judging the disease of SS patients.

[Key words] Sjögren's syndrome; Human leucocyte antigen-DQA1; Anti-SSA antibody; Anti-SSB antibody

通信作者: 王永福, 电子信箱: wyf18686198868@163.com

干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 是一种以侵犯泪腺、唾液腺等外分泌腺、B 淋巴细胞异常增殖、组织淋巴细胞浸润为特征的弥漫性结缔组织病。临床上主要表现为干燥性角膜炎和口腔干燥症, 还可累及内脏器官。中国人群中 SS 的患病率为 0.29%~0.77%, 男女比例 1:9, 其中 40~50 岁的女性是最大的高危群体^[1]。SS 的发病机制目前尚不清楚, 自身免疫反应、环境及遗传因素等在 SS 发病机制中发挥重要作用^[2]。人类白细胞抗原 (human leucocyte antigen, HLA) 是第一个被确定为与大多数自身免疫性疾病相关的基因组, 这种关联已被多个独立的研究反复证实^[3-7]。研究发现在抗干燥综合征 A 抗体 (anti-Sjögren's syndrome A antibody, 抗 SSA 抗体)、抗干燥综合征 B 抗体 (anti-Sjögren's syndrome B antibody, 抗 SSB 抗体) 阳性患者中, 携带 HLA-DQA1 基因的患者出现 SS 的风险较高^[8]。张雄鹰等^[9]研究发现山西汉族 SS 患者与 HLA-DQA1、HLA-DQB1 基因具有相关性。本研究通过探讨 HLA-DQA1 基因与 SS 患者的临床表现和实验室指标的关系, 从而为 SS 的发病机制和治疗提供新的可能。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2022 年 8 月至 2023 年 8 月包头医学院第一附属医院收治的 242 例 SS 患者为研究对象, 所有患者均符合 2016 年美国风湿病学会 (American College of Rheumatology, ACR) 联合欧洲抗风湿病联盟 (European League Against Rheumatism, EULAR) 制定的 SS 分类标准^[10]。本研究经包头医学院第一附属医院医学伦理委员会审查批准 [伦理审批号: 2024 伦理审查第 (L004) 号], 研究对象均已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样本收集及保存 采集 SS 患者外周血 2ml, 枸橼酸钠抗凝, 置于 -20℃ 冰箱保存。

1.2.2 临床资料的收集 收集患者的临床资料, 包括性别、年龄、病程、临床表现 (口干、眼干)、腺外表现 (雷诺现象、关节炎、紫癜、间质性肺病、间质性肾炎); 实验室指标包括抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA)、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、血红蛋白 (hemoglobin, Hb)、白细胞 (white blood cell, WBC)、血小板 (platelet, PLT)、免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) G、IgM、IgA 和唇腺活检。唇腺活检病理分级按 Chisholm 标准分为 I~IV 级, I 级: 少量淋巴细胞

浸润; II 级: 中等量淋巴细胞浸润; III 级: 按浸润淋巴细胞 >50 个/4mm² 为一个灶; IV 级: >1 个灶。采用 EULAR 干燥综合征疾病活动指数 (EULAR Sjögren's syndrome disease activity index, ESSDAI) 评价 SS 的疾病活动度, ESSDAI <5 为低疾病活动度, 5 ≤ ESSDAI ≤ 13 为中疾病活动度, ESSDAI ≥ 14 为高疾病活动度^[11]。

1.2.3 DNA 提取 按照血液基因组 DNA 提取试剂盒 (TIANGEN 产品) 说明进行提取。

1.2.4 外周血 HLA-DQA1 表达情况 ①引物的设计与合成: 上游引物序列为 hHLA-DQA1F: 5-GCTGACTGAACTATGGCTAA-3, 下游引物序列为 hHLA-DQA1R: 5-GGCAGACGGTATCCATTA-3。②聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增体系: 25μl 反应体系中含有基因组 DNA 5μl、上游引物 0.5μl、下游引物 0.5μl、Taq PCR Mix 12.5μl 及 ddH₂O 6.5μl。PCR 扩增条件: 95℃ 预变性 3min; 95℃ 30s、55℃ 30s、72℃ 1min 共循环 35 次, 于 72℃ 延伸 5min。PCR 扩增产物长度为 238bp。③扩增产物的鉴定: 取扩增产物 8μl, 加入到 2% 琼脂糖凝胶上样孔内, 连接电泳仪, 120V, 电泳 30min, 在凝胶成像仪中进行成像, 并根据扩增产物 HLA-DQA1 扩增条带的有无判断结果。有条带为 HLA-DQA1 阳性患者, 纳入 HLA-DQA1 阳性组, 反之为 HLA-DQA1 阴性患者, 纳入 HLA-DQA1 阴性组。

1.3 统计学方法

数据处理使用 SPSS 26.0 统计学软件。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 不符合正态分布的计量资料以中位数 (四分位数间距) [$M(Q_1, Q_3)$] 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。计数资料以例数 (百分率) [$n(\%)$] 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。采用受试者操作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC 曲线) 分析 HLA-DQA1 对 SS 患者疾病活动度的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的临床表现和实验室指标比较

两组患者的性别、年龄、病程比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); HLA-DQA1 阳性组患者的口干、眼干、紫癜占比和抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、ANA 阳性占比及 IgG 水平均显著高于 HLA-DQA1 阴性组 ($P < 0.05$), 血红蛋白水平显著低于 HLA-DQA1 阴性组 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 两组患者的临床表现和实验室指标比较

项目	HLA-DQA1 阳性组 (n=147)	HLA-DQA1 阴性组 (n=95)	$\chi^2/t/Z$	P
性别(男/女, 例)	7/140	4/91	0.400	0.841
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	55.48±13.13	53.91±13.70	0.894	0.403
病程[M(Q ₁ , Q ₃), 年]	3.00 (1.10, 10.00)	2.30 (1.00, 5.70)	-1.309	0.191
临床表现[n (%)]				
口干	120 (81.6)	65 (68.4)	5.594	0.018
眼干	105 (71.4)	55 (57.9)	4.718	0.030
腺外表现[n (%)]				
雷诺现象	18 (12.2)	7 (7.4)	1.481	0.224
关节炎	58 (39.5)	39 (41.1)	0.061	0.805
紫癜	21 (14.3)	4 (4.2)	6.324	0.012
甲状腺功能减退	15 (10.2)	7 (7.4)	0.561	0.454
间质性肺病	36 (24.5)	23 (24.2)	0.002	0.961
间质性肾炎	11 (7.5)	4 (4.2)	1.063	0.303
实验室指标				
ANA 阳性[n (%)]	115 (78.2)	43 (45.3)	27.676	<0.001
抗 SSA 抗体阳性[n (%)]	112 (76.2)	55 (57.9)	9.032	0.003
抗 SSB 抗体阳性[n (%)]	65 (44.2)	25 (26.3)	7.917	0.005
CRP[M(Q ₁ , Q ₃), mg/L]	3.22 (3.22, 3.86)	3.22 (3.22, 3.34)	-1.252	0.210
ESR[M(Q ₁ , Q ₃), mm/h]	13.00 (7.00, 22.00)	11.00 (6.00, 20.00)	-0.743	0.457
Hb[M(Q ₁ , Q ₃), g/L]	114.00 (107.00, 135.00)	134.00 (126.00, 142.00)	-5.413	<0.001
WBC[M(Q ₁ , Q ₃), ×10 ⁹ /L]	5.02 (3.48, 6.41)	4.76 (3.91, 5.81)	-0.214	0.830
PLT ($\bar{x} \pm s$, ×10 ⁹ /L)	197.43±67.71	186.62±61.89	1.254	0.211
IgG[M(Q ₁ , Q ₃), g/L]	16.70 (12.80, 19.50)	14.40 (11.20, 17.70)	-3.099	0.002
IgM[M(Q ₁ , Q ₃), g/L]	0.98 (0.65, 1.53)	0.96 (0.69, 1.49)	-0.162	0.872
IgA[M(Q ₁ , Q ₃), g/L]	2.62 (1.96, 3.65)	2.54 (1.89, 3.71)	-0.241	0.810

2.2 两组患者的唇腺活检分级比较

共 116 例 SS 患者行唇腺活检, 两组患者的唇腺活检分级比较差异无统计学意义 ($\chi^2=2.265$, $P=0.322$), 见表 2。

表 2 两组患者的唇腺活检分级比较[n (%)]

组别	I 级	II 级	III 级	IV 级
HLA-DQA1 阳性组 (n=68)	1 (1.5)	0 (0)	10 (14.7)	57 (83.8)
HLA-DQA1 阴性组 (n=48)	3 (6.3)	0 (0)	5 (10.4)	40 (83.3)

2.3 两组患者的病程比较

两组患者的病程比较差异无统计学意义 ($\chi^2=4.437$, $P=0.109$), 见表 3。

表 3 两组患者的病程比较[n (%)]

组别	<5 年	5~10 年	>10 年
HLA-DQA1 阳性组 (n=147)	89 (60.5)	20 (13.6)	38 (25.9)
HLA-DQA1 阴性组 (n=95)	70 (73.7)	9 (9.5)	16 (16.8)

2.4 两组患者的疾病活动度比较

HLA-DQA1 阳性组患者的疾病活动度显著高于 HLA-DQA1 阴性组 ($\chi^2=8.877$, $P=0.012$), 见表 4。

表 4 两组患者的疾病活动度比较[n (%)]

组别	低疾病活动度	中疾病活动度	高疾病活动度
HLA-DQA1 阳性组 (n=147)	61 (41.5)	73 (49.7)	13 (8.8)
HLA-DQA1 阴性组 (n=95)	58 (61.0)	32 (33.7)	5 (5.3)

2.5 HLA-DQA1 对 SS 患者疾病活动度的诊断价值

HLA-DQA1、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体判断 SS 患者疾病活动度的曲线下面积 (area under the curve, AUC) 分别为 0.593、0.534、0.593。三者联合判断 SS 患者疾病活动度的 AUC 为 0.638, 见表 5。

表 5 ROC 曲线分析 HLA-DQA1 对 SS 患者疾病活动度的诊断价值的基本数据

项目	AUC	P	敏感度 (%)	特异性 (%)	95%CI
HLA-DQA1	0.593	0.003	56.6	49.6	0.529-0.656
抗 SSA 抗体	0.534	0.253	57.5	44.8	0.469-0.598
抗 SSB 抗体	0.593	0.002	48.8	59.1	0.528-0.656
三者联合	0.638	<0.001	80.5	38.7	0.569-0.708

3 讨论

SS 是一种复杂的自身免疫性疾病。表观遗传、环境、炎症和免疫因素参与其发病^[12]。HLA 是首个

被确定与风湿性疾病相关的位点。目前,普遍认为 HLA II 类基因的不同等位基因与系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、系统性硬化及 SS 有关。研究显示,HLA-DRB1 和 HLA-DQB1 与系统性红斑狼疮相关^[4]。也有研究表明特异性 HLA II 类及 HLA I 类位点与系统性硬化具有强关联性^[5]。HLA-DRB1*04 和 *10 等位基因与自身抗体阳性类风湿关节炎高风险相关,且对 HLA 相关自身抗体阳性类风湿关节炎有很强的保护作用^[6]。HLA II 类基因区内的特定等位基因主要是 HLA-DR 和 HLA-DQ, 其已被证明参与 SS 的发病^[13]。而 HLA-DQA1*0501、HLA-DQB1*0201 和 HLA-DQB1*0301 单倍型也已被确定为 SS 的最强遗传风险因素,并与免疫反应有关^[14-15]。

本研究检测 242 例 SS 患者的 HLA-DQA1 表达情况,结果显示 HLA-DQA1 阳性的 SS 患者共 147 例,阳性率达 60.7%。本研究发现 HLA-DQA1 阳性组的 SS 患者更容易出现口干、眼干、紫癜、贫血等临床症状及抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、ANA 的阳性率更高。与 Thorlacius 等^[8]研究结论一致。紫癜与 HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-DQB1 的相关性已得到证实^[16];也有研究表明抗 SSA/SSB 抗体的存在与 HLA-DQA1*0501 高度相关^[17]。有研究证明血清 IgG 升高与 HLA-DRB1*03 相关^[18]。本研究也发现 HLA-DQA1 阳性患者的 IgG 水平高于 HLA-DQA1 阴性患者,说明 HLA-DQA1 阳性患者更易出现球蛋白增高的表现。

本研究还分析 HLA-DQA1 与 SS 患者病程和唇腺活检评分的相关性,结果发现不论 HLA-DQA1 阳性与否,SS 患者的病程和唇腺活检评分之间均无明显差异。说明 HLA-DQA1 参与 SS 的发生过程可能和疾病的病程关系不大,也考虑与本研究纳入的 SS 患者病程多少于 5 年有关,后续需纳入更多长病程患者进行研究。

ESSDAI 评分评估 SS 患者的病情活动具有较好的可信度。本研究结果显示,HLA-DQA1 阳性组患者的 ESSDAI 评分高于阴性组,提示 HLA-DQA1 对 SS 患者疾病活动度有一定影响。本研究还发现,HLA-DQA1 单独判断 SS 患者疾病活动度的能力强于抗 SSA 抗体,与抗 SSB 抗体几乎一致。三者联合判断患者疾病活动度的能力提升,敏感度更高。

综上所述,HLA-DQA1 与 SS 患者的口干、眼干、高球蛋白血症、贫血、紫癜及抗 SSA/SSB 抗体、ANA 具有相关性,提示 HLA-DQA1 可预测 SS 患者的临床表型。同时 HLA-DQA1 可作为监测 SS 疾病活动度的一个指标,联合其他实验室指标有助于判断疾

病的活动程度。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] BALDINI C, TALARICO R, TZIOUFAS A G, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: A critical review[J]. *J Autoimmun*, 2012, 39(1-2): 9-14.
- [2] NEGRINI S, EMMI G, GRECO M, et al. Sjögren's syndrome: A systemic autoimmune disease[J]. *Clin Exp Med*, 2022, 22(1): 9-25.
- [3] ORTÍZ-FERNÁNDEZ L, MARTÍN J, ALARCÓN-RIQUELME M E. A summary on the genetics of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, systemic sclerosis, and Sjögren's syndrome[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2023, 64(3): 392-411.
- [4] RASOULI-SARAVANI A, TAHAMOLI-ROUDSARI A, BEHZAD M, et al. Clinical relevance of HLA-DRB1 and HLA-DQB1 alleles in Iranian systemic lupus erythematosus patients[J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2021, 20(1): 67-75.
- [5] VILLANUEVA-MARTÍN G, MARTÍN J, BOSSINI-CASTILLO L. Recent advances in elucidating the genetic basis of systemic sclerosis[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2022, 34(6): 295-301.
- [6] PADYUKOV L. Genetics of rheumatoid arthritis[J]. *Semin Immunopathol*, 2022, 44(1): 47-62.
- [7] IMGEBERG-KREUZ J, RASMUSSEN A, SIVILS K, et al. Genetics and epigenetics in primary Sjögren's syndrome[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2021, 60(5): 2085-2098.
- [8] THORLACIUS G E, HULTIN-ROSENBERG L, SANDLING J K, et al. Genetic and clinical basis for two distinct subtypes of primary Sjögren's syndrome[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2021, 60(2): 837-848.
- [9] 张雄鹰, 宋秀珍, 秦雄伟, 等. 山西汉族原发性干燥综合征与 HLA-DQ 基因多态性相关性的研究[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 27(2): 182-185.
- [10] SHIBOSKI C H, SHIBOSKI S C, SEROR R, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(1): 35-45.

(下转第 110 页)