

Detection and Analysis of Neutrophil Surface Differentiation Antigens CD67 and CD24 in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)

Yunning Li

923 Hospital of the Joint Logistics Support Force of the People's Liberation Army of China, Nanning, Guangxi, 530000, China

Abstract

Objective: To explore the diagnostic value of neutrophil surface differentiation antigens CD67 and CD24 in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) during diagnosis. **Methods:** Retrospective analysis of clinical data of 38 PNH patients in the hospital where the author is located (as the PNH group). At the same time, 38 healthy individuals (control group) and 38 patients with aplastic anemia (AA group) were selected, all of whom underwent CD67, CD24, CD55, and CD59 tests. The efficacy of detecting different neutrophil surface differentiation antigens was compared. **Results:** The levels of CD67, CD24, CD55, and CD59 in the control group, AA group, and PNH group were significantly lower than those in the AA group and the control group ($P < 0.05$); Pearson correlation analysis showed that the expression levels of four indicators, CD67, CD24, CD55, and CD59, were positively correlated ($P < 0.05$), and the sensitivity, specificity, Jordan index, and AUC of the four indicators were all high ($P < 0.05$). **Conclusion:** The application of neutrophil surface differentiation antigen CD67 and CD24 tests in the diagnosis of PNH patients has high value and can provide more accurate data for clinical diagnosis and treatment.

Keywords

paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; neutrophil surface differentiation antigen; CD67; CD24

中性粒细胞表面分化抗原 CD67、CD24 在阵发性睡眠性血红蛋白尿症 (PNH) 患者中的检验分析

李云宁

中国人民解放军联勤保障部队第九二三医院, 中国·广西 南宁 530000

摘要

目的: 探析阵发性睡眠性血红蛋白尿 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH) 患者诊断期间, 中性粒细胞表面分化抗原 CD67、CD24 的检验价值。**方法:** 对笔者所在医院 38 例 PNH 患者的临床资料进行回顾性分析 (作为 PNH 组)。同时, 选取 38 例健康体检者 (对照组)、38 例再生性障碍性贫血 (AA 组) 患者, 所有受检者均接受 CD67、CD24、CD55、CD59 检验, 比较不同中性粒细胞表面分化抗原检测的效能。**结果:** 对照组、AA 组与 PNH 组患者的 CD67、CD24、CD55、CD59 水平相比, PNH 组 $<$ AA 组 $<$ 对照组 ($P < 0.05$); Pearson 相关性分析显示 CD67、CD24、CD55、CD59 四项指标表达水平呈正相关 ($P < 0.05$), 且四项指标联测的灵敏度、特异度、约登指数、AUC 均较高 ($P < 0.05$)。**结论:** PNH 患者诊断中应用中性粒细胞表面分化抗原 CD67、CD24 检验的价值较高, 可对临床诊疗提供更加精准的数据。

关键词

阵发性睡眠性血红蛋白尿症; 中性粒细胞表面分化抗原; CD67; CD24

1 引言

阵发性睡眠性血红蛋白尿 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH) 是慢性血管内溶血疾病, PNH 患者以全血细胞减少、贫血、血栓等为主要的症状表现。从基因的角度分析, X 染色体上的 PIG-A 基因突变是导致 PNH 发生的

主要原因, 本病属于良性克隆性疾病, PNH 患者体内部分或全部缺失糖基磷脂锚连蛋白 (GPI-AP)。随着 PNH 患者病情的加重, 粒细胞最先受累, 中性粒细胞表面分化抗原 CD67、CD24、CD55、CD59 水平异于健康人群, CD55、CD59 是 PNH 患者的传统检测方法, CD67、CD24 是近年来提出的新型检验方法, CD67 与 CD24 是粒细胞 GPI 锚蛋白分子, PNH 患者的粒细胞表面分化抗原水平与病情严重程度成反比, 即当分化抗原水平降低 PNH 患者病情加重^[1]。为进一步探讨 CD67 与 CD24 在 PNH 患者中的检验意义,

【作者简介】 李云宁 (1987-), 女, 壮族, 中国广西南宁人, 本科, 主管技师, 从事医学检验研究。

本次采用对照试验的方式深入分析 CD67、CD24 的临床检验价值,以 2022 年 1 月—2023 年 8 月笔者所在医院随机选取的健康人群、AA 患者与 PNH 患者为对象,展开如下报道。

2 资料与方法

2.1 临床资料

对笔者所在医院 38 例 PNH 患者的临床资料进行回顾性分析(作为 PNH 组),同时选取 38 例健康体检者(对照组)、38 例再生性障碍性贫血(AA 组)患者作为研究对象,选取时间为 2022 年 1 月—2023 年 8 月。

对照组:男性、女性各 20 例、18 例;年龄 20~67 岁,平均(39.45±1.23)岁;吸烟史、饮酒史各 19 例。

AA 组:男性、女性各 21 例、17 例;年龄 21~68 岁,平均(39.51±1.28)岁;吸烟史、饮酒史各 15 例、23 例。

PNH 组:男性、女性各 22 例、16 例;年龄 21~66 岁,平均(39.43±1.21)岁;吸烟史、饮酒史各 16 例、22 例。

三组数据差异甚微($P > 0.05$),可对比。

纳入标准:①受检者知情同意;②受检者精神状态正常;③受检者认知功能正常。

排除标准:①受检前 3 个月有输血、感染情况;②先天性听力障碍、沟通障碍;③合并精神分裂、焦虑等精神类疾病的患者。

2.2 方法

所有受检者均接受中性粒细胞表面分化抗原检测,本次采用荧光免疫标记法。

操作如下:清晨采集受检者的空腹静脉血,若患者晕血可采用聊天、播放音乐等方式分散注意力,保证采血顺利。在试管中加入 100 μ L 全血,1 号管中加入同型对照物(20 μ L,藻红蛋白标记的鼠抗人单克隆抗体),2 号管中添加荧光抗体 CD67(20 μ L),在室温下避光 30min。准备 5 根试管,分别在其中加入 2mL 溶血素,避光 10min 后进行溶血,并

进行高速离心处理,离心速度 1000r/min,持续离心 5min。离心后静置 20min 左右弃掉上清液,剩余溶液中加入 2mL 磷酸缓冲盐溶液洗涤 2 次,然后再悬于磷酸缓冲盐溶液中(0.5mL)。

采用美国 BD 公司提供的 FACS Cali-bur 型流式细胞仪进行检测,对血液样本中的中性粒表面分化抗原 CD67、CD24、CD55、CD59 水平进行检测。

2.3 观察指标

①记录不同组受检者的中性粒细胞表面的 CD67、CD24、CD55、CD59 水平。

②采用 Pearson 分析 CD67、CD24、CD55、CD59 检测的相关性。

③统计 CD67、CD24、CD55、CD59 的单独计联合诊断价值。

2.4 统计学分析

SPSS24.0 计算数据,计量资料($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,计量资料进行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 提示差异明显。相关性分析采用 Pearson 分析,利用 ROC 曲线评估 CD67、CD24、CD55、CD59 在 PNH 患者中的诊断结果(area under curve, AUC),曲线下面积的计算值越高提示诊断效能越高。

3 结果

3.1 CD67、CD24、CD55、CD59 水平表达

对照组、AA 组与 PNH 组患者的 CD67、CD24、CD55、CD59 水平相比,PNH 组 < AA 组 < 对照组,组间数据差异显著($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 Pearson 相关性分析结果

在 38 例 PNH 患者的 CD67、CD24、CD55、CD59 相关性检验中,四项指标表达水平呈正相关($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 CD67、CD24、CD55、CD59 水平表达($\bar{x} \pm s$, %)

组别	例	CD67	CD24	CD55	CD59
对照组	38	97.63±2.46 [#]	96.59±2.46 [#]	97.58±3.25 [#]	95.28±4.16 [#]
AA 组	38	91.28±3.15 [*]	89.52±3.15 [*]	90.46±2.34 [*]	89.36±3.12 [*]
PNH 组	38	65.43±2.16	62.46±1.46	59.25±3.26	60.13±1.46
F		112.36	135.48	145.76	155.32
P		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注:与 PNH 组相比,^{*} $P < 0.05$;与 AA 组相比,[#] $P < 0.05$ 。

表 2 Pearson 相关性分析结果

指标	CD67	CD24	CD55	CD59
CD67	—	0.453 [*]	0.420 [*]	0.423 [*]
CD24	0.453 [*]	—	0.468 [*]	0.448 [*]
CD55	0.420 [*]	0.468 [*]	—	0.482 [*]
CD59	0.423 [*]	0.448 [*]	0.482 [*]	—

注:^{*} $P < 0.001$ 。

3.3 不同检验方式的诊断效能

与单独的 CD67、CD24、CD55、CD59 水平检验方式相比, 4 项联合检验的灵敏度、特异度、约登指数、AUC 均较高, 单独检验与 4 项联合检验的结果差异显著 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同检验方式的诊断效能

指标	cut-Off 值 (%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC	95%CI
CD67	81.90	90.65	100.00	0.908	0.963	0.938~0.989
CD24	83.66	93.77	100.00	0.940	0.969	0.942~0.991
CD55	84.46	96.90	100.00	0.971	0.974	0.961~0.995
CD59	81.39	96.90	100.00	0.971	0.997	0.982~0.999
4 项联合	—	100.00	100.00	1.000	1.000	—

4 讨论

近年来临床医学对 PNH 患者的研究逐渐深入, 研究认为 PNH 克隆发展最先累及粒细胞, 然后单核细胞、红细胞、淋巴细胞功能遭到破坏^[2]。临床基因学研究认为 PNH 是一种由 1 个或多个造血干细胞经获得性体细胞 PIG-A 基因突变造成的非恶性的克隆性疾病, PIG-A 基因突变会影响糖基磷脂酰肌醇的正常合成, 进而使 GPI 锚接于细胞膜上的膜蛋白无法合成, 进而造成 CD 系列抗原的丢失, 包括 CD55、CD59、CD16 等, 反复血栓、血管内溶血、造血功能衰竭是 PNH 疾病患者的主要临床表现。

早期临床诊断工作中, PNH 患者机体内的 GPI 锚蛋白能被早期检测到, 以下三种补体调节蛋白与 PNH 患者发生溶血有关: 第一, C3 转化酶衰变加速因子会对 C3 转化酶产生强效抑制作用, CD55 与 DAF 是 C3 转化酶的衰变加速因子, 当 CD55 水平减少会促使 C3 大量转化成 C3b, C3b 快速结合到红细胞膜上, 影响机体内环境的稳定性^[3]。第二, CD59、MIRL 作为常见的膜反应性溶血抑制物, 能与 C9 结合, 有效阻止攻膜复合物形成, 当 CD59 水平降低会导致攻膜复合物水平提升。第三, C8 与对应结合蛋白结合后, 可阻止攻膜复合物形成, 当 C8 水平下降会导致攻膜复合物水平提升。因此, 临床常用 CD55、CD59 对 PNH 患者溶血情况进行检验, CD55、CD59 减少最先体现于红细胞, 同时也会累及中性粒细胞与淋巴细胞, 其中淋巴细胞的 CD55 与 CD59 减少更加显著^[4]。PNH 患者中性粒细胞中不仅有 CD55、CD59 减少, 也有 CD67、CD24 的减少, 因此本研究侧重分析 CD67、CD24 在 PNH 患者中的检验价值^[5]。

无论是 CD55、CD59, 还是 CD67、CD24 都是中性粒

细胞表面的 GPI 锚链膜蛋白, 血浆、中性粒细胞中 CD67、CD24 的减少提示患有 PNH。临床研究也得到 PNH 患者中有部分患者的症状与 AA 患者相似, 临床检验结果不准确会导致 AA 与 PNH 患者诊断结果混淆, 造成误诊^[6]。也有研究指出, AA 的发生机制与 PNH 具有密切关联, 有 11.1%~28.8% AA 患者可演变为 PNH, 因此本次选取三组受检者进行对比, 分别为健康对照组、AA 组与 PNH 组, 通过统计研究结果得到 PNH 组患者的 CD67、CD24 水平较低, 其次为 AA 组, 对照组 CD67、CD24 水平最高。说明与健康人群相比, AA 患者与 PNH 患者的 CD67、CD24 水平均较低, 不同的是 PNH 患者的水平更低。相关性分析结果得到 CD67、CD24、CD55、CD59 表达水平均呈显著正相关, 说明 CD67、CD24 在患者身体中的变化情况与 CD55、CD59 指标一致, 因此可将 CD67、CD24 作为临床诊断 PNH 的重要指标。此外本次还得到, 与单独的 CD67、CD24、CD55、CD59 水平检验方式相比, 4 项联合检验的灵敏度、特异度、约登指数、AUC 均较高 ($P < 0.05$)。四项联测的 AUC 高达 1000, 说明同时监测上述 4 项指标能提升 PNH 诊断准确性, 于临床诊疗更有利。林莺等^[6]在报道中以 26 名健康体检与 20 例初治 PNH 者为对象, 检测所有受检者的外周血 CD67 和 CD24 表达情况得到, 健康体检者的 CD67、CD24 水平高于 PNH 患者, 本研究与上述报道结果一致。

综上所述, PNH 患者诊断中应用中粒细胞表面分化抗原 CD67、CD24 检验的价值较高, 联合 CD55、CD59 的灵敏度、特异度较高, 且能明确区分 PNH 患者与 AA 患者, 值得推荐。

参考文献

- [1] 贾宙. 探究阵发性睡眠性血红蛋白尿症患者易发血栓的可能因素[J]. 医学检验与临床, 2022, 33(1): 63-65+59.
- [2] 丁园, 熊涛. 中性粒细胞表面分化抗原 CD67/CD24 在阵发性睡眠性血红蛋白尿症表达水平及临床意义[J]. 河北医学, 2021, 27(3): 476-480.
- [3] 曾顺良. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症的实验室检查[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(6): 848-850.
- [4] 庄俊玲, 韩冰, 陈苗, 等. 从北京协和医院百年历史看阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊治发展历程[J]. 中国科学, 2021, 51(8): 938-947.
- [5] 崔香丹, 李玥, 曹欣欣, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿并发缺血性肠病临床特点分析[J]. 中华内科杂志, 2022, 61(2): 205-209.
- [6] 林莺, 张荣东, 陈仁利. CD67 联合 CD24 在 PNH 诊断中的意义[J]. 当代医学, 2019, 25(18): 134-136.