

225 例肝病患者自身抗体检测结果分析

孙萍 唐志琴 穆红

作者单位:300192 天津市,天津市第一中心医院检验科

【摘要】 目的 探讨各种肝病患者中自身抗体检测在自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, ALD)包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)及原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)中的临床意义。**方法** 选择我院 2013 年 1 月-2014 年 2 月消化科、肝胆外科、移植外科等收治的各种肝病患者 225 例,分为 ALD 患者组和其他肝病患者组。用间接免疫荧光法检测 225 份临床血清标本中抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)、抗平滑肌抗体(antismooth muscle antibody, SMA)和抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA),用欧蒙印迹法检测抗肝肾微粒体抗体(liver kidney microsomal, LKM)、抗肝细胞溶质抗原 I 型抗体(liver cytosol-1, LC-1)、抗可溶性肝抗原抗体/抗肝胰抗体(anti-soluble liver antigen antibody/liver pancreas antigen, SLA/LP)、AMA II 型(AMA-M₂)并查阅临床资料,对检测结果作出分析。**结果** ALD 患者组 ANA 阳性率为 77.78%,SMA 阳性率为 7.41%,AMA 阳性率为 55.56%,LKM 阳性率为 7.41%,AMA-M₂ 阳性率为 48.15%,SLA/LP 阳性率为 7.41%,LC-1 阳性率为 3.70%。其他肝病患者组 ANA 阳性率为 26.26%,SMA 阳性率为 4.55%,AMA 阳性率为 11.11%,LKM 阳性率为 0.51%,AMA-M₂ 阳性率为 5.05%,SLA/LP 阳性率为 2.53%,LC-1 阳性率为 1.52%。ALD 患者组自身抗体阳性率与其他肝病患者组相比较,ANA、AMA、LKM、AMA-M₂ 差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。**结论** ALD 患者自身抗体检出率较高,为临床医生鉴别病毒性肝炎、ALD 及其他肝病提供可靠依据。

【关键词】 肝病;自身免疫性肝病;自身抗体

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2014.02.009

Autoantibody test results analysis of 225 patients with liver disease

SUN Ping, TANG Zhi-qin, MU Hong. Department of Clinical Laboratory, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China

【Abstract】 Objective To investigate the clinical value of autoantibodies detection in autoimmune liver disease (ALD) including autoimmune hepatitis (AIH), primary biliary cirrhosis (PBC) and primary sclerosing cholangitis (PSC). **Methods** From January 2013 to February 2014, 225 patients from department of gastroenterology, department of hepatobiliary surgery and transplant surgery were collected. Antinuclear antibody (ANA), antismooth muscle antibody (SMA) and anti-mitochondrial antibody (AMA) were detected by indirect immunofluorescence method. Liver kidney microsomal antibody (LKM), liver cytosol-1 (LC-1), soluble antigen/liver pancreatic (SLA/LP) and AMA-M₂ were tested by Europe and Mongolia blotting detection. The clinical data were consulted and the detected results were analyzed statistically. **Results** The positive rates of ANA, SMA, AMA, LKM, AMA-M₂, SLA/LP and LC-1 in patients with ALD were 77.78%, 7.41%, 55.56%, 7.41%, 48.15%, 7.41% and 3.70%, respectively. The positive rates of ANA, SMA, AMA, LKM, AMA-M₂, SLA/LP and LC-1 in patients with other liver diseases were 26.26%, 4.55%, 11.11%, 0.51%, 5.05%, 2.53% and 1.52%, respectively. There were statistical significance in the differences of positive rates of ANA, AMA, LKM, AMA-M₂ between ALD and other liver diseases group (P all <0.05). **Conclusion** Autoantibodies of ALD have a higher detection rate, and they provide a reliable basis for clinicians to identify viral hepatitis, ALD and other liver diseases.

【Key words】 Liver disease; Autoimmune liver disease; Autoantibody

我国最常见的肝病为病毒性肝炎,但也存在相当数量的非病毒性肝病,包括自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, ALD)、脂肪肝、肝硬化、酒精肝、药物性肝炎等。ALD 通常包括自身免疫性肝炎

(autoimmune hepatitis, AIH), 原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC),上述二种或三种疾病常同时存在进而成为重叠综合征^[1-3]。而自

身抗体检测对这些疾病的鉴别诊断、诊断具有重要价值^[4]。本文研究收集我院肝病患者 225 例,对其自身抗体进行检测,并结合临床做出回顾性分析,探讨 ALD 相关自身抗体的检测意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择我院 2013 年 1 月至 2014 年 2 月消化科、肝胆外科、移植外科等收治的肝病者 225 例,其中男性 109 例,女性 116 例,年龄 1~72 岁。包括 AIH 患者 15 例,PBC 患者 10 例,PSC 患者 2 例,病毒性肝炎患者 28 例,脂肪肝患者 4 例,肝硬化患者 81 例,酒精肝患者 6 例,药物性肝炎患者 1 例,肝占位患者 13 例,先天性胆道闭锁患者 4 例,肝损伤患者 61 例。

1.2 主要仪器和试剂 间接免疫荧光法检测采用欧蒙(北京)医学诊断技术有限公司的马赛克间接免疫荧光法检测试剂盒和尼康荧光显微镜。欧蒙印迹法检测仪器为欧蒙(北京)医学诊断技术有限公司的印迹法自动操作仪 EUROBlotMaster 及其提供的配套试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 间接免疫荧光法 试剂盒专用于体外检测人血清或血浆中的抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)、抗平滑肌抗体(antismooth muscle antibodies, SMA)和抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)。选择 HEp2、猴肝脏的冰冻切片作为抗原的生物薄片,待检血清自 1:100 起稀释,与组织细胞孵育 30 min;加入异硫氰酸荧光素标记的抗体结合 30 min;洗片、封片后荧光显微镜观察结果。组织或细胞内出现特异性绿色荧光、血清稀释度 > 1:100 判断为阳性。

1.3.2 欧蒙印迹法 用于检测抗肝肾微粒体抗体(liver kidney microsomal, LKM)、抗肝细胞溶质抗原 I 型抗体(liver cytosol-1, LC-1)、抗可溶性肝抗原抗体/抗肝胰抗体(anti-soluble liver antigen antibody/liver pancreas antigen, SLA/LP)、AMA II 型(AMA-M₂)。将 1.5 ml 样本缓冲液放入 EUROBlotMaster 温育槽中的实验反应膜条,温育 5 min,之后吸去温育槽中液体。在温育槽中加入 1.5 ml 已稀释

的血清。于室温在摇摆摇床上温育 30 min。吸去温育槽中的液体并在摇摆摇床上用 1.5 ml 已稀释的清洗缓冲液清洗膜条 3 次,每次 5 min。在温育槽中加入 1.5 ml 已稀释的酶结合物(碱性磷酸酶标记的抗人 IgG)。于室温在摇摆摇床上温育 30 min。吸去温育槽中的液体并在摇摆摇床上用 1.5 ml 已稀释的清洗缓冲液清洗膜条 3 次,每次 5 min。在温育槽中分别加入 1.5 ml 底物溶液,于室温在摇摆摇床上温育 10 min。吸去温育槽中液体,用蒸馏水清洗膜条 3 次,每次 1 min。将完全干燥的膜条黏附于塑料膜上观察颜色反应,经扫描仪扫描实验膜条上的条带结果,直接报告靶抗体阴性或阳性。

1.4 统计学处理 使用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计分析。计数资料的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ALD 患者自身抗体阳性率结果 ALD 患者自身抗体 ANA 阳性率为 77.78%,SMA 阳性率为 7.41%,AMA 阳性率为 55.56%,LKM 阳性率为 7.41%,AMA-M₂ 阳性率为 48.15%,SLA/LP 阳性率为 7.41%,LC-1 阳性率为 3.70%,见表 1。

2.2 其他肝病患者自身抗体阳性率结果 198 例其他肝病者自身抗体 ANA 阳性率为 26.26%,SMA 阳性率为 4.55%,AMA 阳性率为 11.11%,LKM 阳性率为 0.51%,AMA-M₂ 阳性率为 5.05%,SLA/LP 阳性率为 2.53%,LC-1 阳性率为 1.52%,见表 2。

2.3 ALD 患者组与其他肝病者组自身抗体阳性率比较 ALD 患者组自身抗体阳性率与其他肝病者组相比较,ANA、AMA、LKM、AMA-M₂ 阳性率差异均有统计学意义(P 均 < 0.05),见表 3。

3 讨论

ALD 是一组由于机体存在自身抗体而引起的肝细胞或肝内外胆管细胞损伤为主要特征的慢性肝病,特点为在肝脏病理性炎症损伤的同时,血清中存在与肝脏相关的自身抗体。目前认为遗传易感人群在激发因素诱导下,自身免疫耐受平衡被打破,机体针对自身抗原做出免疫应答,引起肝脏胆管损伤导致 ALD 的发生^[5]。自从人们在 1965 年首次发现

表 1 ALD 患者自身抗体检测阳性率结果[n(%)]

组别	例数	ANA	SMA	AMA	LKM	AMA-M ₂	SLA/LP	LC-1
AIH 组	15	12(80.00)	2(13.33)	6(40.00)	2(13.33)	4(26.67)	1(6.67)	0(0.00)
PBC 组	10	8(80.00)	0(0.00)	9(90.00)	0(0.00)	9(90.00)	1(10.00)	1(10.00)
PSC 组	2	1(50.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
合计	27	21(77.78)	2(7.41)	15(55.56)	2(7.41)	13(48.15)	2(7.41)	1(3.70)

表 2 其他肝病患者自身抗体检测阳性率结果[n(%)]

组别	例数	ANA	SMA	AMA	LKM	AMA-M ₂	SLA/LP	LC-1
病毒性肝炎组	28	4(14.29)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
脂肪肝组	4	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
肝硬化组	81	17(20.99)	2(2.47)	12(14.81)	0(0.00)	8(28.57)	2(2.47)	2(2.47)
酒精肝组	6	2(33.33)	1(16.67)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
药物性肝炎组	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
肝占位组	13	2(15.38)	1(7.69)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(7.69)
先天性胆道闭锁组	4	1(25.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
肝损害组	61	26(42.62)	5(8.20)	10(16.39)	1(1.64)	2(3.28)	3(4.92)	0(0.00)
合计	198	52(26.26)	9(4.55)	22(11.11)	1(0.51)	10(5.05)	5(2.53)	3(1.52)

表 3 ALD 患者与其他肝病患者自身抗体检测阳性结果比较[n(%)]

组别	ANA	SMA	AMA	LKM	AMA-M ₂	SLA/LP	LC-1
ALD 组	21(77.78)	2(7.41)	15(55.56)	2(7.41)	13(48.15)	2(7.41)	1(3.70)
其他肝病组	52(26.26)	9(4.55)	22(11.11)	1(0.51)	10(5.05)	5(2.53)	3(1.52)
χ^2 值	28.77	0.42	34.16	8.66	48.09	1.88	0.65
P 值	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05

PBC 患者血清中存在 AMA 以来,该自身抗体已成为诊断 PBC 的主要指标,其中 AMA-M₂ 为 PBC 特异性抗体^[6]。抗 AMA 抗体是以线粒体为靶抗原、无种属和器官特异性的自身抗体,PBC 患者中的抗 AMA 抗体阳性率高达 95%,此项检测已成为 PBC 诊断的重要实验室指标。抗 AMA-M₂ 抗体以线粒体内膜上的丙酮酸脱氢酶复合物为靶抗原的抗 AMA-M₂ 抗体亚型抗体,是 PBC 患者高度特异性自身抗体,敏感性为 95%~98%,特异性为 86%~97%^[7,8]。部分 PBC 患者血清中还存在 ANA,其中多核点型和核膜型 ANA 对 PBC 患者有较高特异性,可作为 AMA 阴性患者诊断 PBC 的指标^[8-10]。在本文研究中,PBC 患者 ANA 阳性率为 80.00%,AMA、AMA-M₂ 阳性率均为 90.00%,这与相关研究^[11]结果基本一致,且本文研究中 ANA 以多核点型为主。在本文研究中抗 AMA、AMA-M₂ 抗体的阳性率均为 90.00%,较以上报道的结果偏低,究其原因可能与检测方法的差异及病例数偏少等因素有关,此尚需进行进一步积累、研究。还有 10.00%的 PBC 患者 SLA/LP、LC1 阳性,这或许与重叠综合症有关。有报道^[12]显示,AIH 患者自身抗体谱特征主要表现为 ANA、SMA、LKM、SLA/LP、LC-1 阳性,特别是 SLA/LP、LC-1 只在 AIH 组中表现为阳性。本文研究中 AIH 患者 ANA 阳性率较高,为 80.00%,SMA、LKM 阳性率均为 13.33%,AMA 阳性率为 40.00%,AMA-M₂ 阳性率为 26.67%,SLA/LP 阳性率为 6.67%,这与上述报道基本相符,但未检出 LC-1,可能与患者的个体差异有关。在本

文研究中,PSC 病例数较少,只有 2 例,其中 1 例 ANA 阳性。PSC 的诊断还要依据胆管的影像学检查、肝活检分为大胆管 PSC、小胆管 PSC。

在本文研究中,肝硬化、肝损害病例数较多,且肝硬化患者、肝损害患者各自身抗体阳性率均较高。之所以肝硬化、肝损害患者自身抗体检出率较高,是因为肝硬化是一种或者多种致病因素长期反复存在造成肝脏广泛实质性损害,进而肝细胞弥漫性坏死、结节状再生,纤维组织增生,肝脏结构紊乱,质地变硬。由于部分患者早期症状不明显,就诊时间较晚,肝硬化、肝损害、肝占位只是其最终的表现形式,形成原因很复杂,其中也包括 ALD、慢性病毒性肝炎。另外,在本文研究中,病毒性肝炎 ANA 阳性率为 14.29%。据有关文献^[13]报道在慢性肝炎、肝硬化患者体内存在免疫应答,可引起机体自身免疫紊乱继而产生自身抗体,与本文研究结果相符。在本文研究中,还出现了酒精肝 33.33%的 ANA 阳性和 16.67%的 SMA 阳性,这可能是因为酒精对肝细胞的毒性通过肝脏的代谢,逐步造成对肝细胞的破坏,使肝细胞膜表面的脂质成分过度氧化,从而破坏了肝细胞膜。酒精不但可以损伤肝细胞,还可造成肝脏毛细胆管的损伤,或诱导自身抗体的产生。在本文研究中,先天性胆道闭锁患者有 1 例 ANA 阳性。先天性胆道闭锁是由于先天性胆道发育障碍引起的胆道梗阻,此外,有人提出本病与自身免疫、胆管缺血有关。还有人发现胆道闭锁与硬化性胆管炎有相似的炎症过程,发病率女性较男性高^[14],由此可能说明有 ANA

阳性的可能性。本文研究中,脂肪肝、药物性肝炎患者未发现自身抗体。

既往由于对 ALD 认识的不足、实验条件及检测水平限制,遇有肝功能异常患者,多数诊断为病毒性肝炎,因此早期诊断对 ALD 诊断、治疗及预后至关重要^[15]。随着实验室技术发展,临床医生对 ALD 认识程度明显提高,自身抗体的检测越来越受到重视。临床可根据患者自身特异性抗体的联合检测结果,更准确、快速的鉴别、诊断 ALD 与其他肝病,对于提高 ALD 的诊断率有着重要的意义。

4 参考文献

- 1 Czaja AJ. Frequency and nature of the variant syndromes of autoimmune liver disease. *Hepatology*, 1998, 28:360-365.
- 2 Beuers U, Rust C. Overlap syndromes. *Semin Liver Dis*, 2005, 25: 311-320.
- 3 Chazouilleres O, Wendum D, Serfaty L, et al. Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy. *Hepatology*, 1998, 28:296-301.
- 4 Karp JK, Akpek EK, Anders RA. Autoimmune hepatitis in patients with primary Sjogren's syndrome: a series of two-hundred and two patients. *Int J Clin Exp Pathol*, 2010, 3:582-586.
- 5 李海, 贾继东. 自身免疫性肝病的发病机制. *临床消化病杂志*, 2008, 20:327-329.
- 6 Sakauchi F, Mori M, Zeniya M, et al. A cross-sectional study of primary biliary cirrhosis in Japan: utilization of clinical data when patients applied to receive public financial aid. *J Epidemiol*, 2005, 15: 24-28.
- 7 Muratori P, Granito A, Pappas G, et al. Autoimmune liver disease 2007. *Mol Aspects Med*, 2008, 29:96-102.
- 8 Qiu Dk, Li XM, Wei J, et al. Clinical features of 107 autoimmune hepatitis patients and 30 of them with AIH-primary biliary cirrhosis overlap syndrome. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2008, 16: 367-371.
- 9 Worman HJ. Nuclear envelope protein autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Hepato Res*, 2007, 37:406-411.
- 10 Szostecki C, Guldner HH, Will H. Autoantibodies against "nuclear dots" in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis*, 1997, 17: 71-78.
- 11 张健, 纪龙, 徐瑞亮, 等. 自身免疫性肝病自身抗体谱的检测及临床应用. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2011, 5: 113-115.
- 12 陆兴热, 资云菊, 高仕萍, 等. 免疫印迹法检测肝自身抗体谱及其临床应用. *中国中医药咨讯*, 2010, 2: 99-100.
- 13 张利方, 付丽萍, 徐娟, 等. 自身抗体在肝病诊断中的意义. *现代检验医学杂志*, 2006, 21: 70-72.
- 14 邓海莉, 张巧月, 任智. 先天性胆道闭锁症的诊断治疗. *中国优生与遗传杂志*, 2008, 16: 104-105.
- 15 李永哲. 自身抗体检测技术临床推广应用和质量保证工作中应重视的问题. *中华检验医学杂志*, 2006, 29: 769-770.

(收稿日期: 2014-04-18)

(本文编辑: 杨军)

消 息

致谢

《实用检验医师杂志》编辑部全体工作人员衷心感谢以下编委/专家对本刊出版的大力支持! (姓名以拼音为序)

陈建魁	段 荣	胡成进	胡晓波	贾克刚	焦连亭	李会强
李 莉	李立和	李玉军	穆 红	覃 西	单立新	宋秀宇
唐爱国	汪德清	王昌富	王丽萍	王 彤	王 毅	魏路清
夏时海	徐建华	袁 慧	张贺平	张会英	张 鹏	张时民
赵玲莉	郑淑芳	仲人前	邹学森			