

自身抗体在自身免疫性肝病诊断中的价值*

李琳彬, 郭广波, 余 焰, 刘力瑜, 陈忠余[△] (重庆市中医院检验科 400021)

【摘要】 目的 探讨自身抗体谱分析在自身免疫性肝病(ALD)诊断中的价值。方法 回顾性分析 864 例肝病患者中各类自身免疫性肝病的分布、年龄、性别特征及自身抗体(ANA)、肝抗原自身抗体阳性率。结果 864 例患者中,病毒性肝炎 763 例、自身免疫性肝炎(AIH)51 例、原发性胆汁性肝硬化(PBC)37 例、原发性硬化性胆管炎(PSC)4 例和重叠综合征(OS) 9 例。ALD 多见于 40 岁以上女性。病毒性肝炎组 ANA、抗平滑肌肌动蛋白抗体(ASMA)、抗肝肾微粒体抗体 1 型抗体(LKM-1)的阳性率分别为 23.3%、4.6%、1.0%; AIH 组 ANA、ASMA、抗 LKM-1、抗肝细胞溶质抗原 1 型抗体(抗 LC-1)、抗可溶性肝抗原/肝胰抗原抗体(抗 SLA/LP)、抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)的阳性率分别为 78.1%、70.6%、7.8%、5.9%、9.8%、29.4%; PBC 组 ANA、ASMA、抗线粒体抗体亚型 M2(AMA-M2)的阳性率分别为 83.9%、37.8%、86.5%。结论 自身抗体检测是诊断自身免疫性肝病的必要条件,但这些自身抗体也可见于病毒性肝炎。

【关键词】 自身抗体; 自身免疫性肝炎; 原发性胆汁性肝硬化; 原发性硬化性胆管炎

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.15.005 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)15-2051-02

Value of autoantibodies in diagnosis of autoimmune liver disease* LI Lin-bin, GUO Guang-bo, YU Yan, LIU Li-yu, CHEN Zhong-yu[△] (Department of Clinical Laboratory, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Chongqing, Chongqing 400021, China)

【Abstract】 Objective To study the value of autoantibody analysis on diagnosis of autoimmune liver disease.

Methods To analyze retrospectively characteristics of distribution, age and gender for various kinds of disease and positive rate for ANA(Antiudear antibody) and auto-antibody of liver antigens in 864 patients with liver disease. **Results** 85 patients were included in this study, among them 763 patients with Viral hepatitis, 51 with Autoimmune hepatitis(AIH), 37 with primary biliary cirrhosis(PBC), 4 with primary sclerosing cholangitis(PSC), 9 with overlap syndromes(OS), ALD mainly affected female patients above 40 years old. The positive rates of ANA, ASMA(anti-smooth muscleantibody), anti-LKM-1 were 23.3%, 4.6%, 1.0% in Viral hepatitis. The positive rates of ANA, ASMA, anti-LKM-1, anti-LC-1, anti-SLA/LP, ANCA (anti-neutrophilcytoplasmic antibodies) were 78.1%, 70.6%, 7.8%, 5.9%, 9.8%, 29.4% in AIH. The positive rates of ANA, ASMA, AMA-M2(anti-mitochondrial antibody type 2) were 83.9%, 37.8%, 86.5% in PBC. **Conclusion** Autoantibodies detection is essential for diagnosis of autoimmune liver disease, but there are autoantibodies in non-autoimmune liver disease.

【Key words】 autoantibody; autoimmune hepatitis; primary billiary cirrhosis; primary scrcerosing cholangitis

自身免疫性肝病(ALD)是一组缺乏明显病因和诱因的肝脏疾病,在肝脏出现病理性炎症损伤的同时,血清中常会出现与肝脏有关的循环自身抗体。ALD 包括以肝细胞受累为主的自身免疫性肝炎(AIH)、肝内胆管细胞受累为主的原发性胆汁性肝硬化(PBC)、肝外胆管细胞受累为主的原发性硬化性胆管炎(PSC)及相互间共存的重叠综合征(OS)^[1-3]。这组疾病的发展及预后与早诊断、早治疗密切相关。随着免疫学检测方法、技术的不断提高,自身免疫性肝病患者的诊断不断增多,自身抗体的检测也越来越受到重视,已成为自身免疫性肝病早期诊断的重要实验室检测手段。本文对本院收治的 864 例做了自身抗体谱检测的肝病患者的临床资料进行回顾性分析,以提高对自身免疫性肝病的认识及协助临床诊断,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2013 年 5 月在本院肝病和消化内科住院的肝病患者 864 例,其中男 438 例,女 426 例,年龄

19~73 岁。根据临床诊断分为 5 个组:(1)病毒性肝炎组 763 例,男 419 例,女 344 例,年龄 29~73 岁;(2)AIH 组 51 例,男 6 例,女 45 例,年龄 31~58 岁;(3)PBC 组 37 例,男 8 例,女 29 例,年龄 38~67 岁;(4)PSC 组 4 例,男 3 例,女 1 例,年龄 41~56 岁;(5)OS 组 9 例,男 2 例,女 7 例,年龄 29~52 岁。各类型疾病符合下列诊断标准:病毒性肝炎诊断符合 1998 年美国肝病协会修订的病毒性肝炎诊断标准;AIH、PSC 诊断符合美国肝病协会(AASLD)2010 发布的诊疗指南;PBC 诊断符合美国肝病协会 2010 年发布的试验设计原则;重叠综合征诊断符合 2010 年国际自身免疫性肝炎工作组(IAIHG)发布重叠综合征的立场文件^[4-7]。

1.2 检测方法

1.2.1 间接免疫荧光法检测 由德国欧盟医学实验诊断股份公司提供的马赛克试剂盒检测血清中抗核抗体(ANA)、抗平滑肌肌动蛋白抗体(ASMA),该试剂盒包被有 5 种抗原基质:

* 基金项目:重庆市卫生局资助项目(2013-2-008)。

作者简介:李琳彬,女,主管技师,本科,主要从事临床免疫学检验。 △ 通讯作者, E-mail: 459460045@qq.com。

HEp-2、HEp-20-10、猴肝、大鼠肾脏、大鼠肝脏。按照试剂盒说明书的步骤操作,ANA 测定 1 : 100、1 : 320、1 : 1 000、1 : 3 200 4 个滴度,荧光显微镜观察结果,细胞或组织内出现特异性荧光,且 ANA 滴度大于或等于 1:100 判为阳性。

1.2.1 免疫印记法检测 抗肝抗原谱抗体试剂盒(德国欧盟医学实验诊断股份公司)检测血清中抗线粒体抗体亚型 M2 (AMA-M2)、抗肝肾微粒抗体 I 型抗体(LKM-1)、抗肝细胞溶质抗原 I 型抗体(LC-1)、抗可溶性肝抗原/肝膜抗原抗体(SLA/LP),试剂盒的检测膜条上包被有 AMA-M2、LKM-1、LC-1、SLA/LP 抗原。抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)试剂盒检测 ANCA,试剂盒的膜条上包被有抗髓过氧化物酶(MPO)、蛋白酶 3(PR3)、肾小球基底膜(GBM)。操作方法和结果判断按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法 应用 SPSS12.0 软件进行统计学分析,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ANA 检测结果 ANA 检测结果见表 1,ANA 在 AIH、PBC、PSC、OS 及病毒性肝炎组的阳性率分别为 78.1%、83.9%、25.0%、100%、23.3%,经 χ^2 检验,AIH、PBC、OS 与病毒性肝炎组之间的阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$),AIH、PBC、OS 与 PSC 组之间的阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$),AIH 与 PBC 之间的阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$)。AIH、PBC 组的 ANA 阳性率较高,以高滴度为主($\geq 1 : 320$),AIH 组以核颗粒型为主,PBC 以胞浆颗粒型为主。

病毒性肝炎组的 ANA 阳性率较低,并以低滴度为主(1 : 100)。

2.2 ASMA 检测结果 ASMA 检测结果见表 1,ASMA 在 AIH、PBC、OS 及病毒性肝炎组的阳性率分别为 70.6%、37.8%、44.4%、4.6%,AIH、PBC、OS 组与病毒性肝炎组之间的阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$),AIH 与 PBC 之间的阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 间接免疫荧光法自身抗体检测结果[n(%)]

组别	n	ANA	ASMA
AIH	51	40(78.1)	36(70.6)
PBC	37	31(83.9)	14(37.8)
PSC	4	1(25.0)	0(0.0)
OS	9	9(100.0)	4(44.4)
病毒性肝炎	763	178(23.3)	35(4.6)

2.3 AMA-M2、抗 LKM-1、抗 LC-1、抗 SLA/LP、ANCA 检测结果 表 2 显示了 ALD 和病毒性肝炎患者的抗肝抗原谱抗体检测结果。在 AIH 组中,抗 LKM-1、抗 LC-1、抗 SLA/LP、ANCA 的阳性率分别是 7.8%、5.9%、9.8%、29.4%,与 PBC、PSC、OS、病毒性肝炎组之间的阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$)。AMA-M2 在 PBC 及 OS 组的阳性率分别为 86.5%、77.8%,在 AIH、PSC 及病毒性肝炎组均为阴性。ANCA 在 AIH 及 PSC 组中的阳性率分别为 29.4%、50%,其他组均为阴性。

表 2 免疫印迹法检测抗肝抗原谱抗体检测结果[n(%)]

组别	n	抗 LKM-1	抗 LC-1	抗 SLA/LP	AMA-M2	ANCA
AIH	51	4(7.8)	3(5.9)	5(9.8)	0(0.0)	15(29.4)
PBC	37	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	32(86.5)	0(0.0)
PSC	4	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(50.0)
OS(AIH/PBC)	9	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	7(77.8)	0(0.0)
病毒性肝炎	763	8(1.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

3 讨 论

我国是慢性肝炎的高发区,最常见的肝炎是病毒性肝炎,但也存在一定数量不明原因肝功能异常引起的其他肝病患者,ALD 就是其中的一部分患者。ALD 分为以肝炎为主型的 AIH、以胆系损害及胆汁郁积为主型的 PBC、PSC 及相互间共存的 OS。以往认为 ALD 好发于欧美白种人,中国人患病率低,随着免疫学检测方法、技术的提高及自身免疫性肝病抗体谱检测的普及,加之临床医生对 ALD 认知明显提高,ALD 的确诊率也得到大幅提高,该病呈明显的上升趋势。目前认为 ALD 是由于机体免疫系统对自身抗原免疫耐受被打破,诱发对肝脏的免疫攻击而致病。遗传易感性是主要因素,病毒感染、环境和药物等则可能是在遗传易感基础上的促发因素,但具体病因与发病机制仍不清楚^[2,8]。

本研究显示 864 例肝病患者中病毒性肝炎为主 763 例(88.3%),ALD 101 例(11.7%),其中 AIH 51 例(5.9%),PBC 37 例(4.3%),PSC 4 例(0.5%),OS 9 例(1.0%),以 AIH、PBC 为主,PSC 患者极少。AIH 见于任何年龄,以 40 岁以上女性多见;PBC 和 OS 以 50 岁以上女性多见;PSC 以 40 岁以上男性多见。本研究 101 例 ALD 患者出现了 ANA、ASMA、抗 SLA/LP、抗 LKM-1、抗 LC-1、AMA-M2 及 ANCA 多种抗体,其中 ANA 阳性率最高,达 80.2%。但 763 例病毒性肝炎

患者中 ANA 阳性率为 23.3%,表明 ANA 为非特异性抗体,不能作为诊断 ALD 的特异性指标。

根据检测血清的自身抗体,AIH 可被分为两型:ANA 和 ASMA 阳性者为 I 型 AIH;抗 LKM-1 和抗 LC-1 阳性者为 II 型 AIH;以 I 型 AIH 多见,I 型 AIH 可见于各年龄段,我国以中老年女性居多,而 II 型 AIH 多见于儿童。本研究中,AIH 患者中出现 ANA、ASMA、抗 LKM-1、抗 LC-1、抗 SLA/LP、ANCA 6 种自身抗体,阳性率分别为 78.1%、70.6%、7.8%、5.9%、9.8%、29.4%。ANA 是最常见的自身抗体之一,阳性率可达 70% 以上,可以存在于多种结缔组织疾病和其他自身免疫性疾病,特异性较差,对 AIH 不具有诊断特异性。ASMA 主要出现在 I 型 AIH 中,如果 ANA 与 ASMA 同时出现,则高度提示 AIH。抗 SLA/LP 是 I 型 AIH 最特异的抗体,而且与 AIH 的疾病活动度密切相关,但敏感性较低,阳性率只有 10%~30% 甚至更低,但阳性预告值几乎为 100%,如果出现相应的临床症状,抗体阳性结果基本可诊断 AIH,本研究 101 例 ALD 病例中有 5 例阳性。II 型 AIH 主要见于儿童,其特异性标志抗体为抗 LKM-1 和抗 LC-1 抗体,二者可同时存在,也可单独存在,本研究中检出抗 LKM-1 阳性 4 例、抗 LC-1 阳性 3 例,本院主要收治的是成人患者,阳性率较低。在 51 例 AIH 患者中检出了 15 例 ANCA 阳性,ALD 出现(下转第 2056 页)

- [8] Sanchez-Carbayo M, Herrero E, Megias J, et al. Comparative sensitivity of urinary cyfra 21-1, urinary bladder cancer antigen, tissue polypeptide antigen and NMP22 to detect bladder cancer[J]. The Journal of Urology, 1999, 162(5):1951-1956.
- [9] Pariente JL, Bordenave L, Jacob F, et al. Analytical and prospective evaluation of urinary cytokeratin 19 fragment in bladder cancer[J]. The Journal of Urology, 2000, 163(11):1116-1119.
- [10] Sanchez-Carbayo M, Urrutia M, Silva JM, et al. Comparative predictive values of urinary cytology, urinary bladder cancer antigen, CYFRA 21-1 and NMP22 for evaluating symptomatic patients at risk for bladder cancer[J]. The Journal Of Urology, 2001, 165(13):1462-1467.
- [11] Nisman B, Barack V, Shapiro A, et al. Evaluation of Urine CYFRA21-1 for the detection of primary and recurrent bladder carcinoma[J]. American Cancer Society, 2002, 94(20):2914-2922.
- [12] Fernandez-Gomez J, Rodriguez-Marthinez JJ, Barmadah SE, et al. Urinary CYFRA 21. 1 is not a useful marker for the detection of recurrences in the follow-up of superficial bladder cancer[J]. European Association of Urology, 2007, 51(12):1267-1274.
- [13] Gkialas I, Papadopoulos G, Iordanidou L, et al. Evaluation of urine tumor-associated trypsin inhibitor, CYFRA 21-1, and urinary bladder cancer antigen for detection of high-grade bladder carcinoma[J]. Urology, 2008, 72(11):1159-1163.
- [14] Satyam A, Singh P, Sharma M, et al. CYFRA 21-1: a potential molecular marker for noninvasive differential diagnosis of urothelial carcinoma of bladder[J]. Biomarkers, 2011, 16(3):413-421.
- [15] Jeong S, Park Y, Cho Y, et al. Diagnostic values of urine CYFRA21-1, NMP22, UBC, and FDP for the detection of bladder cancer[J]. Clinica Chimica Acta, 2012, 414(1):93-100.
- [16] 张天嵩, 钟文昭. Meta-DiSc 软件在诊断试验 Meta 分析中的应用[J]. 循证医学, 2008, 8(2):97-108.
- [17] 田添, 李军. 膀胱癌尿细胞学诊断研究进展[J]. 安徽医药, 2012, 16(11):1570-1571.

(收稿日期:2014-02-11 修回日期:2014-04-04)

(上接第 2052 页)

的 ANCA 为 PANCA 或非典型 ANCA, 是 I 型 AIH 另一种标志性抗体, 在 ANA、ASMA 等阴性时对 I 型 AIH 诊断价值很大, 与疾病活动度相关, 病情常较重, 但不具有特异性。

AMA 是直接针对线粒体内外层膜的抗体, 对 PBC 具有高度的特异性和敏感性, 根据抗原在线粒体膜上的位置和理化特性, 将 AMA 的靶抗原共分为 9 种亚型(M1~M9), PBC 密切相关的是 M2、M4、M8、M9, 其中 M2 型对 PBC 诊断的特异性最高。本组 37 例 PBC 患者中, 有 32 例 AMA-M2 阳性, AIH、PSC 及病毒性患者阴性, 表明 AMA-M2 对 PBC 的诊断具有高度的特异性和敏感性, 与文献报道的一致^[9-10]。本组诊断 PSC 仅 4 例, 1 例 ANA 阳性, 2 例 ANCA 阳性, 其他抗体均为阴性, 因病例数太少, 无法作进一步分析。临床上常见的 OS 为 AIH/PBC、AIH/PSC、PBC/PSC 3 种类型, 其中以 AIH/PBC 多见。本组报道的 9 例 OS 患者中 9 例 ANA 阳性, 4 例 ASMA 阳性率, 7 例 AMA-M2 阳性率, 其余抗体均阴性, 表明以 AIH/PBC 重叠综合征为主, 但因本组病例太少, 无法作进一步分析。

总之, 不同类型的 ALD, 其自身抗体的阳性率不同。ANA 敏感性高, 但无特异性, AMA-M2 对 PBC 的诊断具有高度的特异性和敏感性, 部分 ALD 自身抗体阴性。因此对 ALD 的诊断必须结合临床表现和实验室指标检测才能作出正确诊断。不断改进和提高自身抗体检测技术, 将为 ALD 的临床诊疗提供有力的支持。

参考文献

- [1] 仲人前, 杨再兴, 梁艳, 等. 自身免疫性肝病的实验诊断进

展[J]. 中华肝脏病杂志, 2012, 20(5):324-326.

- [2] 刘金涛. 自身抗体在临床自身免疫性肝病中的作用和诊断意义[J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(6):669-672.
- [3] Sulz MC, Gerlach TJ. Autoimmune hepatitis[J]. Ther Umsch, 2011, 68(4):189-194.
- [4] Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2010, 51(6):2193-2213.
- [5] Chapman R, Fevery J, Kalloo A, et al. Diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis[J]. Hepatology, 2010, 51(2):660-678.
- [6] Silveira MG, Brunt EM, Heathcote J, et al. American association for the study of liver diseases endpoints conference: design and endpoints for clinical trials in primary biliary cirrhosis[J]. Hepatology, 2010, 52(1):349-359.
- [7] Boberg KM, Chapman RW, Hirschfield GM, et al. Overlap syndromes: The International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) position statement on a controversial issue[J]. J Hepatol, 2011, 54(2):374-385.
- [8] 唐映梅, 杨晋辉. 自身免疫性肝病的诊断与治疗[J]. 现代消化及介入诊疗, 2012, 17(6):337-342.
- [9] 高敏照, 刘玉兰. 187 例自身免疫性肝病的临床特点分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(10):1066-1068.
- [10] 杨密密, 马欢, 周璐, 等. 自身免疫性肝病 166 例临床及病理特征分析[J]. 中华内科杂志, 2013, 52(5):412-414.

(收稿日期:2014-03-24 修回日期:2014-05-10)