

· 论 著 ·

原发性胆汁性肝硬化合并自身免疫性疾病患者免疫学指标及补体水平研究

鲁 丹, 万彦彬, 杨小金, 李小峰

(广东省深圳市龙岗区人民医院检验科 518172)

摘 要:目的 分析原发性胆汁性肝硬化(PBC)合并自身免疫性疾病患者免疫指标及补体水平变化,探讨其与病情评估及诊断的临床意义。方法 收集 PBC 患者 85 例作为研究对象,根据是否合并其他免疫自身疾病分为 PBC 组 46 例, PBC 合并自身免疫疾病组 39 例。其中 PBC 合并干燥综合征(SS)8 例、甲状腺炎 22 例、系统性红斑狼疮 3 例、类风湿关节炎(RA)6 例。并随机抽取健康对照组 50 例,检测三组免疫指标、补体水平并进行比较,并对 PBC 合并自身免疫疾病组免疫指标及补体水平与肝功能指标(TBIL)及凝血酶原活动度(PTA)进行相关性分析。结果 PBC 组、PBC 合并自身免疫疾病组及对照组在免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM)、免疫球蛋白 A(IgA)、CD4⁺、CD8⁺、自然杀伤细胞(NK)、C3、C4 方面比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),其中 PBC 合并自身免疫疾病组的 IgG、IgM、IgA、CD4⁺ 水平最高,CD8⁺、NK、C3、C4 水平均为最低。三组 CD4⁺/CD8⁺ 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。对 PBC 合并自身免疫疾病组免疫指标及补体水平与 TBIL 及 PTA 进行相关性分析,发现 IgG、IgM 均与 TBIL 呈正相关($P < 0.05$),C3、C4 均与 TBIL 呈负相关($P < 0.05$)。IgG、IgM、IgA、CD4⁺ 均与 PTA 呈负相关($P < 0.05$),CD8⁺、NK、C3、C4 均与 PTA 呈正相关($P < 0.05$)。结论 原发性胆汁性肝硬化合并自身免疫疾病患者的免疫指标(IgM、IgG、IgA、CD4⁺、CD8⁺、NK)和补体(C3、C4)水平在其病程中的变化体现了重要的相关性,联合检测免疫指标、补体,以及其与 TBIL 及 PTA 相关分析对于其病情评估和诊断有重要的临床意义。

关键词:原发性胆汁性肝硬化; 自身免疫性疾病; 免疫球蛋白; T 细胞亚群; 补体

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.13.032 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)13-1829-03

Research on immune index and complement level in patients with primary biliary cirrhosis combined with autoimmune disease

LU Dan, WAN Yanbin, YANG Xiaojin, LI Xiaofeng

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Longgang District, Shenzhen, Guangdong 518172, China)

Abstract:Objective A total of 85 cases of PBC patients were collected as the research objects, and according to whether the patients combined other autoimmune diseases, 46 cases with PBC were divided into PBC groups, and 39 cases were divided into PBC with autoimmune diseases group. There are 8 cases of PBC with sjogren syndrome (SS), 22 cases combined with thyroiditis, 3 cases combined with systemic lupus erythematosus and 6 cases combined with rheumatoid arthritis (RA). And 50 cases of healthy people were randomly selected as the control group. Immune index and complement level were analyzed between the three groups. And the correlation analysis between the immune index, complement level, totalbilirubin (TBIL), and prothrombin time activity (PTA) in PBC and autoimmune disease combination group. **Methods** Differences of the levels of IgG, IgM, IgA, CD4⁺, CD8⁺, Natural Killer (NK), C3 and C4 between PBC group, PBC autoimmune disease combination group and control group had statistical significance ($P < 0.05$). In PBC and autoimmune disease combination group, the level of IgG, IgM, IgA and CD4⁺ were the highest, and level of CD8⁺, NK, C3 and C4 were the lowest. Differences of CD4⁺/CD8⁺ between the three groups had no statistical significance ($P > 0.05$). By analyzing the correlation of the immune indexes and complement levels with TBIL and PTA in the group of PBC autoimmune disease, the results showed that both IgG and IgM were positively correlated with TBIL ($P < 0.05$), and both C3 and C4 were negatively correlated with TBIL ($P < 0.05$). IgG, IgM, IgA, and CD4⁺ were negatively correlated with PTA ($P < 0.05$), while CD8⁺, NK, C3, and C4 were all positively correlated with PTA ($P < 0.05$). **Conclusion** The immune indexes (IgM, IgG, IgA, CD4⁺, CD8⁺ and NK) are correlated with the complement (C3 and C4) levels in the patients with PBC and autoimmune disease and the combined detection of immune indexes, complement and their correlation analysis with TBIL and PTA provide important clinical value in assessment and diagnosis of patients.

Key words: primary biliary cirrhosis; autoimmune disease; immunoglobulin; T lymphocyte subsets; complement

原发性胆汁性肝硬化(PBC)是一种慢性胆汁淤积性肝脏疾病,主要表现为肝内小胆管非化脓性炎症和梗阻^[1]。PBC 属于自身免疫性疾病,以 T 细胞介导的免疫反应攻击小叶内胆管为特征,致病因子对胆管上皮细胞的持续攻击导致胆管结构逐渐破坏、消失,胆管消失后引起胆汁淤积,最终发展为肝硬化及肝功能衰竭^[2-6]。为探讨免疫机制与 PBC 发病及合并症的相关性,本研究分析了 PBC 合并其他自身免疫性疾病患者

免疫学指标及补体水平、肝功能指标和凝血酶原活动度(PTA),旨在为病情评估及诊断提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选择 PBC 患者 85 例,男 23 例、女 62 例,平均年龄(55.65±9.87)岁。纳入标准:(1)符合美国肝病学会(AASLD)2009 年发布的相关诊断标准^[7];(2)年龄 18~70 岁;(3)病历资料完整;(4)能够配合本研究并签署知情同意

书。排除标准:(1)临床症状与 PBC 类似的其他疾病患者,如梗阻性黄疸、病毒性毛细胆管性肝炎、药物引起的黄疸、原发性硬化性胆管炎等;(2)合并心、肝、脾、肺、肾等重要器官疾病或血液系统疾病。根据是否合并其他自身免疫性疾病分为 2 组:(1)PBC 组:46 例,男 13 例、女 33 例,平均年龄(54.82±10.16)岁;(2)PBC 合并自身免疫性疾病组(合并组):39 例,男 10 例、女 29 例,平均年龄(56.13±8.49)岁,包括合并干燥综合征(SS)8 例,合并甲状腺炎 22 例,合并系统性红斑狼疮(SLE)3 例,合并风湿关节炎(RA)6 例。随机选择同期于本院体检健康者 50 例纳入对照组,年龄 18~70 岁,男 35 例、女 15 例,平均年龄(55.27±10.65)岁。各研究组间性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 以一次性真空采血管采集受试对象晨起空腹静脉血 3 mL,分离血清标本。采用美国贝克曼-库尔特公司 IM-MAGE800 型特定蛋白仪及配套免疫散射比浊法检测试剂进行免疫球蛋白(IgG、IgM、IgA)、补体(C3、C4)检测;采用美国贝克曼-库尔特公司 UniCel Dx C800 型生化分析仪及北京利德曼公司检测试剂进行丙氨酸氨基转移酶(ALT,连续监测法)、清蛋白(ALB,溴甲酚绿法)、总胆红素(TBIL,钒酸盐氧化法)检测。采用含乙二胺四乙酸二钾抗凝剂的采血管采集静脉血 2 mL,采用美国贝克曼库尔特公司 FC500 MCL 型流式细胞仪及配套试剂进行 T 细胞亚群检测,包括 CD4⁺细胞、CD8⁺细胞和自然杀伤细胞(NK 细胞)。采用含枸橼酸钠抗凝剂的采血管采集静脉血 2 mL,分离血浆标本,采用美国 ACL 公司

TOP700 型全自动凝血分析仪及日本希森美康公司凝固法检测试剂进行凝血酶原时间(PT)检测,并计算 PTA。所有检测步骤均严格参照试剂盒和仪器操作说明书。各指标室内质控品检测结果均在控制范围内。

1.3 统计学处理 采用 Epi Data 3.0 软件录入数据,核对无误后采用 SPSS20.0 统计学软件进行数据分析。计数资料以例数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,采用 SNK 法进行两两比较。相关性分析采用直线相关分析。计量资料不符合正态分布时,先进行数据变换使其符合正态分布,再进行直线相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各研究组间免疫学指标及补体水平比较 各研究组间 IgG、IgM、IgA、CD4⁺细胞、CD8⁺细胞、NK 细胞、C3、C4 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),其中合并组 IgG、IgM、IgA、CD4⁺细胞水平最高,CD8⁺细胞、NK 细胞、C3、C4 水平最低。各研究组间 CD4⁺/CD8⁺比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 各指标间相关性分析 以合并组患者为研究对象,分析免疫学指标、补体与肝功能指标、PTA 的相关性。结果显示,IgG、IgM 与 TBIL 呈正相关($P<0.05$),C3、C4 与 TBIL 呈负相关($P<0.05$),IgG、IgM、IgA、CD4⁺细胞与 PTA 呈负相关($P<0.05$),CD8⁺细胞、NK 细胞、C3、C4 与 PTA 呈正相关($P<0.05$)。见表 2。

表 1 各研究组间免疫学指标及补体水平比较($\bar{x}\pm s$)

指标	<i>n</i>	IgG(g/L)	IgM(g/L)	IgA(g/L)	CD4 ⁺ 细胞(%)	CD8 ⁺ 细胞(%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK 细胞(%)	C3(g/L)	C4(g/L)
对照组	50	12.15±1.68	1.42±0.96	2.25±0.85	34.21±5.14	28.75±6.32	1.43±0.49	22.31±7.94	0.94±0.13	0.23±0.05
PBC 组	46	15.94±2.69*	3.85±2.40*	3.29±1.81*	38.47±11.22*	23.09±10.34*	1.83±1.26	11.58±6.51*	0.79±0.25*	0.21±0.11
合并组	39	19.52±10.34*▲	4.76±2.61*▲	3.37±1.57*	39.04±12.50	22.82±7.86*	1.75±0.92	8.97±4.99*	0.71±0.28*	0.17±0.14▲
<i>F</i>	—	17.491	31.961	8.744	3.329	7.636	2.454	54.267	12.288	3.635
<i>P</i>	—	0.000	0.000	0.000	0.039	0.001	0.090	0.000	0.000	0.029

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 PBC 组比较,▲ $P<0.05$;—表示无数据。

表 2 各研究指标间相关性分析

因素	ALT(μ /L)		ALB(g/L)		TBIL(μ mol/L)		PTA(%)	
	相关系数	<i>P</i>	相关系数	<i>P</i>	相关系数	<i>P</i>	相关系数	<i>P</i>
IgG(g/L)	0.251	0.139	−0.162	0.329	0.341	0.035	−0.481	0.000
IgM(g/L)	0.246	0.141	−0.158	0.333	0.339	0.037	−0.474	0.000
IgA(g/L)	0.214	0.199	−0.249	0.137	0.250	0.138	−0.426	0.000
CD4 ⁺ 细胞(%)	0.211	0.213	−0.157	0.336	0.249	0.142	−0.415	0.000
CD8 ⁺ 细胞(%)	−0.242	0.139	0.163	0.330	−0.257	0.134	0.462	0.000
NK 细胞(%)	−0.250	0.140	0.165	0.328	−0.248	0.143	0.446	0.000
C3(g/L)	−0.146	0.243	0.157	0.342	−0.415	0.000	0.362	0.025
C4(g/L)	−0.139	0.256	0.151	0.338	−0.394	0.020	0.357	0.029

3 讨 论

近年来,PBC 发病率逐年增高,好发于 40~60 岁女性,女性发病率比例为 1:9;PBC 起病隐匿,早期症状缺乏特异性,仅表现为肝功能异常,乏力,右上腹不适等^[8]。部分 PBC 患者肝硬化病因不明,在出现肝硬化并发症时(如食管胃静脉曲张破裂出血),仍未确诊为 PBC。PBC 病程进展缓慢,但可逐渐引起多器官受累,易合并其他自身免疫性疾病,以合并甲状腺炎、SS 为主^[9]。本研究中,合并 SS 的 PBC 患者有 8 例,

占 PBC 患者的 9.41%;合并甲状腺炎患者 22 例,占 25.88%;合并 SLE 患者 3 例,占 3.53%;合并 RA 患者 6 例,占 7.06%。

PBC 具有与其他自身免疫性疾病类似的免疫学病变机制,因此属于自身免疫性疾病,也是遗传易感性和环境触发因素联和作用的结果。免疫球蛋白(IgM、IgG、IgA)及补体(C3、C4)是机体免疫系统的重要组成部分^[10-11]。在感染等因素的诱导下,机体细胞免疫及体液免疫功能紊乱,B 淋巴细胞活化并产生大量抗体,导致体液免疫亢进,而抗原抗体复合物的形

成又激发补体系统,导致 C3、C4 水平下降。因此,PBC 患者血清免疫学指标异常通常表现为 IgM 升高,IgG、IgA 升高或正常,C3、C4 降低^[12]。合并自身免疫性疾病的 PBC 患者相关指标的变化更为明显。本研究结果显示,单纯 PBC 患者、合并自身免疫性疾病的 PBC 患者 IgG、IgM、IgA 均升高,且后者的 IgG、IgM、IgA 水平高于前者;单纯 PBC 患者、合并自身免疫性疾病的 PBC 患者 C3、C4 水平均降低,且后者 C3、C4 水平低于前者。这与 Lee 等^[13]的研究结果一致。因此,PBC 患者有必要定期检测 IgG、IgM、IgA、C3、C4 水平。

国内外研究发现免疫反应异常和调节失衡是 PBC 的重要发病机制之一^[14]。有研究显示,T 细胞与免疫反应异常密切相关,且在破坏胆管及肝细胞方面具有重要作用^[15]。CD4⁺细胞的异常活化和增殖可能是 PBC 患者免疫功能异常的主要原因,也是免疫功能紊乱的外周血主要表现之一。CD8⁺细胞介导的免疫反应参与 PBC 患者胆管上皮细胞和肝细胞破坏的发病过程,增殖后的 CD8⁺细胞选择性聚集到肝组织病灶中,而 PBC 独特的炎性环境可促进 NK 细胞从外周血中转移至病灶并逐渐凋亡。因此,PBC 患者外周血 CD8⁺细胞、NK 细胞数量明显降低。本研究结果显示,单纯 PBC 患者、合并自身免疫性疾病的 PBC 患者 CD4⁺细胞水平均升高,CD8⁺、NK 细胞水平均降低,且后者各指标的变化幅度大于前者,提示 PBC 患者应定期检测 CD4⁺细胞、CD8⁺细胞、NK 细胞水平,以监测病情变化。

TBIL、PTA 是评估肝功能的重要指标^[16]。TBIL 水平可反映胆管缺失程度及胆道碎屑样坏死的严重程度。凝血酶原是血液凝固因子之一,属于肝脏合成的维生素 K 依赖因子家族成员,而 PTA 是判断肝细胞坏死严重程度及预后的敏感指标。本研究分析了合并自身免疫性疾病的 PBC 患者多种指标间的相关性,结果显示,IgG、IgM 与 TBIL 呈正相关,C3、C4 与 TBIL 呈负相关,IgG、IgM、IgA、CD4⁺细胞水平与 PTA 呈负相关,CD8⁺细胞、NK 细胞、C3、C4 与 PTA 呈正相关。因此,联合检测免疫学指标、补体、肝功能指标及 PTA 对于合并自身免疫性疾病的 PBC 患者病情评估和预后判断具有重要的临床意义。

综上所述,PBC 合并自身免疫疾病患者的免疫机制和相关指标变化尤为重要,与病情发生发展紧密联系。其免疫指标(IgM、IgG、IgA、CD4⁺、CD8⁺、NK)和补体(C3、C4)水平在其发病中起了重要的相关和监测作用,联合检测免疫指标、补体,以及进行其与 TBIL 及 PTA 相关分析对于其病情评估,诊断以及预后判断有重要的临床意义。

参考文献

[1] Bektas M,Seven G,Idilman R,et al. Manometric assessment of esophageal motor function in patients with primary biliary cirrhosis[J]. Eur J Inter Med,2014,25(3):230-234.

[2] Poupon R. Evidence-based treatment of primary biliary cirrhosis[J]. Digest Dis,2014,32(5):626-630.

[3] Sasaki K,Matsuda M,Ohkura Y,et al. Clinical significance of hepatectomy for primary biliary cirrhosis patients with hepatocellular carcinoma: report of a single center case series and review of the published work[J]. Hepatol Res,2014,44(4):474-480.

[4] Griffiths L,Jones DE. Pathogenesis of primary biliary cir-

rhosis and its fatigue[J]. Digest Dis,2014,32(5):615-625.

[5] Aiba Y,Harada K,Komori A,et al. Systemic and local expression levels of TNF-like ligand 1A and its decoy receptor 3 are increased in primary biliary cirrhosis[J]. Liver Inter,2014,34(5):679-688.

[6] Sasaki M,Miyakoshi M,Sato Y,et al. Chemokine-chemokine receptor CCL2-CCR2 and CX3CL1-CX3CR1 axis may play a role in the aggravated inflammation in primary biliary cirrhosis[J]. Digest Dis Sci,2014,59(2):358-364.

[7] Tsochatzis EA,Gurusamy KS,Gluud ML,et al. Ursodeoxycholic acid and primary biliary cirrhosis: EASL and AASLD guidelines [J]. J Hepatol,2009,51(6):1084-1085.

[8] Ohira H,Watanabe H. Pathophysiology and recent findings of primary biliary cirrhosis complicated by systemic sclerosis[J]. Hepatol Res,2014,44(4):377-383.

[9] Aksoy EK,Yilmaz B,Kklu S,et al. Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome developed in a patient with vitiligo and Hashimoto thyroiditis[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2013,25(1):121-122.

[10] Zenouzi R,Weiler NC,Lohse AW,et al. Is fatigue in primary biliary cirrhosis cured by transplantation[J]. J Hepatol,2013,59(3):418-419.

[11] Relestig L,Mullazehi M,Kokkonen H,et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptides of IgG,IgA and IgM isotype and rheumatoid factor of IgM and IgA isotype are increased in unaffected members of multicase rheumatoid arthritis families from northern Sweden[J]. Ann Rheum Dis,2012,71(6):825-829.

[12] Cabibi D,Tarantino G,Barbaria F,et al. Intrahepatic IgG/IgM plasma cells ratio helps in classifying autoimmune liver diseases[J]. Digest Liver Dis,2010,42(8):585-592.

[13] Lee H,Stapp RT,Ormsby A,et al. The usefulness of IgG and IgM immunostaining of periportal inflammatory cells (plasma cells and lymphocytes) for the distinction of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis and their staining pattern in autoimmune hepatitis-primary biliary cirrhosis overlap syndrome[J]. Am J Clin Pathol,2010,133(3):430-437.

[14] Efe C,Ozaslan E,Heurgue BA,et al. Sequential presentation of primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2014,26(5):532-537.

[15] Efe C,Wahlin S,Ozaslan E,et al. Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome and associated extrahepatic autoimmune diseases[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2012,24(5):531-534.

[16] Yang Y,Deng L,Li X,et al. Analysis of prognosis-associated factors in fulminant viral hepatitis during pregnancy in China[J]. Internat J Gynecol Obstet,2011,114(3):242-245.