

自身抗体在原发性胆汁性胆管炎和乙肝肝硬化中的特点分析

王 岑

沈阳医学院附属中心医院检验科, 辽宁 沈阳 110024

摘要: 目的 分析自身抗体在原发性胆汁性胆管炎和乙肝肝硬化中的特点。方法 将血清样本分为 3 组: 乙肝肝硬化 76 例、原发性胆汁性胆管炎 57 例和健康对照组 60 例, 采用间接免疫荧光法检测血清中抗核抗体(ANA)、抗线粒体抗体(AMA), 采用欧蒙印迹法检测 AMA-M2, 抗 Sp100 抗体, 抗 gp210 抗体, 抗 LKM-1 抗体, 抗 LC-1 抗体, 抗 SLA / LP 抗体等肝病相关自身抗体。结果(1) PBC 组 ANA 和 AMA 阳性率显著高于乙肝肝硬化组, 差异有统计学意义($\chi^2 = 58.34, 51.91$, 均 $P < 0.01$)。 (2) PBC 组自身免疫肝病抗体(AMA-M2, M2-3E, 抗 Sp100 抗体, 抗 gp210 抗体, Ro52)阳性率明显高于乙肝肝硬化组, 差异有统计学意义($\chi^2 = 9.36 \sim 89.83$, 均 $P < 0.01$)。结论 自身抗体 ANA, AMA, AMA-M2, M2-3E, 抗 Sp100 抗体, 抗 gp210 抗体, Ro52 抗体有助于 PBC 的早期诊断, 有利于对 PBC 与乙肝肝硬化进行鉴别诊断。

关键词: 乙肝肝硬化; 原发性胆汁性胆管炎; 自身抗体

原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholan-gitis, PBC)是由自身免疫介导的慢性的胆汁淤积性肝脏疾病, 其病理改变主要以肝内细小胆管非化脓性破坏、汇管区炎症、慢性胆汁淤积、肝纤维化为特征, 血清中出现高滴度的抗线粒体抗体, 最终发展为肝硬化、肝衰竭^[1]。PBC 在世界各地的所有种族和国籍人群中均可发病^[2], 根据文献报道, 在英国的东部和北部地区, PBC 患病率为 140 例/10 万^[3]。PBC 多见于中年女性 (90%), 发病年龄在 30~65 岁之间。在 PBC 患者血清中可检出多种自身抗体, 但以抗线粒体抗体最为常见。乙肝肝硬化主要是由于患者感染乙型肝炎病毒而引起的肝硬化。本试验通过对 PBC 患者和乙肝肝硬化患者体内的自身抗体进行检测, 并与健康对照组进行比较分析, 探讨自身抗体在 PBC 和乙肝肝硬化中的特点。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2015 年 3 月~2018 年 3 月在我院初诊的 PBC 患者 57 例, 其中男性 6 例, 女性 51 例, 年龄 39~74 岁, 平均年龄 54.323±5.69 岁; 乙肝肝硬化患者 76 例, 男性 41 例, 女性 35 例, 年龄 41~73 岁, 平均年龄 53.25±7.17 岁。另选取 60 例在本院进行健康体检人群作为对照组, 男性 34 例, 女性 26 例, 年龄 39~74 岁, 平均年龄 51.56±3.43 岁。肝炎病毒标志物阴性, 肝功正常, 排除其他自身免疫性疾病。PBC 诊断标准采用 2009 年美国肝脏病学学会推荐的 PBC 诊断指

1.3.2 间接免疫荧光法(IIF): 自身抗体谱 IgG 检测试剂盒包被有 4 种抗原基质: Hep-2、猴肝、大鼠胃、大鼠肾脏, 可检测抗核抗体(ANA)、抗线粒体抗体(AMA)。测血清用稀释液 1/100、1/320、1/1000 倍比稀释, 应用荧光显微镜观察结果, 细胞或组织内出现特异性荧光。血清稀释度 $\geq 1:100$ 判为阳性。所用试剂购自德国欧蒙公司。

1.3.3 免疫印迹法(IFT): 自身免疫性肝病 IgG 类抗体试剂盒可检测 AMA-M2, M2-3E, 抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体、抗 PMI 抗体、抗 LKM-1 抗体、抗 LC-1 抗体、抗 SLA / LP 抗体、Ro52。血清按照 1:100 稀释, 按照试剂盒要求操作, 用欧蒙公司的计算机程序(EURO lane Scan)自动判读条带的阴阳性和着色强度。

1.4 统计学分析

采用 SPSS19.0 软件对数据进行统计分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 三组计数资料采用卡方检验分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组人群的自身抗体结果见表 1。

PBC 组 ANA 和 AMA 以及其高滴度($\geq 1:320$)的阳性率明显高于乙肝肝硬化组和健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。

注: $x^2_1 (P_1)$ 值为 PBC 组和乙肝肝硬化组比较; $x^2_2 (P_2)$ 值为 PBC 组和健康对照组比较; $x^2_3 (P_3)$

表 1 间接免疫荧光法检测三组人群的自身抗体结果 (n%)

项目	PBC 组 (n=57)	乙肝肝硬化组 (n=76)	健康对照组 (n=60)	x^2_1	P_1	x^2_2	P_2	x^2_3	P_3
ANA1:100	46 (80.70)	11 (14.47)	3 (5.00)	58.34	<0.01	68.82	<0.01	3.26	0.071
1:320	38 (66.67)	5 (6.58)	0 (0.00)	53.75	<0.01	59.24	<0.01	4.10	0.043
1:1000	34 (59.65)	0 (0.00)	0 (0.00)	60.90	<0.01	50.45	<0.01	--	--
AMA1:100	36 (63.16)	4 (5.26)	0 (0.00)	51.91	<0.01	54.74	<0.01	3.25	0.071
1:320	36 (63.16)	0 (0.00)	0 (0.00)	65.81	<0.01	54.74	<0.01	--	--
1:1000	34 (59.65)	0 (0.00)	0 (0.00)	60.90	<0.01	50.45	<0.01	--	--

南: ① 胆汁淤积的生物化学改变, 主要是指无其他原因解释的碱性磷酸酶(ALP)升高, B 超检查胆道系统正常; ② AMA-M2 阳性(AMA-M2 / 抗 gp210 阳性); ③ 肝活检组织检查, 符合 PBC 改变。符合上述三项之中的二项可诊断为 PBC。乙肝肝硬化按 2000 年 9 月西安第 10 次全国病毒性肝炎学术会议修订的《病毒性肝炎防治方案》中的诊断标准。

1.2 试剂和仪器

自身抗体选用德国欧蒙医学实验诊断股份有限公司的自身抗体谱 IgG 检测试剂盒、自身免疫性肝病 IgG 类抗体检测试剂盒、EU-R0 StarIII Plus 荧光显微镜、EURO Blot Master II 免疫印迹仪;

1.3 方法

1.3.1 采集空腹静脉血 6ml, 置于 2 个促凝试管中, 分离血清。

值为乙肝肝硬化组和健康对照组比较。

2.2 三组人群的自身免疫肝病抗体结果

PBC 患者中 AMA-M2, M2-3E, sp100, gp210, Ro52 五种抗体与乙肝肝硬化组及健康对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 其余 PML, SLA / LP, LC-1, LKM-1 三组之间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); 健康对照组均未检出肝抗原抗体。

3 讨论

与 PBC 相关的自身抗体还有抗 gp210 抗体、抗 Sp100 抗体和 Ro52。抗 gp210 抗体是核孔复合物中一种完整的膜蛋白抗体, PBC 患者中特异度高达 99%, 敏感度 10%~41%, 并很少出现在其他的自身免疫性疾病中。国内研究发现 gp210 阳性主要出现在 AMA 或 AMA-M2 阴性患者中, 推測血清抗 gp210 阳性的检测有助于 AMA-M2 阴性 PBC 患者的诊断。抗 Sp100 抗体靶抗原是相对分子质量为 100×103 的可溶性酸性磷酸化核蛋白,

点状分布于细胞核内,对 PBC 的诊断特异度达 94%,并显示 AMA 阴性的 PBC 患者 Sp100 阳性率明显高于 AMA 阳性患者,且 Sp100 阳性多出现在疾病晚期和疾病进展较快的 PBC 中,因此抗 Sp100 阳性与 PBC 病情严重程度及预后有相关性。唐映梅[12]等检测 PBC 患者 gp210 和 Sp100 的阳性率分别为 26.7 和 16.90。本研究 PBC 患者中 gp210 和 Sp100 阳性率分别为 36.84 和 21.05,比上述报道高,与国内研究一致;临床上应用 AMA 和抗 gp210 抗体、抗 Sp100 抗体联合检测可降低误诊率。

Ro52 是一个相对分子质量为 52000 的蛋白质以及与其相连的小 RNA 组成,参与细胞的转录调节过程,存在于多种自身免疫性疾病中并特异度较低,是目前已知的抗核糖核蛋白抗体中分布最广、最常见的一种抗体。本研究显示 PBC 组 Ro52 阳性率比乙肝肝硬化组高 20.62,其差异表明 Ro52 也是 PBC 诊断的一个重要的自身抗体指标。

综上所述,PBC 患者血清中可检出多种自身抗体,特异性抗体 AMA,AMA-M2,M2-3E,Sp100,gp210 在 PBC 中的表达有一种或几种同时出现,其中任何一种自身抗体单独出现都可提示早期 PBC,有助于对 PBC 进行鉴别诊断、病程分期和疗效评价。

参考文献

- [1]Reshetnyak VI. Primary biliary cirrhosis: Clinical and laboratory criteria for its diagnosis[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(25):7683-7708.
 - [2]Boonstra K, Kunst AE, Stadhouders PH, et al. Rising incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis: a large population-based study[J]. Liver Int, 2014, 34(6):31-38.
 - [3]Poupon R. Primary biliary cirrhosis: A 2010 update[J]. J Hepatol, 2010, 52(5):745-75.
 - [4]Beuers U, Gershwin ME, Gish RG, et al. Changing nomenclature for PBC: From 'cirrhosis' to 'cholangitis' [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2015, 110(11):1536-1538.
 - [5]Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, et al. Primary biliary cirrhosis[J]. Hepatology. 2009, 50(1):291-308.
- 作者简介:第一作者:王岑,学士学位,中级检验师,研究方向:临床生化检验研究。