

· 技术与方法 ·

自身免疫性肝病患者血清中自身抗体的动态变化及相关性分析*

张宏宇, 朱 珍, 徐 昕, 王永忠[△]

(江苏省常州市第三人民医院检验科 213001)

摘要:目的 研究自身免疫性肝病(AILD)患者初入院及药物治疗过程中血清自身抗体的动态变化,探讨其临床应用及意义。方法 应用间接免疫荧光法检测 64 例自身免疫性肝炎(AIH)患者和 57 例原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者初入院及接受临床治疗不同时间(1、3、12、24 个月)的血清中抗核抗体(ANA),同时用免疫印迹法对血清中的肝病相关抗体谱(AMA-M2 抗体、Sp100 抗体、gp210 抗体、LKM-1 抗体、LC-1 抗体、SLA 抗体)进行检测,结合肝脏酶学检测结果进行相关性分析。结果 治疗前 AIH 与 PBC 患者血清中 ANA 的检出率分别是 57.8% 和 61.4%,滴度集中于 1:320 和 1:640,治疗中 AILD 患者血清中 ANA 阳性率与滴度不随病情缓解而明显改变($P>0.05$);肝病抗体谱检测,PBC 患者血清中只有 AMA-M2 抗体、Sp100 抗体、gp210 抗体检出,检出率依次是 73.7%、17.5%、26.3%,AIH 患者 6 项抗体均有不同程度检出,但以 LKM-1、LC-1、SLA 特异性检出为主;治疗 1、3、12、24 个月 AILD 患者肝功能指标逐渐恢复($P<0.05$),自身抗体谱检出情况差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 自身抗体检测对于 AILD 的诊断、鉴别诊断具有非常重要的作用,但不随病情缓解而改变,不能作为临床疗效观察的指标。

关键词:肝炎,自身免疫性;肝硬化,胆汁性;自身抗体

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.16.021

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)16-2032-03

Change of serum autoimmune antibodies in autoimmune liver disease and correlation analysis*

Zhang Hongyu, Zhu Zhen, Xu Xin, Wang Yongzhong[△]

(Department of Laboratory, Changzhou Municipal Third People's Hospital, Changzhou, Jiangsu 213001, China)

Abstract: Objective To investigate the dynamic changes of serum autoimmune antibodies before and during treatment in autoimmune liver disease(AILD) and to study their clinical application and the practical significance. **Methods** The indirect immunofluorescence was used to measure serum anti-nuclear antibody(ANA) on admission and at different clinical treatment time (1,3,12,24 months) in 64 cases of autoimmune hepatitis(AIH) and 57 cases of primary biliary cirrhosis(PBC). At the same time the immunoblot analysis was adopted to detect the liver disease related antibodies (anti-AMA-M2 antibody, anti-Sp100 antibody, anti-gp210 antibody, anti-LKM-1 antibody, anti-LC-1 antibody and anti-SLA antibody). The correlation analysis was performed by combining with the detection results of the liver enzymology. **Results** The detection rate of serum ANA before treatment was 57.8% in the AIH patients and 61.4% in the PBC patients respectively, and the titer was mostly distributed in 1:320 and 1:640. During treatment, the positive rate and titer of serum ANA in the AILD patients had no obvious change with the disease condition relief($P>0.05$); in the liver disease antibodies detection, only anti-AMA-M2 antibody, anti-Sp100 antibody and anti-gp210 antibody were detected in the PBC patients, and the detection rates were in turn 73.7%, 17.5% and 26.3% respectively; 6 items of antibody were detected to different extent in the AIH patients, but which was dominated by the specific detection of anti-LKM-1 antibody, anti-LC-1 antibody and anti-SLA antibody; the liver function indexes in the AILD patients were gradually recovered after 1,3,12,24 months treatment($P<0.05$), there was no significant change in the autoimmune antibodies detection($P>0.05$). **Conclusion** The autoimmune antibodies detection plays a very important role in diagnosis and differential diagnosis of AILD, but which has no change with the disease condition relief, thus can not be used as the index of the clinical curative effect observation.

Key words: hepatitis, autoimmune; liver cirrhosis, biliary; autoimmune antibodies

自身免疫性肝病(auto immune liver disease, AILD)是一组由自身免疫反应介导的以肝脏为靶器官的慢性进展性炎症性疾病,主要包括:自身免疫性肝炎(AIH)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)和原发性硬化性胆管炎(PSC)以及这 3 种疾病中任何二者之间的重叠综合征^[1]。大量研究表明,AILD 常伴随与相应的自身抗体,这些自身抗体的致病机制尚未明确,但对疾病的诊断与鉴别诊断具有重要意义。目前临床对于自身抗

体检测在 AILD 中的报道多集中于对疾病的诊断和鉴别诊断,关于其在临床治疗过程中发展变化的相关报道较少。本研究对 121 例 AILD 患者相关自身抗体进行动态观察分析,探讨自身抗体检测在 AILD 诊治过程中的应用价值及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集诊断为 AILD 的住院患者 121 例,其中男 15 例,女 106 例;年龄 25~86 岁,平均 54.6 岁。根据临床

* 基金项目:常州市社会发展科技计划项目(CJ20122015)。作者简介:张宏宇(1987-),硕士,检验技师,主要从事自身免疫性肝病研究。

[△] 通讯作者,E-mail:wyz213006@163.com。

诊断分组, AIH 组 64 例, 其中男 6 例, 女 58 例, 年龄 25~84 岁, 平均 52.5 岁; PBC 组 57 例, 其中男 9 例, 女 48 例, 年龄 32~86 岁, 平均 57.1 岁。诊断标准: AIH 诊断符合国际 AIH 小组 2010 年修订的诊断标准^[2], PBC 诊断符合美国肝病学会 2000 年发表的 PBC 诊断指南^[3]。与病毒性肝炎组作为对照, 包括乙型肝炎病毒感染 100 例, 其中男 43 例, 女 57 例, 年龄 13~81 岁, 平均 45.2 岁; 丙型肝炎病毒感染 70 例, 其中男 32 例, 女 38 例, 年龄 14~72 岁, 平均 53.1 岁; 健康对照组 80 例, 其中男 48 例, 女 32 例, 年龄 16~73 岁, 平均 48.1 岁, 为本院体检并排除心、肝、肾严重疾病的健康者。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案 本研究纳入的 64 例 AIH 患者中, 有 13 例单用激素治疗, 36 例采用激素联合熊脱氧胆酸治疗, 12 例单用熊脱氧胆酸, 3 例用激素联合熊脱氧胆酸与硫唑嘌呤共同治疗。57 例 PBC 患者主要采用熊脱氧胆酸治疗, 其中 39 例单用熊脱氧胆酸, 18 例联合激素。部分患者辅助以保肝药物治疗。

1.2.2 自身抗体检测 间接免疫荧光法检测抗核抗体(ANA), 试剂由德国欧蒙诊断股份公司提供, 抗体滴度大于或等于 1:100 为阳性; 免疫印迹法检测 AILD 抗体谱, 包括线粒体 II 型抗体(AMA-M2), 多核点抗体(Sp100), 跨膜糖蛋白 210 × 10³ 抗体(gp210), 肝肾微粒体抗体 1 型(LKM-1), 肝细胞溶质抗原 1 型抗体(LC-1), 可溶性肝抗原 IgG 抗体(SLA), 试剂由德国欧蒙诊断股份公司提供, 抗原条带着色比判断指示带颜色深为阳性; 以上所有项目均按照公司提供的操作说明书严格进行。

1.2.3 肝功能检测 血清肝酶学指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰转肽酶(GGT)、总胆红素(TBIL)的检测采用迈克公司试剂在日立 7600 生化仪器上完成。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验分析; 计数资料以例数或百分数进行描述, 其比值或率的比较用 χ^2 检验; 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床治疗前 AILD 患者 ANA 及肝病相关抗体谱检测结果 临床治疗前 AIH 及 PBC 组患者 ANA 检出滴度多集中于 1:320 和 1:640, 检出率分别是 57.8% 和 61.4%, 与病毒性肝炎($\chi^2 = 70.083, P < 0.01$)及健康对照($\chi^2 = 54.846, P < 0.01$)比较差异有统计学意义, 但其检出率在 AIH 与 PBC 组间差异无统计学意义($\chi^2 = 0.161, P = 0.688$)。肝病相关抗体谱检测, PBC 组患者 AMA-M2 抗体、Sp100 抗体与 gp210 抗体检出率依次是 73.7%、17.5%、26.3%, 与 AIH 组患者相比显著增高(*P* < 0.05), LKM-1 抗体、LC-1 抗体、SLA 抗体检出率很低且只在 AIH 患者血清中检出。病毒性肝炎组 ANA 阳性检出率为 12.9%, 而滴度多集中于 1:100, 见表 1。

2.2 治疗过程中自身抗体谱变化情况 对临床治疗 1、3、12、24 个月的 AILD 患者行血清 ANA 及肝病相关抗体谱检测, 结果显示, 治疗不同时间各型抗体阳性检出率与滴度未发生明显改变, 其差异无统计学意义(*P* > 0.05)。对于接受不同药物治疗的患者, 其自身抗体检出差异也无统计学意义(*P* > 0.05), 见表 2。

2.3 治疗过程中肝酶学检测结果 临床治疗前 AIH 及 PBC 患者多出现较明显的肝酶学异常, 其中 AIH 患者以 ALT、AST 等炎症损害指标升高为主, PBC 患者以 ALP、GGT 等阻塞性肝损指标升高为主。治疗 1 个月时, AIH 患者 ALT、AST 等应答良好(*P* < 0.05), PBC 患者只有 AST 出现较明显改善(*P* < 0.05)。治疗 3 个月部分患者肝酶学指标出现反跳, 持续治疗过程中, 多数患者肝功能维持较好, 见表 3。

表 1 临床治疗前 ANA 及肝病相关抗体谱检出情况[n(%)]

组别	n	ANA	AMA-M2	Sp100	gp210	LKM-1	LC-1	SLA
AIH 组	64	37(57.8)	13(20.3)	4(6.3)	5(7.8)	1(1.6)	4(6.3)	3(4.7)
PBC 组	57	35(61.4)	42(73.7)	10(17.5)	15(26.3)	0	0	0
病毒性肝炎组	170	22(12.9)	5(3.0)	0	0	0	0	0
健康对照组	80	6(7.5)	1(1.3)	0	0	0	0	0

表 2 AILD 患者治疗过程中血清自身抗体检出情况比较[n(%)]

组别	治疗时间	ANA	AMA-M2	Sp100	gp210	LKM-1	LC-1	SLA
AIH 组(n=64)	1 个月	35(54.7)	11(17.2)	4(6.25)	4(6.3)	1(1.6)	4(6.3)	3(4.7)
	3 个月	32(50.0)	12(18.8)	4(6.25)	5(7.8)	1(1.6)	4(6.3)	3(4.7)
	12 个月	30(46.9)	11(17.2)	5(7.8)	4(6.3)	1(1.6)	4(6.3)	3(4.7)
	24 个月	31(48.3)	11(17.2)	5(7.8)	4(6.3)	1(1.6)	4(6.3)	3(4.7)
PBC 组(n=57)	1 个月	36(63.2)	44(77.2)	12(21.1)	15(26.3)	0	0	0
	3 个月	37(64.9)	44(77.2)	11(19.3)	14(24.6)	0	0	0
	12 个月	36(63.2)	43(75.4)	9(19.3)	17(29.8)	0	0	0
	24 个月	33(57.9)	40(70.2)	10(17.5)	17(29.8)	0	0	0

表 3 AILD 患者治疗前后血清肝功能检测($\bar{x}\pm s, U/L$)

时间	组别	ALT	AST	ALP	GGT
治疗前	AIH 组	220.1±87.4	162.8±93.5	195.2±101.3	204.7±77.4
	PBC 组	88.5±46.3	105.6±74.1	278.3±95.2	229.8±127.9
治疗后 1 个月	AIH 组	47.8±42.4*	45.2±35.1*	142.8±63.6	104.7±43.8
	PBC 组	62.4±39.5	72.1±54.5*	263.8±145.3	184.7±120.3
治疗后 3 个月	AIH 组	186.5±93.6	97.2±50.6	110.3±73.2	95.6±44.9
	PBC 组	69.5±43.3	93.1±40.5	244.5±196.4	190.3±160.8
治疗后 12 个月	AIH 组	49.2±43.5*	59.3±42.5*	133.2±74.2*	139.5±99.4*
	PBC 组	42.7±31.2*	63.2±47.1*	190.3±176.9*	140.5±99.8*
治疗后 24 个月	AIH 组	50.3±29.3*	55.4±33.3*	122.5±79.8*	115.7±104.9*
	PBC 组	44.2±50.3*	49.8±60.7*	140.6±77.9*	112.4±65.3*

*: $P < 0.05$, 与治疗前比较。

3 讨 论

近年来,国内外关于 AILD 的报道越来越多,随着对 AILD 患者血清自身抗体谱的研究不断深入,AILD 患者的检出也越来越多。目前国内外对于自身抗体的研究多集中于对疾病的诊断和鉴别诊断,对于其在 AILD 治疗过程中发展变化的报道相对较少。

本次研究中 64 例 AIH 患者和 57 例 PBC 患者 ANA 检出率分别是 57.8% 和 61.4%,且滴度多集中于 1:320 和 1:640;170 例病毒性肝炎患者 ANA 阳性检出率为 12.9%,而滴度也都分布在 1:100,说明高滴度的 ANA 对于 AILD 的诊断具有提示意义。有报道 10%~20% 的慢性病毒性肝炎和药物性肝炎,酒精性肝病和非酒精性脂肪肝也可检测出该抗体^[4]。因此 ANA 检测对于 AILD 患者不具有诊断特异性。

肝病相关抗体检测已成为 AILD 的初筛实验,AMA-M2 抗体以线粒体内膜上的 2-酮酸脱氢酶复合物为靶抗原的 AMA-M2 抗体亚型抗体,是 PBC 患者的高度特异性自身抗体,敏感性为 95%~98%,特异性为 86%~97%^[5],此项检测已成为 PBC 诊断的重要实验室指标^[6]。而本研究 AMA-M2 抗体的敏感性为 73.7%,比以上报道的结果低,究其原因可能与检测方法的差异及人种等因素有关,需进一步研究证实。本次研究中 AIH 患者 LKM-1 抗体、LC-1 抗体及 SLA 抗体的检出率为 1.6%、6.3% 和 4.7%,与欧美国家报道的 50% 阳性率差距甚大,可能与入种不同有关^[7]。AIH 患者中也有部分出现 AMA-M2 抗体阳性,有报道称约 25% 的 AIH 患者有 AMA-M2 抗体检出,提示在 AIH 与 PBC 患者鉴别诊断中需要对多项资料综合分析,避免片面根据某种自身抗体阳性导致误诊。

关于自身抗体在 AILD 病情进展中的动态变化,有报道称 LC-1 抗体的检出随 AIH 患者肝功能的改变而改变,LKM-1 抗体无此现象^[1]。本研究中 64 例 AIH 患者仅有 4 例 LC-1 抗体阳性,其检出情况不随临床治疗而变化,不同于先前报道,考虑与 LC-1 抗体阳性病例较少有关。有研究表明,gp210 抗体与 PBC 患者预后有关,但其滴度及检出情况不随患者诊断时间及临床过程而变化,AMA-M2 抗体也不随疾病发展而改

变^[8],与本研究结果一致。

总之,本研究中,自身抗体对于 AILD 尤其是 PBC 的诊断有重要意义,随着临床过程的发展,自身抗体的检出有小幅波动,但与疾病严重程度及药物选择无明显相关性,不能作为病情进展及药效观察的指标,

参考文献:

- [1] Vogel A, Wedemeyer H, Manns M, et al. Autoimmune hepatitis and overlap syndromes[J]. Gastroenterol Hepatol, 2002, 17 Suppl 3: S389-398.
- [2] Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2010, 51(6): 2193-2213.
- [3] Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines[J]. Hepatology, 2000, 31(4): 1005-1013.
- [4] Bylund DJ, McHutchison J. Autoimmune liver diseases[J]. Clin Lab Med, 1997, 17(3): 483-497.
- [5] Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, et al. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(21): 3374-3387.
- [6] 陈瀑, 严立, 叶荻庆, 等. 不明原因肝功能异常患者自身抗体的检测及对自身免疫性肝病的临床意义[J]. 重庆医学, 2011, 40(3): 239-241.
- [7] 胡朝军, 杨国香, 李晞, 等. 原发性胆汁性肝硬化患者血清自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测及临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(2): 115-120.
- [8] Ishibashi H, Komori A, Shimoda S, et al. Risk factors and prediction of long-term outcome in primary biliary cirrhosis[J]. Intern Med, 2011, 50(1): 1-10.

(收稿日期: 2013-12-12 修回日期: 2014-02-28)