

• 论 著 •

肝抗原自身抗体检测对自身免疫性肝病的诊断价值探讨

牟君成, 赵 昕, 王文昕

(重庆市三峡中心医院微生物免疫科, 万州 404000)

摘 要:目的 探讨肝抗原自身抗体检测对自身免疫性肝病(ALD)的诊断价值。方法 分别采用间接免疫荧光法和免疫印迹法检测 51 例 ALD 患者、85 例各类病毒性肝炎和其他肝病患者血清中的抗核抗体(ANA)和肝抗原自身抗体。结果 51 例 ALD 患者中, 自身免疫性肝炎(AIH)组患者血清中检出的 ANA、抗 LKM-1 抗体、抗 SLA 抗体阳性率分别为 87.4%、27.8% 和 29.4%; 原发性胆汁性肝硬化(PBC)组中 ANA、抗线粒体抗体(AMA-M2)、抗 Sp100 抗体和抗 gp210 抗体阳性率分别为 85.2%、92.6%、33.3% 和 25.9%; 原发性硬化性胆管炎(PSC)组中 ANA 阳性率为 18.6%, 其他各项检测指标均为阴性; 对照组 ANA 阳性率为 11.6%, 其他检测指标均为阴性。结论 肝抗原自身抗体检测对 ALD 的明确诊断和分类有重要的临床意义。

关键词:自身免疫; 肝病; 抗体, 抗核; 血清学; 诊断; 肝抗原自身抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)04-0451-02

The diagnostic value of detecting auto antibody of liver antigens in auto immune hepatic diseases

Mou Juncheng, Zhao Xin, Wang Wenxin

(Microorganism and Immunology Department, Chongqing Three Gorges Central Hospital, Wanzhou, Chongqing 404000, China)

Abstract:Objective To evaluate the diagnostic value of autoantibody against liver antigens in autoimmune liver disease. **Methods** Serum samples were tested for ANA by indirect immunofluorescence assay(IIF) and auto-antibody of liver antigens by Western-blot(WB) in 51 cases of patients with autoimmune hepatic diseases and 85 cases with various virus hepatitis and other liver diseases. **Results** The positive rates of ANA, anti-LKM-1, anti-SLA were 87.4%, 27.8% and 29.4% in autoimmune hepatitis(AIH). The positive rates of ANA, anti-AMA-M2, anti-Sp100, anti-gp210 were 85.2%, 92.6%, 33.3% and 25.9% in primary biliary cirrhosis(PBC). The positive rate of ANA was 18.6% and others were negative in primary sclerosing cholangitis(PSC). The positive rate of ANA was 11.6% and others were negative in control group. **Conclusion** negative detection of autoantibody against liver antigens is useful clinically for diagnosing and classifying liver diseases.

Key words:autoimmunity; liver diseases; anti-nuclear antibodies; serology; diagnosis; auto-antibody of liver antigens

自身免疫性肝病(autoimmune liver diseases, ALD)是一组由自身免疫引起、以肝胆损伤为主的特殊类型的慢性肝病, 主要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)和重叠综合征(overlap syndrome, OS)。由于该类疾病无特征性症状, 临床诊断比较困难, 因此易出现漏诊、误诊。对 ALD 诊断的必要条件是检测到患者体内存在的相关自身抗体, 本组对 51 例 ALD 患者血清抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)和肝抗原自身抗体检测结果进行回顾性分析和总结, 以探讨此类自身抗体对 ALD 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 51 例 ALD 患者为 2005 年 1 月至 2009 年 1 月本院门诊及住院患者, 其中 AIH 13 例、PBC 27 例、PSC 4 例、OS 7 例, 年龄 27~68 岁, 男 15 例, 女 36 例。患者各项病毒感染指标均为阴性, 肝功能等生化指标持续异常。疾病诊断标准参照国际自身免疫性肝炎组(International autoimmune hepatitis group, IAIHG)修订的评分标准^[1-2]。以随机收集的 85 例各类病毒性肝炎和其他肝病患者作为对照组, 其诊断参照病毒性肝炎防治方案中的标准^[3]。

1.2 试剂与方法 血清 ANA 检测采用间接免疫荧光法, 测定 4 个滴度: 1:100、1:320、1:1000、1:3200, ANA 滴度大于等于 1:100 者判为阳性, 试剂盒来自德国 EUORIMMUN 医学实验诊断有限公司; 抗线粒体抗体(anti-mitochondrial an-

tibody type 2, AMA-M2)、抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体、抗肝肾微粒体(liver-kidney microsomal, LKM)1 型抗体(抗 LKM-1 抗体)、抗可溶性肝抗原(soluble liver antigen, SLA)抗体、抗肝溶质抗原 1 型(liver antigen type 1, LC-1)抗体等肝抗原自身抗体检测采用免疫印迹法, 试剂盒来自德国 IMTEC 公司, 操作方法和结果判断完全按照试剂盒说明书进行; 各类病毒性肝炎标志物, 包括抗 HAV-IgM、HBsAg、抗 HBs、HBeAg、抗 HBe、抗 HBc、抗 HCVIgM/IgG、抗 HEV-IgM 的检测采用 ELISA 法, 试剂盒由上海科华实业有限公司提供, 操作方法和结果判断按照试剂盒说明书进行。使用仪器包括奥林巴斯系列显微镜(日本), Wellscan MK-3 型酶标仪(芬兰), Wellwash-4 型洗板机(芬兰)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 软件 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ANA 检测结果 ANA 在 AIH、PBC、PSC、OS 和对照组中的阳性率分别为 84.6% (11/13)、85.2% (23/27)、25.0% (1/4)、85.7% (6/7) 和 12.9% (11/85); ALD 与病毒性肝病组间差异有统计学意义($P < 0.05$); 同时其他 ALD 组与 PSC 组之间差异也有统计学意义($P < 0.05$); ALD 患者中, ANA 滴度大于等于 1:320 者占 75.6% (31/41), 最高者的 ANA 滴度为 1:3200; 病毒性肝病组中 11 例 ANA 阳性的滴度均为 1:100。

2.2 肝抗原自身抗体检测结果 见表 1, 在 AIH 组中, 抗

SLA、抗 LIM-1 抗体的阳性率分别为 30.8%、23.1%；PBC 组中,AMA-M2 阳性率为 92.6%，其中 AMA-M2 和抗 Sp100 抗体同时阳性者占 22.2% (6/27),抗 gp210 抗体和 AMA-M2 同时阳性者占 18.5% (5/27),抗 Sp100 抗体和抗 gp210 抗体单

独阳性者分别为 11.1% (3/27) 和 7.4% (2/27)；OS 组中 AMA-M2、抗 SLA 抗体和抗 LC-1 抗体阳性率分别为 71.4%、28.6% 和 14.3%；PSC 组和病毒性肝病组中肝抗原自身抗体检测均为阴性。

表 1 肝抗原检测结果[n(%)]

组别	n	AMA-M2	抗 Sp100 抗体	抗 gp210 抗体	抗 LKM-1 抗体	抗 SLA 抗体	抗 LC-1 抗体
AIH	13	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(23.1)	4(30.8)	0(0.0)
PBC	27	25(92.6)	9(33.3)	7(25.9)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
PSC	4	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
OS	7	5(71.4)	0(0.0)	0(0.0)	2(28.6)	1(14.3)	0(0.0)
对照组	85	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

3 讨 论

我国是慢性肝病的高发区,虽然病毒性肝病占大多数,但是肝炎病毒感染指标阴性、原因不明慢性肝病患者的数量也较大,其中一部分就是 ALD。ALD 发病机制与病毒性肝病完全不同,其治疗原则与病毒性肝病的治疗存在相当大的差异,免疫抑制疗效好,但是如果得不到及时、有效的治疗,疾病将不断发展转变成肝硬化,患者最终因肝功能衰竭而死亡,因而早期、准确的诊断对挽救患者的生命、提高患者的生活质量显得尤为重要。

本研究中,AIH 组中阳性检出率最高的抗体是 ANA (84.6%),其次分别为抗 SLA 抗体(30.8%)和抗 LKM-1 抗体 (23.1%)。AIH 组中 ANA 滴度大于等于 1 : 320 者占 72.7% (8/11),最高 1 例其滴度为 1 : 3 200;出现的核型主要是核颗粒型(63.6%),其次为核点型、核仁型等。ANA 与 I 型 AIH 相关。目前已将 ANA 和(或)抗平滑肌抗体作为 I 型 AIH 的标志性抗体,但是 ANA 是细胞内所有抗原成分的总抗体,可以在许多自身免疫病中存在,因此需要鉴别诊断。本组 6 例 I 型 AIH 患者均符合诊断的评分标准。抗 LKM-1 抗体是 II 型 AIH 的标志性抗体^[4-6]。经 DNA 重组技术发现,抗 LKM 抗体有 3 种类型,抗 LKM-1 抗体的靶抗原是细胞色素 P450 2D6,由于其与 HCV 病毒基因序列有部分同源性,因此,除了 II 型 AIH 外,少数丙型肝炎患者血清中也可出现抗 LKM-1 抗体。AIH 组检出的 3 例抗 LKM-1 抗体阳性患者均符合 II 型 AIH 的特点,但是在病毒性肝病组中,丙型肝炎患者的血清没有检测出抗 LKM-1 抗体,这可能与标本例数较少有关。抗 SLA 抗体是 AIH 中惟一特异的自身抗体,仅见于 III 型 AIH^[1,7-8]。SLA 是肝细胞胞浆内一种可溶性的蛋白分子,其生理功能不明,本组检出的 4 例抗 SLA 抗体阳性患者符合 III 型 AIH 诊断标准。

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 的靶抗原分为 9 种亚型(M1~M9),其中 M2 型对 PBC 诊断的特异性最高^[9]。本组检测的 27 例 PBC 患者中,有 25 例 AMA-M2 阳性,阳性率达 92.6%；ANA 阳性率达 85.2%，出现的核型主要为核点型、核膜型等;基因工程重组的抗 Sp100 抗体和抗 gp210 抗体对 PBC 的血清学诊断具有高度的特异性^[10]。本组在 PBC 患者血清中检测出 AMA-M2 和抗 Sp100 抗体同时阳性者有 6 例,占 22.2%；AMA-M2 和抗 gp210 抗体同时阳性者 5 例,占 18.5%；抗 Sp100 抗体和抗 gp210 抗体单独阳性者分别为 3 例(11.1%)和 2 例(7.4%)。可见检测抗 Sp100 抗体和抗 gp210 抗体对缺乏一般临床特征

或 AMA 阴性的 PBC 患者的确诊、病情及预后评估等都具有重要意义^[11-12]。

本组报道的 7 例 OS 患者主要为 AIH/PBC 重叠综合征,OS 组的 5 例 AMA-M2 阳性患者中有 1 例伴抗 LKM-1 抗体阳性;抗 LKM-1 抗体和抗 SLA 抗体阳性各 1 例,ANA 均为阳性且呈高滴度(5 例 ANA 滴度大于或等于 1 : 1 000,2 例大于或等于 1 : 320),核型主要为核颗粒型,其次为核点型、核膜型,临床诊断为 AIH 重叠 PBC。OS 临床上常见 AIH/PBC、AIH/PSC、PBC/PSC 3 种类型,其中以 AIH/PBC 多见,由于本组病例太少,无法作进一步分析。此外,4 例 PSC 中仅 1 例 ANA 阳性,其他抗体均为阴性,实验室血清学诊断无特异性,提示 PSC 的诊断主要依靠影像学结合临床症状作出诊断。

总之,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。自身抗体检测技术的不断改进和提高,将为 ALD 的研究和临床诊疗提供有力的支持。

参考文献

[1] Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, et al. International Autoimmune Hepatitis Group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis[J]. J Hepatol, 1999, 31(5): 929-938.

[2] Czaja AJ. Frequency and nature of the variant syndromes of autoimmune liver disease[J]. Hepatology, 1998, 28(2): 360-365.

[3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324-329.

[4] Homborg JC, Abuaf N, Bernard O, et al. Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis[J]. Hepatology, 1987, 7(6): 1333-1339.

[5] 孔令和, 高素香, 桂亚萍, 等. 抗自身免疫性肝病自身抗体组合检测在自身免疫性肝病诊断中的应用[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(3): 243-244.

[6] 马琼麟, 曾维, 黄静, 等. 自身抗体检测在自身免疫性肝炎诊断的临床意义[J]. 中国现代医生, 2010, 2(3): 87-88.

[7] 赵艳, 闫惠平, 檀玉芬, 等. 抗可溶性肝抗原/肝膜抗原抗体在自身免疫性肝炎诊断及分型中的意义[J]. 中华肝脏病杂志, 2007, 15(4): 283-286.

[8] 李颖. 自身免疫性肝炎研究进展[J]. 首都医药, 2009, 12(6): 23-24.

[9] Zauli D, Ghetti S, Grassi A, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in type 1 and 2 autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 1997, 25(5): 1105-1107.

[10] Muratori P, Muratori L, Ferrari R, et al. Characterization and impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis[J]. Am J Gastroenterol, 2003, 98(2): 431-437.

(下转第 454 页)

蛋白阳性组与另外 3 组的血清尿素、肌酐水平比较差异有统计 学意义($P<0.01$)。

表 1 糖尿病患者各组和健康对照组的血清 Cys C、尿素、肌酐浓度水平比较

组别	Cys C(mg/L)	尿素(mmol/L)	肌酐(μmol/L)	P1	P2	P3	P4	P5
健康对照组	0.87±0.11	5.68±1.87	94.47±19.27	-	-	-	<0.01	<0.01
尿 mAlb 正常组	0.99±0.15	5.92±1.81	93.33±12.08	>0.05	-	-	<0.01	<0.01
尿 mAlb 升高组	1.13±0.30	6.14±1.97	99.06±22.72	<0.05	<0.05	-	<0.01	<0.01
尿蛋白阳性组	1.87±0.72	10.07±7.76	173.08±83.99	<0.01	<0.01	<0.01		

P1:健康对照组与各病例组 Cys C 比较;P2:尿 mAlb 正常组与其他病例组 Cys C 比较;P3:尿 mAlb 升高组与尿蛋白阳性组 Cys C 比较;P4:尿蛋白阳性组与其他各组尿素比较;P5:尿蛋白阳性组与其他各组肌酐比较。

3 讨 论

临床上传统使用血尿素、肌酐和 Ccr 来反映肾功能。其中尿素不符合内源性 GFR 标志物的要求,而肌酐受性别、饮食、肌肉量和肾小管的排泄等因素的影响也不能准确反映 GFR。并且肾脏有强大的储备能力和代偿能力,血尿素、肌酐在肾小球受损早期或轻度受损时仍可维持在正常水平,只有在严重肾小球损害,一般 GFR 降低 50% 以下时才明显升高,对早期肾病无诊断意义^[7]。虽然 Ccr 一直被认为是反映 GFR 较好的指标,但也存在很多不足之处,譬如:肌酐测定的众多影响因素会给 Ccr 的检测带来分析误差;需要 24 h 连续收集尿液标本给患者带来不便,不利于常规检查,限制了 Ccr 在临床的广泛开展应用。

Cys C 属半胱氨酸蛋白酶抑制剂,是一种低相对分子质量(13.3×10^3)、碱性非糖化蛋白质,由 122 个氨基酸组成,广泛存在于各种组织的有核细胞和体液中,无组织特异性,并以稳定的速率产生,可以自由通过肾小球滤过膜并且不被肾小管重吸收或分泌,也没有肾外的排泄途径。这些都满足了对 GFR 标志物的要求^[5,9,10]。有研究认为其在血中的浓度不受饮食、性别、年龄、身高、体重、肌肉量、慢性炎症及大多数药物的影响,是比较理想的反映肾小球滤过功能的内源性标志物^[11-12]。

本文对 163 例糖尿病患者和 48 例健康人进行观察,排除性别、年龄的影响和排除其他疾病引起的肾脏病变,按照我院根据尿中 mAlb 水平来判断早期糖尿病肾病的暂行标准,将糖尿病患者分为尿 mAlb 正常组、尿 mAlb 升高组和尿蛋白阳性组。观察结果表明,尿 mAlb 正常组与健康对照组的 Cys C 结果比较差异无统计学意义($P>0.05$);尿 mAlb 升高组的 Cys C 水平显著高于尿 mAlb 正常组和健康对照组($P<0.05$),尿蛋白阳性组 Cys C 水平更是显著高于尿 mAlb 升高组、尿 mAlb 正常组和健康对照组($P<0.01$)。说明 Cys C 水平在健康人和未发生糖尿病肾病的糖尿病患者间无明显变化,只有正常范围内的波动。当一旦出现 Cys C 异常升高,则可能提示早期糖尿病肾病的发生,且 Cys C 升高的程度与病变的严重程度相关。而除尿蛋白阳性组与另外 3 组的尿素、肌酐水平比较有显著性差异($P<0.01$)以外,其他 3 组之间的血清尿素、肌酐水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$),说明当血清尿素、

肌酐水平出现明显异常时,患者已发展到尿中出现尿蛋白的阶段,肾功能损害已经比较严重,不利于早期糖尿病肾病的诊治。

Cys C 的检测目前采用的免疫透射比浊法,技术已趋于成熟,能在全自动生化分析仪上进行测定,操作简便,干扰因素少,对于评价 GFR 比血清尿素、肌酐有更高的敏感性和特异性,对早期糖尿病肾病的诊断及病情评估具有重要的临床意义,适合作为常规肾功能检查进行推广。

参考文献

[1] 李玉艳,杨振坤. 胱抑素 C 在临床中的应用进展[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(9):517-519.

[2] 韩振武,赵然,邵树茂,等. 血清胱抑素 C 用以评估肾小球滤过率的价值[J]. 中国误诊学杂志,2007,7(18):4222-4223.

[3] 艾红梅,陈克军. 胱抑素 C 在临床肾小球滤过率评估中的作用[J]. 国际检验医学杂志,2006;27(5):430-431,434.

[4] 朱国文. 血清胱抑素 C 在肾脏疾病中的应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2007;28(5):470-471.

[5] 沈雄文,孙关忠,胡云华. 尿胱抑制 C 在药物性肾功能损害早期诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(12):1206-1208.

[6] 张翀,韩平治,丁进芳. 血清胱抑素 C 的临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(2):176-177.

[7] 李海霞,张春丽,徐国宾. 健康人群血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 与肌酐分布及其评价慢性肾脏病患者肾小球滤过功能的比较研究[J]. 中华检验医学杂志,2006;29(11):970-974.

[8] 马红霞,周运恒,杨茜,等. 胱抑素 C 的临床价值研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(10):974-975.

[9] 马勇,许吉斌. 血清 Cys-C、β₂-MG、RBP 在 2 型糖尿病肾病早期诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(2):135-136.

[10] 蔡钢强,垢敬. 胱抑素 C 的生物学特性及临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(5):457-460.

[11] Gokkusu CA,Ozden TA,GulH,et al. Relationship between plasma cystatin C and creatinine in chronic renal diseases and Tx2 transplant patients[J]. Clin Biochem,2004,37 (2):942-971.

[12] 孙红,陈莎,段艺,等. 血清胱抑素 C 在儿童肾脏疾病中的应用研究[J]. 微循环学杂志,2005,15(4):31-32.

(收稿日期:2010-05-10)

(上接第 452 页)

[11] Miyachi K,Hankins RW,Matsushima H,et al. Profile and clinical significance of anti-nuclear envelope antibodies found in patients with primary biliary cirrhosis:a multicenter study[J]. J Autoimmun,2003,20(3):247-254.

[12] 潘盈,史旭华,张烜,等. 原发性胆汁性肝硬化自身抗体特征及其对药物治疗的反应[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志,2009,3 (3):178-183.

(收稿日期:2010-05-10)