

论著·临床研究

单纯抗线粒体 M2 型抗体非特异阳性的影响因素 及其对肝功能损伤的指示作用*

王金玲¹, 王 婷², 王培昌^{1△}

(首都医科大学宣武医院:1. 检验科;2. 输血科, 北京 100053)

摘要:目的 探究可能影响单纯抗线粒体 M2 型抗体(AMA-M2)阳性的非特异性因素(如:吸烟与饮酒)以及 AMA-M2 强弱等级与肝功能损伤的关系。方法 收集 2016 年 1 月至 2018 年 6 月该院门诊及住院的单纯 AMA-M2 阳性患者共计 242 例(所有患者均排除抗核抗体阳性以及短期内未考虑为自身免疫性肝病的可能),该院体检中心健康对照组 150 例,用免疫印迹的方法确定对照组 AMA-M2 抗体全部为阴性并详细记录所有入组人员的生活史。将所有 242 例 AMA-M2 阳性患者按 AMA-M2 强弱等级分 3 组,分别是 AMA-M2+ (弱阳性)、AMA-M2++ (阳性)与 AMA-M2+++ (强阳性),应用酶法检测各组血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰氨基转移酶(γ -GGT)、总胆红素(TBIL)的水平。结果 与健康对照组相比,具有长期吸烟与饮酒史的人数在 AMA-M2 阳性组明显更多,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ALT、AST、ALP、 γ -GGT、TBIL 水平在 AMA-M2 各阳性组均有不同程度的升高,其中与健康对照组比较,5 大指标在 AMA-M2+++ 组水平升高显著,差异有统计学意义($P < 0.05$),而在 AMA-M2+ 与 ++ 组中水平升高的差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 AMA-M2+ 组比较,ALP、 γ -GGT、TBIL 水平在 AMA-M2+++ 组则显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 ALT、AST 水平在 AMA-M2++ 和 AMA-M2+++ 组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 (1)饮酒(尤其是常年大量饮酒)患者体内 AMA-M2 抗体常呈阳性,但以低滴度、弱阳性为主,吸烟也会造成体内 AMA-M2 假阳性的出现;(2)相比 AMA-M2 弱阳性患者,AMA-M2+++ 强阳性患者肝损伤更严重,ALP、 γ -GGT、TBIL 是反映肝损伤程度更敏感且持久的指标。

关键词:抗线粒体抗体 M2 抗体; 原发性胆汁性肝硬化; 肝功能损伤; 自身免疫性肝病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.11.006 **中图分类号:**R575;R446.6

文章编号:1673-4130(2019)11-1308-04 **文献标识码:**A

The influential factors of non-specific positive anti-mitochondrial M2 antibody and its guiding significance of liver function damage*

WANG Jinling¹, WANG Ting², WANG Peichang^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Blood Transfusion, Xuanwu Hospital, Beijing 100053, China)

Abstract: Objective To find the possible factors which affect the non-specific positive anti-mitochondrial M2 type antibody(AMA-M2) (e. g. drinking and smoking) and the relationship between the strength level of AMA-M2 and the degree of liver function damage. **Methods** A total of 242 in-patients with simple AMA-M2-positive in the hospital from January 2016 to June 2018 were enrolled in the study (all patients were excluded from antinuclear antibodies positive and were not considered for antoimmune liver disease in the short term). 150 cases of healthy controls from physical examination center in the Hospital were also selected, and all the AMA-M2 antibodies were confirmed negatively by immunoblotting and the life histories of all the participants were recorded in detail. All 242 AMA-M2 positive patients were divided into three groups according to the AMA-M2 strength levels, which were strong positive + + +, positive + +, and weak positive + groups. The levels of 5 biochemical indicators including Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyl aminotransferase (γ -GGT), total bilirubin (TBIL) were detected by enzymatic method in three groups respectively. **Results** Compared with the healthy control group, the numbers of patients with long-term smoking and drinking history were significantly larger in AMA-M2

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(NO. 81501841)。

作者简介:王金玲,女,主管技师,主要从事自身抗体的研究。△ 通信作者,E-mail:pcw1905@126.com。

本文引用格式:王金玲,王婷,王培昌.单纯抗线粒体 M2 型抗体非特异阳性的影响因素及其对肝功能损伤的指示作用[J].国际检验医学杂志,2019,40(11):1308-1310.

positive groups, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The levels of ALT, AST, ALP, γ -GGT and TBIL are elevated at different degrees in the AMA-M2 positive groups. Compared with the healthy control groups, the levels of these five biochemical indicators were significantly increased in the AMA-M2+++ groups, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), but the differences were not significant in the groups of AMA-M2+ and ++ groups ($P > 0.05$). Compared with the AMA-M2+ groups, the levels of ALP, γ -GGT and TBIL were significantly increased in AMA-M2+++ group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), but there were no significant differences of the ALT and AST levels both in the AMA-M2+++ group and AMA-M2++ group ($P > 0.05$). **Conclusion** AMA-M2 antibody often shows positive in patients who drink alcohol (especially drink heavily all year round), but is mainly low titer and weakly positive. Compared with the AMA M2+ group, liver injury was more severe in the AMA M2+++ group and ALP, γ -GGT, TBIL are the more sensitive and persistent indicators of liver damage.

Key words: anti-mitochondrial M2 antibody; primary biliary cirrhosis; liver function injury; autoimmune liver disease

自身免疫性肝病(AILD)是以肝脏为特异性免疫病理损伤的一类自身免疫性疾病,分为原发性胆汁性肝硬化(PBC)、自身免疫性肝炎(AIH)、和原发性硬化性胆管炎(PSC)^[1]。亚洲地区以 PBC 好发,流行病学的调查显示,在我国 PBC 的发病率呈逐年上升趋势,这源自于近年来检测手段的提高和人们对该病的重视^[2]。PBC 起病比较缓慢,早期临床表现以乏力和皮肤瘙痒最为常见,症状与酒精性肝炎、病毒性肝炎相似^[3],因此在很多情况下极易造成误诊,尤其是在我国欠发达地区^[4-5]。然而该病的一大特征是在疾病早期阶段,血清中即可检测到特征性抗体,其中抗线粒体抗体(AMA)M2 型是目前公认的作为诊断 PBC 的特异性抗体之一^[6-8]。然而,在实际临床工作中,通过大样本的日常分析,笔者发现 AMA-M2 抗体的非特异性阳性比例不低,这意味着有相当多患者抗 AMA-M2 抗体阳性,但最终并未确诊为 PBC,那有哪些可能因素影响该抗体的表达,从而造成非特异性阳性?笔者发现这类患者大多有长期的吸烟与饮酒史,因此初步选定吸烟与饮酒为研究对象。此外,AMA-M2 的检测结果显示是以+(弱阳性)、++(阳性)、+++ (强阳性)3 个强弱等级汇报给临床,那么,在一定程度能够提示肝细胞损伤的抗 AMA-M2 抗体的不同强弱等级是否与患者肝功能损伤程度有一定关系,鉴于此,笔者做了如下报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2018 年 4 月在本院住院和门诊患者 242 例,全部患者均为单纯的 AMA-M2 阳性,即均排除抗核抗体阳性以及短期内并未考虑为 PBC 的可能,PBC 的诊断标准参照中华医学会肝病学会、消化病学会和感染病学会联合颁布的原发性胆汁性肝硬化诊断和治疗共识^[9-10]。其中,男 149 例,女 93 例,年龄 24~71 岁,平均年龄(48.0±10.2)岁;收集本院体检中心健康体检者标本 150 例作为健康对照组,平均年龄(41.0±5.2)岁,全部均为 AMA-M2 阴性,记录所有入组人员的详细生活史(吸烟和饮酒史)。将所有 242 例阳性患者按滴

度强弱分为 3 组,分别是:AMA-M2+、AMA-M2++ 与 AMA-M2+++ 组,3 组人数分别为 78 例、89 例、75 例,各组性别、年龄差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法 采用免疫印迹法检测全部血清标本的 AMA-M2 抗体,以半定量(+)为阳性,判读范围为弱阳性(+)、阳性(++)、强阳性(+++),试剂盒由德国欧蒙医学试验诊断股份公司提供;血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰氨基转移酶(γ -GGT)、总胆红素(TBIL)采用日立全自动生化分析仪测定,正常参考值范围分别为:5~40 U/L、8~40 U/L、40~150 U/L、7~50 U/L、3.42~23.34 μ mol/L,以上仪器均采用与仪器配套的试剂、定标液与指控品。

1.3 统计学处理 数据分析全部资料用 EXCEL 建立数据库,采用 IBM SPSS20.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料用百分比或率表示,采用 χ^2 检验分析组间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 饮酒对于 AMA-M2 抗体的影响 AMA-M2 阳性患者组中,饮酒 131 例,占 54.2%,健康对照组中,饮酒 33 例,占 22.0%。与健康对照组比较,AMA-M2 阳性患者组饮酒比例显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 吸烟对于 AMA-M2 抗体的影响 AMA-M2 阳性患者组中,吸烟 92 例,占 38.0%;健康对照组中,吸烟 28 例,占 18.6%。与健康对照组比较,AMA-M2 阳性患者组吸烟比例显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 AMA-M2 强弱等级与肝功能损伤的关系 与健康对照组比较,ALT、AST、ALP、 γ -GGT、TBIL 5 个指标的水平在 AMA-M2 各阳性组均不同程度升高,其中在 AMA-M2+++ 组,5 个指标水平升高显著,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 AMA-M2+ 相比较,ALP、 γ -GGT、TBIL 这 3 个指标水平在 AMA-

AMA-M2+++ 组升高显著, 而 ALT 和 AST 水平在 3 组之间差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 1。

表 1 ALT、AST、ALP、 γ -GGT、TBIL 在各组间的水平总结($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALP(U/L)	γ -GGT(U/L)	TBIL(μ mol/L)
AMA-M2+++	75	43.9 \pm 22.12*	42.1 \pm 22.21*	199.4 \pm 19.22*#	92.1 \pm 10.21*#	40.2 \pm 11.98*#
AMA-M2++	89	29.2 \pm 16.22	25.2 \pm 19.12	88.0 \pm 16.21	61.9 \pm 19.12	20.9 \pm 18.20
AMA-M2+	78	23.1 \pm 18.10	19.9 \pm 16.21	77.2 \pm 15.10	59.1 \pm 10.20	17.2 \pm 10.23
健康对照组	150	15.3 \pm 12.91	15.2 \pm 14.20	69.0 \pm 10.11	41.2 \pm 18.99	12.9 \pm 10.21

注: 组间比较采用 *t* 检验, 与健康体检组比较, * $P<0.05$; 与 AMA-M2+ 组比较, # $P<0.05$

3 讨 论

抗线粒体抗体是一种无器官特异性也无种属特异性的自身抗体。根据靶抗原不同, AMA 可被分为 M1~M9 共 9 个亚型, 其中高滴度的 AMA-M2 是 PBC 的血清学标志之一, 在患者出现症状前几年甚至几十年就可以检测到 AMA 的存在^[11], 高滴度的 AMA-M2 诊断 PBC 的灵敏度和特异度均达到了 90% 以上^[8,12]。目前, 对于临床和生化检查有淤胆表现的患者, AMA 或 AMA-M2 抗体阳性, 在排除其他疾病基础上, 不做肝活检, 即可诊断为 PBC^[10]。临床上, 若 AMA 阴性也不能完全排除是 PBC 的可能, 必要时还需肝穿刺病理检查协助诊断, 减少漏诊误诊, 以免延误治疗。然而, 2009 年欧洲与美国指南中不再将穿刺病理列为诊断 PBC 的必要条件^[13], 这就更加凸显了实验室精准检测 AMA-M2 抗体的必要性以及对阳性结果合理解释的必要性。然而, 患者 AMA-M2 抗体出现阳性并不一定就是 PBC, 国内外的学者在研究 AMA-M2 假阳性的问题时, 多数聚焦于患者的原始疾病上, 据文献报道, 有相当一部分病毒性肝炎或肝硬化患者可检测到 AMA-M2 抗体^[9]; 另外, 该抗体也可在重症肺炎、风湿性心脏病、结肠息肉等患者体内被检出^[14]。本文针对临床实际工作中出现比例较高的 AMA-M2 单纯阳性的现象做了一系列研究工作, 从患者的生活史入手, 旨在寻找可能影响 AMA-M2 非特异阳性的因素, 从而进一步帮助临床医师用于诊断和排除诊断相关疾病。

在初步分析工作中, 笔者发现 AMA-M2 抗体单纯阳性的患者以男性为主, 进一步分析发现多数患者有常年的饮酒和吸烟史, 上述两种生活史均可在一定程度上损伤肝细胞, 因此判断其可能是 AMA-M2 阳性影响因素。本实验收集了 242 例 AMA-M2 单纯阳性患者(所有患者均排除抗核抗体阳性以及短期内未考虑 PBC 的可能), 将其与 150 例 AMA-M2 阴性的健康体检者对比, 通过记录详细的个人生活史, 了解吸烟、饮酒状况, 笔者发现 AMA-M2 阳性组吸烟与饮酒的比例均显著高于健康对照组; 同时本实验又将 AMA-M2 阳性患者按抗体在血清中表达浓度的不同分 3 组, 分别为: 弱阳性+组、阳性++组、强阳性+++组, 通过分析 AMA-M2 不同组别与肝功能损伤的关系, 笔者发现, 与健康对照组比较, 5 种生化指标水平在 AMA-M2 阳性组均有不同程度的升高, 然而

只有在 AMA-M2+++ 组差异有统计学意义($P<0.05$); 另外, 与 AMA-M2+ 组比较, ALP、 γ -GGT、TBIL 这 3 个指标水平在 AMA-M2+++ 患者组也显著升高, 而 ALT 与 AST 水平在 3 组间差异无统计学意义($P>0.05$), 提示 AMA-M2 抗体的表达浓度一定程度上能够反映肝功能的损伤情况, 而相比 ALT 与 AST, ALP、 γ -GGT、TBIL 是反映肝损伤程度更加敏感且持久的指标。该研究也提示临床医师在拿到 M2 抗体阳性报告时, 应结合临床症状体征以及其他辅助诊断综合考虑, AMA-M2 阳性并不一定意味着自身免疫性肝病, 其中吸烟、饮酒这两种最常见的因素应纳入考虑; 另外, 对于 AMA-M2+++ 强阳性的患者, 即使其抗核抗体荧光初筛是阴性的结果, 不论其肝胆生化指标是否异常, 均不能轻易排除 PBC 的可能, 定期检测肝胆系统生化指标的变化, 若患者出现相关的临床症状或体征, 可考虑相关病理学检查以明确诊断, 并在疾病早期阶段进行干预。另外, 结合各方因素确诊 PBC 的患者, 尤其是抗核抗体胞浆颗粒型(抗体中、高滴度者), AMA-M2 阳性患者, 早期的积极干预治疗是非常重要的, 能够极大延缓病情进展, 减轻患者痛苦, 而检测血清抗体是临床上最简单易行、几乎无创伤的手段之一, 因此凡是怀疑自身免疫性肝病或者存在肝功能异常患者, 早期抽血检测自身抗体是十分重要的^[15]。

本次研究入组的 242 例单纯 AMA-M2 抗体阳性患者, 尽管在短期内并未有足够证据确诊 PBC, 但也并不能完全排除其中部分患者(尤其是 AMA-M2+++ 的患者)是潜在 PBC 的可能, 笔者将会在未来的工作中跟踪研究。另外, 除去本实验研究的吸烟以及饮酒的因素外, 也有其他因素可能导致 AMA-M2 出现非特异性阳性, 例如: 药物、病毒性肝炎或其他自身免疫性疾病等, 仍有待进一步综合分析研究。

4 结 论

长期的饮酒与吸烟史会造成抗 AMA-M2 抗体非特异性阳性。因此, 临床上在诊治自身免疫性肝病时要综合观察患者的临床症状, 并结合实验室生化和免疫学检查进行综合分析判断, 排除病毒性肝炎和其他肝脏损害的可能, 对抗体阳性的患者, 哪怕是单纯的 AMA-M2 抗体阳性也应定期复查抗体, 做好预防工作。

(下转第 1313 页)

常规离心比较大部分生化项目测定结果差异不明显,部分生化结果 CK-MB、DBIL、HBDH、LDH、CREA、UA、GLU 有差异,呈直线相关。本文研究结果与文献[11-13]报道不完全一致,可能原因如下:(1)标本量及标本所含三酰甘油不一样,本实验选取 50 例脂血标本(外观奶白色),标本量及脂血水平不一致可能是导致实验结果不一致的原因;(2)实验所用仪器、试剂及条件不一致;(3)脂血标本高速离心后处理程序并没有标准化,本实验离心后采用吸管吸取下层清亮血清,与其他研究人员方法有一定的差异。

4 结 论

本研究提示高速离心可以消除脂血对部分肝功能检测项目的影 响,但是很有必要建立标准操作程序。

参 考 文 献

[1] 陈明坤,李闻捷,张建荣. 溶血、脂血、黄疸样本对生化项目检测的干扰机制及消除[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(16): 2272.
 [2] 朱同林,王艳琴. 血液标本因素与肝功能指标相关性研究[J]. 北方药学, 2014, 11(8): 84-85.
 [3] 林景涛,翟敏,代艳杰,等. 高脂血对血清酶类活性测定影响及处理方法[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(15): 1542-1545.

(上接第 1310 页)

参 考 文 献

[1] 胡朝军,李永哲. 重视自身免疫性肝病相关自身抗体的规范检测与合理应用[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(2): 81-83.
 [2] 李沛然,陈霖,刘爱霞,等. 原发性胆汁性肝硬化的实验室指标分析. 肝脏[J], 2018, 23(3): 221-223.
 [3] LINDOR K D, GERSHWIN M E, POUPON R, et al. Primary biliary cirrhosis[J]. Hepatology, 2009, 50(1): 291-308.
 [4] DINANI A M, FISCHER S E, MOSKO J, et al. Patients with autoimmune hepatitis who have antimitochondrial antibodies need long-term follow-up to detect late development of primary biliary cirrhosis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2012, 10(6): 682-684.
 [5] 龙丽,周彬. 原发性胆汁性肝硬化研究进展[J]. 实用医院临床杂志, 2015, 12(5): 45-49.
 [6] LIASKOU E, HIRSCHFIELD G M, GERSHWIN M E. Mechanisms of tissue injury in autoimmune liver diseases [J]. Semin Immunopathol, 2014, 36(5): 553-568.
 [7] POUPON R. Primary biliary cirrhosis: a 2010 update[J]. J Hepatol, 2010, 52(5): 745-758.
 [8] 陈辰,张玮. 血清 AMA-M2 抗体在 AIT 异常人群的检出

[4] 彭华,戴盛明. 高脂血标本对临床检验项目的干扰及消除[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(10): 1140-1142.
 [5] 黄琨波. 消除脂血对生化测定干扰的对比实验研究[J]. 海峡药学, 2014, 26(12): 193-194.
 [6] 王璐璐. 消除脂血对生化检测结果的干扰[J]. 首都食品与医药, 2015, 97(4): 51-53.
 [7] 钱建平. 消除脂血对临床生化检验常用指标干扰的方法比较[J]. 北华大学学报, 2013, 14(5): 575-578.
 [8] 张帆. 高速离心对临床常规生化项目测定结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 887-888.
 [9] 石凌波,史惠群. 利用高速离心法消除脂血对生化测定的干扰[J]. 检验医学, 2004, 19(2): 138-140.
 [10] 谢艳艳,余孙兴,尹莲花,等. 用低温高速离心法处理高脂标本消除生化检测干扰的探讨[J]. 医学理论与实践, 2016, 29(3): 377-379.
 [11] 王霞,潘彤,杨文玲. 3 种不同除脂方法在消除脂血对丙氨酸转氨酶检测干扰的比较研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(9): 1126-1128.
 [12] 高永庆. 高脂血标本对临床生化、血凝等指标的干扰及对策[J]. 昆明医科大学学报, 2018, 39(9): 112-114.
 [13] 黄荣哲,黄朝任,陈海燕. 高脂血症对生化检验的干扰及处理措施[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2018, 7(3): 473-474.

(收稿日期:2018-12-22 修回日期:2019-03-10)

率和诊断 PBC 的价值[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2017, 26(9): 1022-1025.

[9] CAREY E J, ALI A H, LINDOR K D. Primary biliary cirrhosis[J]. Lancet, 2015, 386(10003): 1565-1575.
 [10] 俞辉,宋金龙,陈定强,等. AMA-M2, SP100 和 GP210 在诊断原发性胆汁性肝硬化中的应用评估[J]. 广州医药, 2018, 49(2): 38-41.
 [11] INVERNIZZI P, SELMI C, GERSHWIN M E. Update on primary biliary cirrhosis[J]. Dig Dis, 2010, 42(6): 401-408.
 [12] 段东杰. 抗线粒体抗体亚型在原发性胆汁性肝硬化中的诊断价值[J]. 中国医疗前沿, 2009, 4(3): 45-47.
 [13] EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases[J]. J Hepatol, 2009, 51(2): 237-267.
 [14] ALI A H, CAREY E J, LINDOR K D. Diagnosis and management of primary biliary cirrhosis[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2014, 10(12): 1667-1678.
 [15] 苏锡康,崔金环,梁指荣,等. 自身免疫性肝病患者自身抗体的检测及临床应用[J]. 实用医技杂志, 2017, 24(4): 360-362.

(收稿日期:2018-11-22 修回日期:2019-01-25)