·论　　著·

血清可溶性 CD25 在原发性胆汁性胆管炎临床诊疗中的价值*

龚燕萍[1]，曹　磊[2]，成翠娥[3]，陆芬英[3]，王　斌[3]，张志成[4]，蒋廷旺[4△]

1. 常熟市医学检验所，江苏常熟 215500；2. 苏州大学附属第一医院免疫研究所，江苏苏州 215006；
3. 常熟市第二人民医院消化科，江苏常熟 215500；4. 常熟市第二人民医院重点专科实验室，江苏常熟 215500

摘　要：目的　探讨可溶性 CD25（sCD25）在原发性胆汁性胆管炎（PBC）患者血清中的水平变化；通过与经典炎症标志物进行对比，评估 sCD25 在 PBC 筛查与诊断中的价值。**方法**　选取接受诊治的 PBC 患者 37 例、体检健康者 50 例，并收集其临床资料。酶联免疫吸附法（ELISA）测定血清中 sCD25 及白细胞介素（IL）-6 的水平；使用全自动生化分析仪测定丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）、碱性磷酸酶（ALP）、γ-谷氨酰胺转肽酶（GGT）、总胆红素（T-Bil）等肝胆指标，同时使用免疫荧光法和免疫印迹法测定自身抗体。对 sCD25、IL-6 与肝功能各项指标进行 Pearson 相关性分析；采用受试者工作特征（ROC）曲线评估血清 sCD25、IL-6 对 PBC 的诊断价值。**结果**　PBC 组血清 sCD25 以及 IL-6 水平较对照组均显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）；抗-GP210 阳性 PBC 患者的 sCD25 水平较阴性组显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$），而 IL-6 的水平比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。Pearson 相关性分析发现 sCD25、IL-6 血清水平均与 ALT、AST、T-Bil 呈正相关关系（$P<0.05$）；ROC 曲线发现 sCD25 和 IL-6 的截断值分别为 1 104 pg/mL 和 10.26 U/L，筛查 PBC 的灵敏度分别为 91.89%和 91.43%，而特异度分别为 85.19%和 52.38%。**结论**　sCD25 在 PBC 患者血清中显著升高；与传统标志 IL-6 相比，sCD25 水平在 PBC 实验室筛查与鉴别诊断中具有更大的潜在应用价值。

关键词：可溶性 CD25；　白细胞介素-6；　原发性胆汁性胆管炎

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.019　　**中图法分类号：**R446.11

文章编号：1673-4130(2023)04-0476-04　　**文献标志码：**A

Clinical value of serum soluble CD25 in the diagnosis and treatment of primary biliary cholangitis*

GONG Yanping[1], *CAO Lei*[2], *CHENG Cuie*[3], *LU Fenying*[3], *WANG Bin*[3], *ZHANG Zhicheng*[4], *JIANG Tingwang*[4△]

1. *Changshu Institute of Medical Laboratory, Changshu, Jiangsu* 215500, *China*; 2. *Institute of Immunology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu* 215006, *China*; 3. *Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Changshu, Changshu, Jiangsu* 215500, *China*; 4. *Key Laboratory of Changshu Second People's Hospital, Changshu, Jiangsu* 215500, *China*

Abstract: Objective　To investigate the changes of soluble CD25 (sCD25) in serum of patients with primary biliary cholangitis (PBC). The value of sCD25 in the screening and diagnosis of PBC was evaluated by comparing with classical inflammatory markers. **Methods**　The clinical data of 37 PBC patients and 50 healthy subjects were collected. ELISA was used to measure the levels of sCD25 and interleukin (IL) -6 in serum. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), total bilirubin (T-Bil) and other hepatobiliary indicators were measured by automatic biochemical analyzer, and autoantibodies were measured by immunofluorescence and Western blot. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between sCD25, IL-6 and liver function indexes. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic value of serum sCD25 and IL-6 for PBC. **Results**　The serum levels of sCD25 and IL-6 in PBC group were significantly higher than those in control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The level of sCD25 in anti-GP210 positive PBC patients was significantly higher than that in anti-gp210 negative PBC patients ($P<0.05$), while there was no significant difference in the level of IL-6 ($P>0.05$). Pearson correlation analysis showed that serum sCD25 and IL-6 concentrations were positively correlated with ALT, AST, and T-Bil ($P<0.05$). ROC curve showed that the cut-off values of sCD25 and IL-6 were 1 104 pg/mL and 10.26 U/L, re-

*　**基金项目：**国家自然科学基金面上项目（82270556）；苏州市姑苏卫生重点人才项目（GSWS2020106）。

作者简介：龚燕萍，女，副主任技师，主要从事临床检验的相关研究。　△　**通信作者**，E-mail：jtwgyp@163.com。

spectively, and the sensitivity of screening PBC was 91.89% and 91.43%, and the specificity was 85.19% and 52.38%, respectively. **Conclusion**　sCD25 was significantly increased in serum of PBC patients. Compared with the traditional marker IL-6, sCD25 level has greater potential application value in laboratory screening and differential diagnosis of PBC.

Key words: soluble CD25;　interleukin-6;　primary biliary cholangitis

原发性胆汁性胆管炎(PBC)是一种以自身免疫介导的肝内中小胆管的破坏损伤、肝脏门静脉管道的淋巴细胞浸润为主要特征自身免疫性肝病(AILD)[1-2]。该病好发于中老年女性(40～60 岁),其早期临床表现为轻度乏力和间歇性瘙痒,半数患者出现轻度肝大,将近 1/4 患者有脾大的现象[3-4]。血清学主要表现为碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰胺转肽酶(GGT)异常升高,自身免疫性抗线粒体抗体(AMA)或特异性抗核抗体(GP210、SP100)、抗早幼粒细胞白血病蛋白(PML)出现阳性[5-8]。目前为止,治疗 PBC 常用的药物仍然为熊去氧胆酸(UDCA),但经过 UDCA 治疗后,仍有 30%～40%的患者没有达到理想效果[9-10],而 PBC 晚期患者除进行肝移植外,尚无有效治疗方法,而且移植术后复发率较高。目前,PBC 发病机制尚不明确,可能是遗传易感性和环境触发等多因素共同作用引起自身免疫功能紊乱,导致 T 淋巴细胞特异性攻击胆管上皮细胞[11]。可溶性 CD25(sCD25)由白细胞介素(IL)2 受体 α 链(CD25)在免疫激活时脱落形成。因此 sCD25 水平升高被认为是持续免疫反应的标志,可用于监测免疫介导的疾病。在噬血细胞性淋巴组织细胞增生症(HLH)和 T 细胞淋巴瘤等疾病中,sCD25 水平显著增高,并且分别与诊断和预后相关[12-13]。在结节病等肉芽肿病中,sCD25 也可用作监测疾病活动的生物标志物[14]。但在 PBC 患者中 sCD25 的表达水平鲜有文献报道,因此,本研究通过分析 sCD25 和 IL-6 在 PBC 患者血清中的水平及与疾病相关性,探讨 sCD25 在 PBC 临床诊疗中的作用及其潜在价值。

1　资料与材料

1.1　一般资料　将 2021 年 2 月至 2021 年 6 月常熟市第二人民医院收治的 37 例初治 PBC 患者纳入研究作为 PBC 组,其中女性患者 30 例,年龄 40～87 岁,平均 62 岁;男性患者 7 例,年龄 38～72 岁,平均 60 岁。体检健康者 50 例作为对照组,其中女性 35 例,年龄 47～78 岁,平均 63 岁;男性 15 人,年龄 34～71 岁,平均 57 岁。两组间性别构成比、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。PBC 患者纳入标准[15]:同时具备下列 3 条中的 2 条者可诊断为 PBC。(1)血清 ALP、GGT 升高;(2)免疫荧光法 AMA≥1∶40 或者酶联免疫吸附法(ELISA)检测 AMA 呈阳性;(3)肝活检组织病理学显示典型的肉芽肿性胆管炎、汇管区淋巴细胞聚集、小叶间胆管破坏、数目减少,细小胆管增生,可伴有纤维化和肝硬化。排除标准:有病毒性肝炎、药物诱导性肝炎、酒精性肝病、自身免疫性肝炎、原发性硬化性胆管炎者。所有研究对象均签署知情同意书。本研究取得常熟市第二人民医院伦理委员会批准。

1.2　试剂与仪器　－80 ℃超低温冰箱(美国赛默飞公司),离心机(中国香港基因公司),酶标仪(美国赛默飞公司),全自动生化免疫分析仪(德国西门子公司),人源 IL-6 试剂盒(中国和锐公司),印迹法抗核抗体谱检测试剂盒(德国欧蒙公司),多重微珠流式荧光抗核抗体谱检测试剂盒(美国宙斯科技公司),人 sCD25 检测试剂盒(苏州旭光科星抗体生物科技有限公司),ALT、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、GGT 检测试剂(日本世诺公司)、总胆红素(T-Bil)检测试剂盒(中国伊普诺康公司)、ALP(中国九强)。生化试剂均有对应的校准品。

1.3　方法

1.3.1　血清标本采集　清晨患者空腹时,采集 5 mL 外周静脉血,3 000 r/min,离心 10 min,收集上层血清并分装,于－80 ℃超低温冰箱中保存。

1.3.2　ELISA 检测血清中 sCD25 和 IL-6 水平　收集所有受试对象的外周血血清,用双抗体夹心法进行人 sCD25 和 IL-6 的 ELISA 检测,操作过程均按照 ELISA 试剂盒说明书进行检测。最后依据标准品的水平和对应的吸光值建立标准曲线,带入样品的吸光值,计算 sCD25 和 IL-6 的水平。

1.3.3　血清自身抗体和肝功能检测　血清自身抗体和肝功能参考课题组之前采用的方法进行分析[16]。其中自身抗体 AMA 采用多重微球流式荧光法和间接免疫荧光法进行检测,抗核抗体 GP210 和 SP100 采用免疫印迹法进行检测,速率法检测 ALT、AST 和 GGT,NPP 底物-AMP 缓冲液法检测 ALP,氧化法测定 T-Bil。

1.4　统计学处理　用 SPSS22.0 进行数据分析,用 GraphPad. Prism 8.0.1 绘制图片。实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验。计量资料的相关性研究使用 Pearson 分析。ROC 曲线分析 sCD25、IL-6 用于诊断 PBC 中的曲线下面积(AUC)、灵敏度和特异度。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　所有受试者的自身抗体及肝功能指标检测结果　PBC 患者组及对照组的临床生化检测标志物水平见表 1。所有患者的血清 ALP、GGT 的水均显著性升高($P<0.001$),且免疫荧光法检测 PBC 患者的 AMA 均大于 1∶40,ELISA 定量检测 AMA 也均呈阳性(弱阳性),同时满足诊断标准的两点。患者中呈抗核抗体 GP210 阳性者 15 例,抗核抗体 SP100 阳性者 6 例。PBC 患者的其余肝功能指标(AST、ALT、T-Bil)与对照组比较差异有统计学意义($P<0.001$)。

表 1　PBC 患者组及对照组血清生化检测指标比较($\bar{x}\pm s$)

检测指标	PBC 组(n=37)	对照组(n=27)	P
ALT(U/L)	84.7±22.20	20.9±4.36	<0.001
AST(U/L)	80.7±18.64	22.2±5.12	<0.001
ALP(U/L)	245.4±45.10	80.6±12.10	<0.001
GGT(U/L)	202.2±36.30	22.4±5.38	<0.001
T-Bil(μmol/L)	37.9±8.73	13.5±3.19	<0.001

2.2　PBC 组与对照组血清 sCD25 和 IL-6 水平比较　与对照组相比，PBC 组血清中的 sCD25 水平显著上升，差异有统计学意义[(920.6±78.6)pg/mL *vs.* (166 6.7±107.2)pg/mL，P<0.001]。PBC 组血清 IL-6 水平较对照组明显升高，差异有统计学意义[(11.96±0.30)U/L *vs.* (10.71±0.35)U/L，P=0.008]。

2.3　血清中 sCD25 和 IL-6 与 PBC 相关核抗体间的关系　PBC 组抗-GP210 阴性和阳性患者的血清 sCD25 水平均值分别为 1 389.6 pg/mL 和 2 073.1 pg/mL，差异有统计学意义(P<0.001)；抗-SP100 阴性和阳性组血清 sCD25 水平均值分别为 1 590.0 pg/mL 和 2 063.1 pg/mL，差异无统计学意义(P=0.104)。PBC 组抗-GP210 阴性和阳性患者的 IL-6 血清水平均值分别为 11.62 U/L 和 12.45 U/L，差异无统计学意义(P=0.170)；抗-SP100 阴性和阳性组血清 IL-6 水平均值分别 11.87 U/L 和 12.86 U/L，差异无统计学意义(P=0.199)。

2.4　PBC 患者血清 sCD25、IL-6 与肝功能指标的相关性分析　进一步对 PBC 患者血清 sCD25 以及 IL-6 水平与肝功能各指标进行相关性分析，结果显示，血清 sCD25 的水平与 ALT(r=0.459，P=0.028)、AST(r=0.492，P=0.020)、T-Bil(r=0.442，P=0.039)呈正相关，而血清 IL-6 的水平也与 ALT(r=0.540，P=0.006)、AST(r=0.431，P=0.045)、ALP(r=0.506，P=0.012)、T-Bil(r=0.593，P=0.004)呈正相关，见表 2。

2.5　ROC 曲线分析　sCD25 取截断值 1 104 pg/mL 时，灵敏度为 91.89%，特异度为 85.19%；IL-6 取截断值 10.26 U/L 时，灵敏度为 91.43%，特异度为 52.38%，见表 3、图 1。由此可见，sCD25 水平对 PBC 组和对照组具有良好的区分能力，而 IL-6 对 PBC 组和对照组的区分能力则较弱。

表 2　PBC 患者血清 sCD25、IL-6 与肝功能指标相关性

检测指标	ALT		AST		ALP		GGT		T-Bil	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
sCD25	0.459	0.028	0.492	0.020	0.255	0.240	0.300	0.187	0.442	0.039
IL-6	0.540	0.006	0.431	0.045	0.506	0.012	0.342	0.130	0.593	0.004

表 3　sCD25、IL-6 ROC 曲线分析结果

检测指标	曲线下面积	截断值	灵敏度(%)	特异度(%)	95%置信区间	P
sCD25	0.893	1 104 pg/mL	91.89	85.19	0.804～0.982	<0.001
IL-6	0.760	10.26 U/L	91.43	52.38	0.624～0.897	0.001 2

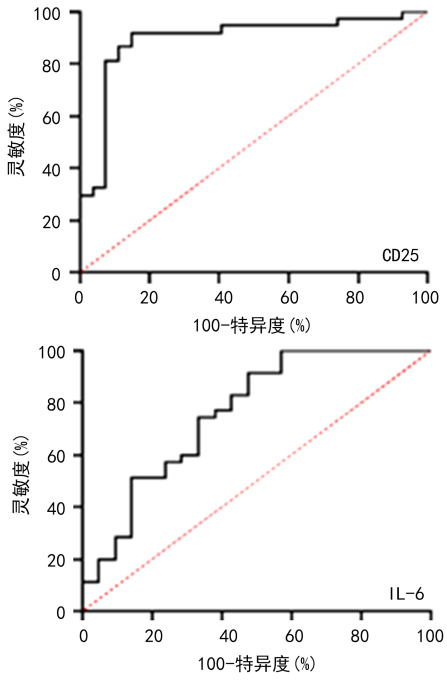


图 1　sCD25、IL-6 的 ROC 曲线分析

3　讨　论

PBC 是一种比较常见的胆汁淤积性肝病，以慢性、进行性、自身免疫为典型特点，其病因和发病机制尚不明确，机体内免疫功能失调可能是引起该病的原因之一[17-18]。研究报道证明多种 Th1、Th2 相关细胞参与了 PBC 的发生、发展[19]。IL-6 常被用作炎症疾病的一种血清标志物，但事实上 IL-6 属于 Th2 型细胞因子，它可参与调节 Th1/Th2 平衡，在很多自身免疫性疾病中也具有重要的临床意义[20-21]。CD25 是 IL-2 的受体 α 链(IL-2Rα)，表达于健康人静止的 T 淋巴细胞表面，诱导 T 细胞的增殖和分化[22]。由于 IL-2 兼有免疫激活和免疫耐受的功能，sCD25 也可以通过调控传统 T 细胞或者调节性 T 细胞来实现免疫激活以及免疫耐受的不同效应[23]。由于自身免疫性疾病患者中 sCD25 水平的增加被认为反映了持续的疾病活动，因此可以预期 sCD25 通过反式激活效应细胞来参与 PBC 的发病过程。本研究发现，PBC 患者血清中 sCD25、IL-6 水平显著性升高，与对照组相比，差异有统计学意义(P<0.05)。将 sCD25 和 IL-6 与

PBC 患者肝功能指标进行 Pearson 相关分析发现，均与 ALT、AST 和 T-Bil 呈正相关（$P<0.05$），这提示着 sCD25 和 IL-6 可能与肝脏病变的进展存在相关性。杨琼等[17]研究了 40 例 PBC 患者中 IL-6 水平与 UDCA 疗效的相关性，结果证明，PBC 患者的血清 IL-6 水平显著升高，而且发现 IL-6 可能参与了 PBC 的发病过程，与本文研究结果一致。

抗-SP100 和抗-GP210 是 PBC 两个重要的特异性抗核抗体，因而本研究还对 sCD25 与 IL-6 的血清学水平与自身抗体之间的关系进行了初步探讨。结果发现，抗-GP210 阳性组的 sCD25 水平较阴性组显著升高（$P<0.05$），但抗-SP100 阳性组的 sCD25 水平较阴性组有增加，但增加无统计学意义（$P>0.05$），原因很可能是由于抗-SP100 阳性组入组患者过少（$n=6$）导致；抗-GP210 和抗-SP100 阳性组的 IL-6 水平与阴性组相比差异均统计学意义（$P>0.05$），说明相较于 IL-6，sCD25 在临床诊断 PBC 中有更高的价值且与 PBC 的临床预后可能存在一定的相关性。ROC 曲线分析发现 sCD25 在 PBC 中曲线下面积为 0.893，高于 IL-6 的 0.761，也提示在 PBC 中 sCD25 比 IL-6 更具有潜在应用价值。

综上所述，PBC 患者 sCD25 水平显著高于对照组，sCD25 与自身抗体抗-GP210 以及患者肝功能指标存在显著的相关性。提示 sCD25 在 PBC 实验室筛查中具有潜在的应用价值。

参考文献

[1] LI H, GUAN Y, HAN C, et al. The pathogenesis, models and therapeutic advances of primary biliary cholangitis [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 140: 111754.

[2] 付海艳，唐映梅. Kupffer 细胞在原发性胆汁性胆管炎发生发展中的作用[J]. 临床肝胆病杂志，2021，37(4)：959-961.

[3] 罗攀月，赵志斌，廉哲雄. 原发性胆汁性胆管炎的发病机制及临床诊疗[J]. 中西医结合肝病杂志，2021，31(4)：303-307.

[4] 徐婧，邱方，李丽，等. 抗 sp100 抗体在原发性胆汁性胆管炎中的研究进展[J]. 临床检验杂志，2021，39(2)：132-134.

[5] TERZIROLI BERETTA-PICCOLI B, MIELI-VERGANI G, VERGANI D, et al. The challenges of primary biliary cholangitis: what is new and what needs to be done[J]. J Autoimmun, 2019, 105: 102328.

[6] 杨文霞，唐映梅. IL-17 在原发性胆汁性胆管炎发病机制中的作用研究进展[J]. 医学研究生学报，2021，34(3)：299-302.

[7] HIRSCHFIELD G M, DYSON J K, ALEXANDER G J M, et al. The British Society of Gastroenterology/UK-PBC primary biliary cholangitis treatment and management guidelines[J]. Gut, 2018, 67(9): 1568-1594.

[8] WARNES T, ROBERTS S, SMITH A, et al. Liver biopsy in primary biliary cholangitis: is sinusoidal fibrosis the missing key[J]. J Clin Pathol, 2019, 72(10): 669-676.

[9] TANG R, WEI Y, LI Y, et al. Gut microbial profile is altered in primary biliary cholangitis and partially restored after UDCA therapy[J]. Gut, 2018, 67(3): 534-541.

[10] ORNOLFSSON K T, LUND S H, OLAFSSON S, et al. Biochemical response to ursodeoxycholic acid among PBC patients: a nationwide population-based study[J]. Scand J Gastroenterol, 2019, 54(5): 609-616.

[11] SAMUR S, KLEBANOFF M, BANKEN R, et al. Long-term clinical impact and cost-effectiveness of obeticholic acid for the treatment of primary biliary cholangitis[J]. Hepatology, 2017, 65(3): 920-928.

[12] LIN M, PARK S, HAYDEN A, et al. Clinical utility of soluble interleukin-2 receptor in hemophagocytic syndromes: a systematic scoping review[J]. Ann Hematol, 2017, 96(8): 1241-1251.

[13] KATSUYA H, SHIMOKAWA M, ISHITSUKA K, et al. Prognostic index for chronic- and smoldering-type adult T-cell leukemia-lymphoma[J]. Blood, 2017, 130(1): 39-47.

[14] SCHIMMELPENNINK M C, QUANJEL M, VORSELAARS A, et al. Value of serum soluble interleukin-2 receptor as a diagnostic and predictive biomarker in sarcoidosis[J]. Expert Rev Respir Med, 2020, 14(7): 749-756.

[15] SCHULZ L, SEBODE M, WEIDEMANN S A, et al. Variant syndromes of primary biliary cholangitis[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2018, 34: 55-61.

[16] 曹季军，李勇，王金湖，等. 原发性胆汁性胆管炎自身抗体定性和定量分析的比较及临床意义[J]. 临床检验杂志，2018，36(10)：738-742.

[17] 杨琼，王璐，周霞，时永全，等. 原发性胆汁性肝硬化患者血清 IL-6 水平与 UDCA 疗效的相关性研究[J]. 现代生物医学进展，2016，16(15)：2855-2859.

[18] HO L J, LUO S F, LAI J H. Biological effects of interleukin-6: clinical applications in autoimmune diseases and cancers[J]. Biochem Pharmacol, 2015, 97(1): 16-26.

[19] NAGANO T, YAMAMOTO K, MATSUMOTO S, et al. Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis [J]. J Clin Immunol, 1999, 19(6): 422-427.

[20] YAO X, HUANG J, ZHONG H, et al. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers[J]. Pharmacol Ther, 2014, 141(2): 125-139.

[21] TANAKA T, NARAZAKI M, OGATA A, et al. A new era for the treatment of inflammatory autoimmune diseases by interleukin-6 blockade strategy[J]. Semin Immunol, 2014, 26(1): 88-96.

[22] LIAO W, LIN J X, LEONARD W J. Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy[J]. Immunity, 2013, 38(1): 13-25.

[23] KLATZMANN D, ABBAS A K. The promise of low-dose interleukin-2 therapy for autoimmune and inflammatory diseases[J]. Nat Rev Immunol, 2015, 15(5): 283-294.

（收稿日期：2022-06-12　修回日期：2022-09-28）