

自身抗体分析在慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断中的价值

卢建溪¹, 钱师宇²

摘要: **目的** 分析多种自身抗体在慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断中的价值。 **方法** 选取 186 例慢性胆汁淤积性肝病的患者, 包括 107 例原发性胆汁性肝硬化(PBC)、48 例原发性硬化性胆管炎(PSC)、18 例 AMA 阳性的自身免疫性肝炎(AIH)、13 例其他肝内胆汁淤积患者, 用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测这些患者血清中传统的抗 AMA-M2、抗 AMA-M2-3E(BPO)IgG、抗 AMA-M2-3E (BPO)IgA、抗 gp210 抗体、抗 Sp100 抗体、抗 PML 抗体、抗 SLA/LP 抗体、抗 ACA 抗体。 **结果** 107 例 PBC 患者抗 M2-3E ELISA 法 AMA-M2 IgG 的检出率为 86.9%。在 AMA-M2 IgG 阳性病人中抗 gp210 和抗 Sp100 抗体明显高于抗 PML 抗体、抗 SLA/LP 抗体、抗 ACA 抗体差别具有统计学意义($P<0.05$)。27 例 AMA-M2 阴性的 PBC 患者中有 11 例患者 AMA-M2 IgG 阳性, 16 例患者存在 AMA-M2-3E IgG、抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体 1 种或几种的组合。抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体只在 PBC 患者和 AMA 阳性的自身免疫性肝炎患者中被检测到, 且抗 gp210 抗体出现在愈后差的患者中。 **结论** AMA 和抗核抗体(ANA)检测在慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断中具有重要作用。

关键词: 自身抗体, 原发性胆汁性肝硬化, 酶联免疫吸附试验

中图分类号: R575.2+2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-9727(2011)11-1303-02

Value of detection of autoantibody in differential diagnosis of chronic cholestatic liver disease. LU Jian-xi, QIAN Shi-yu. (Vaccine Research Institute, The 3rd affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong P. R. China)

Abstract Objectives To evaluate the value of detection of autoantibody in the differential diagnosis of chronic cholestatic liver disease. **Methods** 186 chronic cholestatic liver disease patients, including 107 primary biliary cirrhosis (PBC) patients, 48 primary sclerosing cholangitis (PSC) patients, 18 AMA-positive autoimmune hepatitis (AIH) patients and 13 other chronic cholestatic liver disease patients were investigated for anti-AMA M2, anti-AMA M2-3E(BPO), anti-Sp100, anti-gp210, anti-PML, anti-ACA and anti-SLA/LP by ELISA. **Results** The positive ratio of AMA-M2 IgG in 107 PBC patients was 86.9% using M2-3E ELISA. The gp210 and sp100 antibodies were significantly higher than PML, SLA/LP and ACA antibodies in AMA-M2 IgG positive patients ($P<0.05$). 27 out of 107 PBC patients with were AMA-negative by conventional ELISA. Within these 27 patients, 11 were found to be AMA-positive by the IgG Anti-M2-3E ELISA. Moreover, according to the data from 3 tests (Anti-M2-3E ELISA, Anti-gp210 and Anti-sp100), PBC was confirmed in 16 patients diagnosed with AMA-negative PBC. We confirmed that gp210 and sp100 antibody were detected only in patients with PBC and AMA-positive AIH. **Conclusion** ELISAs for AMAs and antinuclear antibodies are useful in the differential diagnosis of chronic cholestatic liver disease.

Key words: Autoantibodies, Primary biliary cirrhosis (PBC), Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

目前慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断中最常用的自身抗体是抗线粒体抗体(Antimitochondrial antibodies, AMA)和抗核抗体(Antinuclear antibodies, ANA)^[1,2]。AMAM2 亚型是 PBC 的特异性抗体, 疾病早期即可出现^[3,4]。ANA 与慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断有关的抗体包括抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体、以及抗 PML 抗体、抗 SLA/LP 抗体、抗着丝点抗体(ACA)。我们分析了 186 例慢性胆汁淤积性肝病的患者多种自身抗体联合检测的结果, 以探讨多种自身抗体在慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断中的价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 中山大学附属第三医院 2003 年 1 月~2008 年 1 月门诊或住院的慢性胆汁淤积性肝病 186 例, 包括 PBC 患者 107 例, 男性 17 例, 女性 90 例, 年龄 33~75(53 ± 11)岁, 病程中位数 24(0~128)个月。PBC 诊断标准采用 2009 年美国肝病学会 PBC 诊断指南^[5], PSC 患者(内镜逆行胰胆管造影诊断)48 例, 男性 40 例, 女性 8 例, 年龄 27~78(50 ± 13)岁, 病程中位数 20(0~126)个月; AMA 阳性 AIH 患者(符合 AIH-G 标准, 没有 PBC 组织学特征, 同时在常规 ELISA 中为 AMA 阳性, 多年稳定)18 例, 男性 10 例, 女性 8 例, 年龄 23~70(45 ± 11)岁, 病程中位数 23(0~128)个月; 其他肝内胆汁淤积患者(碱性磷酸

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)(No.2007AA021002); 广东省科技计划资助项目(No.2008B030301101)

作者单位: 1. 中山大学附属第三医院疫苗研究所, 广东 广州 510630; 2. 暨南大学医学院, 广东 广州 510632

作者简介: 卢建溪(1968~), 女, 江苏扬州人, 副主任技师, 主要从事病毒性肝炎的耐药研究

酶升高,同时没有 PBC、PSC 或 AIH 的临床诊断结果)13 例,男性 8 例,女性 5 例,年龄 23~65(41±12)岁,病程中位数 20(0~120)个月。

1.2 自身抗体(AMA-M2、AMA-M2-3E(BPO)IgG、AMA-M2-3E(BPO)IgA、抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体、抗 SLA/LP 抗体、抗 ACA 抗体)检测 试剂盒均由德国 Euroimmun 欧蒙公司提供。酶联免疫吸附实验(ELISA)测定步骤严格按照说明书进行。将待测血清做 1:201 稀释,1、2、3 号标准品、阴性、阳性对照、待测血清每孔加入 100μl,置室温 30min,洗涤 3 次,拍干,加酶标抗体 100μl,置室温 30min,洗涤 3 次,拍干,加底物显色液 100μl,室温避光 15min;加终止液 100μl。结果判定采用全自动酶标仪,主波长 450nm,次波长 630nm,测定各孔吸光度(Absorbance, A)值。定性:待测样品 A 值/两次 2 号标准品 A 值的均值<1.0 为阴性,≥1.0 为阳性。定量:<20RU/ml 为阴性,≥20RU/ml 为阳性。

1.3 统计学处理 使用 SPSS12.0 软件包进行统计学分析。对

于符合正态分布的计量数据采取 t 检验,不符合正态分布的采用秩和检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各类慢性胆汁淤积性肝病的患者自身抗体检出情况(见表 1) 107 例 PBC 患者抗 M2-3E ELISA 法 AMA-M2IgG 的检出率(86.9%)显著高于传统的抗-PDC ELISA 法(74.4%)(P<0.05)。在 AMA-M2IgG 阳性病人中抗 gp210 和抗 sp100 抗体明显高于抗 PML 抗体、抗 SLA/LP 抗体、抗 ACA 抗体差别具有统计学意义(P<0.05)。但抗 gp210 和抗 sp100 抗体之间差别无统计学意义(P>0.05)。

2.2 抗体的频率和重叠 107 例 PBC 患者中有 27 例 AMA-M2 阴性的 PBC 患者,在这 27 例 AMA-M2 阴性的 PBC 患者中有 11 例患者 AMA-M2IgG 阳性。16 例患者存在 AMA-M2-3E IgG、抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体 1 种或几种的组合。在 AMA-M2 阴性的 PBC 患者所占比例为 59%。

抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体只在 PBC 患者和 AMA 阳性

表 1 各类慢性胆汁淤积性肝病的患者自身抗体检出情况

组别	例数	AMA-M2 (抗 PDC ELISA) n (%)	AMA-M2 IgG (抗 M2-3E (BPO) ELISA) n (%)	抗 Sp100 抗体 n (%)	抗 gp210 抗体 n (%)	抗 PML 抗体 n (%)	抗 SLA/LP 抗体 n (%)	抗 ACA 抗体 n (%)
PBC	107	80 (74.7)	93 (86.9)	35 (32.7)	42 (39.3)	29 (27.1)	0 (0)	14 (13.3)
PBC (死亡)	11	8 (72.7)	11 (100)	2 (18.2)	5 (45.5)	2 (18.2)	0 (0)	2 (18.2)
PSC	48	0 (0)	2 (4.2)	0 (0)	0 (0)	2 (11.1)	1 (2.1)	1 (2.1)
AIH	18	2 (11.1)	2 (11.1)	2 (11.1)	1 (5.6)	29 (27.4)	2 (11.1)	0 (0)
其他肝内胆汁淤积	13	2 (15.3)	3 (23.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (7.7)

的自身免疫性肝炎患者中被检测到,而在 PSC 患者和其他肝内胆汁淤积患者中未被检测到。在愈后差的患者中抗 gp210 阳性率为 39.8%,明显高于抗 Sp100 抗体、抗 PML 抗体、抗 SLA/LP 抗体、抗 ACA 抗体,差别具有统计学意义(P<0.05)。在 13 例其他肝内胆汁淤积患者中,有 3 例 (27%)AMA-M2-3E IgG 呈阳性。

3 讨论

肝内胆汁淤积包括原发性胆汁性肝硬化(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、妊娠期胆汁淤积、全胃肠外营养导致的胆汁淤积和药物诱导性胆汁淤积等。目前慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断中最常用的自身抗体是抗线粒体抗体和抗核抗体。

本研究发现 M2-3E ELISA 法显著地提高了 PBC 患者群体中 AMA-M2IgG 的检出率。107 例 PBC 患者中有 27 例 AMA-M2 阴性的 PBC 患者,在这 27 例 AMA-M2 阴性的 PBC 患者中有 11 例患者 AMA-M2IgG 阳性。16 例患者存在 AMA-M2-3E IgG、抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体 1 种或几种的组合。在 AMA-M2 阴性的 PBC 患者所占比例为 59%。在 AMA-M2 IgG 阳性病人中抗 gp210 和抗 Sp100 抗体明显高于抗 PML 抗体、抗 SLA/LP 抗体、抗 ACA 抗体差别具有统计学意义(P<0.05)。但抗 gp210 和抗 Sp100 抗体之间差异无统计学意义(P>0.05)。

本研究还发现抗 Sp100 抗体、抗 gp210 抗体只在 PBC 患者和 AMA 阳性的自身免疫性肝炎患者中被检测到,而在 PSC 患者

和其他肝内胆汁淤积患者中未被检测到。抗 gp210 抗体出现在愈后差的患者的比例高于其他患者。这些病人已经死亡或者需要进行肝脏移植,而在临床跟踪的病人中抗 gp210 的出现率为 12%。其他抗体在愈后差的患者与普通患者中的阳性率比较,差异无统计学意义(P>0.05)。

总之,AMA 和抗核抗体(ANA)检测在慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断中具有重要作用。

参考文献:

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

[2] Invernizzi P, Selmi C, Ranftler C, et al. Antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. Semin Liver Dis 2005; 25: 298-310.

[3] Sakanchi F, Mori M, Zeniya M, et al. A cross-sectional study of primary biliary cirrhosis in Japan: utilization of clinical data when patients applied to receive public financial aid[J]. Epidemiol 2005; 15: 24-28.

[4] 卢建溪, 钱师宇, 舒欣, 等. 抗线粒体抗体 M2 亚型 IgG 和 IgA 在原发性胆汁性肝硬化诊断中的作用[J]. 中华肝脏病杂志 2009; 17(12): 905-909.

收稿日期 2011-07-12 编辑:谢永慧