

# 原发性胆汁性肝硬化患者自身抗体测定的意义

刘宁, 谭立明, 董叶, 曹莉萍, 李华, 蔡莉莉, 徐承云

## ■背景资料

原发性胆汁性肝硬化(PBC)是肝内胆管进行性破坏并以慢性胆汁淤积为主要特征的不明原因的疾病。中老年女性多见, 主要表现为肝内胆管进行性破坏伴门脉炎症性改变, 最终导致纤维化及肝硬化。PBC检测正日益受到临床的重视, 其中以自身抗体的检测最为常用, 血清自身抗体的检测对诊断、治疗和阻止原发性胆汁性肝硬化的发展有着十分重要作用。

## ■研究前沿

原发性胆汁性肝硬化患者检测自身抗体对其疾病的诊断有着十分重要的意义, 但还有许多机理不是十分清楚; 对自身抗体的检测目前大多还是定性, 定量检测将是今后研究的热点。

刘宁, 谭立明, 曹莉萍, 李华, 蔡莉莉, 南昌大学第二附属医院检验科 江西省南昌市 330006  
董叶, 南昌大学第二附属医院消化内科 江西省南昌市 330006  
徐承云, 南昌大学第二附属医院肾内科 江西省南昌市 330006  
通讯作者: 谭立明, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院检验科. yuuje@sohu.com  
收稿日期: 2007-03-15 修回日期: 2007-04-21

## Clinical application of autoantibodies in patients with primary biliary liver cirrhosis

Ning Liu, Li-Ming Tan, Ye Dong, Li-Ping Cao, Hua Li, Li-Li Cai, Cheng-Yun Xu

Ning Liu, Li-Ming Tan, Li-Ping Cao, Hua Li, Li-Li Cai, Department of Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China  
Ye Dong, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China  
Cheng-Yun Xu, Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China  
Correspondence to: Li-Ming Tan, Department of Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yuuje@sohu.com  
Received: 2007-03-15 Revised: 2007-04-21

## Abstract

**AIM:** To study the clinical significance of autoantibodies in patients with primary biliary liver cirrhosis (PBC).

**METHODS:** The patients with PBC ( $n = 52$ ), non-PBC ( $n = 202$ ) and healthy physical examination people ( $n = 40$ ) were examined in this research. Autoantibodies against cell nuclei (ANA), smooth muscle (SMA), mitochondria (AMA), heart cells, skeletal muscle, parietal cells, double-stranded DNA, live-kidney microsomes, soluble antigen, and neutrophil cytoplasm were detected by indirect immunofluorescence assay, and anti-myeloperoxidase (MPO) autoantibodies were detected by enzyme-linked immunosorbent assay.

**RESULTS:** AMA positive rate was 88.5% (46/52),

which was the highest positive rate in PBC patients. ANA positive rate was 71.2% (37/52) in PBC patients. In non-PBC patients, 20 (positive rate 9.9%) were positive for AMA and 51 (25.2%) were positive for ANA, and these levels were much lower than those in patients with PBC ( $P < 0.01$ ). AMA and SMA in patients with PBC and autoimmune hepatitis (AIH) were markedly different from each other ( $P < 0.01$ ). However, ANA did not differ between PBC and AIH patients. Among 18 patients with primary sclerosing cholangitis (PSC), six were positive for ANA, seven for AMA, and these rates were lower than those in PBC. The ANA positive rate in hepatitis B and hepatitis C patients was 9.0 and 22.2%, respectively. AMA positive rate in hepatitis B and hepatitis C patients was 7.9 and 3.7%, respectively. These data were significantly different from those in PBC patients ( $P < 0.01$ ). ANCA positive rate was 26.9% (14/52) in PBC patients, followed by MPO (25.0%). After  $\chi^2$  test, both were much higher than those in AIH patients ( $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Determination of serum autoantibodies is important for the diagnosis and treatment of PBC, and is valuable for distinguishing PBC from other diseases.

**Key Words:** Primary biliary cirrhosis; Mitochondrial autoantibodies; Antinuclear autoantibodies; Neutrophil cytoplasmic autoantibodies; Anti-myeloperoxidase; autoantibodies; Indirect immunofluorescence assay; Enzyme-linked immunosorbent assay

Liu N, Tan LM, Dong Y, Cao LP, Li H, Cai LL, Xu CY. Clinical application of autoantibodies in patients with primary biliary liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(21): 2358-2361

## 摘要

**目的:** 探讨自身抗体测定对诊断原发性胆汁性肝硬化(PBC)的临床意义。

**方法:** PBC患者52例和非PBC患者202例, 其中包括自身免疫性肝炎(AIH)41例, 原发性硬化型胆管炎(PSC)18例, 乙型肝炎(HBV)89例, 丙型肝炎(HCV)54例以及健康体检者40例, 采用间接免疫荧光法(IIF)检测抗核抗体

(ANA)、抗平滑肌抗体(SMA)、抗线粒体抗体(AMA)、抗心肌抗体(HRA)、抗骨骼肌抗体(ASA)、抗胃壁细胞抗体(PCA)、抗双链DNA(ds-DNA)抗体、抗肝肾微粒体抗体(LKM)、抗可溶性肝抗原(SLA)抗体和抗中性粒细胞胞质抗体(ANCA)等自身抗体, ELISA法检测抗髓过氧化酶抗体(MPO), 并对其结果进行回顾性分析。

**结果:** PBC患者中AMA阳性例数最高为46例(88.5%), ANA阳性率为71.2%(37/52); 非PBC患者中阳性例数则分别为20例(9.9%)和51例(25.2%), 两组比较, 有非常显著性意义( $P<0.01$ )。AMA、SMA抗体检测在PBC与AIH患者中, 均有非常显著性意义( $P<0.01$ )。但两组之间的ANA阳性率无显著性意义( $P>0.05$ )。PSC患者18例ANA阳性6例, AMA阳性7例均低于PBC患者。HBV、HCV感染患者检测ANA阳性率分别只有9.0%和22.2%; AMA阳性率也只有7.9%和3.7%, 与PBC患者比较均有显著性差异( $P<0.01$ )。PBC患者及对照组检测ds-DNA、ANCA、LKM、SLA和MPO抗体结果显示PBC患者检测最高的ANCA阳性率为26.9%(14/52), 其次是MPO阳性率为25.0%(13/52), 与AIH比较, 均有非常显著性意义( $P<0.01$ )。

**结论:** 血清自身抗体的检测对诊断、治疗和阻止原发性胆汁性肝硬化的发展有着十分重要作用。对提高PBC同其他疾病鉴别诊断和治疗有着非常重要的意义。

**关键词:** 原发性胆汁性肝硬化; 抗线粒体抗体; 抗核抗体; 抗中性粒细胞胞质抗体; 抗髓过氧化酶抗体; 间接免疫荧光法; 酶联免疫测定

刘宁, 谭立明, 董叶, 曹莉萍, 李华, 蔡莉莉, 徐承云. 原发性胆汁性肝硬化患者自身抗体测定的意义. 世界华人消化杂志 2007;15(21):2358-2361  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2358.asp>

## 0 引言

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性进展性自身免疫性疾病, 中老年女性多见, 主要表现为肝内小胆管进行性破坏伴汇管区炎性改变, 最终导致纤维化及肝硬化。过去认为国内很少发病, 而且对PBC的认识非常模糊, 随着医学免疫学的发展和人们认识水平不断提高, 国外文献报道该病患病率呈逐年增加趋势。国内随着检测抗线粒体抗体

(antimitochondrial antibody, AMA)的开展, 关于PBC的报道也越来越多。作者应用免疫荧光法对52例PBC患者及202例非PBC等患者进行了自身抗体检测, 现将结果报告分析如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 52例PBC及202例非PBC患者均为南昌大学第二附属医院2000-01/2006-12月门诊、住院确诊病例, 均符合2000年美国肝病学会(AASLD)诊断建议<sup>[1]</sup>, 52例PBC患者中男9例, 女43例, 年龄14-69岁(平均45岁); 所查各项病毒感染指标均为阴性, 但肝功能均不同程度异常; 202例非PBC分别为自身免疫性肝炎(AIH)41例, 原发性硬化型胆管炎(PSC)18例, 乙型肝炎(HBV)89例, 丙型肝炎(HCV)54例, 男38例, 女164例, 年龄为23-71(平均42); 健康对照组40例, 均为我院体检中心健康体检者, 男15例, 女25例, 年龄22-59(平均37)。ANA、SMA、AMA、HRA、ASA、PCA、ds-DNA、ANCA等自身抗体试剂由德国欧蒙公司生产; MPO采用德国欧蒙公司产生的ELISA法试剂。

**1.2 方法** 所采的被检标本均为空腹不抗凝血2-3 mL, 以2500 r/min速度离心15 min分离血清, 各种自身抗体检测的操作方法严格按试剂说明及我科SOP标准文件进行操作。

**统计学处理** 数据分析均采用SPSS11.5软件进行统计分析, 计数资料行 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

PBC组中AMA阳性率最高88.5%(46/52); 非PBC对照组AMA阳性率为10.4%(21/202), 两组比较, 有显著性差异( $P<0.01$ )(表1)。PBC及非PBC患者检测6种基质片中ANA、SMA、AMA、HRA、ASA和PCA抗体结果显示PBC患者AMA抗体阳性率最高, 为88.5%(46/52); 其次为ANA阳性率71.2%(37/52), 与健康对照组比较, 均有显著性差异( $P<0.01$ )。AMA、SMA抗体检测在PBC与AIH中, 均有非常显著性意义( $P<0.01$ )。但两组之间的ANA阳性率无显著性意义( $P>0.05$ ), 其中PBC患者SMA抗体的阳性率明显低于AIH患者(表2)。PBC患者、非PBC患者及对照组检测ds-DNA、ANCA、LKM、SLA和MPO抗体结果显示PBC患者检测最高的是ANCA阳性率为26.9%(14/52), 其次是MPO阳性率为25.0%(13/52), ANCA和MPO抗体检测在PBC与

### ■相关报道

原发性胆汁性肝硬化患者检测自身抗体相关文章不少, 但都不是十分全面, 而本研究则对其全面报道, 特别是ANCA和MPO等抗体的检测是其关键, 其相关报道甚少。

### ■创新盘点

本研究对原发性胆汁性肝硬化患者血清自身抗体进行了检测, 并对其结果进行了比较的研究, 进一步加深了对原发性胆汁性肝硬化与自身抗体产生关系的认识。其创新之处在于抗MPO抗体的检测。

## ■应用要点

原发性胆汁性肝硬化与自身抗体的产生有着密切的相关性,原发性胆汁性肝硬化患者的血清中常会出现一些特征性的自身抗体,对于与其他各种肝炎鉴别诊断是极为重要的,其中AMA、ANA、MPO和ANCA抗体同原发性胆汁性肝硬化疾病有着密切的关系。

表 1 PBC与非PBC患者检测ANA、AMA及ANCA的检出率比较

分组	n	ANA		AMA		ANCA	
		阳性	%	阳性	%	阳性	%
PBC	52	37 <sup>b</sup>	71.2	46 <sup>b</sup>	88.5	14	26.9
非PBC	202	51	25.2	20	9.9	33	16.3
合计	254	88	34.1	66	26.0	47	18.5

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 非PBC.

表 2 PBC及非PBC患者检测ANA、SMA、AMA、HRA、PCA和ASA抗体结果

疾病	n	ANA		SMA		AMA		HRA		ASA		PCA	
		阳性	%	阳性	%	阳性	%	阳性	%	阳性	%	阳性	%
PBC	52	37	71.2	6 <sup>b</sup>	11.5	46 <sup>b</sup>	88.5	1	1.9	0	0.0	0	0.0
AIH	41	25	61.0	26	63.4	4	9.8	0	0.0	2	4.9	1	2.4
PSC	18	6	33.3	0	0.0	7	38.9	0	0.0	0	0.0	0	0.0
HBV	89	8 <sup>d</sup>	9.0 <sup>d</sup>	1	1.1	7	7.9	0	0.0	1	1.1	0	0.0
HCV	54	12 <sup>d</sup>	22.2 <sup>d</sup>	0	0.0	2	3.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0
对照组	40	2	5.0	0	0.0	1	2.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs AIH; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs PBC.

表 3 PBC患者及非PBC患者检测ds-DNA、ANCA、LKM、SLA和MPO抗体结果

疾病	n	ds-DNA		ANCA		LKM		SLA		MPO	
		阳性	%	阳性	%	阳性	%	阳性	%	阳性	%
PBC	52	1	1.9	14 <sup>b</sup>	26.9	1	1.9	8	15.4	13 <sup>b</sup>	25.0
AIH	41	9	22	25	61.0	4	9.8	4	9.8	26	63.4
PSC	18	1	5.6	8	44.4	0	0.0	0	0.0	7	38.9
HBV	89	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
HCV	54	0	0	0	0.0	1	1.9	0	0.0	0	0.0
对照组	40	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs AIH.

## ■名词解释

髓过氧化物酶(MPO):是存在于中性粒细胞的嗜天青颗粒和单核细胞的溶酶体中,约占中性粒细胞蛋白总量的5%,是分子量为140 KD,等电点为11.0的高阳离子糖蛋白。MPO可以催化过氧化氢( $H_2O_2$ )与氯化铁反应生成次氯酸,在中性粒细胞的氧爆炸产生超氧离子的过程中发挥作用,并可作为抗生素杀灭吞噬的微生物和细菌。

AIH中,差异具有显著性( $P < 0.01$ )(表3)。

## 3 讨论

PBC是一种可能与自身免疫有关的慢性进行性胆汁淤积性肝脏疾病,主要发生于中年女性,病理学表现为非脓性肝内胆管慢性炎症阻塞和汇管区淋巴细胞浸润,从而导致胆汁淤积,发生肝纤维化及肝硬化。PBC患者常同时合并干燥综合征、SLE等其他自身免疫性疾病。ANA、AMA和ANCA等自身抗体是PBC重要的免疫学诊断指标。本研究结果显示PBC患者中ANA37例阳性,阳性率为71.2%、AMA阳性46例,阳性率为88.6%,14例ANCA阳性,阳性率为26.9%,其中AMA阳性率最

高。与其他两组比较,具有显著性意义。

线粒体存在于各种组织细胞,线粒体抗原位于线粒体的内膜和外膜、AMA作为一种自身抗体可进入细胞,并直接与线粒体抗原作用,导致组织细胞的免疫损伤<sup>[2]</sup>。以目前研究表明,许多肝病如PBC、HCV、HEV等与自身免疫反应密切相关,但其发生机制仍未完全明了,Covini *et al*<sup>[3]</sup>认为病毒可能参与激活自身免疫性疾病及自身抗体的产生。目前为止,发现线粒体膜上存在9种自身抗原(M<sub>1-9</sub>),M<sub>2</sub>与PBC关系最大<sup>[4-8]</sup>。

AMA诊断PBC的特异性比较高,为本病最突出的免疫学指标异常,也是最重要的诊断手段。本研究对52例PBC患者进行了AMA的检测结



果阳性46例,阳性率达88.5%,与非PBC组比较差异有非常显著性意义( $P<0.01$ )。与文献报道基本一致<sup>[10-11]</sup>。PBC一般认为是免疫调节紊乱引起的自身免疫性疾病,细胞免疫功能低下,同时有体液免疫功能显著增强,血液中可检测到多种自身抗体<sup>[12]</sup>,特别是AMA对PBC具有重要的早期诊断价值。因此对于长期梗阻性黄疸的患者,尤其是女性患者,在除外肝外梗阻原因后,应及早进行AMA的检测,以便早期明确诊断,降低误诊率。

PBC及非PBC患者检测六种基质片结果显示PBC患者AMA抗体阳性率最高;其次为ANA阳性率为71.2%(37/52),经 $\chi^2$ 检验,AMA抗体检测在PBC与AIH中,有非常显著性意义, $P<0.01$ 。而PBC患者SMA抗体只有6例阳性,阳性率为11.5%,AIH患者SMA抗体阳性则有26例,阳性率为63.4%,明显高于PBC。与文献报道基本一致<sup>[8-9]</sup>。18例PSC患者检测结果显示ANA阳性6例、AMA阳性7例均低于PBC,HBV、HCV患者检测ANA阳性率分别只有9.0%和22.2%;AMA阳性率也只有7.9%和3.7%,与PBC比较均明显低于PBC患者。PBC患者及非PBC患者检测ds-DNA、ANCA、LKM、SLA和MPO抗体结果显示PBC患者检测最高的ANCA阳性率为26.9%(14/52),其次是MPO阳性率为25.0%(13/52),经 $\chi^2$ 检验,ANCA抗体检测在PBC与AIH中,均有非常显著性意义( $P<0.01$ )。ANCA指与中性粒细胞及单核细胞胞质中的溶酶体反应的抗体,常见抗原是PR3和MPO。Sobajima *et al*<sup>[13]</sup>研究发现在AIH中p-ANCA的靶抗原是高泳动类蛋白。p-ANCA是AIH相关自身抗体之一。其靶抗原主要是MPO。部分PSC可检测出该抗体<sup>[14]</sup>,故p-ANCA有助于PSC的诊断,但不是疾病特异性抗体,p-ANCA还可见于AIH、溃疡性结肠炎、克罗恩病和其他疾病。

我们对肝病患者进行自身抗体的检测,结果阳性率均高于对照组。该结果报道的HBV和HCV提示,HBV患者也可以检出自身免疫抗体,其ANA阳性率为9.0%、SMA阳性率为1.1%和AMA阳性率为7.9%;HCV患者ANA阳性率为22.2%、AMA阳性率为3.7%,同HCV可以诱导产生自身免疫抗体的结论相符<sup>[15-16]</sup>。提示自身免疫反应有可能参与了肝病的发病,或是与自身抗体具有共同抗原成份有关。所以,我们对肝病患者进行自身抗体的检测十分必要。

总之,血清自身抗体的检测对诊断、治疗和阻止PBC的发展有着十分重要作用。对提高

PBC在临床上同其他疾病鉴别诊断和治疗有着非常重要的意义。

#### 4 参考文献

- 1 Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 2000; 31: 1005-1013
- 2 卢建溪,邓练贤,李刚,姚春澜,姚集鲁. 肝病患者血清抗线粒体抗体的检测及临床意义. *中华肝脏病杂志* 2002; 10: 220-221
- 3 Covini G, von Muhlen CA, Pacchetti S, Colombo M, Chan EK, Tan EM. Diversity of antinuclear antibody responses in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1997; 26: 1255-1265
- 4 Joplin RE, Neuberger JM. Immunopathology of primary biliary cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 587-593
- 5 Nakajima M, Shimizu H, Miyazaki A, Watanabe S, Kitami N, Sato N. Detection of IgA, IgM, and IgG subclasses of anti-M2 antibody by immunoblotting in autoimmune cholangitis: is autoimmune cholangitis an early stage of primary biliary cirrhosis? *J Gastroenterol* 1999; 34: 607-612
- 6 Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 2000; 31: 1005-1013
- 7 Klein R, Huizenga JR, Gips CH, Berg PA. Antimitochondrial antibody profiles in patients with primary biliary cirrhosis before orthotopic liver transplantation and titres of antimitochondrial antibody-subtypes after transplantation. *J Hepatol* 1994; 20: 181-189
- 8 马东来,张少静,文夫瑞德·斯特克. 自身抗体及其免疫荧光模式. 第1版. 北京: 北京科学技术出版社, 2000: 58-60
- 9 阎惠平, Winfried Stocker, 贺立香, 张世斌, 李秀惠, 董德庄, 赵春惠. 不同肝病患者抗肝抗原自身抗体的研究. *中华微生物学和免疫学杂志* 2002; 22: 522-525
- 10 姜永新. 自身抗体的检测与临床应用. *辽宁医学杂志* 1995; 9: 169-171
- 11 Bassendine MF, Yeaman SJ. Serological markers of primary biliary cirrhosis: diagnosis, prognosis and subsets. *Hepatology* 1992; 15: 545-548
- 12 Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB. Autoimmune cholangitis within the spectrum of autoimmune liver disease. *Hepatology* 2000; 31: 1231-1238
- 13 Sobajima J, Ozaki S, Uesugi H, Osakada F, Inoue M, Fukuda Y, Shirakawa H, Yoshida M, Rokuhara A, Imai H, Kiyosawa K, Nakao K. High mobility group (HMG) non-histone chromosomal proteins HMG1 and HMG2 are significant target antigens of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune hepatitis. *Gut* 1999; 44: 867-873
- 14 Czaja AJ, Homburger HA. Autoantibodies in liver disease. *Gastroenterology* 2001; 120: 239-249
- 15 McMurray RW, Elbourne K. Hepatitis C virus infection and autoimmunity. *Semin Arthritis Rheum* 1997; 26: 689-701
- 16 Manns MP. Hepatotropic viruses and autoimmunity 1997. *J Viral Hepat* 1997; 4 Suppl 1: 7-10

#### ■同行评价

本文采用简介免疫荧光法对52例原发性胆汁性肝硬化(PBC)与202例非PBC患者及健康人的血清进行了多种自身抗体的检测,得出了一些有意义的结果,实验资料可信,对临床工作者具有实际指导意义,有较好的参考价值。

编辑 何燕 电编 何基才