

原发性胆汁性肝硬化AMA-M₂阴性患者的临床及病理特点

李祥金, 杨晋辉

■背景资料

PBC是一种慢性进行性胆汁淤积性肝脏疾病,以肝内中小胆管非化脓性炎症为特征,中老年女性多见,男女比例约为1:8。本病目前尚无治愈的方法,但早期及时治疗能改善生化指标及肝脏组织学病变,从而延缓病情进展,一旦进入晚期,则肝移植为唯一可行的治疗手段,因此早诊断早治疗至关重要。抗线粒体抗体M₂亚型(AMA-M₂)一般认为是其特异性抗体,但仍有部分为阴性患者,增加了诊治难度,通过对阴性患者的研究有利于进一步认识PBC,减少误诊。

李祥金, 黄石市第五医院消化内科 湖北省黄石市 435005
杨晋辉, 昆明医学院第二附属医院肝病中心 云南省昆明市 650101

作者贡献分布: 李祥金与杨晋辉对此文所作贡献均等; 此课题由李祥金与杨晋辉设计; 研究过程由李祥金完成; 数据分析由李祥金完成; 本论文写作由李祥金完成; 文章的审阅由杨晋辉完成。

通讯作者: 李祥金, 副主任医师, 435005, 湖北省黄石市, 黄石市第五医院消化内科。lantian123lxj@126.com

电话: 0714-5330202

收稿日期: 2009-03-23 修回日期: 2009-04-15

接受日期: 2009-04-20 在线出版日期: 2009-06-08

Clinical and pathological features of primary biliary cirrhotic patients with negative anti-mitochondria antibody M₂ subtype

Xiang-Jin Li, Jin-Hui Yang

Xiang-Jin Li, Department of Gastroenterology, the Fifth Hospital of Huangshi, Huangshi 435005, Hubei Province, China
Jin-Hui Yang, Center of Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Xiang-Jin Li, Department of Gastroenterology, the Fifth Hospital of Huangshi, Huangshi 435005, Hubei Province, China. lantian123lxj@126.com

Received: 2009-03-23 Revised: 2009-04-15

Accepted: 2009-04-20 Published online: 2009-06-08

Abstract

AIM: To explore the clinical and pathological features of primary biliary cirrhotic (PBC) patients with negative anti-mitochondria antibody M₂ subtype (AMA-M₂).

METHODS: Fifty six PBC cases from the second affiliated hospital of Kunming Medical College between AD 2000 and 2007 were selected. The clinical data (general status, laboratory findings) and pathologic data were reviewed in 22 cases of negative AMA-M₂ antibody. And the clinical data of the negative AMA-M₂ anti-body cases were compared with the positive ones.

RESULTS: The general status and laboratory findings (biochemical data, immune function) of AMA-M₂ antibody negative were compared with the positive ones, with no significant difference observed (all $P > 0.05$). Remarkable changes in bile

ducts, especially in small bile ducts were observed in 22 negative AMA-M₂ antibody cases. Those changes were related to staging. Inflammatory cells, mainly lymphocytes were seen around the bile duct. Remarkable infiltrated inflammatory cells, mainly lymphocytes, even lymphoid follicles were observed in the portal area. Liver cells changed mildly and were non-specific. The changes of different stages existed and intermixed in one sample.

CONCLUSION: Liver biopsy is useful to confirm to diagnosis of PBC with negative M₂ antibody and an important criteria for staging determination.

Key Words: Primary biliary cirrhosis; Anti-mitochondria antibody; Pathology

Li XJ, Yang JH. Clinical and pathological features of primary biliary cirrhotic patients with negative anti-mitochondria antibody M₂ subtype. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(16): 1676-1679

摘要

目的: 探讨原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)中AMA-M₂阴性患者的临床及病理特点。

方法: 2000-2007年昆明医学院第二附属医院PBC患者56例。分析AMA-M₂阴性PBC患者临床资料及病理资料,并与AMA-M₂阳性患者临床资料进行对比。

结果: AMA-M₂抗体阳性与阴性患者间一般资料及血清指标均无显著性差异(均 $P > 0.05$)。22例AMA-M₂阴性PBC患者胆管改变明显,以小胆管最具特征性,其表现与所处的分期有关,胆管周围见炎性细胞浸润,以淋巴细胞为主;汇管区细胞浸润现象明显,以淋巴细胞最为重要,甚至形成淋巴滤泡;肝细胞改变相对较轻,缺乏特异性;同一份标本可见不同时期的改变,各期改变可相互混杂。

结论: 病理组织学是确诊AMA-M₂阴性患者的重要检查,同时是分期的重要标准。

关键词: 原发性胆汁性肝硬化; 抗线粒体抗体; 病理学

■同行评议者

丁惠国, 主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

李祥金, 杨晋辉. 原发性胆汁性肝硬化AMA-M₂阴性患者的临床及病理特点. 世界华人消化杂志 2009; 17(16): 1676-1679
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1676.asp>

0 引言

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性进行性胆汁淤积性肝脏疾病, 以中老年女性多见, 一般认为与自身免疫有关^[1], 但具体病因及发病机制仍不清楚. 抗线粒体抗体M₂型(anti-mitochondrial antibody M₂ subtype, AMA-M₂)是PBC的特异性抗体, 阳性率高, 但仍有部分患者该抗体阴性, 极易误诊. 本研究旨在通过分析探讨PBC中AMA-M₂阴性患者的临床及病理资料, 总结其发病规律, 提高临床诊疗水平.

1 材料和方法

1.1 材料 选自昆明医学院第二附属医院2000-2007年所有PBC患者, 均符合美国肝病学会(AASLD)2000年版PBC诊断指导建议^[2]: (1)碱性磷酸酶(ALP)等反映胆汁淤积的生化指标升高; (2)影像学检查胆管正常; (3)血清抗线粒体抗体(AMA)或AMA-M₂阳性. (4)如果血清AMA/AMA-M₂阴性, 病理检查符合PBC改变. 其中AMA-M₂阴性患者符合(1)(2)(4)条, 患者共22例, 平均53.55±15.15岁, 其中女18例, 平均52.78±14.91岁, 男4例. 对照组为AMA-M₂阳性患者34例, 年龄56.56±11.16岁, 其中女27例, 男7例. 病例组黄疸14例(63.64%)、疲乏12例(54.55%)、纳差11例(50%)等. 对照组黄疸21例(61.76%)、疲乏17例(50.00%)、纳差13例(38.24%).

1.2 方法

1.2.1 血清指标检测: 所有病例均采集清晨空腹肘静脉血, 分离血清待检. ALP、γ-谷氨酰转氨酶(GGT)、总胆汁酸(TBA)、总胆红素(TBIL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)等均采用日立7170A型全自动生化分析仪检测.

自身免疫性肝病谱采用免疫印迹技术测定: AMA-M₂、酸性磷酸化蛋白(SP100)、抗肝/肾微粒体抗体1型(LKM1)、抗核心蛋白抗体(gp210)、抗肝细胞质抗原1型(LC1)、抗可溶性肝抗原(SLA); 抗核抗体(ANA)及抗双链DNA(DSDNA)采用间接免疫荧光法检测; IgG、IgA、IgM、C₃、C₄采用速率散射比浊法.

1.2.2 影像学检查: 所有对象均行影像学检查(B

超、CT、MRI或MRCP)显示胆管.

1.2.3 肝组织病理学检查: 在B超引导下采用活检枪快速穿刺法取肝组织, 标本长1.2-1.5 cm, 镜下至少包括6个汇管区. 100 g/L中性甲醛溶液固定, 送昆明医学院病理教研室经石蜡包埋, 制成厚度为5 μm的切片, 常规HE染色、网状纤维染色等处理后, 采用同一标准阅片.

统计学处理 计数资料以例数或百分比进行描述, 计量资料中正态分布资料以mean±SD表示, 偏态分布资料以中位数表示. 组间比较: 计量资料采用独立样本均数的 t 检验或Wilcoxon秩和检验, 计数资料采用 χ^2 检验. 应用SPSS13.0统计软件包进行统计分析, $\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 血清生化指标 2组患者间, 血清生化指标无统计学差异(表1).

2.2 自身免疫性肝病谱抗体及其他抗体阳性者病例组ANA: 9例(40.91%), gp210: 2例(9.09%), Sp100: 1例(2.94%), LKM: 2例(9.09%), LC1: 1例(4.55%), DSDNA: 1例(4.55%), SLA: 0例. 其中有2例患者存在M₂抗体阳性-阴性变动现象.

2.3 免疫功能 2组患者间, 血清免疫球蛋白及补体比较无统计学差异(表2).

2.4 影像学检查 患者均示胆管正常.

2.5 肝组织学检查 22例患者行肝穿刺活体组织学检查, 均见特征性表现. 其中 I 期1例(4.5%), II 期4例(18.2%), III期4例(18.2%), IV期13例(59.1%). 可见: 小叶间胆管改变100%(减少、消失、增生、变性坏死等), 界板胆管改变71.0%(减少或消失、变性坏死、增生等), 汇管区细胞浸润现象100%(所有均见淋巴细胞, 甚至形成淋巴滤泡, 其他见浆细胞、中性粒细胞等), 胆管周围亦见细胞浸润(淋巴细胞为主), 肝细胞改变轻微(水肿为主, 尚见点灶状坏死、嗜酸性改变、脂肪变性等).

3 讨论

PBC是一种慢性进行性胆汁淤积性肝脏疾病, 以肝内中小胆管非化脓性炎症为特征, 中老年女性多见, 男女比例约为1:8^[3]. 本病目前尚无治愈的方法, 但早期及时治疗能改善生化指标及肝脏组织学病变, 从而延缓病情进展, 一旦进入晚期, 则肝移植为唯一可行的治疗手段, 因此早诊断早治疗至关重要^[4]. 但因本病早期临床表现不典型及临床重视程度不够、诊断水平等原因,

■ 研发前沿

原发性胆汁性肝硬化(PBC)是一种慢性进行性胆汁淤积性肝脏疾病, 以中老年女性多见, 一般认为与自身免疫有关, 但具体病因及发病机制仍不清楚.

■相关报道

大多数学者认为,符合诊断标准的AMA或M₂抗体阳性者,可确诊为PBC。但对AMA或AMA-M₂阴性者,目前仍未有统一意见。

表 1 患者血清生化指标比较

检测指标	对照组	病例组	t值	P值
ALT (U/L) ¹	97	59	-0.746	0.455
AST (U/L) ¹	135	84	-1.244	0.213
ALP (U/L)	256.32 ± 122.69	220.88 ± 165.44	0.817	0.419
GGT (U/L)	255.16 ± 194.64	259.00 ± 271.19	-0.055	0.957
TBA(μmol/L) ¹	36.30	39.7	-0.367	0.713
TBIL (μmol/L) ¹	48.80	30.10	-0.794	0.427

¹: 偏态分布资料, 中位数表示, 应用Wilcoxon秩和检验。

误诊率仍高居不下, 浪费了大量医疗资源^[5]。一般认为PBC与自身免疫有关^[1], 病因可能涉及遗传^[6]、感染^[7]及环境^[8]等因素, 但具体病因及发病机制尚未明确。

PBC的一个重要特征是一些血清抗体阳性: AMA是PBC的标志性抗体, 共分为M1-M9 9个亚型, 其中M₂为PBC特异性抗体。AMA-M₂在PBC发病中的可能有重要作用: (1)阳性率高达95%^[9], 甚至有报道阳性率可为95%-100%; (2)AMA-M₂在无症状的体检者中可出现, 多年后大多数发展为PBC患者; (3)已有实验^[10]证实M₂抗原可诱导建立小鼠PBC模型, 其生化与病理特征和人类相似, 进一步证实了AMA-M₂在PBC发病中的重要作用。ANA是自身免疫性疾病的一类重要抗体, 是AMA阴性患者的一项重要标志^[11]。ANA有多种亚型: 核膜型、着丝点型、颗粒型、均质型及核点型等。其中核膜型(nuclear envelope, NE)和多核点型(multiple nuclear dots, MND)被认为是PBC特异性抗体。核膜型主要包括抗gp210等, 特异性高, 与疾病的活动度和严重性相关^[12]。多核点型主要包括SP100, 目前认为^[11]抗-SP100是PBC特异性自身抗体。本次研究中3例AMA-M₂阴性而gp210(2例)或SP100(1例)阳性患者均经病理学确诊, 支持二者是PBC特异性抗体的观点, 是AMA-M₂阴性者较好的补充指标。其他自身免疫性肝病抗体如LKM1, LC1临床意义均与AIH相关, PBC中阳性率低, 对PBC诊断意义不大。

大多数学者认为, 符合诊断标准的AMA或M₂抗体阳性者, 可确诊为PBC。但对AMA或AMA-M₂阴性者, 目前仍未有统一意见。有些作者^[13]认为属另外一种疾病, 即自身免疫性胆管炎(autoimmune cholangitis, AIC); 但有人认为属于AMA阴性的PBC, 是一个亚型。本研究中患者

表 2 患者血清免疫球蛋白及补体 (g/L)

检测指标	对照组	病例组	t值	P值
IgG	18.68 ± 4.98	14.59 ± 3.11	1.269	0.253
IgA	3.89 ± 1.63	3.61 ± 1.82	1.031	0.351
IgM	5.57 ± 3.74	2.57 ± 2.13	1.034	0.302
C ₃	1.11 ± 0.16	0.84 ± 0.31	0.732	0.465
C ₄	0.20 ± 0.05	0.16 ± 0.06	1.098	0.310

AMA-M₂阴性者占一定比例, 为39.29%(22/56)。通过比较AMA-M₂阳性组和阴性组发现: 二者性别、年龄、生化资料、免疫功能等方面均无差别, 与文献相符^[14-15]; 另外, 与Masuda *et al*^[16]报道相似, 有2例患者存在AMA-M₂阳性-阴性变动现象, 具体原因有待进一步研究。根据以上2点, 所以我们认为AMA-M₂阴性者仍属于PBC, 至于与阳性者是否有不同的发病机制有待进一步研究。

AMA-M₂阳性或阴性患者, 肝组织病理仍是诊断的金标准。PBC组织病理主要表现为中小胆管的非化脓性肉芽肿性炎症, 一般分4期^[17]: I期: 破坏性胆管炎期; II期: 胆管增生期; III期: 瘢痕期; IV: 肝硬化期。研究中发现, AMA-M₂抗体阴性与阳性患者肝脏病理改变均有以下特点: (1)胆管改变明显, 以小胆管最具特征性(100%), 其表现与所处的分期有关; 界板胆管亦有类似改变, 但无特异性; 胆管周围见炎性细胞浸润, 以淋巴细胞为主。(2)汇管区细胞浸润现象明显, 以淋巴细胞最为重要(100%), 甚至形成淋巴滤泡; 其他尚可见浆细胞、中性粒细胞等。(3)肝细胞改变相对较轻, 缺乏特异性。(4)同一份标本中常可见不同时期的改变, 各期改变可相互混杂, 如III、IV期标本中, 可见胆管破坏、胆管增生等I、II期表现。所以对AMA-M₂抗体阴性者, 病理学检查十分重要。主要意义为: 对AMA-M₂阴性患者有确诊意义; 对病程进行分期, 从而指导进一步治疗。因而我们临床医生一定要重视病理学检查的作用, 尤其对不明原因的肝损伤患者, 尽量完善组织学检查。

本研究通过分析22例PBC中AMA-M₂阴性患者的临床及病理特点得出: AMA-M₂阴性的PBC患者占一定比例, 仍以中老年女性为主; 血清指标对AMA-M₂阴性的患者仍有诊断价值, 尤其是ANA; 存在AMA-M₂阳性-阴性变动现象; M₂抗体阳性与阴性患者临床上无显著差别, 二者属于同一种疾病; 病理组织学是确诊AMA-M₂阴性患者的重要检查, 同时是分期的重要标准。

4 参考文献

- 1 叶维法, 钟振义. 临床肝胆病学. 天津: 天津科学技术出版社, 1998: 813
- 2 Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 2000; 31: 1005-1013
- 3 Sakauchi F, Mori M, Zeniya M, Toda G. 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 Pares A, Rodes J. Natural history of primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis* 2003; 7: 779-794
- 5 姚光弼. 重视原发性胆汁性肝硬化的临床研究. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 325-326
- 6 Invernizzi P, Battezzati PM, Crosignani A, Perego F, Poli F, Morabito A, De Arias AE, Scalapogno M, Zuin M, Podda M. Peculiar HLA polymorphisms in Italian patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2003; 38: 401-406
- 7 Padgett KA, Selmi C, Kenny TP, Leung PS, Balkwill DL, Ansari AA, Coppel RL, Gershwin ME. Phylogenetic and immunological definition of four lipoylated proteins from *Novosphingobium aromaticivorans*, implications for primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 2005; 24: 209-219
- 8 Howel D, Fischbacher CM, Bhopal RS, Gray J, Metcalf JV, James OF. An exploratory population-based case-control study of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2000; 31: 1055-1060
- 9 Neuberger J, Thomson R. PBC and AMA--what is the connection? *Hepatology* 1999; 29: 271-276
- 10 姜小华, 仲人前, 方晓云, 安峰, 胡寅, 汪修平, 孔宪涛. 抗线粒体抗体M2抗原诱导小鼠原发性胆汁性肝硬化模型的建立. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 202-204
- 11 Muratori P, Muratori L, Ferrari R, Cassani F, Bianchi G, Lenzi M, Rodrigo L, Linares A, Fuentes D, Bianchi FB. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 431-437
- 12 Invernizzi P, Podda M, Battezzati PM, Crosignani A, Zuin M, Hitchman E, Maggioni M, Meroni PL, Penner E, Wesierska-Gadek J. Autoantibodies against nuclear pore complexes are associated with more active and severe liver disease in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2001; 34: 366-372
- 13 Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB. Autoimmune cholangitis within the spectrum of autoimmune liver disease. *Hepatology* 2000; 31: 1231-1238
- 14 张福奎, 贾继东, 钱林学, 王宇, 崔焱, 欧晓娟, 尹珊珊, 马红, 王宝恩. 抗线粒体抗体阴性原发性胆汁性肝硬化的临床特征. 肝脏 2002; 7: 150-152
- 15 Muratori P, Muratori L, Gershwin ME, Czaja AJ, Pappas G, MacCariello S, Granito A, Cassani F, Loria P, Lenzi M, Bianchi FB. 'True' antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis, low sensitivity of the routine assays, or both? *Clin Exp Immunol* 2004; 135: 154-158
- 16 Masuda J, Omagari K, Matsuo I, Kinoshita H, Sakimura K, Hazama H, Ohba K, Isomoto H, Murase K, Murata I, Kohno S. Changes in titers of antimitochondrial and antinuclear antibodies during the course of primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 239-243
- 17 Ludwig J. The pathology of primary biliary cirrhosis and autoimmune cholangitis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2000; 14: 601-613

■同行评价

本研究选题尚可, 对临床医师有较好的参考价值.

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志标点符号用法

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体. (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-08)