714 例疑似自身免疫性肝病患者相关自身抗体的检测*

王明珠[1]，张 华[2]**，刘 强[2]，李红梅[2]，刘水和[3]
（1. 贵阳医学院 医学检验学院 临床检验教研室，贵州 贵阳 550004；2. 贵阳医学院附属贵州省人民医院 检验科，贵州 贵阳 550002；3. 贵阳医学院附属贵州省人民医院 中心实验室，贵州 贵阳 550002）

［摘 要］**目的**：观察在疑似自身免疫性肝病（AILD）患者相关自身抗体的阳性率及自身免疫性肝病检出率。**方法**：采用间接免疫荧光法检测 714 例疑似 AILD 患者血清标本中的抗线粒体抗体（AMA）、抗核抗体（ANA）及抗平滑肌抗体（SMA），免疫印迹法检测抗线粒体抗体亚型－丙酮酸脱氢酶复合物（AMA-M2）、抗肝肾微粒体抗体（LKM-1）、肝细胞溶质抗原 I 型抗体（LC-1）、可溶性肝抗原/肝胰抗原抗体（SLA/LP），并查阅临床资料进行确诊。**结果**：ANA、AMA、SMA、AMA-M2、LC-1、SLA/LP 、LKM-1 阳性率分别为 37. 67%、11. 34%、1. 97%、16. 94%、1. 68%、1. 40%、0. 56%，确诊原发性胆汁性肝硬化（PBC）68 例（9. 52%），自身免疫性肝炎（AIH）疑似患者 4 例（0. 56%），未检出原发性胆管炎（PSC）患者。**结论**：AILD 中，以 PBC 最常见，间接免疫荧光法和免疫印迹法联合应用检测自身抗体可减少 AILD 的漏诊。

［关键词］自身免疫疾病；肝炎，自身免疫性；肝硬化，胆汁性；胆管炎，硬化性；自身抗体
［中图分类号］R575. 1；R575. 7 ［文献标识码］A ［文章编号］1000-2707（2015）05-0497-03

Detection of Autoimmune Liver Disease Autoantibody in 714 Patients

WANG Mingzhu[1], ZHANG Hua[2], LIU Qiang[2], LI Hongmei[2], LIU Shuihe[3]
(*1. Department of Clinical Laboratory Medicine, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Department of Laboratory Medicine, People's Hospital Affiliated to Guiyang Medical College, Guiyang 550002, Guizhou, China; 3. Central Laboratory, People's Hospital Affiliated to Guiyang Medical College, Guiyang 550002, Guizhou, China*)

［**Abstract**］**Objective**: To investigate the positive rate of autoantibody of suspected autoimmune liver diseases (AILD) patients and the detection rate of AILD. **Methods**: A total of 714 patients were examined for AMA, ANA and SMA by immunofluorescent assay (IFA). AMA-M2, LC-1, SLA/LP, LKM-1 were detected by immunoblotting and diagnosed by accessing to clinical materials. **Results**: The positive rates of ANA, AMA, SMA, AMA-M2, LC-1, SLA/LP and LKM-1 were 37. 67%、11. 34%、1. 97%、16. 94%、1. 68%、1. 40% and 0. 56% respectively. 68 cases (9. 52%) were found to be primary biliary cirrhosis (PBC), 4 cases (0. 56%) were suspected autoimmune hepatitis (AIH), Primary sclerosing cholangitis (PSC) was not detected. **Conclusions**: PBC is the most common AILD. Detection of autoantibody with IFA and Western blotting can avoid AILD misdiagnosis.

［**Key words**］autoimmune diseases; hepatisis, autoimmune; liver cirrhosis, biliary; cholangitis, sclerosing; autoantibodies

自身免疫性肝病（autoimmune liver diseases, AILD）是一组病因和发病机制尚不完全清楚、可能与自身免疫有关的肝脏疾病，临床常见的主要有自身免疫性肝炎（autoimmune hepatitis, AIH）、原发性胆汁性肝硬化（primary biliary cirrhosis, PBC）及原发性硬化性胆管炎（primary selerosing cholangitis, PSC）[1]。早期诊断及治疗对控制 AILD 发展及预后至关重要，检测自身抗体对疾病诊断具有重

*［基金项目］贵州省科技厅社会攻关计划项目［黔科合 LH 字（2014）7008 号］
**通信作者 E-mail：780837482@ qq. com
网络出版时间：2015－05－21 网络出版地址：http://www. cnki. net/kcms/detail/52. 5012. R. 20150521. 1306. 025. html

要价值,本研究分析 714 例 AILD 相关自身抗体检测结果。

1 材料与方法

1.1 对象

2011 年 1 月 ~ 2014 年 3 月 疑似 AILD 患者 714 例,男性 256 例,女性 458 例,15 ~ 90 岁。PBC 的诊断参照 2009 年美国肝病学会(AASLD)修订的 PBC 的临床诊断指南,AIH 的诊断参照 2008 年国际自身免疫性肝炎小组(IAIHG)提出的 AIH 简化诊断积分系统。

1.2 自身抗体检测

间接免疫荧光法(FA1800 - 1010 - 2 自身抗体谱 IgG 检测试剂盒,购自德国欧蒙医学诊断股份公司)检测血清抗线粒体抗体(AMA)、抗核抗体(ANA)、抗平滑肌抗体(SMA),严格按照说明书操作,以抗体滴度 ≥ 1∶100 为阳性。免疫印迹法(DL1300 - 1601 - 3G 抗肝抗原谱抗体 IgG 检测试剂盒,购自德国欧蒙医学诊断股份公司)检测患者血清中抗线粒体抗体亚型 - 丙酮酸脱氢酶复合物(AMA-M2)、抗肝肾微粒体抗体(LKM-1)、肝细胞溶质抗原 I 型抗体(LC-1)、可溶性肝抗原/肝胰抗原抗体(SLA/LP),严格按照说明书操作。在 EUROLineScan 印迹法判读软件中读取结果,以半定量(+)为阳性。

2 结果

2.1 自身抗体

2.1.1 间接免疫荧光法 AMA 阳性 81 例(11.34%),滴度为 1∶100 有 8 例(1.12%),1∶320 有 60 例(8.40%),1∶1 000 有 13 例(1.82%);SMA 阳性 14 例(1.97%),滴度 1∶100 有 10 例(1.41%),1∶320 有 4 例(0.56 %)。见表 1。

表 1 间接免疫荧光法检测 714 例疑似 AILD 患者自身抗体检出情况

Tab. 1 Test results of autoantibody of 714 suspected AILD patients with immunofluorescent assay

自身抗体	阳性(*n*,%)
ANA	269(37.67)
AMA	81(11.34)
SMA	14(1.97)
合计	364(50.98)

2.1.2 免疫印迹法 免疫印迹法自身抗体阳性检出情况见表 2,抗体半定量表达情况见表 3。

表 2 免疫印迹法检测 714 例疑似 AILD 患者自身抗体检出情况

Tab. 2 Test results of autoantibody of 714 suspected AILD patients with immunoblotting

自身抗体	阳性(*n*,%)
AMA-M2	121(16.94)
LC-1	12(1.68)
SLA/LP	10(1.40)
LKM-1	4(0.56)
AMA-M2 合并 SMA	2(0.28)
AMA-M2 合并 LC-1	1(0.14)
合计	150(21.00)

表 3 免疫印迹法检测 714 例疑似 AILD 患者自身抗体半定量表达(*n*,%)

Tab. 3 Autoantibody semiquantitative results of 714 suspected AILD patients with immunoblotting

自身抗体	阳性	自身抗体半定量		
	(*n*,%)	+	+ +	+ + +
AMA-M2	121(16.94%)	25(3.50%)	25(3.50%)	71(9.94%)
LC-1	12(1.68%)	5(0.70%)	5(0.70%)	2(0.28%)
SLA/LP	10(1.4%)	7(0.98%)	0(0.00%)	3(0.42%)
LKM-1	4(0.56%)	4(0.56%)	0(0.00%)	0(0.00%)

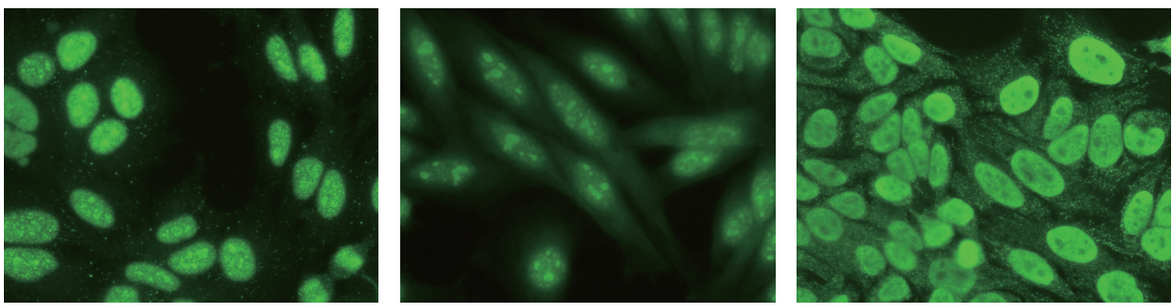
2.2 自身抗体与自身免疫性肝病临床诊断

714 例患者中,确诊 PBC 患者 68 例,AMA 滴度 1∶100 有 4 例(5.88%),1∶320 有 51 例(75.00%),1∶1 000 有 13 例(19.12%),AMA-M2 半定量(+ +)有 1 例(1.47%),其余均为(+ + +)(98.53%),AMA 滴度和 AMA-M2 半定量表达情况见表 4。诊断为 AIH 患者(2008 年 IAIHG 诊断积分系统评分 =6 分)4 例,其中 SMA 阳性 1 例,SLA/LP 阳性 2 例,LC-1 阳性 1 例,ANA 均为阳性;ANA 荧光模型 1 例呈单一性,3 例呈混合型,分别为核仁型 + 核颗粒型,核仁型 + 胞浆颗粒型,核颗粒型 + 胞浆颗粒型(图 1)。

表 4 PBC 患者 AMA 滴度和 AMA-M2 半定量表达(*n*,%)

Tab. 4 The results of AMA titers and AMA-M2 semiquantitative expression in PBC patients

AMA 滴度	*n*	AMA-M2 半定量		
		+	+ +	+ + +
1∶100	4	0(0.00%)	0(0.00%)	4(5.88%)
1∶320	51	0(0.00%)	1(1.47%)	50(73.53%)
1∶1 000	13	0(0.00%)	0(0.00%)	13(19.12%)
合计	68	0(0.00%)	1(1.47%)	67(98.53%)



A. 核仁型 + 核颗粒型　　B. 核仁型 + 胞浆颗粒型　　C. 核颗粒型 + 胞浆颗粒型

图 1　3 例疑似 ATH 患者 ANA 混合型荧光图

Fig. 1　The ANA mixed fluorescent patterns of 3 AIH suspected patients

3　讨论

我国是慢性肝炎的高发区，虽然以病毒性肝炎为主，但约有 20% 左右的患者病毒性肝炎指标阴性，肝功能生化指标却持续异常。随着自身抗体检测技术的不断提高，越来越多的 AILD 患者得到诊断。本研究中以 ANA、AMA 和 AMA-M2 检出率较高。ANA 阳性率高，可归纳为以下几种情况，ANA 阳性可出现在 I 型 AIH 患者中，多数 PBC 患者也可伴有高滴度的 ANA；AILD 常有其他的自身免疫病如类风湿性关节炎，干燥综合征等伴随，导致高滴度 ANA[2-3]。AIH、PBC 和 PSC 临床症状和病理学各有特点，其治疗及预后也有差别。研究证实，3 者之间有交叉重叠，可出现临床上的“重叠综合征”[4-6]；本资料中有 2 例患者 AMA-M2 阳性合并 SMA 阳性，1 例 AMA-M2 阳性并 LC-1 阳性，提示有重叠综合征的可能，因两种自身免疫性肝病重叠时的治疗方法有所不同，故明确诊断尤为重要。AMA 为 PBC 特异性指标，其 M2 亚型诊断 PBC 的特异性最高[7-8]。但本研究资料中出现 AMA 与 AMA-M2 的不一致性，提示联合间接免疫荧光法和免疫印迹法联合检测可避免单一方法检测出现的漏诊。

本研究中 PBC 及 AIH 可能患者的检出率分别为 9.52%、0.56%，PBC 的检出率较文献报道高，而 AIH 较文献偏低[9-10]。AIH 可根据自身抗体靶抗原的不同，分为 3 型，分别为 ANA 和（或）SMA 阳性的 AIH-I 型，LC-1 或 LKM-1 阳性的 AIH-II 型，SLA/LP 阳性的 AIH-III 型[11-12]。由于各亚型临床表现不同，且病毒性肝炎、非酒精性脂肪性肝病、Wilson 病、药物性肝损害等也能出现类似 AIH 的生物化学表现或自身抗体阳性，因此 AIH 诊断相对较困难[13]。据 IAIHG 诊断评分系统（2008 年），AIH 的诊断需从自身抗体、血清 IgG 水平、肝组织学表现及是否排除病毒性肝炎 4 个方面评分[14]；查阅本研究患者临床病历资料发现，95% 患者拒绝肝脏组织学的检查，这导致了部分 AIH 患者的漏诊。有学者认为对于高度怀疑 AIH 但又不满足诊断评分标准的患者，强烈建议进行肝组织活检以帮助诊断，实现早诊断、早治疗，可改善患者的生存质量。

鉴于自身免疫性肝病是一种严重损害肝实质的自身免疫性疾病，病情重，进展快，临床表现无特异性，且分型多易漏诊，故联合检测自身抗体及组织病理活检的开展，对自身免疫性肝病的早期发现和临床诊断有重要意义。

4　参考文献

[1] 贾继东. 自身免疫性肝病的基本概念和诊断思路[J]. 中华肝脏病杂志，2005(1):54.

[2] 林菊生，余金铃. 自身免疫性肝病重叠综合症的临床诊治进展[J]. 中华肝脏病杂志，2010(5):332 - 334.

[3] Mallo-Gonzalez N，Lopez-Rodriguez R，Campos-Franco J，et al . The autoimmune hepatitis-primary cirrhosis overlap syndrome：a case report[J]. An Med Interna，2008(5):122 - 124.

[4] 郑盛，杨晋辉. 自身免疫性肝炎 - 原发性胆汁性肝硬化重叠综合症的临床特征及诊疗分析[J]. 中国全科医学，2012(18):3710 - 3713.

[5] 林菊生，余金铃. 自身免疫性肝病重叠综合症的临床诊治进展[J]. 中华肝脏病杂志，2010(5):332 - 334.

[6] 张会爱，王邦茂，章明放，等. 自身免疫性肝病临床病理特征分析 28 例[J]. 世界华人消化杂志，2008(29):3338 - 3342.

（下转第 503 页）

ducing allogeneic blood exposure[J]. Vox Sang, 2003(1):2-10.
[5] Dunn CJ, Goa KL. Tranexamic acid: a review of its use in surgery and other indications[J]. Drugs, 1999(6):1005-1032.
[6] 中华医学会骨科学分会. 预防骨科大手术深静脉血栓形成指南(草案)[J]. 中国矫形外科杂志, 2009(2):118-119.
[7] Gross J B. Estimating allowable blood loss: corrected for dilution[J]. Anesthesiology, 1983(3):277-280.
[8] Shakur H, Roberts I, Bautista R, et al. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2010(9734):23-32.
[9] Rosencher N, Kerkkamp HE, Macheras G, et al. Orthopedic Surgery Transfusion Hemoglobin European Overview (OSTHEO) study: blood management in elective knee and hip arthroplasty in Europe[J]. Transfusion, 2003(4):459-469.
[10] Bierbaum BE, Callaghan JJ, Galante J O, et al. An analysis of blood management in patients having a total hip or knee arthroplasty[J]. J Bone Joint Surg Am, 1999(1):2-10.
[11] Lemaire R. Strategies for blood management in orthopaedic and trauma surgery[J]. J Bone Joint Surg Br, 2008(9):1128-1136.
[12] Eroglu A, Uzunlar H, Erciyes N. Comparison of hypotensive epidural anesthesia and hypotensive total intravenous anesthesia on intraoperative blood loss during total hip replacement[J]. J Clin Anesth, 2005(6):420-425.
[13] Zufferey P, Merquiol F, Laporte S, et al. Do antifibrinolytics reduce allogeneic blood transfusion in orthopedic surgery[J]. Anesthesiology, 2006(5):1034-1046.
[14] Borghi B, Casati A, Iuorio S, et al. Effect of different anesthesia techniques on red blood cell endogenous recovery in hip arthroplasty[J]. J Clin Anesth, 2005(2):96-101.
[15] Sehat KR, Evans RL, Newman JH. Hidden blood loss following hip and knee arthroplasty. Correct management of blood loss should take hidden loss into account[J]. J Bone Joint Surg Br, 2004(4):561-565.
[16] Liu XD, Zhang X, Chen Y, et al. Hidden blood loss after total hip arthroplasty[J]. J Arthroplasty, 2011(7):1100-1105.
[17] Huang F, Wu D, Ma G, et al. The use of tranexamic acid to reduce blood loss and transfusion in major orthopedic surgery: a meta-analysis[J]. J Surg Res, 2014(1):318-327.
[18] Ishida K, Tsumura N, Kitagawa A, et al. Intra-articular injection of tranexamic acid reduces not only blood loss but also knee joint swelling after total knee arthroplasty[J]. Int Orthop, 2011(11):1639-1645.
[19] Kim TK, Chang CB, Koh IJ. Practical issues for the use of tranexamic acid in total knee arthroplasty: a systematic review[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2014(8):1849-1858.
[20] Konig G, Hamlin BR, Waters JH. Topical tranexamic acid reduces blood loss and transfusion rates in total hip and total knee arthroplasty[J]. J Arthroplasty, 2013(9):1473-1476.
[21] Martin JG, Cassatt KB, Kincaid-Cinnamon KA, et al. Topical administration of tranexamic acid in primary total hip and total knee arthroplasty[J]. J Arthroplasty, 2014(5):889-894.
[22] 傅峥,张健,姚海. 氨甲环酸对全髋关节置换术隐性失血的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2012(04):359-361.

(2015-03-10 收稿,2015-04-27 修回)
中文编辑: 周　凌; 英文编辑: 赵　毅

(上接第 499 页)

[7] 张洋,李永哲. 原发性胆汁性肝硬化自身抗体谱的检测及临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2009(7):120-122.
[8] 张利方,郑山根,阎有功,等. 58 例原发性胆汁性肝硬化患者自身抗体特征分析[J]. 中国免疫学杂志, 2007(5):471-473.
[9] 刘燕敏,闫惠平,汪俊韬. 肝功能异常患者中自身抗体及自身免疫性肝病的检测[J]. 中华肝脏病杂志, 2004(6):360-362.
[10] 不明原因肝功能异常患者自身抗体的检测及对自身免疫性肝病的临床意义[J]. 重庆医学, 2011(3):239-241.
[11] 马燕,林炳亮,严颖,等. 自身免疫性肝病的回顾性研究[J]. 国际内科学杂志, 2008(35):501-504.
[12] 仲人前,杨再兴,梁艳,等. 自身免疫性肝病的实验室诊断进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2012(5):324-326.
[13] 肖潇,邱德凯,马雄. 自身免疫性肝炎[J]. 中华消化杂志, 2013(1):63-66.
[14] 马雄. 自身免疫性肝炎的临床诊治[J]. 中华肝脏病杂志, 2010(5):323-325.

(2015-01-18 收稿,2015-03-05 修回)
中文编辑: 周　凌; 英文编辑: 赵　毅