

· 老年人免疫疾病专栏 ·

老年原发性胆汁性肝硬化患者抗核抗体特征分析

魏秋静, 李秋霞, 李齐光, 古洁若

(中山大学附属第三医院风湿免疫科, 广州 510630)

【摘要】目的 分析抗核抗体在老年原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者的表现特征。**方法** 应用间接免疫荧光检测70例老年PBC患者及360例对照者的血清抗核抗体(ANA),并应用免疫印迹法检测其抗线粒体抗体M2亚型(AMA-M2)、抗核点型SP100抗体、抗核膜型gp210抗体。**结果** 70例老年PBC患者中有66例ANA阳性(94%),其中43例表现为混合荧光模式。AMA-M2检出率为90%。ANA主要荧光模式对老年PBC患者敏感性88%(62/70),特异性为91.6%(330/360),83.3%ANA滴度 $\geq 1:1000$,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 老年PBC患者ANA的荧光模型主要为核膜型、核点型、着丝点型、胞浆颗粒型,常表现为混合荧光模型,对于老年PBC具有重要的诊断价值。

【关键词】 老年人;肝硬化,胆汁性;抗体,抗核;荧光模型

【中图分类号】 R593.2

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2012.00228

Profiles of antinuclear antibodies in senile primary biliary cirrhosis patients

WEI Qiuqing, LI Qiuxia, LI Qiguang, GU Jieruo

(Department of Rheumatology and Immunology, Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

【Abstract】Objective To analyze the profiles of antinuclear antibody(ANA) in senile primary biliary cirrhosis(PBC) patients. **Methods** Indirect immunofluorescence was used to test ANA in the serum samples of 70 senile PBC patients and of 360 aged-matched controls, including 120 health individuals, 80 patients with viral hepatitis, 40 with rheumatoid arthritis, 30 with autoimmune hepatitis, 30 with mixed connective tissue disease, 30 with systemic lupus erythematosus, and 30 with systemic sclerosis. Immunoblot analysis was applied to examine AMA-M2, antinuclear dots pattern SP100 antibody and antinuclear membrane pattern gp210 antibody. **Results** In the 70 senile PBC patients, there were 66 positive with ANA (94%), with 43 cases of mixed immunofluorescence patterns. The positivity rate of AMA-M2 was 90%. For major immunofluorescence patterns of ANA in the senile PBC, the sensitivity was 88% (62/70), and the specificity was 91.6% (330/360). More over, 83.3% of senile PBC patients had ANA titer $\geq 1:1000$, which was significantly different from the controls ($P < 0.01$). **Conclusion** Immunofluorescence patterns of ANA in senile PBC patients are nuclear membrane pattern, nuclear dots pattern, centromere pattern and cytoplasm speckled pattern, and they usually present as mixed immunofluorescence pattern. ANA is of great value in the diagnosis of senile PBC.

【Key words】 elderly; cirrhosis, biliary; antibody, antinuclear; immunofluorescence patterns

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性肝内胆汁淤积性肝脏疾病,其病因和发病机制尚不完全清楚,多见于中老年女性,临床上以黄疸和皮肤瘙痒为主要症状。抗线粒体抗体(anti-mitochondria autoantibodies, AMA)阳性,尤其是其M2亚型(AMA-M2)阳性为PBC主要特征^[1]。PBC作为一个典型的自身免疫性疾病,以血清中出现多种特征性自身抗体为主要标志,对该病发病机制、诊断、治疗及预后均有重要意义。有研究发现,老年PBC患者和较年轻的PBC患者相比,无症状的比例更高^[2],故本研究对老年PBC患者的抗核抗体荧光模式及其代表抗体如AMA-M2亚型、抗核点型SP100抗体、抗核膜型gp210抗体进行特征分析。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2009年6月至2012年6月于中山大学附属第三医院临床诊断为PBC的患者70例,其中女61例,男9例,年龄60~79岁。患者诊断均符合2009年美国肝病学会PBC指导建议规定标准^[3]。另选择年龄相匹配的360例为对照:120例健康对照者、80例病毒性肝炎、40例类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、30例自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、30例混合性结缔组织病(mixed connective tissue disease, MCTD)、30例系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、30例系统性

硬化症 (systemic sclerosis, SSc)。

1.2 实验方法

PBC、AIH患者血清应用间接免疫荧光检测抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA)、抗平滑肌抗体 (anti-smooth muscle antibody, ASMA) 等自身抗体。采用肝脏马赛克 (包括猴肝和心肌、大鼠肝、胃、肾脏和Hep-2细胞) 为组织基质; 试剂来源于德国欧蒙医学实验诊断股份公司。实验操作: 将待检血清1:100稀释, 与组织基质进行温育30min, 冲洗浸泡后, 再与异硫氰酸荧光素 [fluorescein 5 (6) -isothiocyanate, FITC] 标记的抗体温育30min, 冲洗浸泡封片后, 荧光显微镜下观察各种组织细胞有无荧光出现。并运用免疫印迹法检测AMA-M2亚型、抗可溶性肝抗原抗体 (anti-soluble liver antigen antibody, SLA)、抗肝肾微粒体 I 型抗体 (anti-liver-kidney microsomal antibody, LKM-1)、抗肝特异性胞浆 I 型抗体 (antibody to liver cytosol 1, LC-1)、抗核点型SP100抗体、抗核包膜型gp210抗体。

健康对照者、MCTD、RA、SLE、SSc、乙肝患者血清应用间接免疫荧光检测, 采用Hep-2细胞/猴肝马赛克为基质检测ANA。实验操作: 将待检血清1:100起始稀释, 与细胞组织基质进行温育30min, 冲洗浸泡后, 再与FITC标记的抗体温育30min, 冲洗浸泡封片后, 荧光显微镜下观察Hep-2细胞和猴肝组织出现的荧光模式判定ANA荧光核型和荧光反应强度。

1.3 统计学处理

应用SPSS 13.0统计软件进行数据处理, 计数资料组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 老年PBC患者ANA荧光模型与其相对应靶抗原特异抗体的关系

70例老年PBC患者中66例ANA阳性 (94%), ANA以混合荧光模型出现的占阳性的65% (43/66), 显著高于单一出现的荧光模型 ($P < 0.01$)。其相对应靶抗原特异抗体AMA-M2、抗SP100抗体、抗gp210抗体在70例PBC患者检出率分别为90.0% (63例)、21.4% (15例)、32.8% (23例)。详见表1和图1。

2.2 老年PBC患者的ANA主要荧光模型及滴度与对照组的比较

表2结果表明, ANA主要荧光模式对老年PBC患者敏感度88.5% (62/70), 特异度为91.6% (330/360), 83.9% (52/62) ANA滴度 $\geq 1:1000$ 。对照组中SSc的阳性率最高36.6% (11/30)。两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表1 70例老年PBC患者ANA荧光模型与特异抗体的关系

Table 1 The relationship between ANA fluorescence model and specific antibodies in 70 elderly PBC patients

ANA荧光模型	n (%)	特异抗体阳性(n)		
		AMA-M2	抗SP100	抗gp210
单一荧光模型	23(32.8)	20	3	2
核膜型+核点型+胞浆粗颗粒型	10(14.2)	10	6	8
核膜型+胞浆粗颗粒型	14(20.0)	14	0	10
核点型+胞浆粗颗粒型	5(7.1)	5	3	0
着丝点型+胞浆粗颗粒型	10(14.2)	10	0	0
核膜型+核点型	4(5.7)	2	3	3
阴性	4(5.7)	2	0	0

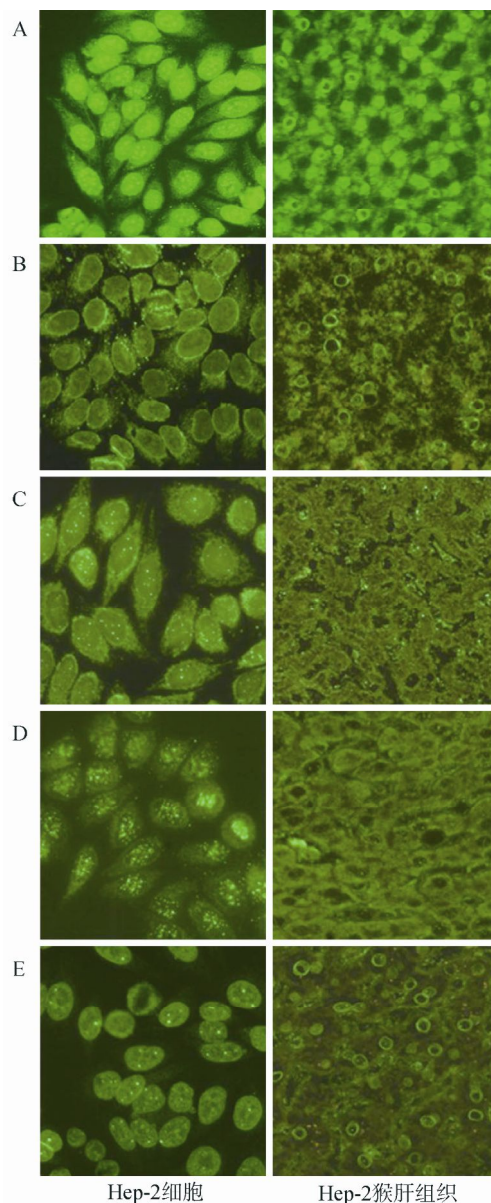


图1 5种ANA混合荧光模式图型
Figure 1 Five kinds of ANA mixed fluorescent mode pattern (FITC $\times 200$) 以 Hep-2 细胞和猴肝组织为基质。A: 核膜型+核点型+胞浆粗颗粒型; B: 核膜型+胞浆粗颗粒型; C: 核点型+胞浆粗颗粒型; D: 着丝点型+胞浆粗颗粒型; E: 核膜型+核点型

表2 老年PBC患者的ANA主要荧光模型及滴度与对照组的比较
Table 2 Comparison the ANA florescence model of elderly PBC patients with that of control group

ANA荧光模型	ANA滴度	PBC (n=70)	健康对照者 (n=120)	病毒性肝炎 (n=80)	RA (n=40)	AIH (n=30)	MCTD (n=30)	SLE (n=30)	SSc (n=30)
混合模型(n)	≥1:100	0	0	0	0	1	0	0	0
	≥1:320	8	0	0	0	0	0	1	1
	≥1:1000	35	0	0	0	0	0	0	0
核模型(n)	≥1:100	0	0	2	0	0	2	2	0
	≥1:320	1	0	0	0	0	0	1	0
	≥1:1000	5	0	0	0	0	0	0	0
核点型(n)	≥1:100	0	0	0	1	0	0	0	0
	≥1:320	1	0	0	0	0	0	0	2
	≥1:1000	3	0	0	0	0	0	0	0
着丝点型(n)	≥1:100	0	1	2	0	0	0	0	0
	≥1:320	0	0	0	0	0	0	0	2
	≥1:1000	2	0	0	0	0	0	0	6
胞浆颗粒型(n)	≥1:100	0	2	1	1	2	0	0	0
	≥1:320	0	0	0	0	0	0	0	0
	≥1:1000	7	0	0	0	0	0	0	0
合计[n(%)]		62(88.5)**	3(2.5)	5(6.2)	2(5.0)	3(10.0)	2(6.6)	4(13.0)	11(36.6)

注: 以上5种荧光模型为PBC患者ANA的主要荧光模型, PBC患者和其他对照组还可能还有其他荧光模型, 其他荧光模型包括: 颗粒型、均质型、核仁型等。PBC: 原发性胆汁性肝硬化; ANA: 抗核抗体; RA: 类风湿关节炎; AIH: 自身免疫性肝炎; MCTD: 混合性结缔组织病; SLE: 系统性红斑狼疮; SSc: 系统性硬化症。与对照组比较, **P < 0.01

2.3 肝抗原相关抗体检测结果

老年PBC患者中ASMA阳性率为8.5% (6/70), 其中4例为AMA-M2阴性, 未检出抗LKM-1抗体、抗LMA抗体、抗SLA抗体、抗LC-1抗体。

3 讨论

老年PBC患者往往无明显肝病症状^[4], 容易合并其他慢性疾病, 即使体检发现血清碱性磷酸酶等生化指标升高, 也可能未得到重视, 因此检测ANA及AMA-M2等自身抗体至关重要。

老年PBC患者ANA主要荧光模型: 核膜型、核点型、着丝点型、胞浆粗颗粒型^[5,6], 多数为两种以上的混合荧光模型, 而且以高滴度表达, 特异性高达91.6%, 对PBC具有重要的诊断价值。

ANA核膜型阳性与各种自身免疫病相关, 如AIH、SLE、抗磷脂综合征、PBC, 本研究中PBC核膜型阳性滴度较对照组高。针对核膜的抗gp210抗体和PBC疾病的严重程度及预后相关^[7]。ANA核点型的特征是3~20个大小不同的点状荧光分布整个核中, 20%~30%PBC患者阳性^[8], SP100分子是其靶抗原, 抗SP100抗体在少数自身免疫病患者可出现阳性, 但阳性率低^[9]。抗着丝点抗体(anticentromere antibody, ACA)最常见于皮肤局限型SSc, 也可见于其他疾病, 如RA、SLE、PBC。PBC患者中, ACA阳性常提示患者伴有结缔组织病^[10,11], 本研究PBC患者很少单一出现ACA阳性, ANA荧光模型多数以混合荧光模型存

在, 而在SSc以单一着丝点型出现, 说明了混合荧光模型在PBC患者ACA阳性中的诊断价值。本研究PBC患者46例ANA胞浆颗粒型中, AMA-M2检出率为100%, AMA-M2抗体对PBC诊断最具有特异性^[12,13], 因此提示ANA胞浆颗粒型对PBC具有诊断价值。对AMA-M2阴性PBC患者, 高滴度ANA和ASMA阳性对PBC有辅助诊断价值^[14,15]。

【参考文献】

- [1] Pares A, Rodes J. Natural history of primary biliary cirrhosis[J]. Clin Liver Dis, 2003, 7(4): 779-794.
- [2] Floreani A, Chiaramonte M, Fabris P, et al. Primary biliary cirrhosis in the elderly[J]. Recenti Prog Med, 1991, 82(5): 259-261.
- [3] Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, et al. Primary biliary cirrhosis[J]. Hepatology, 2009, 50(1): 291-308.
- [4] 张福奎, 贾继东, 王宝恩. 老年人原发性胆汁性肝硬化的临床特征[J]. 中华老年医学杂志, 2005, 24(1): 17-19.
- [5] 张铭明, 张锐. 原发性胆汁性肝硬化患者抗核抗体特殊荧光模型分析及诊断价值[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(2): 122-133.
- [6] 冯霞. 58例原发性胆汁性肝硬化患者抗线粒体抗体和抗核抗体的特征分析[J]. 检验医学, 2006, 21(2): 106-109.
- [7] Gao L, Tian X, Liu B, et al. The value of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis[J]. Clin Exp Med, 2008, 8(1): 9-15.
- [8] Milkiewicz P, Buwaneswaran H, Coltescu C, et al. Value of autoantibody analysis in the differential diagnosis of chronic cholestatic liver disease[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2009,

- 7(12): 1355-1360.
- [9] Bogdanos DP, Vergani D, Muratori P, *et al.* Specificity of anti-sp100 antibody for primary biliary cirrhosis[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2004, 39(4): 405-406, 407.
- [10] Salliot C, Gottenberg JE, Bengoufa D, *et al.* Anticentromere antibodies identify patients with Sjogren's syndrome and autoimmune overlap syndrome[J]. *J Rheumatol*, 2007, 34(11): 2253-2258.
- [11] Vlachoyiannopoulos PG, Drosos AA, Wilk A, *et al.* Patients with anticentromere antibodies, clinical features, diagnoses and evolution[J]. *Br J Rheumatol*, 1993, 32(4): 297-301.
- [12] Muratori P, Granito A, Pappas G, *et al.* Autoimmune liver disease 2007[J]. *Mol Aspects Med*, 2008, 29(1-2): 96-102.
- [13] 邱德凯, 李新民, 魏 珏, 等. 107 例自身免疫性肝炎及重叠综合征患者的临床分析[J]. *中华肝脏病杂志*, 2008, 16(5): 367-371.
- [14] Oertelt S, Rieger R, Selmi C, *et al.* A sensitive bead assay for antimitochondrial antibodies: Chipping away at AMA-negative primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*, 2007, 45(3): 659-665.
- [15] Muratori P, Muratori L, Gershwin ME, *et al.* 'True' antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis, low sensitivity of the routine assays, or both[J]. *Clin Exp Immunol*, 2004, 135(1): 154-158.

(编辑: 周宇红)

· 消 息 ·

诚征广告

《中华老年多器官疾病杂志》是由中国人民解放军总医院主管、中国人民解放军总医院老年心血管病研究所和中国科技出版传媒股份有限公司主办、国内外公开发行的医学学术期刊, 主要交流老年心血管疾病, 尤其是老年心血管疾病合并其他疾病、老年两个以上器官疾病以及其他老年多发疾病的诊治经验与教训。刊登内容包括心血管系统、呼吸系统、神经系统、内分泌系统、肾脏系统、消化系统、骨骼系统等各个方面疾病, 涉及临床和基础研究等诸多领域, 为从事老年医学及其相关疾病专业的医疗、科研及教学人员必读的刊物。

过去的几年, 本刊以严谨的态度、诚实的信誉赢得了厂商和读者的信赖, 与许多公司建立了良好的长期合作关系。

《中华老年多器官疾病杂志》真诚欢迎国内外厂商来此发布药物、产品、技术和服务信息。我刊除彩色四封外, 还有精美彩色、黑白插页供选择。

需要刊登广告的客户, 可电话告知您的传真, 我们会立即将报价单传真给您, 洽商确定版位后, 将与您签订正式的刊登合同。

地址: 100853 北京市复兴路 28 号, 解放军总医院老年心血管病研究所

100088 北京市西城区德胜门外大街 83 号德胜国际中心 B 座 301 室, 中国科技出版传媒股份有限公司

电话: 010-66936756/59790736-8087

E-mail: zhldnqg@mode301.cn