

58 例抗线粒体抗体 M2 亚型阳性患者检测结果分析^{*}

彭雪莲¹, 史 静², 邹 麟^{2△}, 董 剑¹, 王 丹¹ (1. 重庆市大足区人民医院检验科 400023;
2. 重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016)

【摘要】 目的 研究抗线粒体抗体 M2 亚型(AMA-M2)在原发性胆汁性肝硬化(PBC)早期预防及诊治中的意义。**方法** 选择 58 例 AMA-M2 阳性患者设为观察组, 选择同期进行健康体检的 30 例健康者为对照组, 再根据 AMA-M2 阳性的不同亚型, 将观察组分为 4 个亚组, M2 阳性且 M4、M9 阴性 39 例(A 组), M2 阳性且 M4 阳性 4 例(B 组), M2 阳性且 M9 阳性 6 例(C 组), M2、M4、M9 均阳性 9 例(D 组)。应用全自动生化分析仪检测各组血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转氨酶(γ -GT)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)的水平。**结果** 观察组与对照组比较, ALP、 γ -GT、TBIL、DBIL、ALT 和 AST 水平, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。AMA 各亚型之间生化指标水平差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** AMA-M2 可作为 PBC 的筛查指标, 联合检测 M2、M4、M9 亚型有助于 PBC 早期诊断和病情评估。

【关键词】 抗线粒体抗体; 胆汁淤积; 原发性胆汁性肝硬化

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.01.004 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)01-0008-03

Analysis of detection results of 58 cases of antimitochondrial antibody subtype M2 positive^{*} PENG Xue-lian¹, SHI Jing², ZOU Lin^{2△}, DONG Jian¹, WANG Dan¹ (1. Department of Clinical Laboratory, Dazhu District People's Hospital, Chongqing 400023, China; 2. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

【Abstract】 Objective To study the significance of antimitochondrial antibody(AMA) subtype M2 in the early prevention, diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis (PBC). **Methods** 58 cases of AMA-M2 positive were selected as the observation group and divided into the group A (M2 positive and M4, M9 negative, 39 cases), B (M4 positive, 4 cases), C (M2 positive and M9 positive, 6 cases) and D (M2, M4 and M9 positive, 9 cases). Contemporaneous 30 healthy individuals of physical examination as the control group. Western blot was used to detect serum AMA-M2. The immunoblotting method was used to detect the M2, M4 and M9 in the patients with AMA-M2 positive. The automatic biochemical analyzer was applied to detect serum ALT, AST, ALP, γ -GT, TBIL and DBIL. **Results** The ALP, γ -GT, TBIL, DBIL, ALT and AST levels had the statistical difference between the observation group and the control group ($P < 0.05$). The levels of biochemical indicators had statistical difference among different AMA subsets ($P < 0.05$). **Conclusion** AMA-M2 can serve as a screening index for PBC, and the combined detection of M2, M4 and M9 could conduce to the early diagnosis and condition assessment of PBC.

【Key words】 antimitochondrial antibody; screening; primary biliary cirrhosis

原发性胆汁性肝硬化(PBC)是一种自身免疫性肝脏慢性炎症疾病, 病理学表现为非化脓性肝内胆管慢性炎症和汇管区淋巴细胞浸润, 可能与自身免疫、感染和细胞病变有关。本病在全世界均有分布。西方国家估计患病率为 37/1 000 000 到 144/1 000 000^[1], 并且有增多的趋势^[2]。PBC 在各年龄组男女人群中均可发生, 但 90% 以上发生在 35~65 岁的中年女性^[3-4], 国内对 PBC 重视程度相对较少, 且 PBC 往往发病隐匿, 在早期常得不到及时的诊断、治疗, 最终会导致肝纤维化和肝硬化的慢性进展性自身免疫性疾病^[5]。抗线粒体抗体(AMA)作为诊断 PBC 的一个特异性指标, 对于 AMA 亚型在 PBC 中的意义有进一步阐明的必要。本文通过检测抗线粒体抗体 M2 亚型(AMA-M2)阳性患者的 M2、M4 和 M9 亚型与其他肝损伤相关生化指标特征的相关性, 探讨 AMA-M2 在

PBC 的早期筛查和诊治作用。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 7 月至 2013 年 4 月于重庆医科大学附属第一医院住院和门诊的 58 例 AMA-M2 阳性患者为观察组, 其中男 9 例, 女 49 例, 平均年龄 56 岁。按亚型分为: M2 阳性且 M4、M9 阴性 39 例(A 组), M2 阳性且 M4 阳性 4 例(B 组); M2 阳性且 M9 阳性 6 例(C 组); M2、M4、M9 均阳性 9 例(D 组)。选择同期进行健康体检的 30 例健康者为对照组, 其中男 6 例, 女 24 例, 平均年龄 52 岁。观察组与对照组性别、年龄等一般资料比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。PBC 的诊断根据 2000 年美国肝病学会指导建议进行^[4]: (1)碱性磷酸酶(ALP)等反映胆汁淤积的生化指标升高; (2)B 超或胆管造影检查显示胆管正常; (3)血清 AMA 或其亚

^{*} 基金项目: 国家临床重点专科建设项目[财社(2010)305]。

作者简介: 彭雪莲, 女, 本科, 初级检验师, 主要从事免疫检验工作。 △ 通讯作者, E-mail: 972857652@qq.com。

型阳性;(4)如果血清 AMA 或其亚型为阴性,则肝脏病理学检查符合 PBC 的改变。经血清学和超声检查等排除非 PBC 病变。本次研究的 PBC 患者除 1 例患者是由乙型肝炎病毒(HBV)感染外,其余肝炎病毒标志均为阴性。

1.2 仪器与试剂 免疫印迹法试剂盒(德国 Euroimmun 公司),酶免疫斑点法检测试剂盒(德国 Euroimmun 公司),全自动生化分析仪(日本日立公司),以上仪器均采用与仪器配套试剂、定标液、质控品。

1.3 方法

1.3.1 AMA-M2 检测 免疫印迹法:将高纯度的包括 AMA-M2 等 14 种抗原分别平行包被于检测膜条上,其中 AMA-M2 以天然 M2 抗原和 BPO 融合蛋白 M2-3E 为靶抗原,试验时将膜条放置于温育槽中,按照试剂说明书提供标准操作程序,进行封闭、血清孵育、加入 ALP 标记第 2 抗体再孵育、清洗、显色后,运用欧蒙 EUROLINESCAN 软件进行扫描分析。

1.3.2 AMA-M2、M4、M9 亚型检测 欧蒙斑点法:将高纯度的 AMA-M2 的靶抗原丙酮酸脱氢酶,AMA-M4 的靶抗原亚硫酸盐氧化酶,AMA-M9 的靶抗原糖原磷酸化酶 3 种靶抗原分别包被于检测膜条上,按照试剂说明书标准操作程序,进行加样、温育、清洗,待膜条彻底干燥后判断结果。

1.3.3 生化指标检测 运用日立 7600 全自动生化分析仪对患者血清进行丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转

移酶(AST)、 γ -谷氨酰氨基转移酶(γ -GT)、ALP、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)的检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组患者临床症状及诊断结果 58 例 AMA-M2 阳性患者的临床诊断结果中,诊断为 PBC 的达 19 例占 32.8%,为 M2 亚型阳性患者的主要临床诊断;其余诊断为全身性红斑狼疮合并狼疮肾炎 8 例,全身性红斑狼疮 3 例,原发性肝癌 3 例,糖尿病 4 例,诊断冠心病、代谢性脑病、胸腹腔积液待查、肾病综合征、肝硬化(失代偿期)各 2 例,其他有 11 例。

2.2 观察组与对照组生化检测结果比较 2 组在 ALT、AST、ALP、 γ -GT、TBIL、DBIL 水平比较,差异均有统计学有意义($P < 0.05$),见表 1。

2.3 4 组生化检测结果比较 4 组间 6 个生化指标水平差异均有统计学意义($P < 0.05$)。B 组生化指标结果正常,D 组异常程度最高。A 组与 B 组间 6 个生化指标水平差异均有统计学意义($P < 0.05$);A 组和 C 组间 TBIL 和 DBIL 水平差异有统计学意义($P < 0.05$);B 组与 C 组间 γ -GT、ALT、AST 水平差异有统计学意义($P < 0.05$);C 组与 D 组间 ALP、 γ -GT、DBIL 水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 2 组生化检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ALP(U/L)	γ -GT(U/L)	TBIL(μ mol/L)	DBIL(μ mol/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)
观察组	58	186.6 $\pm$ 211.5*	211.0 $\pm$ 342.0*	26.6 $\pm$ 38.5*	15.7 $\pm$ 26.3*	63.4 $\pm$ 88.4*	73.3 $\pm$ 90.1*
对照组	30	61.4 $\pm$ 14.5	211.0 $\pm$ 342.0	5.9 $\pm$ 1.6	1.9 $\pm$ 0.7	19.4 $\pm$ 5.6	23.6 $\pm$ 5.4
<i>t</i>		3.228	3.011	2.943	2.860	2.720	3.014
<i>P</i>		0.002	0.003	0.004	0.005	0.008	0.003

注:与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

表 2 4 组生化指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	ALP(U/L)	γ -GT(U/L)	TBIL(μ mol/L)	DBIL(μ mol/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)
A 组	130.0 $\pm$ 120.9*	180.7 $\pm$ 366.8*	22.6 $\pm$ 30.3* Δ	14.5 $\pm$ 25.9* Δ	43.4 $\pm$ 49.1*	58.2 $\pm$ 65.2*
B 组	60.5 $\pm$ 18.5	45.8 $\pm$ 17.6 Δ	7.0 $\pm$ 2.7	2.5 $\pm$ 0.3	11.5 $\pm$ 4.4 Δ	14.8 $\pm$ 5.2 Δ
C 组	150.0 $\pm$ 80.4	198.8 $\pm$ 107.3	10.3 $\pm$ 2.2	4.6 $\pm$ 2.7	48.2 $\pm$ 26.0	41.0 $\pm$ 21.4
D 组	484.1 $\pm$ 361.6 Δ	379.9 $\pm$ 344.5 Δ	66.1 $\pm$ 62.6	35.1 $\pm$ 33.1 Δ	151.1 $\pm$ 153.3	155.7 $\pm$ 138.0

注:与 B 组比较,* $P < 0.05$;与 C 组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

3 讨论

PBC 是一种自身免疫性肝脏慢性炎症性疾病,根据 PBC 自然病程进展,一般将其分为 4 期:(1) I 期患者无临床症状但可以检测到 AMA 及其亚型阳性,76% 的患者在 2 年内出现 PBC 临床症状,83% 的患者在 5 年内出现肝功能异常。(2) II 期患者肝功能有异常期,此期近 60% 患者已有肝硬化表现,近 80% 患者在 5 年内出现 PBC 临床症状或体征。(3) III 期患者出现典型的症状与体征。(4) IV 期患者主要表现为肝功能失代偿^[6-7]。根据国内外报道 AMA 亚型是 PBC 的特异性抗体,疾病早期即可出现^[8],AMA 在 PBC 诊断具有重要意义,其敏感性及特异性达 90%,以 M2 亚型的检出率最高^[9-11],其亚型对 PBC 的临床分期具有一定意义^[12]。本次研究 58 例 AMA-

M2 阳性患者中被诊断为 PBC 有 19 例,比例高达 32.8%。

本研究显示,观察组患者与对照组比较,有肝脏损伤表现,而 AMA 各亚型之间的肝脏损伤程度不同:(1) A 组与 B 组比较 ALP、 γ -GT、ALT、AST、DBIL 和 TBIL 水平,差异均有统计学意义($P < 0.05$),可见本次研究中仅 M2 阳性者损伤程度相对 M2 阳性且 M4 阳性损伤较重;C 组与 A 组比较 TBIL、DBIL 水平,差异有统计学意义($P < 0.05$),可见 M2 阳性且 M9 阳性组患者又比单独 M2 阳性患者肝脏损伤重。(2) C 组与 B 组比较, γ -GT、AST、ALT 差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 M2 阳性且 M9 阳性患者比 M2 阳性且 M4 阳性患者损伤重;D 组与 C 组比较 ALP、 γ -GT、DBIL 差异有统计学意义($P < 0.05$),由此可见 3 个亚型同时阳性患者的肝脏损伤程度最重。据国

内外报道 3 个亚型中 M9 阳性患者肝脏损伤较重且预后不良,但本次研究例数较少,而 M9 阳性患者预后是否不良则需临床治疗随访后,且是临床患者正在医治过程中收集,有待今后做深入的研究阐明。此次研究中有 1 例患者 2012 年 10 月检测 M2 单独阳性,因 HBV 感染入院,半年后门诊随访检测 M4, M9 也同时阳性,最后临床确诊为 PBC,但肝脏损伤已较重。而 AMA 亚型中单独 M2 阳性的 39 例患者中就有 10 例已被临床确诊为 PBC,9 例 M2、M4、M9 亚型同时阳性患者有 5 例已被临床确诊为 PBC,由此可见联合检测 M2、M4、M9 亚型可能优于单独检测 AMA-M2。

综上所述,AMA-M2 可以在 PBC 病程早期出现,并具有较高的敏感性和特异性^[9-11],现目前还没有文献支持 M2 阳性可以作为 PBC 的一个诊断指标,但通过本次研究可以看出将 AMA-M2 阳性作为一个 PBC 的筛查指标,在 M2 阳性的情况下优先考虑临床诊断为 PBC,并做确认诊断的相关检查,这对于早期预防及诊治 PBC 有重要意义。

参考文献

- [1] Kim WR, Lindor KD, Locke GR, et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community[J]. *Gastroenterology*, 2000, 119(6):1631-1636.
- [2] 陆伦根, 曾明德. 胆汁淤积性肝病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007:168-181.
- [3] Nguyen DL, Juran BD, Lazaridis KN. Primary biliary cirrhosis[J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2010, 24(5):647-654.

- [4] Selmi C, Bowlus CL, Gershwin ME, et al. Primary biliary cirrhosis[J]. *Diag Crit Autoimmun Dis*, 2011, 377(9777):1600-1609.
- [5] Invernizzi P. Update on primary biliary cirrhosis[J]. *Digest Liver Dis*, 2010, 42(11):401-408.
- [6] 蒋天舒, 周晔, 邓安梅, 等. 原发性胆汁性肝硬化研究进展[J]. *中国实验诊断学*, 2006, 10(12):1539-1541.
- [7] 陈乃玲, 杨新玲, 刘晓彬, 等. 血清抗线粒体抗体亚型对原发性胆汁性肝硬化诊疗的临床评估[J]. *中华临床医师杂志*, 2008, 10(2):156-157.
- [8] Sakauchi F, Moil 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]. *J Epidemiol*, 2005, 15(3):24-28.
- [9] 段东杰. 抗线粒体抗体亚型在原发性胆汁性肝硬化中的诊断价值[J]. *中国医疗前沿*, 2009, 4(3):45-47.
- [10] Invernizzi P, Selmi C, Gershwin ME, et al. Update on primary biliary cirrhosis[J]. *Dig Liver Dis*, 2010, 42(8):401-408.
- [11] Poupon R. Primary biliary cirrhosis: a 2010 update[J]. *J Hepatol*, 2010, 52(7):745-758.
- [12] 仲人前, 杨再兴, 梁艳, 等. 自身免疫性肝病的实验诊断进展[J]. *中华肝脏病杂志*, 2012, 20(5):324-326.

(收稿日期:2015-01-14 修回日期:2015-08-09)

(上接第 7 页)

本研究结果显示,非妊娠妇女和妊娠期妇女的贫血相关的检测指标 RBC、Hb 和 HCT 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而妊娠各期之间亦存在明显差异($P < 0.05$),提示临床在诊断妊娠期贫血时,应根据孕妇的妊娠进展进行动态评估,以免造成误诊。根据本次研究建立的妊娠各阶段贫血相关检测指标参考值范围可以用于评估妊娠妇女的健康水平,具有一定的临床意义。

参考文献

- [1] 中华医学会围产医学分会. 妊娠期铁缺乏和缺铁性贫血诊治指南[J]. *中华围产医学杂志*, 2014, 17(7):451-454.
- [2] Allen LH. Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome[J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71(Suppl 5):1280-1284.
- [3] 叶蕾, 陈岚, 杜泽丽, 等. 正常孕妇血常规参考值范围的序贯性测定[J]. *华西医学*, 2009, 24(2):403-405.
- [4] Milman N, Bergholt T, Byg KE, et al. Reference intervals for haematological variables during normal pregnancy and postpartum in 434 healthy Danish women[J]. *Eur J Haematol*, 2007, 79(1):39-46.
- [5] Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL. Williams obstetrics[M]. 21 版. 北京: 科学出版社, 2002:79-85.

- [6] 吕本海. 8 173 例流动人口妊娠期血液常规检测结果的分析[J]. *检验医学与临床*, 2008, 5(3):161-162.
- [7] 夏胜男, 应瑜. 160 例孕妇妊娠早中晚期血象变化分析[J]. *中国妇幼保健*, 2007, 22(31):4396-4397.
- [8] Milman N, Bergholt T, Byg KE, et al. Reference intervals for haematological variables during normal pregnancy and postpartum in 434 healthy Danish women[J]. *Eur J Haematol*, 2007, 79(1):39-46.
- [9] 孙德华, 朱汉生, 张豫明, 等. 正常妊娠妇女血常规检测参考区间调查[J]. *血栓与止血学*, 2011, 17(4):183-185.
- [10] 葛雅芳, 沈云岳, 唐振华. 妊娠期女性血细胞主要参数生物参考区间建立的初步探讨[J]. *检验医学*, 2014, 29(11):1097-1100.
- [11] 王婧, 杨明晖, 马润玫, 等. 昆明地区正常孕妇红细胞参数的参考值范围及妊娠期贫血诊断标准探讨[J]. *现代妇产科进展*, 2010, 19(11):806-809.
- [12] Cowans NJ, Spencer K. First and second-trimester biochemical markers of chromosomal anomalies and their relationship to maternal haemoglobin levels[J]. *Prenat Diagn*, 2005, 25(8):693-699.

(收稿日期:2015-05-01 修回日期:2015-08-02)