

# 自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测和临床意义

唐 劼, 卢 洁, 闫惠平

## ■背景资料

自身免疫性肝病是除病毒性肝炎以外的引起肝功能障碍和肝硬化的常见原因之一。血清学自身抗体检测在自身免疫性肝病的诊断、鉴别诊断、疾病预测以及预后判断等方面有重要的应用价值。

唐劼, 卢洁, 北京欧蒙生物技术有限公司 北京市 100101  
闫惠平, 首都医科大学附属北京佑安医院感染与免疫研究中心 北京市 100069

唐劼, 主要从事免疫性肝病方面的研究。

首都卫生发展科研专项基金资助项目, No. 首发2011-2018-05  
作者贡献分布: 本文综述由唐劼、卢洁及闫惠平共同完成; 所作贡献均等。

通讯作者: 闫惠平, 教授, 博士研究生导师, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院感染与免疫研究中心. yhp503@126.com  
电话: 010-63291531

收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-07-02

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-09-08

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Autoimmune hepatitis; Primary biliary cirrhosis; Autoantibody

Tang J, Lu J, Yan HP. Diagnostic and predictive significance of autoantibody profiles in autoimmune liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2544-2550 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2544.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2544>

## Diagnostic and predictive significance of autoantibody profiles in autoimmune liver disease

Jie Tang, Jie Lu, Hui-Ping Yan

Jie Tang, Jie Lu, Euroimmun Medical Diagnostics Co., Ltd., Beijing 100101, China

Hui-Ping Yan, Research Centre for Infection and Immunity, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: the Capital Health Research and Development of Special, No. 2011-2018-05

Correspondence to: Hui-Ping Yan, Professor, Research Centre for Infection and Immunity, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, 8 Youan Menwai Xitoutiao, Fengtai District, Beijing 100069, China. yhp503@126.com

Received: 2013-05-14 Revised: 2013-07-02

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-09-08

## Abstract

Autoimmune liver disease (AILD) is a chronic inflammatory disease presumably induced by a disorder of immune homeostasis within the liver, which can lead to damage to or loss of the hepatic parenchyma or bile duct epithelia. Indirect immunofluorescence and antibody specificity assays are important tools for the diagnosis of AILD. Over the last decade, there have been an increasing number of newly characterized target antigens for autoantibodies in AILD. Autoantibodies, as biomarkers, are used not only for disease diagnosis, but also for monitoring disease activity and progression and predicting prognosis and treatment responses.

## 摘要

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)是一组因为肝脏免疫耐受机制失衡引起的肝细胞或胆管上皮细胞的慢性损伤性炎症, 是肝硬化和肝功能障碍的常见原因之一。利用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)和抗原特异性检测方法, 进行自身抗体的筛查和确认, 是AILD病因学诊断的重要方法。新的靶抗原的发现和鉴定丰富了AILD自身抗体谱的组成, 也拓展了自身抗体检测的临床应用范围。作为生物标记物, 自身抗体的临床意义不仅体现在自身免疫性疾病的诊断上, 在反映疾病活动性和严重程度、评价病情演进过程、疗效监测和预后判断等方面也发挥着越来越重要的作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 自身免疫性肝炎; 原发性胆汁性肝硬化; 自身抗体

**核心提示:** 在自身免疫疾病的发展过程中, 自身抗体的组成和强度都处于变化之中。我们在丰富检测项目的同时, 也要关注时间因素对检测结果的影响。

唐劼, 卢洁, 闫惠平. 自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测和临床意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2544-2550 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2544.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2544>

## 0 引言

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease,

■同行评议者  
台桂香, 教授, 吉林省长春市吉林大学

AILD)是一组肝脏免疫耐受机制失衡引起的肝细胞或胆管上皮细胞的慢性损伤性炎症,是肝硬化和肝功能障碍的常见原因之一。AILD主要包括,以肝实质细胞进行性损伤为主的自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)<sup>[1]</sup>、胆道系统受累的原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)以及原发性硬化型胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)<sup>[2]</sup>。

在致病机制尚不明确的情况下,临床医生需要对血清学检测、组织活检、影像学证据和临床背景资料综合评价,同时还要排除病毒性肝炎、药物毒性以及某些代谢性疾病(如Wilson's disease等)后,才能做出正确的诊断。随着肝病免疫学的深入研究,特别是自身抗体及相应靶抗原的发现和鉴定,自身抗体的检测已经成为AILD诊断以及鉴别诊断的重要工具。

作为生物标记物,自身抗体的临床意义不仅体现在疾病诊断上,某些自身抗体在反映疾病活动度、监测病程、评价疗效和预后判断等方面,也是重要的参考指标<sup>[3]</sup>。系统性和器官特异性自身免疫疾病(autoimmune disease, AID)的回顾性调查(血清库)和前瞻性研究(随访)均表明,与特定疾病关联的自身抗体在患者有明显临床症状候群出现数月或数年前已经产生,自身抗体可以作为自身免疫疾病的“预警”因子,基于这一事实,在易感人群或疑似患者中开展自身抗体谱的筛查是很有必要的<sup>[4]</sup>。

本文主要对AILD相关自身抗体谱的检测方法、组成和临床意义作一较为系统的回顾,旨在强调运用多种抗体指标联合检测的方法,来获取更丰富更全面的信息,为AILD的诊治提供科学依据。另外,对AILD血清学检测临床实践中的常见问题和可能的解决方法,谈一谈作者粗浅的认识。

**1 应用间接免疫荧光法筛查AILD相关自身抗体谱**

常规筛查AILD自身抗体的方法是间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)。根据2004年国际自身免疫性肝炎协会(International Autoimmune Hepatitis Group, IAIHG)血清学检测委员会提出的AIH自身抗体检测指南,大鼠的肝、肾、胃组织切片组合作为抗体筛查的首选基质<sup>[5]</sup>。利用这3种基质可以同时检测抗核抗体(anti-nuclear antibodies, ANA)、抗平滑肌抗体(smooth muscle antibody, SMA)、抗肝-肾微粒体-1抗体(anti-liver kidney microsome-1, anti-

LKM-1)、抗线粒体抗体(anti-mitochondria antibody, AMA)、抗肝细胞胞浆抗体(anti-liver cytosol, anti-LC1)。滴定之前,血清样本的初始稀释倍数分别是,成人1:40;对儿童而言,检测SMA、ANA为1:20, anti-LKM-1为1:10<sup>[5]</sup>。实际上,临床标本的检测可能依据不同厂家试剂的要求来决定其初始稀释倍数。

ANA可以较容易在3种基质上鉴别出来。在鼠肝上可以呈现不同的荧光模型,核均质是AIH的典型荧光模型,而核颗粒型不常见。HEp-2细胞是检测ANA的标准基质,但血清样本在较低稀释倍数(1:40)的情况下,健康人群中ANA呈阳性的概率很高,所以在阳性结果的判读上需要谨慎,最好与特异性ANA自身抗体谱检测方法相结合。然而,对于疑似PBC或AIH-PBC重叠综合征的患者,在HEp-2细胞上可能出现PBC特异性的多核点型和核膜型荧光模型,前者与抗核小体抗体相对应,后者的靶抗原是核孔复合物蛋白<sup>[6]</sup>。

SMA阳性血清使大鼠肝、肾和胃的动脉血管壁着色。在鼠肾基质上,血管(vessels, V)、肾小球(glomeruli, G)或肾小管(tubules, T)都可以呈现能够加以甄别的荧光模型。与单独出现血管阳性反应相比,血管与肾小球“双阳”和血管、肾小球和肾小管“三阳”对AIH的特异性更高,其中VGT荧光模型最支持AIH-1型的诊断。SMA在鼠肾基质上的VGT荧光模型与在成纤维细胞上的“微丝”荧光反应关联程度很高,两者可视为抗纤维肌动蛋白抗体(anti-F-actin)阳性。近年来,采用大鼠胚胎胸主动脉的细胞系,即血管平滑肌47作为IIF检测基质,与传统基质鼠肝-肾-胃相比,检测SMA的敏感度略低,但特异性相当,且更容易识别anti-F-actin,这种新的基质正在得到广泛的应用<sup>[7]</sup>。

Anti-LKM-1以肝细胞胞浆和肾近端小管P3段强荧光染色为特点。在IIF荧光片的判读上,因为anti-LKM-1和AMA在肝脏和肾都呈阳性反应,所以容易混淆,两者的主要区别在于anti-LKM-1的主要抗原分布在肾脏的近端小管,而AMA使富集线粒体的远端肾小管呈现强荧光反应;在鼠胃基质上,AMA使胃黏膜壁细胞呈颗粒型荧光,而anti-LKM-1对壁细胞无反应;在鼠肝组织切片上,AMA表现的肝细胞胞浆荧光强度明显弱于anti-LKM-1。所以,综合肝、肾、胃3种基质的荧光特点应该能够比较准确的区分anti-LKM-1和AMA。虽然HEp-2细胞也能够用来识

#### ■ 研发前沿

在过去的十几年里,自身免疫血清学诊断技术取得了跨越式的发展,如何选择合适的检测方法,运用恰当的检测策略,科学合理的分析和解读多参数检测指标,并服务于临床诊疗实践,是对检验科医师和临床医生的一种挑战,也是循证医学领域的研究热点。

## ■相关报道

国内有关自身免疫性肝病的研究报道近年来呈上升趋势,内容多集中在发病机制的探索和血清学标记物的临床应用方面。

别AMA,但是在HEp-2细胞上AMA阳性与肝-肾-胃3种基质的判读结果并不总是一致,与特异性的AMA-M2检测结果也可能出现偏差,因而单独使用HEp-2检测AMA不可取。

Anti-LC1使肝细胞胞浆染色,荧光呈带状分布,静脉周围的肝细胞荧光染色最为明显,此外,肾小管也可以出现阳性反应。anti-LC1可以单独存在,但是通常与anti-LKM-1并存,在这种情况下,辨认anti-LC1将会比较困难。此时,抗原特异性检测对于准确鉴定anti-LKM-1和anti-LC1显得尤为重要。

抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)在乙醇固定的中性粒细胞上的荧光模型有2种表现形式,胞浆型的c-ANCA和核周染色的p-ANCA。对于AIH和PSC患者,ANCA是一种非典型p-ANCA,与经典的p-ANCA存在明显区别。在甲醛固定的中性粒细胞上,非典型p-ANCA仍能保持核周染色,而与系统性血管炎相关的p-ANCA则转变成c-ANCA荧光模型。这类非典型p-ANCA作用的靶抗原位于核膜,也称作核周型抗中性粒细胞核抗体(perinuclear anti-neutrophil nuclear antibodies, p-ANNA),在AIH-1型患者中的阳性率为50%-96%,而绝大多数AIH-2型患者为阴性。除了AIH外,p-ANNA在PSC(60%-92%)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)(60%-87%)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)(5%-25%)也有很高的检出率。

## 2 AILD相关抗原特异性自身抗体谱组成

2.1 抗核抗体 目前,还没有发现AIH特异性的ANA表达谱。在AIH患者血清中,ANA的抗原谱包括,中心体、组蛋白、dsDNA、染色质、核蛋白体复合物,其中,抗染色质抗体与典型IIF核均质荧光模型相对应。与AIH不同,PBC相关ANA抗体谱的研究已经取得了很大进展。大约50%PBC患者ANA检测呈阳性结果,在AMA阴性PBC患者中的阳性比率可达85%<sup>[8]</sup>。目前发现的靶抗原位于细胞核内的Sp100、Sp140、早幼粒白血病蛋白(promyelocytic leukemia protein, PML)和小泛素样修饰蛋白(small ubiquitin-like modifier, SUMO),与多核点荧光模型相对应;核孔复合物(nuclear pore complex, NPC)蛋白gp210、p62(62 kDa nucleoporin)、核纤层蛋白B受体(lamin B receptor, LBR)等,表现为核膜型荧光。Janka等<sup>[9]</sup>对PBC患者中抗核小体复合物抗

体的研究表明,anti-Sp100和anti-PML在PBC患者的阳性率分别达到30%和20%,anti-SUMO-1和-2在前两者检测阳性的血清中的检出率分别为15%和42%。在PBC并发尿路感染患者中,有74%的个体血清学检测anti-Sp100呈阳性,而无尿路感染的PBC患者的阳性率仅有4.8%,这种现象提示了某些感染因素可以诱发PBC相关自身抗体的产生<sup>[10]</sup>。新近发现的自身抗原Sp140与Sp100、PML同为核小体复合物的组成成份,anti-Sp140在PBC患者的阳性率约为15%,与抗Sp100和PML抗体存在明显的共存关系<sup>[11]</sup>。Anti-gp210在PBC患者中的阳性率在10%-25%之间,anti-LBR约为1%,但是两者是PBC高度特异性的标记物(特异性均超过95%)。Bauer等<sup>[12]</sup>报道,使用gp210羧基端15个氨基酸肽段作为靶抗原检测anti-gp210,对PBC的特异性达到99%。与anti-gp210在PBC患者中较低的检出率(10%)相比,p62(55%)可能更有优势<sup>[13]</sup>。

2.2 抗平滑肌抗体 SMA可以识别包括微管、中间丝和微丝在内的多种细胞骨架成分。F-actin属于微丝的一种,是AIH相关荧光模型针对的主要靶抗原。F-actin-ELISA与IIF检测结果一致率较高,但不完全吻合<sup>[7]</sup>。根据IIF典型“anti-actin”荧光模型诊断AIH,仍然是能够获得最佳特异性和敏感度的检测方法<sup>[5]</sup>。

2.3 抗肝-肾微粒体-1抗体 Anti-LKM-1的靶抗原是微粒体中的细胞色素P450 II D6(CYP2D6),该抗原的确认,推动了基于CYP2D6重组抗原ELISA方法的建立,这对于鉴别IIF不易区分的AMA与anti-LKM-1两种荧光模型发挥了重要作用。Anti-LKM-1能够识别CYP2D6196-218、CYP2D6254-271和CYP2D6321-351 3个线性表位,这3个线性表位也是免疫优势表位,CYP2D6构象表位位于羧基端部<sup>[14]</sup>。在某些HCV感染者中,IIF检测结果为anti-LKM-1阳性,ELISA却呈阴性,这可能是由于ELISA方法本身的局限性,检测不到某些识别CYP2D6构象表位的anti-LKM-1。

2.4 抗肝细胞胞浆抗体 亚胺甲基转移酶环化脱氨酶(formimino-transferase cyclodeaminase, FTCD)已经作为抗原来检测anti-LC1,用于AIH-2型的诊断<sup>[15]</sup>。

2.5 抗可溶性肝抗原/抗肝-胰抗体和抗去唾液酸糖蛋白受体抗体 虽然抗可溶性肝抗原/抗肝-胰抗体(anti-soluble liver antigen/anti-liver pancreas, anti-SLA/LP)和抗去唾液酸糖蛋白受体抗体



(anti-asialoglycoprotein receptor, anti-ASGPR)是AIH相关抗体,但目前采用IIF方法检测不到,只能通过ELISA或免疫印迹法来进行检测. Anti-SLA/LP与tRNP(Ser)Sec(一种硒代半胱氨酸合成酶)特异性结合,是AIH-1型特异性抗体,通常与ANA、SMA共存,但是在少数情况下, anti-SLA/LP可以单独阳性,这时其诊断意义显得尤为重要. 新近的研究表明,约58%的AIH患者产生SLA特异性的以CD4<sup>+</sup> T细胞为主的细胞免疫应答,而且该免疫反应在anti-SLA/LP阳性患者中的强度显著高于anti-SLA/LP阴性者,这类自身反应性T细胞与肝脏的损伤存在紧密的关联<sup>[6]</sup>. 此外,在SLA/LP分子上的免疫优势片段与Rickettsia spp. 表面抗原PS120的局部肽段之间存在高度的同源性,而且这两个肽段都可能与HLA-DRB1\*03:01结合,这提示分子拟态机制在anti-SLA/LP产生中的作用<sup>[17]</sup>. Anti-ASGPR的靶抗原是ASGPR(去唾液酸糖蛋白受体),早期的研究报道约90%AIH患者此种抗体检测呈阳性,可以与ANA、SMA和anti-LKM-1共存<sup>[18]</sup>. 但anti-ASGPR的特异性不高,在病毒性肝炎、药物诱导的肝损害、PBC等疾病中也可以检测到.

**2.6 抗线粒体抗体** AMA是PBC特异性抗体,阳性率在90%-95%之间. 根据靶抗原的不同,AMA分为9个亚类,即M1-M9,其中,与PBC紧密相关的是M2、M4、M8和M9. M2抗原位于线粒体内膜,而M4、M8、M9抗原在线粒体外膜分布<sup>[19]</sup>. AMA-M2与PBC的关联度最高,也是特异性和敏感度最强的诊断指标,他与2-氧酸脱氢酶复合物(2-oxo-acid dehydrogenase complex, 2-OADC)家族的E2亚基硫辛酸结构域结合. 已经鉴定的2-OADC-E2包括丙酮酸脱氢酶复合物E2亚基(pyruvate dehydrogenase complex E2, PDC-E2)、支链2-氧酸脱氢酶复合物E2亚基(branched-chain 2-oxo-acid dehydrogenase complex E2, BCOACD-E2)和2-氧戊二酸脱氢酶复合物E2亚基(2-oxo glutarate dehydrogenase complex E2, OGDC-E2). 运用表位描记和基因重组技术,将PDC-E2、BCOACD-E2、OGDC-E2的免疫优势表位融合,构建成融合蛋白MIT3,用ELISA方法检测血清中的AMA,比IIF和PDC-E2-ELISA具有更高的特异性和敏感性<sup>[20]</sup>. 最近, Dähnrich等<sup>[21]</sup>用MIT3与纯化的天然PDC混合物检测AMA抗体,与单独使用MIT3或PDC为抗原的ELISA方法或传统的IIF相比,表现出更高的灵敏度.

**2.7 非典型p-ANCA** TBB5可能是IBD和PSC的

非典型p-ANCA作用的重要靶点,但是TBB5-ELISA检测相应抗体时,对PSC与其他AILD疾病的鉴别能力低于预期<sup>[22]</sup>.

### 3 自身抗体检测对AILD的诊断价值

自身抗体检测是AILD诊断的必要血清学检查项目,也是AILD与其他临床症状体征相似的慢性肝脏疾病鉴别诊断的重要依据. 然而,自身抗体检测阳性本身并不能作为AILD的确诊依据,必须结合临床背景资料和诊断标准,进行综合评价,才能做出客观正确的诊断.

对于临床表现、血清生化指标或组织学证据提示AILD的个体,ANA、SMA、anti-LKM-1、AMA和p-ANCA应该是主要的检测指标. 另外,在这5项检测结果为阴性时,进行anti-LC1、anti-SLA/LP和anti-ASGPR的检测,对AIH诊断的评分结果可能有帮助<sup>[23]</sup>. 在AIH-1型患者中,ANA和/或SMA阳性者占大多数,这两项为阴性的个体中约有5%的个体anti-SLA/LP检测可能为阳性<sup>[24]</sup>. 在有较为典型临床表现的AIH-2型患者中,anti-LKM-1和/或anti-LC1阳性者占到90%以上<sup>[23]</sup>. PBC患者中AMA阴性者约占5%<sup>[25]</sup>,IIF在HEp-2细胞上可以呈“多核点”或“核膜型”荧光模型,需要进一步检测PBC特异性的ANA抗体,anti-Sp100、anti-PML和anti-gp210可作为首选的考察指标.

作为诊断参考依据的自身抗体检测在用于临床诊断时,以下几点需要引起我们的注意. (1)由于抗体滴度在某些疾病演进过程中可能会出现变化,所以不能凭借单次检测的阴性结果排除AILD,应该在合理时间间隔内进行多次检测,分析其变化的趋势和特点; (2)自身免疫病是免疫耐受机制失衡引起的异常免疫应答,是一种系统性疾病,在发病个体通常表现为多种自身抗体并存的情形,自身抗体表达谱的检测对于反映疾病的真实面貌是合理的选择,也是自身抗体血清学检测的发展趋势; (3)对于IIF筛查结果呈阳性者,应该作相应的抗原特异性的检测来确认,例如采用ELISA或免疫印迹法,根据抗体谱的表达特点,对疾病活动度、免疫治疗效果和预后做出判断; (4)由于目前AILD的发病机制不清楚,肝脏的免疫损伤机制涉及复杂的细胞免疫和体液免疫在遗传易感个体中的交互作用,自身抗体是病理损伤的结果还是原因尚无定论,所以自身抗体检测只能作为AILD诊断的参考依据<sup>[26]</sup>.

#### ■创新盘点

本文旨在通过系统的介绍自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测方法和临床应用价值,让读者对这一领域的现状和问题有较为全面的了解.

## ■应用要点

自身免疫性肝病自身抗体检测方法需要根据患者的具体情况作出合理的选择,一份科学合理的检测结果报告需要临床医生和检验科医师的沟通和配合。

## 4 自身抗体对疾病的预测价值

某些自身免疫性疾病,在出现典型的临床症状之前几年甚至数年,相关自身抗体就已经存在,而且某些特异性抗体与疾病之间存在紧密的病因连锁关系,对这些自身抗体的检测对于疾病的预测以及早期诊断和治疗都有重要的指导意义。自身抗体的预测价值主要体现在对自身免疫疾病发病、病情严重程度、疾病演进过程、免疫抑制治疗效果、特定临床表现等方面的预测上。因此,具有疾病预测意义的自身抗体检测,有助于自身免疫疾病的早期发现和早期治疗,这对延缓疾病的进展以及预防严重并发症的发生有重要作用。

**4.1 自身免疫性肝炎** 一项对99例AIH-1患者的研究表明, anti-actin阳性个体与发病年龄较年轻,免疫抑制治疗效果不佳以及肝功能衰竭有显著的关联,这说明了anti-actin作为血清学筛查指标,除了可以提高AIH诊断的敏感性,对疾病预后也有一定的预测价值<sup>[27]</sup>。此外, anti-dsDNA、anti-AS-GPR、anti-SLA/LP和anti-LC1与较严重的病情、高复发率、免疫抑制治疗效果不佳等有关<sup>[28-31]</sup>。

**4.2 原发性胆汁性肝硬化** 对于无症状的且ALP正常的个体, AMA检测同样也是诊断PBC的关键指标。在AMA阳性但是没有胆汁淤积症状患者中,已经出现PBC组织病理改变的比例可达40%,其余个体在随访中发生PBC的风险明显增大<sup>[32]</sup>。ALP升高、高滴度AMA-M2和-M4可能是PBC呈急性发展的风险因子<sup>[33]</sup>。AMA-IgG3阳性患者发生肝硬化的可能性增大,而且AMA-IgG3滴度与梅奥风险评分(Mayo risk score, MRS)风险指数呈正相关<sup>[34]</sup>。国内学者发现, AMA阳性PBC患者如果配合以MRS和血清IgG水平的检测,对疾病预后可以做出更加准确的判断<sup>[35]</sup>。由此可见,在慢性肝病患者中开展AMA的筛查,对于PBC的早期诊断,尽早使用UDCA预防PBC或延缓病情很有意义。

PBC相关ANA中, anti-gp210的疾病预测功能得到了多项研究的支持。Anti-gp210可以作为独立风险因子,与PBC发展成为终末期肝功能衰竭密切相关<sup>[36]</sup>, anti-gp210滴度变化的测定可用来监测UDCA治疗效果和评估PBC预后<sup>[37]</sup>。Nakamura等<sup>[38]</sup>对276例PBC确诊患者的PBC相关抗体表达与病情演进方式相关性的研究表明, anti-gp210与肝功能衰竭高度相关,抗中心体抗体(anti-centromere antibody, ACA)的存在提示发生门脉高压的风险。

## 5 AILD血清学检测中的问题

**5.1 IIF初筛与抗原特异性检测** 根据IAIHG的建议, ELISA应该作为IIF的补充,而不能替代IIF,两种方法各有其优势,也有其局限性,所以检测结果不能直接进行比较<sup>[5]</sup>。由于IIF技术本身的限制性,如IIF检验结果需要训练有素的专业人员判读,难以实现自动化,检测过程费时费力、通量低等,现在的大型医院更多依赖ELISA、多指标免疫印迹等操作便捷、自动化程度高的检测方法。然而,利用特异性检测方法在获得比较满意的敏感度时,特异性因为使用不同供应商的产品而有很大的差别,而这种问题很少在使用鼠肝-肾-胃为标准基质的IIF上发生。因此在自身抗体检测的方法和流程选择方面,目前仍然推荐在IIF筛查的基础上,作特异性检测进行确认;而对出现典型临床表现的疑似AILD患者,即使IIF检测结果为阴性,也有必要作AILD相关特异性自身抗体谱的检测,以提高诊断的准确性。

**5.2 自身抗体检测结果的判读** 具有诊断和预测价值的新的靶抗原不断被发现,丰富了AILD自身抗体谱的组成,同时也对检测结果的判读带来了新的挑战。(1)不同抗体自身的检验特性。传统的特异性检测指标的敏感度很高,但特异性较低,而大多数新的特异性自身抗体具有很高的特异性,而敏感度较低;(2)不同抗体的临床意义不同。传统的抗体在疾病诊断方面依然是主要的标记物,然而其预测价值往往不及新的指标;(3)血清学诊断结果与临床表现不符者的判读。在两者不符情况下,考虑到抗体的疾病预测功能,对于自身抗体检测阳性的个体,定期监测并适时进行药物干预不失为明智之举。

**5.3 自身抗体检测的标准化问题** 在过去的十几年中,抗原特异性检测方法在临床实验室中得到了广泛的应用,但是在检测结果的判读上普遍缺乏统一的标准和严格的质控程序(quality assurance program, QAP)。完整的质控(quality assurance, QA)体系需要产品供应商、正式的半官方机构(如卫生部临床检验中心)和检验医/技师共同参与完成。首先,产品在推向市场之前,供应商必需完成室内QA和注册,同时也是QAP的参与者;其次,美国的病理学院(The College of American Pathologist, CAP)、英国的质量评估系统(A National External Quality Assessment Service, NEQAS)、德国的国标(Institute für Standardisierung, INSTAND)定期举行AMA、anti-LKM-1、SMA的“室间”QAP,已经吸引越

来越多的实验室参与, 以验证不同方法学和不同产品的检测效能; 最后, 作为血清学检测“终端用户”的临床医师和检验医/技师, 必需熟悉检测项目的适应症、内容和意义, 各种检测方法的优缺点, 结合临床背景对检测结果进行判读<sup>[39]</sup>。由于通过多参数检测技术可以获得一组检测指标的数据, 以往“点对点”的线性分析方法已经无法满足临床应用的需要, 建立新的便捷高效的多参数分析方法已经势在必行。

## 6 结论

AILD相关自身抗体谱, 在疾病演进过程中, 在种类和强度两个方面不断的发生变化, 这就要求我们在不断丰富检测项目的同时, 也要关注疾病动态变化对检测结果的影响。在今后的研究中, 不同抗体组合与疾病特质的关联性, 以及在疾病发展过程中, 抗体表达谱的变化, 将是循证医学研究的重点。我们希望通过这样的研究, 为防治自身免疫疾病提供科学依据。

## 7 参考文献

- Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med* 2006; 354: 54-66 [PMID: 16394302 DOI: 10.1056/NEJMra050408]
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009; 51: 237-267 [PMID: 19501929 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.04.009]
- Roep BO, Buckner J, Sawcer S, Toes R, Zipp F. The problems and promises of research into human immunology and autoimmune disease. *Nat Med* 2012; 18: 48-53 [PMID: 22227672 DOI: 10.1038/nm.2626]
- Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, Harley JB. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 1526-1533 [PMID: 14561795 DOI: 10.1056/NEJMoa021933]
- Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cançado EL, Mackay IR, Manns MP, Nishioka M, Penner E. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol* 2004; 41: 677-683 [PMID: 15464251 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.08.002]
- Yang Z, Liang Y, Qin B, Li C, Zhong R. Clinical significance of conventional serum autoantibodies for various liver diseases in a Chinese population. *Clin Biochem* 2012; 45: 203-206 [PMID: 21933666 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.08.1146]
- Villalta D, Bizzaro N, Da Re M, Tozzoli R, Komorowski L, Tonutti E. Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. *Autoimmunity* 2008; 41: 105-110 [PMID: 18176872 DOI: 10.1080/08916930701619896]
- 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 [PMID: 12591064 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07257.x]
- Janka C, Selmi C, Gershwin ME, Will H, Sternsdorf T. Small ubiquitin-related modifiers: A novel and independent class of autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41: 609-616 [PMID: 15726652 DOI: 10.1002/hep.20619]
- Bogdanos DP, Baum H, Butler P, Rigopoulou EI, Davies ET, Ma Y, Burroughs AK, Vergani D. Association between the primary biliary cirrhosis specific anti-sp100 antibodies and recurrent urinary tract infection. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 801-805 [PMID: 14674671 DOI: 10.1016/S1590-8658(03)00466-3]
- Granito A, Yang WH, Muratori L, Lim MJ, Nakajima A, Ferri S, Pappas G, Quarneri C, Bianchi FB, Bloch DB, Muratori P. PML nuclear body component Sp140 is a novel autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 125-131 [PMID: 19861957 DOI: 10.1038/ajg.2009.596]
- Bauer A, Habior A. Measurement of gp210 autoantibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Lab Anal* 2007; 21: 227-231 [PMID: 17621358 DOI: 10.1002/jcla.20170]
- Wesierska-Gadek J, Klima A, Komina O, Ranftler C, Invernizzi P, Penner E. Characterization of autoantibodies against components of the nuclear pore complexes: high frequency of anti-p62 nucleoporin antibodies. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1109: 519-530 [PMID: 17785341 DOI: 10.1196/annals.1398.058]
- Ma Y, Thomas MG, Okamoto M, Bogdanos DP, Nagl S, Kerkar N, Lopes AR, Muratori L, Lenzi M, Bianchi FB, Mieli-Vergani G, Vergani D. Key residues of a major cytochrome P4502D6 epitope are located on the surface of the molecule. *J Immunol* 2002; 169: 277-285 [PMID: 12077255]
- Muratori L, Sztul E, Muratori P, Gao Y, Ripalti A, Ponti C, Lenzi M, Landini MP, Bianchi FB. Distinct epitopes on formiminotransferase cyclodeaminase induce autoimmune liver cytosol antibody type 1. *Hepatology* 2001; 34: 494-501 [PMID: 11526534 DOI: 10.1053/jhep.2001.27179]
- Zhao Y, Zhang Y, Liu YM, Liu Y, Feng X, Liao HY, Vergani D, Ma Y, Yan HP. Identification of T cell epitopes on soluble liver antigen in Chinese patients with auto-immune hepatitis. *Liver Int* 2011; 31: 721-729 [PMID: 21457445 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02487.x]
- Paiardini A, Pascarella S. Structural mimicry between SLA/LP and Rickettsia surface antigens as a driver of autoimmune hepatitis: insights from an in silico study. *Theor Biol Med Model* 2013; 10: 25 [PMID: 23575112 DOI: 10.1186/1742-4682-10-25]
- Strassburg CP, Manns MP. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002; 22: 339-352 [PMID: 12447706 DOI: 10.1055/s-2002-35704]
- Hu CJ, Zhang FC, Li YZ, Zhang X. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3616-3629 [PMID: 20677333 DOI: 10.3748/wjg.v16.i29.3616]
- Gabeta S, Norman GL, Liaskos C, Papamichalis PA, Zografos T, Garagounis A, Rigopoulou EI, Dalekos GN. Diagnostic relevance and clinical significance of the new enhanced performance M2 (MIT3) ELI-

## ■同行评价

本文对自身免疫性肝病的自身抗原谱进行了综述, 并对自身抗体的临床应用价值进行了分析和讨论, 尤其提出了疾病的预测价值, 对于临床检测有指导意义。



- SA for the detection of IgA and IgG antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol* 2007; 27: 378-387 [PMID: 17514501 DOI: 10.1007/s10875-007-9092-0]
- 21 Dähnrich C, Pares A, Caballeria L, Rosemann A, Schlumberger W, Probst C, Mytilinaiou M, Bogdanos D, Vergani D, Stöcker W, Komorowski L. New ELISA for detecting primary biliary cirrhosis-specific antimitochondrial antibodies. *Clin Chem* 2009; 55: 978-985 [PMID: 19264849 DOI: 10.1373/clinchem.2008.118299]
  - 22 Terjung B, Spengler U, Sauerbruch T, Worman HJ. "Atypical p-ANCA" in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. *Gastroenterology* 2000; 119: 310-322 [PMID: 10930366 DOI: 10.1053/gast.2000.9366]
  - 23 Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, Chapman RW, Cooksley WG, Czaja AJ, Desmet VJ, Donaldson PT, Edleston AL, Fainboim L, Heathcote J, Homberg JC, Hoofnagle JH, Kakumu S, Krawitt EL, Mackay IR, MacSween RN, Maddrey WC, Manns MP, McFarlane IG, Meyer zum Büschenfelde KH, Zeniya M. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-938 [PMID: 10580593 DOI: 10.1016/S0168-8278(99)80297-9]
  - 24 Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3374-3387 [PMID: 18528935 DOI: 10.3748/wjg.14.3374]
  - 25 Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005; 353: 1261-1273 [PMID: 16177252 DOI: 10.1056/NEJMra043898]
  - 26 Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, Sack U. Autoantibody diagnostics in clinical practice. *Autoimmun Rev* 2012; 11: 207-211 [PMID: 21621008 DOI: 10.1016/j.autrev.2011.05.014]
  - 27 Czaja AJ, Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Bianchi FB. Frequency and significance of antibodies to actin in type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1996; 24: 1068-1073 [PMID: 8903377 DOI: 10.1002/hep.510240515]
  - 28 Czaja AJ, Morshed SA, Parveen S, Nishioka M. Antibodies to single-stranded and double-stranded DNA in antinuclear antibody-positive type 1-autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1997; 26: 567-572 [PMID: 9303484 DOI: 10.1002/hep.510260306]
  - 29 Czaja AJ, Pfeifer KD, Decker RH, Vallari AS. Frequency and significance of antibodies to asialoglycoprotein receptor in type 1 autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1733-1740 [PMID: 8794787 DOI: 10.1007/BF02088738]
  - 30 Ma Y, Okamoto M, Thomas MG, Bogdanos DP, Lopes AR, Portmann B, Underhill J, Dürr R, Mieli-Vergani G, Vergani D. Antibodies to conformational epitopes of soluble liver antigen define a severe form of autoimmune liver disease. *Hepatology* 2002; 35: 658-664 [PMID: 11870381 DOI: 10.1053/jhep.2002.32092]
  - 31 McFarlane IG, Hegarty JE, McSorley CG, McFarlane BM, Williams R. Antibodies to liver-specific protein predict outcome of treatment withdrawal in autoimmune chronic active hepatitis. *Lancet* 1984; 2: 954-956 [PMID: 6149344 DOI: 10.1016/S0140-6736(84)91167-X]
  - 32 Prince MI, Chetwynd A, Craig WL, Metcalf JV, James OF. Asymptomatic primary biliary cirrhosis: clinical features, prognosis, and symptom progression in a large population based cohort. *Gut* 2004; 53: 865-870 [PMID: 15138215 DOI: 10.1136/gut.2003.023937]
  - 33 Flisiak R, Pelszynska M, Prokopowicz D, Rogalska M, Grygoruk U. High concentration of antimitochondrial antibodies predicts progressive primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5706-5709 [PMID: 16237770]
  - 34 Rigopoulou EI, Davies ET, Bogdanos DP, Liaskos C, Mytilinaiou M, Koukoulis GK, Dalekos GN, Vergani D. Antimitochondrial antibodies of immunoglobulin G3 subclass are associated with a more severe disease course in primary biliary cirrhosis. *Liver Int* 2007; 27: 1226-1231 [PMID: 17919234 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01586.x]
  - 35 Zhao DT, Liao HY, Liu YM, Zhao Y, Feng X, Yan HP. Prognostic factors and survival analysis of antimitochondrial antibody-positive primary biliary cirrhosis in Chinese patients. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2750-2757 [PMID: 21409375 DOI: 10.1007/s10620-011-1661-7]
  - 36 Wesierska-Gadek J, Penner E, Battezzati PM, Selmi C, Zuin M, Hitchman E, Worman HJ, Gershwin ME, Podda M, Invernizzi P. Correlation of initial autoantibody profile and clinical outcome in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: 1135-1144 [PMID: 16628641 DOI: 10.1002/hep.21172]
  - 37 Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, Komori A, Yokoyama T, Ueki T, Daikoku M, Yano K, Matsumoto T, Migita K, Yatsuhashi H, Ito M, Masaki N, Adachi H, Watanabe Y, Nakamura Y, Saoshiro T, Sodeyama T, Koga M, Shimoda S, Ishibashi H. Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2005; 42: 386-392 [PMID: 15710222 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.11.016]
  - 38 Nakamura M, Kondo H, Mori T, Komori A, Matsuyama M, Ito M, Takii Y, Koyabu M, Yokoyama T, Migita K, Daikoku M, Abiru S, Yatsuhashi H, Takezaki E, Masaki N, Sugi K, Honda K, Adachi H, Nishi H, Watanabe Y, Nakamura Y, Shimada M, Komatsu T, Saito A, Saoshiro T, Harada H, Sodeyama T, Hayashi S, Masumoto A, Sando T, Yamamoto T, Sakai H, Kobayashi M, Muro T, Koga M, Shums Z, Norman GL, Ishibashi H. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45: 118-127 [PMID: 17187436 DOI: 10.1002/hep.21472]
  - 39 李金明. 我国临床分子诊断质量管理和标准化的现状、问题和对策. *临床检验杂志* 2012; 30: 742-745

编辑 田滢 电编 鲁亚静

