

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.13.013

免疫球蛋白在原发性胆汁性肝硬化与自身免疫性肝炎组织中的表达及意义*

全 昕¹ 刘瑞峰¹ 孙明丽¹ 郭晓东^{2△}

(1 内蒙古巴彦淖尔市医院 内蒙古 巴彦淖尔 015000; 2 解放军第 302 医院 北京 100039)

摘要 目的:原发性胆汁性肝硬化(PBC)与自身免疫性肝炎(AIH)的临床表现存在相似性,因而不易鉴别及诊断。本研究对免疫球蛋白在 PBC 和 AIH 中的表达情况进行比较并分析其意义,为两种疾病的鉴别和诊断积累临床资料。**方法:**选取 2011 年 10 月-2012 年 10 月在我院接受治疗的原发性胆汁性肝硬化患者 20 例作为 PBC 组,另选取 20 例同期入院治疗的自身免疫性肝炎患者作为 AIH 组。利用免疫组化法检测两组患者病变组织中免疫球蛋白 IgM 和 IgG 的表达水平,比较两组细胞的阳性表达率,并对阳性细胞含量进行评分。**结果:**PBC 组:17 例患者显示 IgM 阳性(85%),3 例患者显示 IgG 阳性(15%),IgM 与 IgG 比值 >1, IgM 评分为 3.2 ± 0.8 , IgG 评分为 1.5 ± 0.6 ; AIH 组:18 例患者显示 IgG 阳性(90%),2 例患者显示 IgM 阳性(10%), IgM 与 IgG 比值 <1, IgM 评分为 1.2 ± 0.7 , IgG 评分为 2.4 ± 0.9 。PBC 组的 IgM 评分明显高于 AIH 组,而 AIH 组的 IgG 评分则明显高于 PBC 组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**检测 IgG 和 IgM 的表达水平对原发性胆汁性肝硬化与自身免疫性肝炎的临床诊断具有较高的敏感性和特异性,可作为鉴别两种疾病的依据之一,值得进一步推广应用。

关键词:浆细胞;原发性胆汁性肝硬化;自身免疫性肝炎;IgM;IgG

中国分类号:R575.1,R575.2+2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)13-2450-03

Expressions and Significances of IgM and IgG in Liver Tissues of Primary Biliary Cirrhosis and Autoimmune Hepatitis*

QUAN Xin¹, LIU Rui-feng¹, SUN Ming-li¹, GUO Xiao-dong^{2△}

(1 Hospital of Bayannur, Bayannur, Inner Mongolia, 015000, China; 2 302 Hospital of PLA, Beijing, 100039, China)

ABSTRACT Objective: It is difficult to identify and diagnose the primary biliary cirrhosis (PBC) and the autoimmune hepatitis (AIH) for the similarities of their symptoms. This article is written to provide a reference for clinical diagnosis by means of detecting the phenotypes of the immunoglobulin in liver tissues of PBC and AIH. **Methods:** 20 patients with primary biliary cirrhosis who were treated in our hospital from October 2011 to 2012 were selected as the PBC group, and another 20 patients with autoimmune hepatitis simultaneously were chosen to be the AIH group. Then the positive rates of IgM and IgG were detected by the immunohistochemistry, the levels of the plasma cells were compared and the concentrations of positive cells were evaluated in the two groups. **Results:** In the PBC group, there were 17 cases positive in IgM (85%), 3 in IgG (15%), IgM/IgG > 1; The IgM score was 3.2 ± 0.8 and the IgG score was 1.5 ± 0.6 . In the AIH group, there were 18 cases positive in IgG (90%), 2 in IgM (10%), IgM/IgG < 1; The IgM score was 1.2 ± 0.7 and the IgG score was 2.4 ± 0.9 . The IgM score of the PBC group was higher than that of the AIH group, while the IgG score of the AIH group was higher than that of the PBC group with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusions:** It is indicated that the detection of the expressions of IgG and IgM should be well promoted to the clinical as a guidance with the higher sensitivity and specificity of distinguishing the PBC and AIH.

Key words: Plasma Cell; Primary Biliary Cirrhosis; Autoimmune Hepatitis; IgM; IgG

Chinese Library Classification(CLC): R575.1,R575.2+2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)13-2450-03

前言

原发性胆汁性肝硬化(Primary Biliary Cirrhosis, PBC)与自身免疫性肝炎(Autoimmune Hepatitis, AIH)是常见的肝组织损伤类疾病,两种疾病的临床表现各有特点但却存在很多相似之

处,甚至某些症状可见重叠,这对疾病的鉴别和诊断增加了难度,极易造成误诊或漏诊而延误治疗^[1-3]。目前临床普遍采用的血液生化、自身抗体检测及病理学活检等方法对两种疾病的鉴别具有一定的作用,但因缺乏特异性标志物而在一定程度上影响诊断的准确率^[4]。

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(30901795)

作者简介:全昕(1975-),女,主治医师,主要研究方向:肝病传染病诊治等

△通讯作者:郭晓东, E-mail: gxd302@163.com

(收稿日期:2013-11-24 接受日期:2013-12-16)

免疫球蛋白(Immunoglobulin, Ig)是一组由浆细胞产生的具有抗体活性的蛋白质,是阻断病原体侵入或损害机体的第一道防线。因此,对人血清中免疫球蛋白的含量及其在病变组织中的表达情况进行检测可为疾病的临床诊断提供依据^[5]。近年来,国外大量文献均证实免疫球蛋白表型 IgM 和 IgG 在表达在原发性胆汁性肝硬化和自身免疫性肝炎患者的肝脏组织中存在明显差异^[6-8]。为了提高国内对原发性胆汁性肝硬化和自身免疫性肝炎的鉴别及诊断的准确率,我们利用现代化的诊断技术不断拓宽诊断范围。本研究采取免疫组化法检测 IgM 和 IgG 在 PBC 和 AIH 肝组织中的表达情况,进一步探讨其诊断价值及临床意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2011 年 10 月 -2012 年 10 月在本院确诊为原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者 20 例,另选取同期确诊为自身免疫性肝炎(AIH)患者 20 例,分别定义为 PBC 组和 AIH 组。所选患者包括男 6 例,女 34 例;年龄分布在 16-65 岁,平均年龄为(43.4±2.4)岁;病程为 1-6 年,平均病程为(3.2±1.1)年。两组患者均经病理学、血清学和临床症状等获得确诊;行免疫组织化学检测前均未服用相关治疗药物。

1.2 研究方法

1.2.1 主要试剂及仪器 穿刺仪器选择美国巴德机械公司提供的一次性自动穿刺针(MAXCORE, 16 G);兔抗人 IgM、IgG 多克隆抗体购自北京中杉金桥公司。

1.2.2 免疫组织化学方法^[9] 穿刺获取肝组织切片标本,长度>

1.5 cm,石蜡切片 4-5μ m;切片脱蜡至水;以 4%甲醇双氧水进行固定;8 min 后包埋;连续切片;切片标本所涉及范围包含的汇管区>8 个。常规染色,加入 0.01M(PH 7.2)磷酸盐缓冲液洗 5 min;其中 IgM 抗原检测采用热修复法,即常规染色后加入 0.01 M(PH 为 6.0)的柠檬酸液进行冲洗并置于微波炉中加热。由专业人员进行病理诊断。

1.2.3 观察指标 检测两组 IgM 和 IgG 的表达情况,浆细胞胞浆内显示棕黄色的为阳性表达。显微镜下计算两组切片同一区域内显示阳性表达的浆细胞数。半定量法对 IgM 和 IgG 含量进行评分:偶现阳性(1 分),少数阳性(2 分),中等阳性(3 分),显著阳性(4 分)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 进行数据统计,用 t 检测 IgM、IgG 阳性表达数量,计数资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

如表 1 所示,PBC 组 17 例患者显示 IgM 阳性,阳性检出率为 85%;3 例患者显示 IgG 阳性,阳性检出率为 15%;IgM/IgG>1;IgM 含量评分为 3.2 ± 0.8 ,IgG 含量评分为 1.5 ± 0.6 。AIH 组 2 例患者显示 IgM 阳性,阳性检出率为 10%;18 例患者显示 IgG 阳性,阳性检出率为 90%;IgM/IgG<1;IgM 含量评分为 1.2 ± 0.7 ,IgG 含量评分为 2.4 ± 0.9 。结果表明,原发性胆汁性肝硬化患者肝组织中 IgM 含量明显高于自身免疫性肝炎患者,而自身免疫性肝炎患者肝组织中 IgG 含量则明显高于原发性胆汁性肝硬化患者,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 两组免疫组化检测结果比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of the detective results between two groups

Group	Case	Positive IgG	Positive IgM	IgM(+)/IgG(+)	IgM score	IgG score
PBC	20	3(15%)	17(85%)	>1	3.2 ± 0.8	1.5 ± 0.6
AIH	20	18(90%)	2(10%)	<1	1.2 ± 0.7	2.4 ± 0.9

3 讨论

原发性胆汁性肝硬化(PBC)和自身免疫性肝炎(AIH)均属于自身免疫性疾病,虽然两者病理和病变性质不同,但是临床表现并不典型,需多种检查方法辅助进行综合诊断和鉴别^[10]。由于两种疾病的发病早期多隐匿,呈进展性发病,某些特殊病例不能及时诊断及治疗而延误病情。例如,PBC 造成胆管损伤,但程度较轻,可能与 AIH 造成的损伤类似,很容易造成误诊^[11,12]。此外,在对疑似病例进行肝活检时,病变较轻或病程发展至后期的 PBC 患者病理组织中可能存在不易观察到的皮性肉芽肿,因而影响诊断的准确率^[13]。因此,寻找新的检测方法来鉴别两种疾病以提升诊断的准确率是临床治疗的关键所在。

本研究利用免疫组织化学检测方法结合临床表现等综合诊断 PBC 和 AIH 发现,PBC 组 IgM 阳性例数多,而 AIH 组 IgG 阳性例数多;PBC 组 IgM 评分高于 AIH 组,AIH 组 IgG 评分高于 PBC 组。结果说明,免疫球蛋白的表型 IgG、IgM 在原发性胆汁性肝硬化与自身免疫性肝炎肝组织中的表达呈现显著

性差异,这与国外相关文献相符^[14-16]。因此,我们认为 IgG、IgM 表达的检测对 PBC 和 AIH 的诊断具有较高的敏感性和特异性。

PBC 病变主要侵犯肝内小叶间胆管,导致胆管水肿、基底膜坏死,发展为胆管炎^[17]。多发生于中老年妇女,临床可无明显特征表现,甚至病变 5 年以上才出现相应症状。病情逐渐进展,上皮性肉芽肿的形成可伴随小叶间胆管消失而发生,但是小叶内的病变程度较轻。其肝组织特点为慢性非化脓性肉芽肿性胆管炎,但是并不是均可检测到^[18,19]。AIH 病变主要存在肝实质细胞,小叶内病变较明显,常出现点灶性坏、桥接性以及融合性坏死,其主要肝组织特点是形成界面性炎症,多为中重度,呈碎屑样^[20]。

本研究针对每个病例的同一汇管区,避免因汇管区中浆细胞分布差异而造成干扰,使结果具有可比性和可操作性,数据可靠性高。综上所述,免疫组织化学法检测 IgG、IgM 的含量有助于提高临床鉴别及诊断原发性胆汁性肝硬化(PBC)与自身免疫性肝炎(AIH)的准确率,值得进一步推广应用。

参 考 文 献(References)

- [1] Tsuda M, Moritoki Y, Lian ZX, et al. Biochemical and immunologic effects of rituximab in patients with primary biliary cirrhosis and an incomplete response to ursodeoxycholic acid[J]. *Hepatology*, 2012, 55(2):512-521
- [2] 邱丽, 宋彦海, 于峰, 等. 原发性胆汁性肝硬化患者外周血淋巴细胞亚群的检测及其意义[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(35):246-247
- Qiu Li, Song Yan-hai, Yu Feng, et al. Detection of lymphocyte subsets in peripheral blood from patients with primary biliary cirrhosis and its Significance [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2012, 12(35):246-247
- [3] 郭晓东, 张学月, 胡瑾华, 等. 慢性重度乙型肝炎患者肝组织中 NF- κ Bp65 和 Caspase-3 的表达及意义 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(30):5838-5840+5901
- Guo Xiao-dong, Zhang Ning-yue, Hu Jin-hua, et al. The expressions and significances of the NF- κ Bp65 and the caspase-3 in liver tissues of the patients with the chronic and severe HBV [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2012, 12(30):5838-5840+5901
- [4] Kim BH, Kim YJ, Jeong SH, et al. Clinical features of autoimmune hepatitis and comparison of two diagnostic criteria in Korea: a nationwide, multicenter study[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(1): 128-134
- [5] Guo X, Xiong L, Zou L, et al. Up regulation of bone morphogenetic protein 4 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Pathol Oncol Res*, 2012, 18(3):635-640
- [6] Honda A, Ikegami T, Nakamuta M, et al. Anticholestatic effects of bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis treated with ursodeoxycholic acid[J]. *Hepatology*, 2013, 57(5):1931-1941
- [7] Efe C, Ozaslan E, Wahlin S, et al. Antibodies to soluble liver antigen in patients with various liver diseases: a multicentre study [J]. *Liver Int*, 2013, 33(2):190-196
- [8] Dilger K, Hohenester S, Winkler-Budenhof U, et al. Effect of ursodeoxycholic acid on bile acid profiles and intestinal detoxification machinery in primary biliary cirrhosis and health [J]. *J Hepatol*, 2012, 57(1):133-140
- [9] Myers RP, Swain MG, Lee SS, et al. B-cell depletion with rituximab in patients with primary biliary cirrhosis refractory to ursodeoxycholic acid[J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(6):933-841
- [10] 郭晓东, 张学月, 熊璐, 等. 慢加急性重型乙型肝炎患者血清干扰素 γ 水平的检测及临床意义 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(28):5460-5462
- Guo Xiao-dong, Zhang Ning-yue, Xiong Lu, et al. Diagnostic value and clinical significance of serum interferon-gamma in patients with the chronic-acute and severe HBV [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2012, 12(28):5460-5462
- [11] Welz PS, Wullaert A, Vlantis K, et al. FADD prevents RIP3-mediated epithelial cell necrosis and chronic intestinal inflammation[J]. *Nature*, 2011, 477(7364):330-334
- [12] Invernizzi P, Ransom M, Raychaudhuri S, et al. Classical HLA-DRB1 and DPB1 alleles account for HLA associations with primary biliary cirrhosis[J]. *Genes Immun*, 2012, 13(6):461-468
- [13] Neuhauser M, Bjornsson E, Treeprasertsuk S, et al. Autoimmune hepatitis-PBC overlap syndrome: a simplified scoring system may assist in the diagnosis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2010, 105(2):345-353
- [14] Guo X, Xiong L, Zou L, et al. L1 cell adhesion molecule over expression in hepatocellular carcinoma associates with advanced tumor progression and poor patient survival[J]. *Diagn Pathol*, 2012, 7: 96
- [15] Zachou K, Gatselis N, Papadamou G, et al. Mycophenolate for the treatment of autoimmune hepatitis: prospective assessment of its efficacy and safety for induction and maintenance of remission in a large cohort of treatment-naïve patients [J]. *J Hepatol*, 2011, 55(3): 636-646
- [16] Gerven NM, Verwer BJ, Witte BI, et al. Relapse is almost universal after withdrawal of immunosuppressive medication in patients with autoimmune hepatitis in remission[J]. *J Hepatol*, 2013, 58(1):141-147
- [17] Efe C, Wahlin S, Ozaslan E, et al. Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome and associated extrahepatic autoimmune diseases [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 24(5): 531-534
- [18] Merchante N, Rivero-Juárez A, Téllez F, et al. Liver stiffness predicts clinical outcome in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfecting patients with compensated liver cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2012, 56(1):228-238
- [19] Manns MP, Woynarowski M, Kreisel W, et al. Budesonide induces remission more effectively than prednisone in a controlled trial of patients with autoimmune hepatitis[J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(4): 1198-1206
- [20] Niro GA, Poli F, Andriulli A, et al. TNF-alpha polymorphisms in primary biliary cirrhosis: a northern and southern Italian experience [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1173:557-566