

· 综述 ·

DOI: 10.12449/JCH250927

## 抗线粒体抗体阴性原发性胆汁性胆管炎的无创诊断

周 嘉, 周靖媛, 高沿航

吉林大学第一医院肝胆胰内科, 感染性疾病与病原生物学中心, 长春 130021

通信作者: 高沿航, yanhang@mail.jlu.edu.cn (ORCID: 0000-0001-8590-6706)

**摘要:** 原发性胆汁性胆管炎(PBC)是一种自身免疫性疾病,主要特征是肝内胆管的胆汁淤积。抗线粒体抗体(AMA)是目前诊断PBC的关键血清标志物,但仍有5%~10%的PBC患者血清中无法检测出AMA,可能需要依赖肝脏活组织检查确诊。对于AMA阴性的PBC患者,无创性诊断仍是一个挑战。本文回顾除AMA外其他特异性血清标志物的研究进展,总结这些血清标志物诊断AMA阴性PBC的优缺点,并分析未来有望成为AMA阴性PBC患者无创性诊断的新生物标志物类型,以期发现敏感性更高的血清标志物提供新思路。

**关键词:** 原发性胆汁性胆管炎; 自身抗体; 诊断; 生物标记

**基金项目:** 国家自然科学基金(U24A20654, 82170602); 吉林省自然科学基金自由探索重点项目(YDZJ202401427ZYTS); 吉林省肝脏代谢重点实验室(YDZJ202502CXJD002); 国家重点研发计划(2024YFE0213800)

### Noninvasive diagnosis of anti-mitochondrial antibody-negative primary biliary cholangitis

ZHOU Jia, ZHOU Jingyuan, GAO Yanhang

Department of Hepatology, The First Hospital of Jilin University, Center of Infections Disease and Pathogen Biology, Changchun 130021, China

Corresponding author: GAO Yanhang, yanhang@mail.jlu.edu.cn (ORCID: 0000-0001-8590-6706)

**Abstract:** Primary biliary cholangitis (PBC) is an autoimmune disease characterized by cholestasis of the intrahepatic bile ducts. Anti-mitochondrial antibody (AMA) is currently the key serum marker for the diagnosis of PBC, and however, there are still 5%—10% of patients with PBC who have undetectable AMA in their serum and need liver biopsy to make a confirmed diagnosis. Noninvasive diagnosis remains a challenge in AMA-negative PBC patients. This article reviews the research advances in specific serum markers other than AMA, summarizes the advantages and disadvantages of these serum markers in the diagnosis of AMA-negative PBC, and analyzes the types of new biomarkers that may be used in the noninvasive diagnosis of patients with AMA-negative PBC, in order to provide new ideas for identifying serum markers with higher sensitivities.

**Key words:** Primary Biliary Cirrhosis; Autoantibodies; Diagnosis; Biomarkers

**Research funding:** National Natural Science Foundation of China (U24A20654, 82170602); Natural Science Foundation for Self-Exploration Research of Jilin Province (YDZJ202401427ZYTS); Jilin Provincial Key Laboratory of Metabolic Liver Diseases (YDZJ202502CXJD002); National Key Research and Development Program of China (2024YFE0213800)

原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)是一种慢性进行性胆汁淤积性肝病,因自身免疫系统攻击肝内小胆管导致胆汁淤积,最终可进展为肝硬化。与其他胆汁淤积性肝病的特征相似,PBC患者血清

中的ALP或GGT水平通常异常升高。

抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)是诊断PBC的关键指标,主要识别线粒体酶复合体的3个靶点:丙酮酸脱氢酶复合体E2亚基(pyruvate dehydrogenase

complex E2 subunit, PDC-E2)、支链 2-酮酸脱氢酶复合体 E2 亚基 (branched-chain 2-OADC E2 subunit, BCOADC-E2) 和  $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶复合体 E2 亚基 (2-oxoglutaric acid dehydrogenase complex E2 subunit, OGDC-E2)<sup>[1]</sup>。临床中通常采用酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、间接免疫荧光法 (indirect immunofluorescence, IF)、免疫印迹法 (immunoblotting, IB) 等技术测定 AMA 水平。尽管已经开发了融合 PDC-E2、BCOADC-E2 和 OGDC-E2 的重组蛋白, 显著提高了 AMA 检测的敏感性, 但仍有 5%~10% 的 PBC 患者血清中无法检测出 AMA。这部分患者在 ELISA 检测中 AMA 滴度低于 20, IF 检测 AMA 滴度低于 1:40, 且 IB 结果中仅显示阴性条带, 需依赖其他特异性抗体检测或肝活组织检查明确 PBC 的诊断, 此类患者被称为“AMA 阴性 PBC 患者”<sup>[2]</sup>。

为研究 AMA 阴性 PBC 的潜在机制, Wasik 等<sup>[3]</sup>对 AMA 阴性和阳性 PBC 患者血清中的微小 RNA (microRNA) 进行检测, 发现 AMA 阴性 PBC 患者血清中 miR-21 的表达显著升高, 并与 AMA 抗体滴度呈负相关。推测 miR-21 可能通过影响 B 细胞的分化和功能, 以及调节免疫细胞的甲基化状态, 间接导致 AMA 减少。AMA 通过识别人胆管上皮细胞 (biliary epithelial cell, BEC) 凋亡小泡内的 PDC-E2, 诱发自身反应性 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞对 BEC 的损伤<sup>[1]</sup>, 但 AMA 阴性 PBC 患者 BEC 损伤的机制尚不明确。Deng 等<sup>[4]</sup>利用生信技术对 AMA 阴性和阳性 PBC 患者的血清抗原进行比较, 发现 AMA 阴性组中参与 B 细胞活化、吞噬识别及补体激活的蛋白表达显著上调, 而参与线粒体中电子传递和细胞代谢过程的蛋白显著下调, 与 AMA 阳性组患者相反。因此, AMA 阴性 PBC 患者可能存在不同机制介导的 BEC 损伤。

AMA 阴性 PBC 患者的临床表现、实验室指标、组织学特征、治疗反应与 AMA 阳性患者大致相同, 但存在细微差异。相较于 AMA 阳性 PBC 患者, AMA 阴性 PBC 患者发病年龄可能更小, 组织学上的炎症程度更严重, 血清免疫球蛋白 M 水平更低<sup>[5-6]</sup>。然而, 两者在肝脏相关并发症、死亡率或肝移植需求方面无显著差异<sup>[7-8]</sup>。由于诊断延误, AMA 阴性 PBC 患者明确诊断时往往已处于疾病的晚期阶段<sup>[6]</sup>, 因此这类患者的早期诊断和治疗尤为重要。在缺乏明确肝组织病理学依据的背景下, 掌握并利用新的血清生物标志物, 有助于为 AMA 阴性 PBC 患者提供更明确的诊断依据, 降低临床有创操作的必要性。本文详细阐述目前在 AMA 阴性 PBC 患者中可检测到的几种特异性生物标志物, 并为未来探索新的诊断标志物提供研究方向。

## 1 抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA) 作为无创性诊断指标的临床应用

在 30%~50% 的 PBC 患者中, 可以检测出多种 ANA。借助 IF 将 ANA 分为核包膜模式和多核点模式 2 种特定荧光类型。核包膜模式用于检测抗核包膜抗体, 主要针对核孔复合体 (nuclear pore complex, NPC) 蛋白, 如糖蛋白 210 (glycoprotein 210, gp210)、核孔蛋白 p62 (nucleoporins p62, NUP62) 等自身抗体<sup>[9]</sup>; 多核点模式主要检测抗核点抗体, 主要针对嗜酸性粒细胞白血病蛋白 (promyelocytic leukaemia protein, PML) 核体, 如分子量 100 kD 的斑点状核蛋白 (speckled nuclear protein of 100 kD, sp100)、sp140 和 PML 等自身抗体。

1.1 抗 gp210 抗体 gp210 是一种跨膜核孔蛋白, 位于 NPC 的内核膜和外核膜之间, 其主要功能是维持 NPC 结构的完整性, 确保 NPC 在核质运输、基因表达调控及 DNA 修复等过程中正常发挥作用<sup>[10]</sup>。抗 gp210 抗体主要识别 gp210 羧基末端 15 个氨基酸表位<sup>[11]</sup>。核蛋白、线粒体 PDC-E2 和大肠埃希菌之间的分子模拟研究表明, gp210 的 188-201 肽段可能作为 CD4<sup>+</sup>T 细胞表位, 促进抗 gp210 抗体的产生<sup>[12]</sup>。在基因层面, 推测人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 和肿瘤坏死因子受体相关因子 1 基因的多态性可能与抗 gp210 抗体的生成相关, 但对抗 gp210 抗体阳性组和阴性组的 GWAS (全基因组关联研究) 队列进行分析, 并未发现显著的 SNP (单核苷酸多态性) 位点<sup>[13]</sup>。抗 gp210 抗体在诊断 AMA 阴性 PBC 中具有高特异度 (75%~99%)、低敏感度 (11%~55%) 的特点<sup>[14-17]</sup>。目前, 临床常用 ELISA 测定抗 gp210 抗体水平。de Liso 等<sup>[17]</sup>研发了一种新型 gp210 抗原, 将 gp210 肽与修饰的人血清白蛋白 C 端序列融合, 有效解决了小肽抗原与聚苯乙烯结合力弱的问题, 从而提高了抗体的结合效率, 增强了 ELISA 检测的敏感性。

1.2 抗-NUP62 抗体 NUP62 位于 NPC 的中央通道内, 富含甘氨酸重复序列, 对 NPC 的物质运输功能具有重要作用<sup>[10]</sup>。目前, 关于 NUP62 抗体在 PBC 诊断中应用的研究较少, 但已有研究表明, NUP62 抗体的 ELISA 检测对 AMA 阴性 PBC 患者的敏感性和特异性分别达到 36% 和 98%<sup>[16,18]</sup>。此外, NUP62 抗体在受损的胆管中浓度增加, 可能与诱导胆管细胞的自噬和衰老有关<sup>[9]</sup>。

1.3 抗 sp100 抗体 sp100 是一种与 PML 核体相关的蛋白, 其免疫荧光染色遍布整个细胞核但不涉及核仁。sp100 同样与线粒体和大肠埃希菌存在 PDC-E2 的分子模拟现象。与抗 gp210 抗体不同, PBC 患者的 sp100 自身抗体可

识别多个表位,因此部分患者在疾病进展和熊去氧胆酸治疗过程中可能发生抗sp100表位变化,但整体抗sp100抗体状态保持不变<sup>[19]</sup>。近期的GWAS发现,HLA-DRB1\*03:01是与抗sp100抗体产生关联最强的等位基因,而PBC发病的主要风险等位基因(如HLA-DRB1\*08:03和HLA-DRB1\*07:01)与抗sp100抗体的关联较弱<sup>[13]</sup>,表明疾病易感性与sp100抗体产生的遗传基础存在分离。不同研究中,抗sp100抗体诊断AMA阴性PBC的敏感性(16%~65%)和特异性(83%~99%)存在差异<sup>[17]</sup>。抗sp100抗体水平在PBC的不同时期较为稳定,病理分期研究显示,其在早期PBC患者中的阳性率为16.7%,在Ⅲ期和Ⅳ期患者中分别为15.3%和19.5%,这种稳定性有助于亚临床或早期PBC患者的诊断<sup>[20]</sup>。

1.4 抗sp140抗体和抗PML抗体 sp140结构与sp100相似,其氨基酸末端部分与sp100的相应区域具有约50%的同源性,均为PML核体蛋白。PML作为PML核体骨架结构的主要成分<sup>[21]</sup>,其核体主要定位于细胞核中,参与基因转录调控、蛋白质合成、细胞增殖和分化等生物学过程<sup>[22]</sup>。抗sp140和抗PML抗体通常伴随抗sp100抗体出现,反之则不成立<sup>[23]</sup>,因此单独针对抗sp140或抗PML抗体在PBC诊断中作用的研究相对较少。尽管PML抗原在PBC的肝脏组织中高表达,提示其可作为区分其他胆汁淤积性肝病的潜在组织学标志物<sup>[24]</sup>,但在临床实践中,检测血清抗sp140或抗PML抗体水平的无创性辅助诊断方法尚未普及。

## 2 其他生物标志物

2.1 抗Kelch样蛋白12(kelch-like protein 12, KLHL12)和抗己糖激酶1(hexokinase 1, HK1)抗体 KLHL12位于细胞核内,包括BTB/POZ、Kelch和BACK共3个结构域,其中BTB/POZ结构域负责与Cullin 3蛋白结合;Kelch结构域用于识别和招募底物;BACK结构域则连接上述2个功能区<sup>[25]</sup>。KLHL12主要负责胶原蛋白的运输及Dishevelled蛋白的泛素化调控<sup>[26]</sup>。HK1位于线粒体外膜,作为三羧酸循环的关键酶,可催化葡萄糖磷酸化生成葡萄糖-6-磷酸。除参与细胞的能量代谢,HK1还能与线粒体外膜上的电压依赖性阴离子通道的氨基酸残基相互作用,抑制细胞色素c的释放,防止细胞凋亡<sup>[23]</sup>。

Norman等<sup>[27]</sup>利用高密度人类重组蛋白微阵列的蛋白组学技术,发现PBC患者中抗-KLHL12和抗-HK1抗体水平异常升高;在后续ELISA验证中,这2种抗体在AMA阴性PBC患者中的检出率分别为35%和22%。随

后几年,Norman在欧洲和北美5个临床试验中心的PBC人群中开展抗-KLHL12和抗-HK1抗体的检测研究,结果显示,这2种抗体在AMA阴性PBC患者中的阳性率分别为10.3%~80.0%和11.8%~40.0%,数据结果存在较大波动,可能与各临床中心样本数量和种族人群异质性相关<sup>[28]</sup>。联合检测结果显示,AMA阴性患者中至少对一种抗体呈阳性的比例为38.4%,因此联合检测抗-KLHL12和抗-HK1抗体可提高AMA阴性PBC患者的诊断覆盖率。我国最新研究报告显示,抗-KLHL12抗体诊断AMA阴性PBC的敏感性、特异性分别为12.5%、98%,抗-HK1抗体的敏感性、特异性分别为33.3%、98%,与以往研究结果一致<sup>[29]</sup>;亚洲人群数据的补充,进一步验证了这2种抗体作为全球通用生物诊断标志物的可行性<sup>[30]</sup>。此外,多数研究显示抗-HK1抗体水平高于抗-KLHL12抗体,这可能与两者的抗原定位差异相关(HK1位于细胞质中,而KLHL12位于细胞核内)。

2.2 自体脂肪酶(autotaxin, ATX) ATX是一种由外核苷酸焦磷酸二酯酶基因编码的分泌型溶脂磷脂酶,通过催化溶血磷脂酰胆碱水解生成具有生物活性的溶血磷脂酸,参与胰岛素抵抗、细胞运动迁移、血管生成、血小板聚集、免疫炎症反应调节等多种生物途径<sup>[31]</sup>。ATX与PBC发生的因果关系尚未明确,为了评估ATX在PBC患者中的诊断价值,Yang等<sup>[32]</sup>应用竞争性抑制ELISA检测PBC患者和健康对照者的ATX水平,结果显示,PBC患者的ATX水平显著高于健康对照者(中位数:60.7 ng/mL vs 32.6 ng/mL,  $P<0.001$ ),ATX的敏感性和特异性分别达到54.3%和93.1%。在AMA阴性PBC患者中,ATX的阳性率高达50%,这一比例高于抗gp210抗体(11.1%)和抗sp100抗体(16.7%),因此ATX可作为AMA阴性PBC患者诊断的潜在生物标志物。但此研究并未纳入其他肝病作为对照,且ATX水平被证实在特发性肺纤维化、慢性病毒性肝炎、非酒精性脂肪肝及类风湿性关节炎中均会升高,还可能与肝细胞的自噬、迁移和肝纤维化相关<sup>[33]</sup>。未来诊断实验研究应纳入更多慢性肝病与其他自身免疫性疾病患者作为对照,以探究不同人群及不同PBC分期患者的血清ATX水平差异。AMA阴性PBC患者血清生物标志物的诊断效能评价见表1。

## 3 AMA阴性PBC传统血清标志物的临床挑战

虽然抗gp210抗体和抗sp100抗体已被纳入国内外指南的诊断标准,但在AMA阴性PBC患者中,仅部分患者表现为ANA阳性,存在漏诊风险。ANA产生机制的复杂性及

表1 AMA 阴性PBC 患者血清生物标志物的诊断效能评价

Table 1 Evaluation of the diagnostic performance of serum biomarkers in AMA-negative primary biliary cholangitis patients

血清标志物	定位	功能	敏感度 (%)	特异度 (%)
抗gp210抗体 <sup>[14-18]</sup>	细胞核核膜,跨膜NPC蛋白	维持NPC结构的完整性	11~55	75~99
抗-NUP62抗体 <sup>[18]</sup>	细胞核核膜,NPC中央通道内	物质运输功能	36	98
抗sp100抗体 <sup>[17,20]</sup>	细胞核内,PML核体相关蛋白	参与调控基因转录、蛋白质合成、细胞增殖和分化等生物学过程	16~65	83~99
抗sp140抗体 <sup>[17]</sup>	细胞核内,PML核体相关蛋白	参与调控基因转录、蛋白质合成、细胞增殖和分化等生物学过程	56	100
抗PML抗体 <sup>[17]</sup>	细胞核内,PML核体蛋白	参与调控基因转录、蛋白质合成、细胞增殖和分化等生物学过程	41	100
抗-KLHL12抗体 <sup>[28-30]</sup>	细胞核	胶原蛋白运输;调控 Dishevelled 蛋白泛素化	10.5~80	96~98
抗-HK1抗体 <sup>[28-30]</sup>	线粒体外膜	参与细胞能量代谢;抑制细胞色素c的释放,防止细胞凋亡	11.8~40	85~98
ATX <sup>[32]</sup>	脂肪细胞、内皮细胞、单核细胞、树突状细胞、肝细胞等细胞分泌	胰岛素抵抗、细胞运动和增殖、血管生成、血小板聚集、炎症反应调节	50	93.1

检测方法的局限性是其低敏感性的主要原因。在产生机制方面,遗传和感染因素均可能影响ANA的生成;此外,ANA主要的抗原靶点位于细胞核内,与AMA所针对的细胞质线粒体存在显著差异。在检测方法方面,临床上用于检测ANA的主要方法包括IF、ELISA和IB,这些技术通常用于定性或半定量分析,且自动化水平有限。为了提升检测技术的准确性,一种基于多颗粒载体的检测技术逐渐成为研究热点,该技术构建的包被特异性抗原表位的不同微球载体可同时检测多种自身抗体,实现联合诊断。Wang等<sup>[34]</sup>研究表明,使用多重微球流式荧光免疫技术(multiplex bead-based flow fluorescent immunoassay, MBFFI)联合检测AMA-M2、抗gp210和抗sp100抗体,结果与传统IF方法一致,且能提高AMA阴性PBC患者诊断的敏感性<sup>[35]</sup>。Villalta等<sup>[36]</sup>研究建议将抗-KLHL12和抗-HK1抗体纳入联合检测体系,但该新型检测技术在临床实际应用中仍面临成本高昂、缺乏统一的临界值标准、数据解读复杂等诸多挑战。未来需通过多中心验证研究,建立标准化的检测流程。

sp140、PML与sp100均属于PML核体组分。研究显示抗sp140和抗PML抗体几乎仅出现在抗sp100阳性患者中,反之则不成立<sup>[37]</sup>。这表明sp100可能是针对PML核体免疫反应的首要靶点,随后通过抗原表位扩散机制扩展至sp140和PML,因此抗sp100抗体更常作为临床诊断标准。

目前,针对抗-KLHL12抗体、抗-HK1抗体和ATX的研究多基于小样本,缺乏大规模队列验证,研究数据有限,临床证据不足,因此尚未广泛应用。未来可借助MBFFI等新型高通量检测技术进行多种抗体联合检测,实现AMA阴性PBC诊断从单一抗体依赖向多抗体谱分析的转变(图1)。

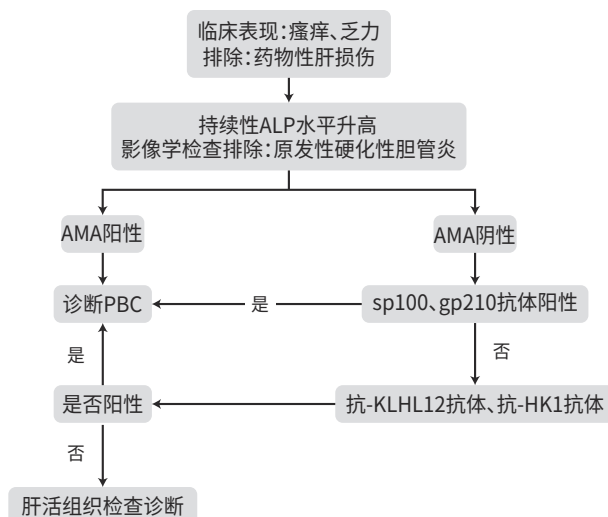


图1 AMA 阴性PBC的分层诊断流程

Figure 1 Stratified diagnostic algorithm for AMA-negative PBC

#### 4 可溶性免疫检查点和抗细胞因子抗体的诊断潜力

目前,在AMA阴性PBC患者的血清标志物识别中,普遍存在高特异性、低敏感性的问题。尽管新发现的ATX在AMA阴性PBC患者中的敏感性高达50%,但为了验证其在临床应用中的可行性,仍需开展进一步的临床研究。因此,持续探寻对AMA阴性PBC患者具有高效识别能力的诊断生物标志物具有必要性。

免疫检查点是免疫细胞产生的一类调节自身免疫功能的蛋白分子,能够抑制或促进免疫活动<sup>[38]</sup>。PBC是肝脏免疫系统异常激活并攻击胆管上皮细胞的结果,因此研究PBC患者免疫检查点的组织学表达有助于理解

PBC的发病机制,而血清可溶性免疫检查点的检测可为AMA阴性PBC患者的无创性诊断提供新思路。最新研究发现,PBC患者中可溶性CD134、淋巴细胞活化基因3蛋白(lymphocyte activation gene 3 protein,LAG-3)、程序性死亡受体1(programmed cell death protein-1,PD-1)、程序性死亡-配体1(programmed cell death ligand 1,PD-L1)及T淋巴细胞免疫球蛋白黏蛋白3(T cell immunoglobulin domain and mucin domain-3,TIM-3)的水平显著高于健康对照组,与疾病进展呈正相关<sup>[39]</sup>。其中,可溶性PD-L1和CD134的受试者操作特征曲线下面积(AUC)分别为0.970 4和0.966 7,其诊断性能优于GGT(0.957 7)和ALP(0.959 1)。CD134作为一种刺激性免疫检查点分子,能够增强单核细胞抗原呈递能力,放大T细胞活化效应,并促进促炎性细胞因子生成;PD-L1作为一种维持免疫耐受的抑制性免疫检查点分子,在抑制T细胞活化和扩增的初始阶段和再次免疫应答中发挥重要的调节作用。然而,这2种可溶性免疫检查点与多种肝脏疾病相关。例如,可溶性CD134与非酒精性脂肪性肝病的进程相关,可溶性PD-L1受体在自身免疫性肝炎和炎症性肠病中呈升高趋势<sup>[40]</sup>。因此,若将可溶性免疫检测点纳入AMA阴性PBC患者无创性辅助诊断工具,需进一步扩大研究样本数量和病种范围,以提高其诊断特异性。

抗细胞因子抗体(anti-cytokine autoantibody,ACAA)是体内可中和或改变细胞因子活性的小分子,可调控细胞因子信号通路或改变细胞因子在循环中的半衰期,具备致病或缓解疾病的潜力<sup>[41]</sup>,因此可用于疾病的早期诊断。例如,IFN-1抗体可用于诊断婴儿的抗磷脂综合征,IL-12和IL-23抗体可用于监测胸腺恶性肿瘤,高水平的抗B细胞激活因子抗体可能预示系统性红斑狼疮进入缓解期<sup>[42]</sup>。尽管ACAA的产生机制及其在自身免疫性疾病发病中的具体作用尚未明确,但通过检测这些抗体的存在及水平变化,可实现疾病的早期识别与监测。目前,关于PBC患者中ACAA的水平及其与疾病进程的关联尚无文献报道,未来可对其进行探索性检测。

## 5 小结与展望

血清生物标志物检测是诊断AMA阴性PBC患者的一种经济高效且无创的方法,尽管抗gp210、抗sp100、抗sp140、抗PML、抗-KLHL12和抗-HK1等抗体在诊断时展现出较高的特异性,但敏感性普遍较低,这可能与抗体产生机制、靶点定位和检测方法相关。因此,AMA阴性PBC患者的无创性诊断仍面临临床挑战。可溶性免疫

检查点和ACAA可能为新生物标志物的发现提供方向,未来研究应聚焦于优化已知生物标志物的检测手段,致力于发现具有更高敏感性的新生物标志物,以提高诊断效率和准确性。

**利益冲突声明:** 本文不存在任何利益冲突。

**作者贡献声明:** 高沿航负责课题设计;高沿航、周嘉负责查阅文献并起草论文;高沿航、周嘉、周靖媛参与文章撰写及修改,校阅论文。

## 参考文献:

- [1] TANAKA A. Current understanding of primary biliary cholangitis[J]. Clin Mol Hepatol, 2021, 27(1): 1-21. DOI: 10.3350/cmh.2020.0028.
- [2] FARZAM K, GIBB C. Novel antibodies for anti-mitochondrial antibody-negative primary biliary cholangitis[J]. Biomark Med, 2023, 17(9): 455-457. DOI: 10.2217/bmm-2023-0143.
- [3] WASIK U, KEMPINSKA-PODGOROĐECKA A, BOGDANOS DP, et al. Enhanced expression of miR-21 and miR-150 is a feature of anti-mitochondrial antibody-negative primary biliary cholangitis[J]. Mol Med, 2020, 26(1): 8. DOI: 10.1186/s10020-019-0130-1.
- [4] DENG CW, WANG L, FEI YY, et al. Exploring pathogenesis of primary biliary cholangitis by proteomics: A pilot study[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(48): 8489-8499. DOI: 10.3748/wjg.v23.i48.8489.
- [5] CANÇADO GGL, BRAGA MH, FERRAZ MLG, et al. Anti-mitochondrial antibody-negative primary biliary cholangitis is part of the same spectrum of classical primary biliary cholangitis[J]. Dig Dis Sci, 2022, 67(7): 3305-3312. DOI: 10.1007/s10620-021-07122-y.
- [6] CHASCSA DM, LINDOR KD. Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cholangitis: Is it really the same disease?[J]. Clin Liver Dis, 2018, 22(3): 589-601. DOI: 10.1016/j.cld.2018.03.009.
- [7] ZANDANELLI S, STRASSER M, FELDMAN A, et al. Similar clinical outcome of AMA immunoblot-M2-negative compared to immunoblot-positive subjects over six years of follow-up[J]. Postgrad Med, 2021, 133(3): 291-298. DOI: 10.1080/00325481.2021.1885945.
- [8] JOHN BV, DAHMAN B, DENG YY, et al. Rates of decompensation, hepatocellular carcinoma and mortality in AMA-negative primary biliary cholangitis cirrhosis[J]. Liver Int, 2022, 42(2): 384-393. DOI: 10.1111/liv.15079.
- [9] CRISTOFERI L, GERUSSI A, INVERNIZZI P. Anti-gp210 and other anti-nuclear pore complex autoantibodies in primary biliary cholangitis: What we know and what we should know[J]. Liver Int, 2021, 41(3): 432-435. DOI: 10.1111/liv.14791.
- [10] BECK M, HURT E. The nuclear pore complex: Understanding its function through structural insight[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2016, 18(2): 73-89. DOI: 10.1038/nrm.2016.147.
- [11] YANG Z, WANG XY, RAN Y, et al. Research progress on clinical features and pathogenesis of anti-gp210-positive primary biliary cholangitis[J]. Chin J Intern Med, 2024, 63(9): 901-906. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20230901-00104. 杨珍, 王晓艺, 冉影, 等. 抗gp210抗体阳性原发性胆汁性胆管炎患者的临床特征和发病机制研究进展[J]. 中华内科杂志, 2024, 63(9): 901-906. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20230901-00104.
- [12] ZHANG JH, LI SL. Production mechanism and detection value of anti-gp210 antibody in primary biliary cholangitis[J]. J Clin Hepatol, 2022, 38(6): 1416-1419. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.06.041. 张继红, 李素领. 抗gp210抗体在原发性胆汁性胆管炎中的产生机制与检测价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(6): 1416-1419. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.06.041.
- [13] WANG C, ZHENG XD, JIANG P, et al. Genome-wide association stud-

- ies of specific antinuclear autoantibody subphenotypes in primary biliary cholangitis[J]. *Hepatology*, 2019, 70(1): 294-307. DOI: 10.1002/hep.30604.
- [14] JASKOWSKI TD, NANDAKUMAR V, NOVIS CL, et al. Presence of anti-gp210 or anti-sp100 antibodies in AMA-positive patients may help support a diagnosis of primary biliary cholangitis[J]. *Clin Chim Acta*, 2023, 540: 117219. DOI: 10.1016/j.cca.2023.117219.
- [15] HALDAR D, JANMOHAMED A, PLANT T, et al. Antibodies to gp210 and understanding risk in patients with primary biliary cholangitis[J]. *Liver Int*, 2021, 41(3): 535-544. DOI: 10.1111/liv.14688.
- [16] BAUER A, HABIOR A, GAWEL D. Diagnostic and clinical value of specific autoantibodies against kelch-like 12 peptide and nuclear envelope proteins in patients with primary biliary cholangitis[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(4): 801. DOI: 10.3390/biomedicines10040801.
- [17] de LISO F, MATINATO C, RONCHI M, et al. The diagnostic accuracy of biomarkers for diagnosis of primary biliary cholangitis (PBC) in anti-mitochondrial antibody (AMA)-negative PBC patients: A review of literature[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 56(1): 25-31. DOI: 10.1515/cclm-2017-0249.
- [18] BAUER A, HABIOR A. Detection of autoantibodies against nucleoprotein p62 in sera of patients with primary biliary cholangitis[J]. *Ann Lab Med*, 2019, 39(3): 291-298. DOI: 10.3343/alm.2019.39.3.291.
- [19] ZÜCHNER D, STERNSDORF T, SZOSTECKI C, et al. Prevalence, kinetics, and therapeutic modulation of autoantibodies against Sp100 and promyelocytic leukemia protein in a large cohort of patients with primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*, 1997, 26(5): 1123-1130. DOI: 10.1002/hep.510260506.
- [20] ZHU YJ, LI J, LIU YG, et al. Role of biochemical markers and autoantibodies in diagnosis of early-stage primary biliary cholangitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2023, 29(34): 5075-5081. DOI: 10.3748/wjg.v29.i34.5075.
- [21] GRANITO A, MURATORI L, TOVOLI F, et al. Autoantibodies to speckled protein family in primary biliary cholangitis[J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2021, 17(1): 35. DOI: 10.1186/s13223-021-00539-0.
- [22] WANG PR, BENHENDA S, WU HY, et al. RING tetramerization is required for nuclear body biogenesis and PML sumoylation[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1277. DOI: 10.1038/s41467-018-03498-0.
- [23] LEVY C, BOWLUS CL. Role of antinuclear antibodies in primary biliary cholangitis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2020, 115(10): 1604-1606. DOI: 10.14309/ajg.0000000000000765.
- [24] PAPAMICHALIS PA, ZACHOU K, PAPAMICHALI RA, et al. Promyelocytic leukemia antigen expression: A histological marker for primary biliary cholangitis diagnosis?[J]. *J Transl Int Med*, 2021, 9(1): 43-51. DOI: 10.2478/jtim-2021-0008.
- [25] ZHOU YG, ZHANG Q, ZHAO ZQ, et al. Targeting kelch-like (KLHL) proteins: Achievements, challenges and perspectives[J]. *Eur J Med Chem*, 2024, 269: 116270. DOI: 10.1016/j.ejmech.2024.116270.
- [26] SHI XX, XIANG SF, CAO J, et al. Kelch-like proteins: Physiological functions and relationships with diseases[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 148: 104404. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104404.
- [27] NORMAN GL, YANG CY, OSTENDORFF HP, et al. Anti-kelch-like 12 and anti-hexokinase 1: Novel autoantibodies in primary biliary cirrhosis[J]. *Liver Int*, 2015, 35(2): 642-651. DOI: 10.1111/liv.12690.
- [28] NORMAN GL, REIG A, VIÑAS O, et al. The prevalence of anti-hexokinase-1 and anti-kelch-like 12 peptide antibodies in patients with primary biliary cholangitis is similar in Europe and North America: A large international, multi-center study[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 662. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00662.
- [29] LIU ZY, XU LS, LIU B. Detection of anti-kelch-like 12 and anti-hexokinase 1 antibodies in primary biliary cholangitis patients in China [J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2021, 113(8): 585-590. DOI: 10.17235/reed.2020.7483/2020.
- [30] REIG A, NORMAN GL, GARCIA M, et al. Novel anti-hexokinase 1 antibodies are associated with poor prognosis in patients with primary biliary cholangitis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2020, 115(10): 1634-1641. DOI: 10.14309/ajg.0000000000000690.
- [31] SMYTH SS, KRAEMER M, YANG LP, et al. Roles for lysophosphatidic acid signaling in vascular development and disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2020, 1865(8): 158734. DOI: 10.1016/j.bbalip.2020.158734.
- [32] YANG YF, LIU BQ, ZANG B, et al. Autotaxin: A Potential biomarker for primary biliary cholangitis[J]. *Heliyon*, 2023, 10(1): e23438. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e23438.
- [33] MAGKRIOTI C, GALARIS A, KANELLOPOULOU P, et al. Autotaxin and chronic inflammatory diseases[J]. *J Autoimmun*, 2019, 104: 102327. DOI: 10.1016/j.jaut.2019.102327.
- [34] WANG Z, LI YX, REN LS, et al. Clinical performance of AMA-M2, anti-gp210 and anti-sp100 antibody levels in primary biliary cholangitis: When detected by multiplex bead-based flow fluorescent immunoassay[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2024, 12(1): e1161. DOI: 10.1002/iid3.1161.
- [35] BEN LAMINE Z, BEN JAZIA I, BEN AHMED M, et al. Anti-gp210 and anti-Sp100 antibodies in primary biliary cholangitis[J]. *Arab J Gastroenterol*, 2021, 22(4): 316-320. DOI: 10.1016/j.ajg.2021.05.006.
- [36] VILLALTA D, SEAMAN A, TIONGSON M, et al. Evaluation of a novel extended automated particle-based multi-analyte assay for the detection of autoantibodies in the diagnosis of primary biliary cholangitis[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2020, 58(9): 1499-1507. DOI: 10.1515/cclm-2020-0122.
- [37] GRANITO A, YANG WH, MURATORI L, et al. PML nuclear body component Sp140 is a novel autoantigen in primary biliary cirrhosis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2010, 105(1): 125-131. DOI: 10.1038/ajg.2009.596.
- [38] ZHANG YP, ZHENG JK. Functions of immune checkpoint molecules beyond immune evasion[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1248: 201-226. DOI: 10.1007/978-981-15-3266-5\_9.
- [39] GAO XZ, WANG XM, GUAN YZ, et al. Soluble immune checkpoints are elevated in patients with primary biliary cholangitis[J]. *Eur J Med Res*, 2023, 28(1): 477. DOI: 10.1186/s40001-023-01419-6.
- [40] HADLEY T, GILLESPIE S, ESPINOZA H, et al. Soluble PD1 levels are increased with disease activity in paediatric onset autoimmune hepatitis and inflammatory bowel disease[J]. *Autoimmunity*, 2020, 53(5): 253-260. DOI: 10.1080/08916934.2020.1755964.
- [41] CHENG A, HOLLAND SM. Anti-cytokine autoantibodies: Mechanistic insights and disease associations[J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 24(3): 161-177. DOI: 10.1038/s41577-023-00933-2.
- [42] HOWE HS, LEUNG BPL. Anti-cytokine autoantibodies in systemic lupus erythematosus[J]. *Cells*, 2019, 9(1): 72. DOI: 10.3390/cells9010072.

收稿日期: 2025-01-20; 录用日期: 2025-03-26

本文编辑: 林姣

引证本文: ZHOU J, ZHOU JY, GAO YH. Noninvasive diagnosis of anti-mitochondrial antibody-negative primary biliary cholangitis[J]. *J Clin Hepatol*, 2025, 41(9): 1896-1901.

周嘉, 周靖媛, 高沿航. 抗线粒体抗体阴性原发性胆汁性胆管炎的无创诊断[J]. *临床肝胆病杂志*, 2025, 41(9): 1896-1901.