

## 自身免疫性肝病和病毒性肝炎患者血清中抗肝抗体检测的临床意义\*

林江<sup>a</sup>, 王珂<sup>a</sup>, 陈孙云<sup>b</sup>

(东南大学医学院附属江阴医院 a. 检验科; b. 感染科, 江苏江阴 214400)

**摘要:**目的 探讨抗肝原几种抗体在自身免疫性肝病和病毒性肝炎患者血清中检测率及其临床意义。方法 收集江阴市人民医院 2010~2014 年肝病患者血清, 根据疾病诊断分为自身免疫性肝病组 48 例: 包括自身免疫性肝炎(AIH)12 例, 原发性胆汁性肝硬化(PBC)36 例; 病毒性肝炎组 62 例: 包括 10 例 HAV, 30 例 HBV, 14 例 HCV, 8 例 HEV; 以及 30 例正常对照组。采用免疫印迹法分别检测上述血清标本中抗肝抗原(AMA-M2, LKM-1, LC-1, SLA/LP, GP210, SP100)自身抗体。结果 抗 AMA-M2 抗体, 抗 LKM-1 抗体, 抗 LC-1 抗体, 抗 SLA/LP 抗体, 抗 GP210 抗体和抗 SP100 抗体在 AIH 组的阳性率分别为 16.7%(2/12), 16.7%(2/12), 8.3%(1/12), 25%(3/12), 0%(0/12)和 16.7%(2/12); 在 PBC 组阳性率分别为 83.3%(30/36), 0%(0/36), 0%(0/36), 0%(0/36), 44.4%(16/36)和 27.8%(10/36); 在乙型肝炎患者中检出 1 例(3.3%, 1/30)AMA-M2 阳性, 1 例(3.3%, 1/30)抗 GP210 抗体阳性, 2 例(6.7%, 2/30)抗 SP100 抗体阳性; 在丙型肝炎患者中检出 1 例(7.1%, 1/14)抗 SP100 抗体阳性; 在甲型肝炎、戊型肝炎未检出自身抗体。抗 AMA-M2 抗体、抗 GP210 抗体和抗 SP100 抗体在自身免疫性肝病组阳性率明显高于病毒性肝炎组( $\chi^2$  值分别为 33.9, 10.6, 8.8,  $P$  值均  $<0.05$ )。抗 SLA/LP 抗体在 AIH 组阳性率明显高于 PBC 组( $\chi^2 = 6.4$ ,  $P < 0.05$ )。AMA-M2 和抗 GP210 抗体在 PBC 组阳性率明显高于 AIH 组( $\chi^2$  值分别为 15.1 和 6.1,  $P < 0.05$ )。病毒性肝炎患者检出率低, 与正常对照组比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 1.1$ ,  $P > 0.05$ )。结论 抗肝抗体对自身免疫性肝病的明确诊断及鉴别诊断有重要的临床意义。

**关键词:** 自身免疫性肝病; 免疫印迹法; 自身抗体

中图分类号: R512.6; R575; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)03-153-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.03.047

## Clinical Significance of Detection Antibody of Liver Antigens in Patients with Autoimmune Hepatic Diseases and Viral Hepatitis

LIN Jiang<sup>a</sup>, WANG Ke<sup>a</sup>, CHEN Sun-yun<sup>b</sup>

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Infectious Diseases, Jiangyin People's Hospital Affiliated to Medical School of Southeast University, Jiangsu Jiangyin 214400, China)

**Abstract:** **Objective** To study the positive incidence and clinical significance of auto-antibody of liver antigens in the serum of patients with autoimmune hepatitis diseases and viral hepatitis. **Methods** The serum samples with hepatic diseases were collected in Jiangyin People's Hospital from 2010 to 2014 year. Patients were divided into three groups according to diseases: autoimmune hepatic disease group including autoimmune hepatitis (AIH) 12 cases and primary biliary cirrhosis (PBC) 36 case; viral hepatic group including HAV 23 cases, HBV 30 cases, HCV 14 cases and HEV 8 cases; normal control group 30 cases. Auto-antibody of live antigens AMA-M2, LKM-1, LC-1, SLA/LP, GP210 and SP100 were tested respectively by western blotting assay. **Results** The positive rates of anti-AMA-M2, anti-LKM-1, anti-LC-1, anti-SLA/LP, anti-GP210, anti-SP100 were 16.7%, 16.7%, 8.3%, 25%, 0% and 16% respectively in AIH group, 83.3%, 0%, 0%, 0%, 44.4% and 27.8% respectively in PBC group. Patients with viral hepatitis, one case were anti-AMA-M2 positive, one case were anti-GP210 positive and three case with positive anti-SP100. anti-AMA-M2, anti-GP210 and anti-SP100 were detected more frequently in autoimmune liver diseases group than viral hepatitis group ( $\chi^2 = 33.9, 10.6$  and  $8.8$ ,  $P < 0.05$ ), anti-SLA/LP were detected more frequently in AIH group than PBC group ( $\chi^2 = 6.4$ ,  $P < 0.05$ ), while anti-AMA-M2, anti-GP210 and were detected more frequently in PBC group than AIH group ( $\chi^2 = 15.1$  and  $6.1$ ,  $P < 0.05$ ). The positive rate of viral hepatic group was a very low frequency, there are little statistically significant difference ( $\chi^2 = 1.1$ ,  $P > 0.05$ ) compared with normal control group. **Conclusion** The antibody of liver antigens are useful clinically for diagnosing and classifying autoimmune liver disease.

**Keywords:** autoimmune liver disease; immune-blotting assay; autoantibody

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, 自身免疫反应引起的自身免疫性慢性肝脏疾病, 根据 AID)是一组病因和发病机理尚不完全清楚、由其临床表现、生化、免疫学、影像学和组织病理学特

\* 作者简介: 林江(1977-), 女, 硕士研究生, 主管技师, 研究方向: 免疫检验, Tel: 13812135610, E-mail: 15086265@qq.com。

点,分为自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)以及重叠综合征(overlap syndrome, OS)<sup>[1]</sup>。近年来国内对自身免疫性肝病的认识不断提高,有关自身抗体的检测技术也有了迅速的发展。目前,自身免疫性抗体的检测已成为临床诊断自身免疫性肝病的重要手段,本资料采用抗肝抗原谱,应用免疫印迹法分别检测自身免疫性肝病、病毒性肝炎患者及正常对照病人血清中对应的自身抗体,分析该项目检测在不同肝脏疾病之间的表达差异,并探讨其临床意义。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 本资料源于我院2010年1月~2014年6月期间住院病人的血清标本。根据临床病原学和病因学诊断,把住院患者分为三组:①自身免疫性肝病组48例:其中自身免疫性肝炎(AIH)12例,原发性胆汁性肝硬化(PBC)36例。男性:女性=4:3.6,平均年龄52.10岁(30~67岁)。②病毒性肝炎组62例:其中甲型肝炎(HAV)10例,乙型肝炎(HBV)30例,丙型肝炎(HCV)14例,戊型肝炎(HEV)8例。③健康体检者30例作为对照组,其中男性12例,女性18例,年龄20~51岁,平均年龄35岁。正常对照组所有对象均无自身免疫性疾病,无心、肝、肺等器官疾患,并且肝功能检测无异常。收集患者血清于-80℃保存备用。

1.2 试剂和仪器 抗肝抗原抗体检测试剂由德国IMTEC公司提供,将基因重组表达的LKM-1, LC-1, SLA/LP, AMA-M2, SP100和Gp210抗原包被于硝酸纤维薄膜上。采用免疫印迹法检测患者血清中的抗肝肾微粒体1型(LKM-1)抗体、抗肝溶质抗原1型(LC-1)抗体、抗可溶性肝抗原/胰抗原(SLA/LP)抗体、抗线粒体亚型-丙酮酸脱氢酶复合物(AMA-M2)抗体、抗核点蛋白100

(SP100)抗体、抗-核包膜蛋白210抗体(Gp210);病毒性肝炎检测,其中丙型肝炎病毒抗体试剂盒由上海科华实业有限公司提供,甲、戊肝炎检测试剂盒由山东潍坊三维生物工程有限公司提供,而乙肝采用新波公司提供的Easycut全自动时间分辨荧光免疫分析仪及配套的试剂。

1.3 方法 将1 ml奶液加入反应槽浸润膜条,再加入1 ml奶液和待检血清10  $\mu$ l,室温水平振荡孵育60 min,用配制的洗液洗膜3次,滴加酶标记抗人IgG,室温摇床摇30 min,洗膜3次。加NBT/BC IP显色液,摇床摇10 min,最后用蒸馏水终止反应。以对照条带图观察特定区域条带,着色清晰可见的带判为阳性结果。

ELISA法检测血清中各类病毒性肝炎标志物,包括甲型肝炎病毒抗体(HAV)IgM、丙型肝炎病毒抗体(HCV)、戊型肝炎病毒抗体(HEV),乙型肝炎病毒采用时间分辨免疫荧光法定量检测。

1.4 统计学分析 计数资料采用例数或百分数表示,比较采用 $\chi^2$ 检验。所有数据用SPSS15.0统计软件包进行统计分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果 自身免疫性肝病组患者检出AMA-M2,抗GP210抗体,抗SP100抗体,抗LKM-1,抗LC-1抗体和SLA/LP抗体阳性率分别为66.7%, 33.3%, 25%, 4.1%, 2.08%和6.3%,且AMA-M2,抗GP210抗体和抗SP100抗体明显高于其他两组;AIH组抗SLA/LP抗体的阳性率为25%,明显高于PBC组,PBC组AMA-M2和抗GP210抗体阳性率为83.3%和44.4%,明显高于AIH组,其中抗LKM-1抗体、抗LC-1抗体和抗SP100抗体在PBC和AIH组中的阳性率差异均无统计学意义( $\chi^2$ 值分别为2.8, 0.3, 0.1,  $P$ 均 $>0.05$ );病毒性肝炎组与正常对照组比较差异无统计学意义( $\chi^2=1.1$ ,  $P>0.05$ ),见表1。

表1 各组肝病患者血清中自身抗体检测结果比较

项 目	自身免疫性肝病组( $n=48$ )		病毒性肝炎组( $n=62$ )				正常 对照组	$\chi^2$			$P$		
	AIH	PBC	HAV	HBV	HCV	HEV		1	2	3	1	2	3
$n$	12	36	10	30	14	8	0						
AMA-M2	2(16.7)	30(83.3)	0	1(3.3)	0	0	0	33.9	15.1	0.1	0.00	0.001	0.702
LKM-1	2(16.7)	0	0	0	0	0	0	0.2	2.8	0.0	0.692	0.095	1.000
LC-1	1(8.3)	0	0	0	0	0	0	0.0	0.34	0.0	0.811	0.559	1.000
SLA/LP	3(25)	0	0	0	0	0	0	0.6	6.4	0.0	0.429	0.011	1.000
GP210	0	16(44.4)	0	1(3.3)	0	0	0	10.6	6.1	0.1	0.001	0.013	0.709
Sp100	2(16.7)	10(27.8)	0	2(6.7)	1(7.1)	0	0	8.8	0.1	0.3	0.002	0.700	0.549

注: $\chi^2$ 值1和 $P$ 值1为自身免疫性肝病组与病毒性肝炎组比较, $\chi^2$ 值2和 $P$ 值2为AIH组与PBC组比较, $\chi^2$ 值3和 $P$ 值3病毒性肝炎组与正常对照组比较。

3 讨论 自身免疫性肝病是机体自身免疫反应过度造成的肝组织损伤,而肝组织的免疫损伤是病毒性肝炎患者主要发病机制。随着国内对抗肝抗体检测在不同人群中的研究深入,表明抗肝抗体的阳性率在各国人群中存在较大差异。因此,本研究旨在阐明我院自身免疫性肝病患者和病毒性肝炎患者的抗肝抗原抗体的情况,探讨抗肝抗体的检测的价值及其临床意义。

AMA是一种无器官特异性和种族特异性的自身抗体,目前已发现的线粒体上的抗原亚型有9种,其中M2诊断PBC的特异性最高,国外学者报告该抗体在PBC患者的阳性率为90%左右,本研究显示,AMA-M2的阳性率为83.3%,与国际研究结果一致。并非AMA-M2阳性结果都是PBC,本研究显示在AIH组中出现2例AMA-M2阳性,在病毒性肝炎组出现1例阳性,而在对照组未出现,其特异度达95.7%;有报道显示对无肝脏疾病表现AMA阳性患者进行随访观察显示在PBC出现之前几年就可以检测到该抗体的存在<sup>[2]</sup>,该抗体对疾病的预防及诊断起到重要的作用。

抗GP210抗体主要在PBC患者中检出<sup>[3]</sup>,抗GP210抗体和抗SP100抗体在PBC患者的阳性率分别为44.4%和27.7%,抗GP210在PBC中的阳性率明显高于AIH组,与国内报告相符<sup>[4]</sup>。抗Gp210抗体也存在于10%~40%的AMA阴性的PBC患者中<sup>[5]</sup>,本研究显示6例AMA阴性患者中有2例抗GP210抗体阳性,达33.3%,对于临床、生化和组织学表现疑诊PBC而AMA阴性的患者,检测抗GP210抗体是有益的补充;抗SP100抗体在PBC组和AIH组比较中差异无统计学意义( $\chi^2=0.1, P>0.05$ ),因此检测抗SP100抗体对于鉴别AIH和PBC的临床意义不大。据研究抗SP100抗体在PBC患者AMA阴性中有5%~10%的阳性率<sup>[6]</sup>,本研究显示6例患者有1例抗SP100抗体阳性,达16.6%,有文献研究显示抗SP100抗体与PBC的临床表现密切相关<sup>[7]</sup>,该抗体阳性的PBC患者肝硬化的几率明显增高,预后较差,因此抗SP100抗体对AMA阴性的PBC患者的诊断以及病情的评估和治疗的预后都有着重要的意义。

抗LKM-1,LC-1,SLA/LP抗体是AIH特征性抗体,抗LKM-1抗体被认为AIH-II型血清特异性抗体,研究显示在AIH中抗LKM-1抗体检出率约为10%<sup>[8]</sup>,本文的结果为16.7%;而抗LC-1抗体被认为是II型AIH的另一个标记抗体,属器官特异性而非种属特异性自身抗体,在II型

AIH中的阳性率约为30%,并且可以与抗LKM-1抗体同时存在,本实验结果的阳性率为8.3%,有资料报道抗LC-1抗体阳性的血清中可出现HCV感染<sup>[9]</sup>,但我们研究显示在病毒性丙型肝炎组未发现该抗体出现;抗SLA/LP抗体被认为是目前III型AIH高度特异性抗体,在非自身免疫性肝炎中检测不出,虽然该抗体阳性检测率低,但其阳性预测率几乎为100%,并且抗SLA/LP被认为可能与AIH的发病机制有关系,我们研究中AIH患者中抗SLA/LP抗体阳性率为25%;与国内相关研究一致<sup>[10]</sup>。本实验结果显示,抗LKM-1抗体、抗LC-1抗体和抗SLA/LP抗体在其阳性检出率低,但抗LKM-1抗体、抗LC-1抗体和抗SLA/LP抗体检测对AIH具有诊断特异度。

总之,我们研究发现,自身免疫性肝病患者的抗肝抗体的检测中,AMA-M2,抗GP210抗体和抗SP100抗体在筛查自身免疫性肝病中有重要的临床意义,其中AMA-M2是诊断PBC的特异度抗体;抗LKM-1抗体、抗LC-1抗体、抗SLA/LP抗体阳性检出率低,不可作为自身免疫性肝病的筛查试验,但其诊断的特异性强,特别是抗SLA/LP抗体对AIH的诊断。病毒性肝炎患者中抗肝抗原抗体的阳性检出率低,说明抗肝抗原抗体主要出现在自身免疫性患者中,由于自身免疫性肝病最初的临床症状与病毒性肝炎症状相似,这对早期发现和临床诊断提供了重要的实验数据。本研究数据表明抗肝抗体的检测对自身免疫性肝病的诊断及鉴别诊断具有重要的临床意义。

#### 参考文献:

- [1] 高春芳,房萌.自身抗体与肝病诊断的研究进展[J].中华肝病杂志,2010,18(5):335-337.  
Gao CF, Fang M. Research progress on autoantibodies and liver diseases diagnosis[J]. Chin Journal of Hepatol, 2010, 18(5): 335-337.
- [2] Miyakawa H, Tanaka A, Kikuchi K, et al. Detection of antimitochondrial autoantibodies in immunofluorescent AMA negative patients with primary biliary cirrhosis using recombinant autoantigens[J]. Hepa Tology, 2001, 34(2): 243-248.
- [3] 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.
- [4] 胡朝军,杨国香,李晞,等.原发性胆汁性肝硬化患者血清自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测及临床意义[J].中华检验医学杂志,2010,33(2):115-120.  
Hu CJ, Yang GX, Li X, et al. Detection of autoimmune liver disease related autoantibody profiles in patients

- with primary biliary cirrhoses and its clinical significance[J]. Chin J Lab Med, 2010, 33(2): 115-120.
- [5] Czaja AJ. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(8): 2144-2161.
- [6] Assassi S, Fritzler MJ, Arnett FC, et al. Primary biliary cirrhosis (PBC), PBC autoantibodies, and hepatic parameter abnormalities in a large population of systemic sclerosis patients[J]. J Rheumatol, 2009, 36(10): 2250-2256.
- [7] 潘盈, 史旭华, 张烜, 等. 原发性胆汁性肝硬化自身抗体特征及其对药物治疗的反应[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2009, 3(3): 178-183.  
Pan Y, Shi XH, Zhang X, et al. Autoantibody profile of primary biliary cirrhosis and treatment response[J]. Chin J Allergy Clin Immunol, 2009, 3(3): 178-183.
- [8] Invernizzi P, Lleo A, Podda M. Interpreting serological tests in diagnosing autoimmune liver disease[J]. Semin Liver Dis, 2007, 27(2): 161-172.
- [9] 叶国强, 刘香萍, 曾东良, 等. 病毒性肝炎患者抗肝抗自身抗体的检测与分析[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(21): 2659-2661.  
Liu GQ, Liu XP, Zeng DL, et al. Detection and analysis of anti-liver antigens autoantibodies in patients with virus hepatitis[J]. Lab Med Clin, 2012, 9(21): 2659-2661.
- [10] 李秀娥, 王禹, 赵雅. 自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测在原发性胆汁性肝硬化患者中的临床应用[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(4): 65-67.  
Li XE, Wang Y, Zhao Y. Clinical significance of detection autoimmune liver disease related autoantibody profiles in patients with primary biliary cirrhosis[J]. J Mod Lab Med, 2012, 27(4): 65-67.

收稿日期: 2014-12-03

修回日期: 2015-02-09