

病毒性肝炎患者抗肝抗原自身抗体的检测与分析*

叶国强¹, 刘香萍¹, 曾东良¹, 黄呈辉^{2△} (广东省深圳市宝安区人民医院: 1. 检验科; 2. 感染科 518101)

【摘要】 目的 分析病毒性肝炎患者中几种抗肝抗原自身抗体的存在状况和临床意义。方法 采用酶联免疫吸附试验和免疫印迹法检测 941 例病毒性肝炎患者和 32 例自身免疫性肝病患者血清中肝肾微粒抗体 I 型(LKM-1)、肝细胞胞溶质抗原 I 型(LC-1)、可溶性肝抗原(SLA)等自身抗体。结果 941 例病毒性肝炎患者中, 抗肝抗原自身抗体检测阳性率分别为 LKM-1 0.9%(9/941)、LC-1 0.2%(2/941)、SLA 0.0%(0/941), 其中 153 例丙型肝炎患者中, 抗肝抗原自身抗体检测阳性率分别为 LKM-1 4.5%(7/153)、LC-1 1.3%(2/153)、SLA 0%(0/153); 552 例乙型肝炎患者中, 仅检测出 2 例(0.4%)LKM-1 阳性, 在甲型肝炎、戊型肝炎和丁型肝炎中未检测出抗肝抗原自身抗体。在 32 例自身免疫性肝病患者中, 抗肝抗原抗体 LKM-1、LC-1 和 SLA 的检出率分别为 9.4%、3.1% 和 9.4%, 其中在 11 例自身免疫性肝炎中, LKM-1、LC-1 和 SLA 阳性率分别为 27.3%、9.1% 和 18.2%。病毒性肝炎患者抗肝抗原自身抗体检出率低, 与自身免疫性肝病患者比较, LKM-1 和 SLA 差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 少数丙型肝炎患者血清中存在多种抗肝抗原自身抗体, 对病毒性肝炎患者进行包括抗肝抗原在内的自身抗体检测有助于病毒性肝炎合并自身免疫性肝病的诊断。

【关键词】 病毒性肝炎; 自身免疫性肝炎; 自身抗体; 肝肾微粒体抗体 I 型

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.21.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)21-2659-03

Detection and analysis of anti-liver antigens autoantibodies in patients with virus hepatitis* YE Guo-qiang¹, LIU Xiang-ping¹, ZENG Dong-liang¹, HUANG Cheng-hui² (1. Department of Laboratory; 2. Department of Infectious Disease, People's Hospital of Baoan District of Shenzhen City, Shenzhen 518101, Guangdong, China)

【Abstract】 **Objective** To analyze the positive incidence and clinical significance of several anti-liver antigens autoantibodies in the serum of patients with virus hepatitis. **Methods** The serum samples from 941 patients with virus hepatitis and 32 patients with autoimmune liver diseases were detected for anti-liver kidney microsomal antibodies type 1(LKM-1), liver cytosolic type 1(LC-1), soluble liver antigen(SLA) and other autoantibodies by ELISA and Western Blotting. **Results** Of 941 patients with viral hepatitis, 9 cases were anti-LKM-1 positive, 2 case with positive LC-1, none was positive SLA. Among 153 patients with hepatitis C, the positive rates of LKM-1, LC-1, SLA were 4.5%, 1.3%, 0.0% respectively. 552 patients with hepatitis B, only 2 cases were anti-LKM-1 positive. No anti-liver antigens autoantibodies were detected in patients with hepatitis A, hepatitis D and hepatitis E. As a contrast, the positive rates of LKM-1, LC-1, SLA in 32 patients with autoimmune liver diseases were 9.4%, 3.1%, 9.4%, respectively. Of 11 patients with AIH, the positive rates of LKM-1, LC-1, SLA were 27.3%, 9.1%, 18.2%, respectively. There were statistically significant differences in the positive rates of LKM-1, SLA between viral hepatitis and autoimmune liver diseases ($P < 0.01$). **Conclusion** There exists many autoantibodies in serum from patients with hepatitis C. The detection of anti-liver antigens autoantibodies are helpful for diagnosis of autoimmune liver diseases and overlap viral hepatitis.

【Key words】 viral hepatitis; autoimmune liver disease; autoantibody; anti-LKM-1

抗肝抗原自身抗体是自身免疫性肝炎诊断和临床分型的重要血清学标志物之一。目前抗肝抗原自身抗体包括抗肝肾微粒体抗体 I 型(LKM-1)、抗可溶性肝抗原(SLA)/抗肝膜抗原(LP)和抗肝细胞胞溶质抗原 I 型(LC-1)。由于对自身抗原的认识还不十分清楚, 且某些自身抗体的产生缺乏疾病特异性, 为探讨病毒性肝炎患者中抗肝抗原自身抗体的存在状况和意义, 本文对收集的 941 例临床诊断为病毒性肝炎和 32 例自身免疫性肝病患者的血清标本进行了抗肝抗原自身抗体检测, 现将检测结果进行分析, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 941 例病毒性肝炎患者系本院 2009 年 3 月至 2011 年 6 月的门诊就诊或住院患者, 其中男 528 例, 女 413 例, 年龄 3~71 岁, 平均 39 岁。在 941 例各型病毒性肝炎患者

中, 甲型肝炎(HA)患者 113 例, 乙型肝炎(HB)患者 552 例, 丙型肝炎(HC)患者 153 例, 丁型肝炎(HD)患者 85 例, 戊型肝炎(HE)患者 38 例。所有病例的诊断符合 2000 年《病毒性肝炎防治方案》诊断标准。32 例诊断为自身免疫性肝病的患者包括: 自身免疫性肝炎(AIH)患者 11 例, 男 2 例, 女 9 例, 平均年龄 32 岁; 原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者 17 例, 男 6 例, 女 11 例, 平均年龄 53 岁; 原发性硬化性胆管炎(PSC)患者 4 例, 男 3 例, 女 1 例, 平均年龄 38 岁。自身免疫性肝病诊断参照国际组织自身免疫性肝病小组修订的评分标准。另选取 150 例在本院进行健康体检各型肝炎血清标志物阴性及肝功能正常的人群作为健康对照组。

1.2 检测方法

1.2.1 肝炎病毒血清标志物检测 采用分离胶采血管采集受

* 基金项目: 深圳市科技计划项目资助(201003314)。△ 通讯作者, E-mail: hchuisz@126.com。

检者静脉血液,分离血清,采用酶联免疫吸附试验检测血清中各型病毒的标志物,其中抗-HAV IgM、HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc、抗-HCV IgG、抗-HCV IgM、抗-HDV IgG、抗-HDV IgM 使用上海科华生物工程有限公司的产品,抗-HEV IgG、抗-HEV IgM 使用洛阳华美生物工程公司产品。所有试剂均在有效期内使用,严格按照说明书操作,检测结果均采用酶标仪进行判读。

1.2.2 抗 LKM-1 抗体定量测定 采用分离胶采血管采集受检者静脉血液,分离血清,采用深圳市亚辉龙生物科技有限公司研制的 AM-1 型科乐士全自动自身抗体分析仪及抗 LKM-1 测定试剂盒(酶免法)进行检测。严格按照仪器操作手册及试剂盒使用说明书进行操作,检测试剂均在有效期内使用,以 AU/mL 报告检测结果。正常参考值为 0~15 AU/mL。

1.2.3 抗肝抗原自身抗体免疫印迹检测 LKM-1、LC-1 和 SLA 3 种抗肝抗原自身抗体及抗体线粒体抗体(AMA-M2)、抗可溶性酸性核蛋白抗体(Sp-100)、抗核膜糖蛋白 210 抗体(gp210)测定采用免疫印迹法,受检者需空腹采集血样。采用分离胶采血管采集受检者静脉血液,分离血清,采用深圳市亚辉龙生物科技有限公司研制的自身免疫性肝病抗体谱检测试剂盒(免疫印迹法)进行检测。严格按照使用说明书进行操作,检测试剂均在有效期内使用。

1.3 统计学方法 资料以例数和百分率描述,采用 Fisher 确

切概率法 χ^2 进行检验,采用 GraphPad Prism 4 软件进行统计分析。

2 结 果

2.1 病毒性肝炎患者抗肝抗原自身抗体检测结果 941 例病毒性肝炎患者中,LKM-1 检出率为 0.9%,其中 HB 患者 LKM-1 阳性率为 0.4%,HC 患者 LKM-1 阳性率为 4.5%;LC-1 检出率为 3.1%,仅发现在 2 例 HC 患者中,检测率为 1.3%,并同时检出 LKM-1 阳性;在 HA、HD 和 HE 患者中没有检测到抗肝抗原自身抗体 LKM-1、LC-1 和 SLA。在病毒性肝炎病例中,其他自身抗体 AMA-M、Sp-100 和 gp210 均为阴性。32 例自身免疫性肝病患者中,抗肝抗原抗体 LKM-1、LC-1 和 SLA 的检出率分别为 9.4%、3.1%和 9.4%,其中在 11 例 AIH 中,LKM-1、LC-1 和 SLA 阳性率分别为 27.3%、9.1%和 18.2%;在 17 例 PBC 中,仅 1 例(5.9%)SLA 阳性,未检测出 LKM-1、LC-1 阳性病例;4 例 PSC 中,抗肝抗原抗体均为阴性。此外,自身抗体 AMA-M2 在 2 例(18.2%)AIH 和 16 例(94.1%)PBC 中检测为阳性,在 5 例(29.4%)和 3 例(17.6%)PBC 中分别检测出 Sp-100 和 gp210 阳性(表 1)。与自身免疫性肝病患者比较,病毒性肝炎患者 LKM-1 和 SLA 检出阳性率低,差异有统计学意义($P < 0.01$);LC-1 检出阳性率两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 941 例病毒性肝炎患者抗肝抗原抗体检测结果[n(%)]

组别	n	抗肝抗原抗体			其他自身抗体		
		LKM-1	LC-1	SLA	AMA-M2	Sp-100	gp210
病毒性肝炎	941	9(0.9)	2(0.2)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
HA	113	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
HB	552	2(0.4)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
HC	153	7(4.5)	2(1.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
HD	85	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
HE	38	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
自身免疫性肝病	32	3(9.4)*	1(3.1)*	3(9.4)*	18(56.2)	5(15.6)	3(9.4)
AIH	11	3(27.3)	1(9.1)	2(18.2)	2(18.2)	0(0.0)	0(0.0)
PBC	17	0(0.0)	0(0.0)	1(5.9)	16(94.1)	5(29.4)	3(17.6)
PSC	4	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
健康对照组	150	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

注:与病毒性肝炎比较,* $P < 0.01$ 。

表 2 9 例抗 LKM-1 抗体阳性患者临床资料和自身抗体谱检测结果

标本号	性别	年龄(岁)	病毒标志	γ 球蛋白(%)	抗 LKM-1(AU/mL)	自身抗体检测结果(免疫印迹法)					
						LKM-1	LC-1	SLA	AMA-M2	Sp-100	gp210
120125	男	35	HBV	0.29	38.5	+	-	-	-	-	-
120138	女	41	HBV	0.21	61.2	+	-	-	-	-	-
120152	男	57	HCV	0.30	48.8	+	-	-	-	-	-
120156	男	33	HCV	0.27	73.9	+	+	-	-	-	-
120168	女	25	HCV	0.25	108.4	+	+	-	-	-	-
120201	男	52	HCV	0.24	53.1	+	-	-	-	-	-
120208	女	28	HCV	0.32	91.4	+	-	-	-	-	-
120214	男	47	HCV	0.28	41.7	+	-	-	-	-	-
120407	男	39	HCV	0.26	57.2	+	-	-	-	-	-

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

2.2 抗 LKM-1 抗体的定量检测和抗 LKM-1 抗体阳性患者的临床资料 9 例患者抗 LKM-1 抗体定量检测结果见表 2。在 9 例抗 LKM-1 抗体阳性患者中, 2 例为慢性 HB, 6 例为慢性 HC, 1 例为急性 HC; 2 例为抗肝原抗体 LC-1 阳性来自慢性 HC 患者, 同时合并 LKM-1 阳性。9 例阳性患者年龄 25~57 岁, 男女比为 6:3, γ 球蛋白比值偏高, 为 $(0.27 \pm 0.03)\%$ 。

3 讨论

肝组织免疫损伤是病毒性肝炎主要发病机制之一。已有文献报道, 约有 1/3 的慢性 HC 患者血清中可以检测到自身抗体, HCV 感染后可诱发自身免疫性肝炎的产生^[1], 在 HBV 感染中也可检测到抗核抗体 (ANA)^[2]。也有文献报道, 感染 HAV 后可以诱发自身免疫性肝脏疾病^[3]。作者之前的检测也发现, 慢性 HB 患者 ANA 阳性率为 13.7%, 慢性 HC 患者 ANA 阳性率为 15.7%^[4]。本文对 941 例病毒性肝炎患者进一步检测了抗肝抗原抗体 LKM-1、LC-1 和 SLA, 在 552 例乙型肝炎中有 2 例 LKM-1 阳性, 检出率为 0.4%, 153 例 HC 中 7 例 LKM-1 阳性, 检出率为 4.5%, 2 例同时合并 LC-1 阳性, 在 HA 和 HE 中没有检测到抗肝抗原抗体。与自身免疫性肝病患者比较, 病毒性肝炎患者中抗肝抗原自身抗体的阳性检出率很低, 说明抗肝抗原自身抗体也主要出现在自身免疫性肝病患者中, 而在少数 HBV 和 HCV 感染患者中也可能出现自身免疫反应现象或合并自身免疫肝病, 临床治疗时应引起重视。

LKM-1 是一种自身抗体, 是诊断 II 型 AIH 的血清学指标, 靶抗原为 LKM-1 (细胞色素 P450IID6)^[5]。在 AIH 中, LKM-1 检出率较低, 约为 10% 左右, 有报道大约 7% 的慢性 HC 患者也可检测到 LKM-1 抗体。美国肝病学会 2010 年 AIH 指南中将 AIH 分为 1 型和 2 型, AIH-1 型主要表现 ANA 和抗平滑肌抗体, 而 AIH-2 型以存在抗-LKM-1 或/和抗-LC-1 为标志, 抗-SLA/LP 曾被认为是 AIH-3 型的标志。新指南中不再将抗-SLA 作为 AIH-3 型的标志, 认为抗-SLA 可以同时见于 AIH-1 型或 AIH-2 型的患者^[6]。AIH-2 型患者的临床特征较明显, 大多为青年女性, 具有典型的自身免疫现象, 自身抗体滴度较高, 血清免疫球蛋白显著增高, 病情比较严重, 对激素治疗反应好。本组 9 例 HBV 和 HCV 感染伴有抗 LKM-1 抗体阳性患者大多年龄较大, 女性并不多见, 抗 LKM-1 抗体定量不高, 血清免疫球蛋白稍偏高, 多为慢性肝炎表现, 与文献^[7]报道一致。在临床上, 对 HBV 或 HCV 感染存在抗 LKM-

1 抗体的患者, 在使用免疫调节治疗前 (如干扰素治疗) 应该先排除是否合并有 AIH。已有研究发现, AIH 患者 ANA 和抗 LKM-1 抗体滴度明显高于 HCV 合并抗 LKM-1 抗体阳性患者, 定量检测自身抗体对临床鉴别诊断具有重要意义^[8]。

本研究结果表明, 包括抗肝抗原自身抗体在内的自身抗体检测在病毒性肝炎和自身免疫性肝病的诊断治疗中具有重要作用。在 HBV 和 HCV 感染中, 尤其是 HCV 感染患者中, 进行自身抗体检测, 能够正确区分 AIH 与伴有自身免疫反应的病毒性肝炎, 对临床诊断和治疗将有重要的价值。

参考文献

[1] Miyakawa H, Kitazawa E, Kikuchi K, et al. Immunoreactivity to various human cytochrome P450 proteins of sera from patients with autoimmune hepatitis, chronic hepatitis B, and chronic hepatitis C [J]. *Autoimmunity*, 2000, 33 (1): 23-32.

[2] 张海萍, 闫惠平, 冯霞, 等. 乙肝病毒感染者血清抗核抗体特征及其临床相关性 [J]. *首都医科大学学报*, 2007, 28 (2): 154-157.

[3] Singh G, Palaniappan S, Rotim IO, et al. Autoimmune hepatitis triggered by hepatitis A [J]. *Gut*, 2007, 56 (2): 304-314.

[4] 曾东良, 莫宝妹, 姜焕好, 等. 自身抗体检测在慢性肝病诊断中的意义 [J]. *海南医学*, 2011, 22 (20): 117-119.

[5] 马琼麟, 曾维, 黄静, 等. 自身抗体检测在自身免疫性肝炎诊断的临床评价 [J]. *中国现代医生*, 2010, 48 (2): 87-88.

[6] Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis [J]. *Hepatology*, 2010, 51 (6): 2193-2213.

[7] 邱德凯, 马雄. 自身免疫性肝病基础与临床 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 189-208.

[8] 檀玉芬, 闫惠平, 赵艳, 等. 丙型肝炎和自身免疫性肝炎自身抗体的特点分析 [J]. *中国实验诊断学*, 2007, 11 (5): 622-625.

(收稿日期: 2012-06-02)

(上接第 2658 页)

参考文献

[1] 吴瑞萍, 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 819-827.

[2] Papesch M, Watkins R. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis [J]. *Clin Otolaryngol*, 2001, 26 (1): 3-8.

[3] Tsai MH, Hsu CY, Yen MH, et al. Epstein-Barr virus-associated infectious mononucleosis and risk factor analysis for complications in hospitalized children [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2005, 38 (4): 255-261.

[4] 常杏红, 呼秉莲, 王晓欢, 等. 194 例小儿传染性单核细胞增多症实验室分析 [J]. *检验医学与临床*, 2007, 4 (1): 38-39.

[5] 刘增荣, 王崇忠, 魏钰书, 等. 儿童传染性单核细胞增多症 57 例临床及实验室分析 [J]. *川北医学院学报*, 2006, 21 (2): 139-141.

[6] 郭小玲, 傅四毛, 张志培. 肺炎支原体感染并发传染性单核细胞增多症 6 例临床分析 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2002, 17 (8): 462-463.

[7] Narita M, Yamada S, Nakayama T, et al. Two cases of lymphadenopathy with liver dysfunction due to *Mycoplasma pneumoniae* infection with mycoplasmal bacteraemia without pneumonia [J]. *J Infect*, 2001, 42: 154-156.

[8] 崔振泽, 李兴军, 蔡栩栩, 等. 肺炎支原体患儿细胞免疫的研究 [J]. *中国实用儿科杂志*, 1997, 12 (5): 287.

(收稿日期: 2012-06-06)