

# 自身免疫性肝病及其自身抗体谱分析

何 玮<sup>1</sup>, 何 颖<sup>1</sup>, 罗双庆<sup>2</sup>, 王 毅<sup>2</sup> (1. 四川省邻水县人民医院检验科 638500;  
2. 重庆医科大学附属第二医院 400010)

**【摘要】 目的** 探讨重庆地区不同类型自身免疫性肝病患者血清中自身抗体谱的特征及其临床应用价值。**方法** 743 例肝病送检样本中 81 例确诊为自身免疫性肝病, 将其分为 3 组: (1) 自身免疫性肝炎(AIH) 38 例; (2) 原发性胆汁性肝硬化(PBC) 30 例; (3) 重叠综合征 13 例。用间接免疫荧光法检测抗核抗体(ANA)、抗线粒体抗体(AMA)、抗平滑肌抗体(SMA)、抗肝肾微粒抗体(LKM)、抗可溶性肝抗原(SLA)等, 用酶联免疫吸附试验(ELISA)定量测定抗线粒体 M2 亚型。**结果** 743 例中诊断为 AIH、PBC 和重叠综合征分别为送检标本的 5.11%、4.04% 和 1.75%, 总计 10.9%。AIH 患者 ANA 阳性率为 78.9%, AMA 及 M2 亚型阳性率为 18.4%, SMA 阳性率为 7.89%; PBC 患者 ANA 阳性率为 73.3%; AMA 和 M2 阳性率为 26.7%; 重叠综合征患者 ANA 及 AMA 阳性率为 100%。**结论** 自身免疫性肝病抗体谱检测有助于自身免疫性肝病诊断, 非病毒性肝炎诊断时应考虑自身免疫性肝病。

**【关键词】** 自身免疫性肝炎; 原发性胆汁性肝硬化; 重叠综合征; 自身抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.23.019

中图分类号: R446.62

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)23-2602-03

**Autoimmune liver diseases and their autoantibodies spectral analysis** HE Wei<sup>1</sup>, HE Ying<sup>1</sup>, LUO Shuang-qing<sup>2</sup>, WANG Yi<sup>2</sup>. 1. Department of Laboratory, Lingshui County People's Hospital, Lingshui, Sichuan 638500, China; 2. Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

**【Abstract】 Objective** To study the characteristics of autoantibodies spectrum of various autoimmune liver diseases in Chongqing area and its application value in clinic. **Methods** 81 cases diagnosed autoimmune liver diseases, from 743 tested samples of liver diseases, were collected and divided into 3 groups: autoimmune hepatitis group(AIH, 38 cases), primary biliary cirrhosis group(PBC, 30 cases) and overlap syndromes group(13 cases). First, ANA, AMA, SMA, LKM, SLA were tested by indirect immunofluorescence. Then, AMA and M2 were tested by ELISA. **Results** Among 743 cases, those diagnosed as AIH, PBC and overlap syndromes accounted for 5.11%, 4.04% and 1.75% of the tested specimens respectively. In AIH patients, the positive rate was 78.9% in ANA, 18.4% in AMA and M2 and 7.89% in ASMA; in PBC patients, the positive rate was 73.3% in ANA, 26.7% in AMA and M2; in the patients with overlap syndromes, the positive rate was 100% in ANA and AMA. **Conclusion** The detection of antibodies spectrum of autoimmune liver diseases is helpful for diagnosis of autoimmune liver diseases and overlap syndromes; when diagnosing non viral hepatitis, autoimmune liver diseases should be considered.

**【Key words】** autoimmune hepatitis; primay biliary cirrhosis; overlap syndromes; antoantibody

自身免疫性肝病(简称自免肝)包括自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化和原发性硬化性胆管炎。自身免疫性肝病是由于机体免疫机能失调而导致肝细胞或肝内外胆管损伤。我国是慢性肝炎的高发区, 以病毒性肝炎为主, 但约有 20% 左右的肝病患者肝炎病毒指标阴性, 但肝功能生化指标持续异常。临床上将自免肝误诊为普通肝炎或肝硬化时有发生(尤其是肝炎病毒阳性时), 随之进行抗病毒和增强免疫治疗, 此与自免肝治疗原则恰恰相反, 结果使患者肝病长期无法治愈, 严重影响患者的预后。迄今为止, 由于对自身抗原的认识和自身抗体检测方法有限, 且某些自身抗体缺乏疾病特异性, 不仅见于自身免疫性疾病, 也出现于 10%~15% 的病毒性肝炎或其他免疫介导的疾病中, 加之对自身免疫性肝病, 缺乏足够的了解, 更没有统一的可靠的诊断标准, 给临床诊断增加了许多困难<sup>[1]</sup>。本文通过对自身免疫性肝病患者的自身抗体检测结果予以分析,

探讨重庆地区肝病患者中各种自身抗体的存在状况和意义, 以了解自身抗体在自身免疫性肝病中的诊断价值, 为临床诊断提供实验依据。

## 1 资料和方法

**1.1 研究对象** 收集 2009 年 3 月至 2010 年 3 月在重庆医科大学附属第二医院门诊及住院治疗并接受自免肝抗体检测的肝病患者 743 例, 其中临床诊断为自免肝患者 81 例, 依病种分为 3 组: (1) 自身免疫性肝炎组(38 例, 男性 2 例, 女性 36 例, 年龄 26~83 岁)。 (2) 原发性胆汁性肝硬化组(30 例, 男性 5 例, 女性 25 例, 年龄 12~78 岁); (3) 重叠综合征组(以 AIH/PBC 重叠为主)(13 例, 男性 2 例, 女性 11 例, 37~74 岁)。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 用间接免疫荧光法检测 ANA、AMA、SMA、LKM、SLA 等自身抗体:** 选择 HEp-2 细胞和 5 种组织(猴肝脏和心肌

组织、大鼠肝、肾和胃壁组织)的冰冻切片作为抗原,采用生物薄片马赛克技术将带有细胞和组织的 6 种切片组合成一个反应区。待检血清自 1 : 100 起稀释,与组织细胞孵育 30 min;洗片后加入异硫氰酸荧光素标记的抗人球蛋白抗体(IgG)结合 30 min;洗片、封片后荧光显微镜观察结果。组织或细胞内出现特异性绿色荧光、血清稀释度大于 1 : 100 为阳性。试剂由德国欧蒙医学实验诊断公司提供。实验操作步骤严格按照说明书操作。

1.2.2 用 ELISA 法检测 AMA-M2 亚型(定量) 样本作 201 倍稀释,与包被的抗原孵育 30 min,洗板后加入酶标记的抗人

球蛋白抗体结合 30 min,洗板后加入显色剂显色 15 min;终止反应后用 450 nm 波长比色,与同样处理的标准品比较获得浓度(单位:RU/mL;临界值:大于 25 RU/mL 为阳性)。试剂由上海富莼生物科技有限公司提供,实验操作步骤严格按照说明书进行。

2 结 果

2.1 在 743 例标本中,各型自免肝及非自免肝(以病毒性肝炎为主)的阳性率见图 1。

2.2 ANA 抗体在各型自免肝及非自免肝组中的阳性率,荧光类型,滴度的检测结果见表 1。

表 1 ANA 抗体检测结果

| 项目    | ANA 阳性率% | ANA 荧光类型  | 滴度                               |
|-------|----------|-----------|----------------------------------|
| AIH   | 78.90    | 核均质和颗粒型为主 | 1 : 100(16/30)和 1 : 320(11/30)为主 |
| PBC   | 73.30    | 浆颗粒型为主    | 1 : 100(8/22)和 1 : 320(14/22)为主  |
| 重叠综合征 | 100.00   | 核颗粒和着丝点为主 | 1 : 320(6/13)和 1 : 1000(5/13)为主  |
| 非自免肝  | 48.50    | 核颗粒型为主    | 1 : 100 为主                       |

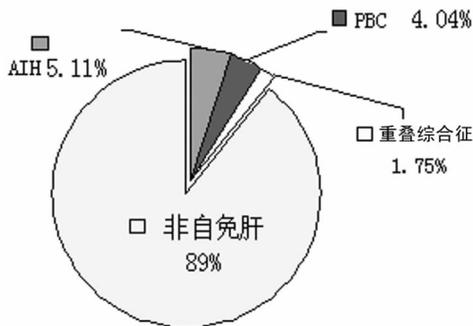


图 1 743 例肝病中各病种分布

2.3 3 组自免肝标本自身抗体谱检测结果比较(见表 2)。

表 2 81 例标本的自身抗体检测结果

| 项目       | AIH(n=38) | PBC(n=30) | 重叠综合征(n=13) |
|----------|-----------|-----------|-------------|
| ANA      | 30        | 22        | 13          |
| AMA      | 7         | 7         | 14          |
| AMA-M2,7 | 9         | 9         | 0           |
| SMA      | 3         | 1         | 0           |
| LKM      | 0         | 1         | 0           |
| SLA      | 0         | 0         | 0           |

2.4 各组自免肝标本肝功能结果比较(见表 3)。4 项肝功指标在 3 组自免肝中进行差异性统计学检验,结果  $P > 0.05$ ,说明 AST、ALT、总胆红素、直接胆红素在各型自免肝中差异性无统计学意义。

表 3 各型自免肝的肝功指标增高比例

| 项目   | AIH<br>(n=38) | PBC<br>(n=30) | 重叠综合征<br>(n=13) |
|------|---------------|---------------|-----------------|
| AST↑ | 35(36~309)    | 24(35~216)    | 10(57~570)      |
| ALT↑ | 32(60~801)    | 15(51~293)    | 10(44~283)      |

续表 3 各型自免肝的肝功指标增高比例

| 项目     | AIH<br>(n=38)  | PBC<br>(n=30)  | 重叠综合征<br>(n=13) |
|--------|----------------|----------------|-----------------|
| 总胆红素↑  | 18(24.6~410.3) | 20(21.9~498.8) | 5(33.0~294.0)   |
| 直接胆红素↑ | 23(13.2~449.7) | 17(15.6~420.6) | 7(12.6~213.5)   |

注:AST 为天冬氨酸氨基转移酶,ALT 为丙氨酸氨基转移酶,↑ 表示增高。

3 讨 论

3.1 各型自免肝在重庆地区人群中分布特点 通过本次研究,初步判断自免肝在重庆地区肝病患者中的阳性率约为 11%,其中 AIH 阳性率为 5.11%,PBC 阳性率为 4.04%,重叠综合征阳性率为 1.75%;以 AIH、PBC 为主。AIH 在欧美国家以儿童和中老年为好发年龄。原发性胆汁性肝硬化任何年龄段均可发病,多见于 40 岁以上的女性(男女比例为 1 : 9)。PSC 是一种进展性胆汁淤积性肝病,流行率为 130/百万。与 AIH 和 PBC 不同,PSC 主要影响男性<sup>[2]</sup>。在本次研究中,通过统计发现各型自免肝在重庆地区人群中,AIH 可见于各个年龄段,其中以 40 岁以上为主,AIH 中女性患者占 94.7%;PBC 中患者以 50 岁以上为主,女性患者占 83.3%;重叠综合征中以 50 岁以上为主,女性患者占 84.6%;PSC 由于患者极少,临床资料缺乏,无统计学意义。

3.2 通过表 1 发现,在本次研究中,ANA 在各型自免肝中阳性率极高,都超过 70%,在重叠综合征中甚至达到了 100%。通过各组对比发现,ANA 阳性率虽高,但其阳性率在各型自免肝中差别不大,而且在非自免肝肝病患者中,ANA 的阳性率也高达 48.5%,说明其特异性不高,对于自免肝的分型没有太大帮助。虽然 ANA 特异性不高,但它的滴度在各型自免肝中存在差异。非自免肝患者,其 ANA 滴度低,以 1 : 100 为主,而对于自免肝患者,其 ANA 滴度较高,以 1 : 320 为主,甚至高于 1 : 1 000。ANA 的滴度有助于自免肝的诊断及分型。据文献报道,着丝点型、核膜型和多核点型是 PBC 患者 ANA 的常

见荧光模式,其中核膜型 ANA 是 PBC 的一个特异性血清学指标,它们的出现有助于确定 PBC 的诊断<sup>[3]</sup>。在本次研究中也见到一些特异的荧光模式如着丝点核型,对于自免肝的诊断及分型有一定帮助。

**3.3** 国外文献根据患者出现的自身抗体的不同将 AIH 分为 3 型<sup>[4]</sup> I 型以 ANA、SMA 阳性为主要特征;II 型以抗肝肾微粒抗体 I 型抗体(LKM-1)<sup>[5]</sup>、抗肝细胞溶质抗原 I 型抗体(LC1) 阳性为主;III 型的特征是血清中出现抗可溶性肝抗原/肝胰抗原抗体(SLA/LP)。约 70%~80% 的 AIH 患者表现高滴度的 ANA 和 SMA(I 型)或 LKM-1 抗体(II 型 AIH),而其余患者可能只表现抗 SLA 抗体(III 型)。

然而在本次研究中,AIH 患者 SMA 阳性率仅为 4.93%,LKM、SLA 的阳性率竟为 0,远远低于国际报道的 70%~80% (见表 2)分析其原因:(1)本次研究所采用的试剂、仪器、操作方法都是国际上通用的成熟产品,多年室内质评全部合格,实验结果应认为可靠,可排除方法及操作的影响;(2)为提高临床诊断 AIH 准确率,现在国际上通用积分系统诊断 AIH:ANA 或 SMA 效价大于或等于 1:40 和 IgG 水平高于参考范围上限者可各得 1 分;ANA 或 SMA 效价大于或等于 1:80 或 LKM-1 效价大于或等于 1:40,或 SLA/LP 阳性及 IgG 水平高于 1.1 倍参考范围上限者可各得 2 分。必须指出,多项自身抗体同时出现时最多得 2 分,简化诊断积分系统总分共 8 分。研究者将总分大于或等于 6 分者定为 AIH 可能,大于或等于 7 分者为确诊 AIH<sup>[6]</sup>。以此来提高 AIH 的诊断准确度。但该诊断系统尚未在国内临床上得到广泛认识和应用。使得 AIH 的诊断既有漏诊也有误诊。本次研究中相应抗体的阳性率偏低是否与误诊有关,存在极大可能性,将作进一步探讨。

**3.4** 据文献报道,抗线粒体抗体的靶抗原位于线粒体内膜,该抗体主要是 IgG。根据抗原在线粒体内膜或外膜上的位置与对胰蛋白酶的敏感性和电泳特性,可将 AMA 分为 9 个亚型(M1~M9),其中 M2、M4、M8、M9 对 PBC 具有诊断价值,而 M2 亚型诊断 PBC 的特异性最高,AMA 阳性可见于 90%~95% 的患者<sup>[7]</sup>。M2 抗体仅存在于 AMA 阳性者血清中,PBC 患者 AMA 及其 M2 亚型阳性率高达 90% 以上,说明 AMA 是本病的特异性诊断指标。然而,本次研究中 AMA 抗体阳性率仅为 23.3%,远低于文献报道,分析其原因,可能存在与 AIH 类似的情况。

**3.5** 由表 3 可知,在本研究中,自免肝患者肝功能异常,其中以 AST、ALT 增高最明显,AST 异常率高达 85.2%,ALT 高达 70.1%。但在各型自免肝中这两项指标变化差异无统计学意义( $P>0.05$ )。AIH 患者 AST、ALT、总胆红素、直接胆红素增高幅度与其他自免肝类型 PBC 重叠综合征差异无统计学意义。对于部分自免肝患者,其肝功并无异常,对于自免肝的

早期诊断几乎无能为力,使自免肝逐渐形成肝硬化及其相应的并发症,终晚期患者只有肝移植才是有效的治疗手段,因此,早期诊断至关重要<sup>[8]</sup>,发展自身抗体检测技术用于自免肝的早期诊断和预防肝硬化是个很好的途径。

**3.6** 目前自身免疫性肝病的病因并不清楚,可能与遗传、环境、化学物质(包括药物)接触、病原生物体感染有关<sup>[9]</sup>。有些自免肝患者由于临床特征不典型,急性发病,经一般保肝治疗好转,未能长期追踪;缺乏组织学诊断;医师对自身免疫性肝脏疾病的检测手段和此类疾病的认识不足等原因往往造成误诊。通过对原因不明的肝炎患者及时检测自身抗体将有助于疾病的诊断和鉴别诊断,因此在临床上要重视及完善自身抗体对自免肝的诊断。

## 参考文献

- [1] McFarlane IG. Lesson about antibodies in autoimmune hepatitis[J]. Lancet, 2000, 355: 1475-1476.
- [2] LaRusso NF, Shneider BL, Black D, et al. Primary sclerosing cholangitis: summary of a workshop[J]. Hepatology, 2006, 44(3): 746-764.
- [3] Muratori P, Muratori L, Ferrari R, et al. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis[J]. J Gastroenterol, 2003, 98(2): 431-437.
- [4] McFarlane IG. Lesson about antibodies in autoimmune hepatitis[J]. Lancet, 2000, 35(5): 1473-1475.
- [5] Homberg JC, Abuaf N, Bernard O, et al. Chronic active hepatitis associated with anti liver/kidney microsome type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis[J]. Hepatology, 1987, 25: 1333-1339.
- [6] Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis [J]. Hepatology, 2008, 48(1): 169-176.
- [7] 张利方, 郑山根, 阎有功, 等. 58 例原发性胆汁性肝硬化患者自身抗体特征分析[J]. 中国免疫学杂志, 2007, 23(5): 471-473.
- [8] 姜小华, 仲人前, 方晓云, 等. 原发性胆汁性肝硬化特异性 AMA M2 抗体在 5 011 名体检者中的筛查分析[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(9): 553-559.
- [9] Czaja AJ. Understanding the pathogenesis of autoimmune hepatitis[J]. Am J Gastroenterol, 2001, 96(4): 1224-1231.

(收稿日期: 2010-07-13)

欢迎投稿

欢迎订阅