DOI:10.16016/j.1000-5404.201511162

自身抗体在乙型病毒性肝炎和自身免疫性肝炎中的特点分析

谭朝霞,唐玉兰,高 燕,孔维龙,邓国宏 (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军感染病研究所,感染病研究重庆市重点实验室)

[**摘要**] **目的** 分析自身抗体在乙型病毒性肝炎及自身免疫性肝炎中的特点。**方法** 将血清样本分为3组:乙型病毒性肝炎组(HBV)306例、自身免疫性肝炎组(AIH)235例和健康对照组150例,采用间接免疫荧光法和欧蒙印迹法检测血清中抗核抗体(ANA)、抗平滑肌抗体(ASMA)、抗线粒体抗体(AMA)、抗肝肾微粒体Ⅰ型(LKM-1)抗体和抗可溶性肝抗原/肝胰抗原(SLA/LP)抗体等肝病相关自身抗体。**结果** (1)HBV组和AIH组ANA检出率分别为9.1%、80.42%,明显高于健康对照组;AIH组ANA阳性率显著高于HBV组($P<0.05$)。(2)HBV组ANA滴度1∶100、1∶320、1∶1 000阳性率分别为6.2%、2.6%、0.3%,以低滴度(1∶100)为主,AIH组1∶100、1∶320、1∶1 000滴度阳性率分别为22.98%、41.28%、14.47%,以高滴度(≥1∶320)为主。(3)HBV组AMA、ASMA、抗LKM-1及抗SLA/LP抗体的阳性率分别是0.3%、0.9%、0.3%和0%,AIH组的阳性率分别为36.6%、25.1%、23%和2.55%,明显高于HBV组。(4)AIH组荧光模型以核均质型和核仁型为主;HBV患者以颗粒型为主。(5)采用1999年诊断积分系统评估,28例自身抗体阳性乙肝患者中有1例评分超过16分,达到自身免疫性肝炎确诊标准(≥16分)。**结论** 自身免疫性肝炎患者具有高滴度的自身抗体;乙型病毒性肝炎患者血清中低滴度的自身抗体不构成自身免疫性肝炎,高滴度的自身抗体要结合临床资料排除自身免疫性肝炎。

[**关键词**] 乙型病毒型肝炎; 自身免疫性肝炎; 自身抗体

[**中图法分类号**] R329.11; R512.62; R575.1 [**文献标志码**] A

Characteristics of autoantibodies in hepatitis B and autoimmune hepatitis

Tan Zhaoxia, Tang Yulan, Gao Yan, Kong Weilong, Deng Guohong (Institution of Infectious Diseases, Chongqing Key Laboratory of Infectious Diseases Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To characterize the autoantibody profiles in the patients with hepatitis B and those with autoimmune hepatitis. **Methods** The subjected patients who admitted in our institute from January 2014 to May 2015 were divided into 3 groups: hepatitis B virus group (HBV, $n=306$), autoimmune hepatitis group (AIH, $n=235$), and healthy control ($n=150$). Indirect immunofluorescence and EUROLINE assays were performed to detect a panel of autoantibodies, including anti-nuclear antibody (ANA), anti-small muscle antibody (ASMA), anti-mitochondrial antibody (AMA,) anti-liver kidney microsome type 1 (LKM-1), and anti-soluble liver antigen/liver pancreas (SLA/LP) in the sera. **Results** (1) The prevalence of ANA in HBV and AIH were 9.1% and 80.42%, which was obviously higher than that in control. Moreover, the significant higher prevalence of ANA was seen in AIH than HBV ($P<0.05$). (2) The positive rate of ANA with titers of 1∶100, 1∶320, and 1∶1 000 in HBV were 6.2%, 2.6%, and 0.3%, respectively, indicating that positive rate of ANA was very low in HBV and mainly detectable in low (1∶100) titer. In contrast, ANA positivity in AIH with titers of 1∶100, 1∶320, and 1∶1 000 were 22.98%, 41.28%, and 14.47%,

[**基金项目**] 第三军医大学临床科研重大专项(2012XLC05)

[**通信作者**] 邓国宏,电话:(023)68765218, E-mail: gh_deng@hotmail.com

[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160322.1500.010.html(2016-03-22)

respectively. The positive ANA with titer 1∶320 in AIH was strikingly higher than in HBV. (3) Positive rates of AMA, ASMA, anti-LKM-1 and anti-SLA/LP antibodies in HBV (0.3%, 0.9%, 0.3%, and 0%) were much lower than those in AIH (36.6%, 25.1%, 23%, and 2.55%). (4) The fluorescent staining displayed a majority of homogeneous and nucleolar type of ANA in AIH, whereas granular type was dominated in HBV. (5) Among 28 chronic HBV patients with positive autoantibodies, only one patient met the comprehensive criteria of International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) in 1999 with an IAIHG score ≥16. **Conclusion** Our data indicate that patients with HBV and AIH are both positive to autoantibodies, thus a low titer of autoantibody positivity can not serve as diagnostic criterion for AIH. Positive high titer of autoantibodies combined with clinical manifestation is useful for differential diagnosis between these 2 diseases.

[**Key words**] hepatitis B virus; autoimmune hepatitis; autoantibody

Supported by the Major Program of Clinical Scientific Research of Third Military Medical University (2012XLC05). Corresponding author: Deng Guohong, E-mail: gh_deng@hotmail.com

自身抗体是机体B淋巴细胞成熟分化为浆细胞后产生的针对自身成分的抗体总称,HBV患者体内出现高滴度自身抗体,可能是病毒感染过程中的自身免疫反应所导致,也有可能同时合并有自身免疫性肝病,确切机制有待于进一步研究[1]。本试验通过对乙型病毒性肝炎(HBV)、自身免疫性肝炎(AIH)患者体内的自身抗体进行检测,并与健康对照组进行比较分析,探讨自身抗体在乙型病毒性肝炎和自身免疫性肝炎中的特点。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性从我科样本库调取2014年1月至2015年5月在西南医院感染科门诊就诊的肝病患者血清样本,符合入组病例541份进行自身抗体检测,根据临床诊断分为2组:(1)乙型病毒性肝炎组(HBV)306例,男性180例、女性126例,年龄(45.27±13.36)岁。病毒性肝炎诊断符合2008年病毒性肝炎防治方案[2]。排除标准:半年内使用干扰素等抗病毒治疗,合并戊型肝炎病毒(HEV)、丙型肝炎病毒(HCV)、HIV等其他病毒感染;合并自身免疫性疾病,如系统性红斑狼疮、系统性硬化病、类风湿关节炎。(2)自身免疫性肝炎组(AIH)235例,男性44例、女性191例,年龄(49.74±12.15)岁。AIH诊断符合2002年美国肝病协会发布的诊疗指南[3]。排除标准:排除现症病毒性肝炎、酒精性肝病、脂肪肝、药物性、血管因素、铜铁代谢异常等遗传性肝病。另选取150例在本院进行健康体检人群作为对照组,男性60例、女性90例,年龄(42.5±14.4)岁。肝炎病毒标志物阴性,肝功正常,排除其他自身免疫性疾病。

1.2 检测方法

1.2.1 ANA测定 采用间接免疫荧光法测定,测血清用稀释液1/10、1/100、1/1 000、1/3 200倍比稀释,应用荧光显微镜观察结果,细胞或组织内出现特异性荧光。血清稀释度≥1∶100判为阳性。所用试剂购自德国欧蒙公司。

1.2.2 欧蒙印迹法 应用德国欧蒙医学诊断有限公司(EUROIMMUN AG, Lubeck, Germany)提供试剂盒,检测项目包括抗可溶性肝抗原/肝胰抗原(SLA/LP)抗体、抗肝肾微粒体Ⅰ型(LKM-1)抗体、抗肝细胞浆抗体Ⅰ型(LC-1)、抗线粒体抗体Ⅱ型(AMA-M2)等,操作方法和结果判定按试剂盒说明书进行。

1.2.3 病毒性肝炎标志物检测 采用化学发光检测血清HBV标志物(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb),试剂盒美国雅培公司。严格按说明书操作。

1.2.4 生化指标检测 采用日立HH7600-020全自动生化分析仪及美康试剂对血液标本的ALT、AST和ALP进行检测。采用贝克曼特种蛋白仪检测免疫球蛋白IgG、IgM检测。

1.3 统计学方法

应用SPSS 18.0软件进行统计学分析,样本间比较采用t检验。

2 结果

2.1 ANA检测结果

ANA抗体在HBV组和AIH组中的阳性率分别为9.1%、80.42%,明显高于健康对照组(2.0%,$P<0.05$)。AIH组ANA滴度1∶100、1∶320、1∶1 000阳性率分别为22.98%、41.28%、14.47%,以高滴度为主(≥1∶320,表1)。HBV组ANA阳性率较低,并且以低滴度为主(1∶100),如表1所示,1∶100、1∶320、1∶1 000滴度阳性率分别为6.2%、2.6%、0.3%。

表1 各组研究对象 ANA 检出情况比较[n(%)]

组别	n	1:100	1:320	1:1 000	1:3 200	总阳性率
HBV 组	306	19(6.2)	8(2.6)	1(0.3)	0(0)	28(9.1)
女性	126	12(9.5)	5(4.0)	1(0.8)	0(0)	18(14.3)
男性	180	7(3.9)	3(1.7)	0(0)	0(0)	10(5.6)
AIH 组	235	54(22.98)	97(41.28)	34(14.47)	4(1.7)	189(80.42)[a]
女性	191	41(21.47)	85(44.50)	29(15.18)	3(1.57)	158(82.72)
男性	44	13(29.55)	12(27.27)	5(11.36)	1(2.27)	31(70.45)
健康对照组	150	3(2.0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.0)
女性	90	3(3.33)	0(0)	0(0)	0(0)	1(3.33)
男性	60	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

a:$P<0.05$,与 HBV 组比较

2.2 AMA、ASMA、抗 LKM-1 及抗 SLA/LP 抗体检测结果

如表2所示,AMA 在 HBV 组、AIH 组、健康对照组的阳性率分别为0.3%、36.6%、0%;ASMA 在 HBV 组、AIH 组、健康对照组的阳性率分别为0.9%、25.1%、0%;抗 LKM-1 抗体在 HBV 组、AIH 组、健康对照组的阳性率分别是0.3%、23%、0%;抗 SLA/LP 抗体在 HBV 组、AIH 组、健康对照组的阳性率分别是0%、2.55%、0%。这些结果表明,HBV 组和 AIH 组 ASMA、AMA 和抗 LKM-1 抗体的阳性率均明显高于健康对照组,并且 AIH 组的阳性率高于 HBV 组($P<0.05$)。抗 SLA/LP 抗体在 AIH 组的阳性率高于 HBV 组和健康对照组。

表2 各组研究对象 AMA、ASMA、抗 LKM-1 及抗 SLA/LP 抗体检出情况比较[n(%)]

组别	n	AMA	ASMA	LKM-1	SLA/LP
HBV 组	306	1(0.3)	3(0.9)	1(0.3)	0(0)
AIH 组	235	86(36.6)	59(25.1)[a]	54(23)[a]	6(2.55)[a]
健康对照组	150	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

a:$P<0.05$,与 HBV 组比较

两组患者 ANA 荧光核型分析 AIH 患者荧光核型以核均质型和核仁型为主;HBV 患者颗粒型所占比例较高。见表3和图1。

表3 两组患者 ANA 荧光核型比较[n(%)]

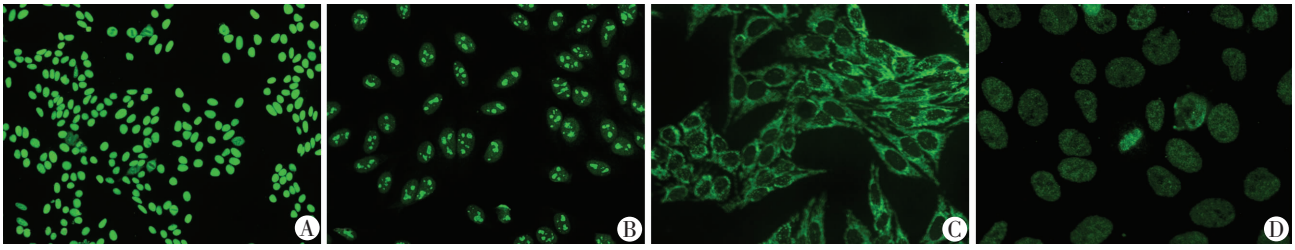
组别	n	核颗粒型	核均质型	核仁型	胞浆颗粒型
AIH 组	189	37(19.6)	80(42.3)	60(31.7)	20 (10.6)
CHB 组	28	12(42.8)	8(28.5)	4(14.3)	1(0.04)

2.3 IAIHG 1999 年诊断评分系统对 ANA 阳性的乙型病毒性肝炎患者评分

由表4可以看出28例自身抗体阳性乙肝患者中有1例评分超过16分,达到自身免疫性肝炎确诊标准(≥16分)。

3 讨论

自身抗体的检测为自身免疫性疾病的诊断提供有价值的依据[4-5]。根据自身抗体的不同,自身免疫性肝炎(AIH)可以分为2个亚型,其中Ⅰ型的标志性抗体为抗核抗体(ANA)、抗平滑肌抗体(ASMA),少数患者抗可溶性肝胰抗原(SLA/LP)抗体阳性。而Ⅱ型为抗肝肾微粒体Ⅰ型(LKM-1)抗体、抗肝细胞胞质Ⅰ型(LC-1)抗体。也有学者将抗可溶性肝胰抗原抗体(抗SLA/LP)阳性的患者,称为第Ⅲ型,目前尚无定论。另外,大量证据表明自身抗体检测在 AIH 病情判断、预后评估及风险预测方面也体现出重要的临床价值[6]。



A:核均质型;B:核仁型;C:胞浆颗粒型;D:阴性对照

图1 两组患者 ANA 荧光核型分析 (×400)

表 4 慢乙肝患者中 28 例自身抗体阳性患者 AIH 评分情况

编号	性别	年龄	ANA 滴度	球蛋白(g/L)	IgG(g/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALP(U/L)	IAIHG 评分
P1	女	42 岁	1∶100	29.76	14.1	15	32	64	2
P2	女	38 岁	1∶100	34.21	15.4	18	23	121	3
P3	女	29 岁	1∶100	22.2	11.2	359	386	184	6
P4	女	25 岁	1∶100	27.92	17.1	17	19	61	2
P5	男	40 岁	1∶100	32.2	20.8	50	80	255	5
P6	女	45 岁	1∶100	32.82	10.5	35	37	133	2
P7	女	45 岁	1∶100	36.5	14.8	23	36	90	3
P8	女	55 岁	1∶100	37.7	18.9	196	87	120	5
P9	男	40 岁	1∶100	45.7	20.8	50	80	255	4
P10	男	48 岁	1∶100	43.5	30.9	40	60	145	2
P11	男	36 岁	1∶100	43.98	8	109	93	318	5
P12	女	48 岁	1∶100	42.6	20.5	40	49	124	3
P13	女	51 岁	1∶100	35.8	21.7	26	73	190	3
P14	女	68 岁	1∶100	40.75	26.9	105	122	69	2
P15	男	39 岁	1∶100	38.78	18.1	1121	1285	87	4
P16	男	48 岁	1∶100	45.59	25.2	40	75	188	4
P17	女	49 岁	1∶100	37.7	15	16	27	48	2
P18	男	60 岁	1∶100	24.2	13.4	68	60	75	3
P19	女	38 岁	1∶100	29.9	15.8	410	279	659	4
P20	女	35 岁	1∶320	27.2	9.78	17	15	41	6
P21	女	50 岁	1∶320	42.83	21.8	192	76	112	6
P22	女	47 岁	1∶320	18.27	4.48	47	244	311	5
P23	女	39 岁	1∶1000	41.5	25.3	150	140	50	17[a]
P24	女	51 岁	1∶320	43.55	18.2	240	195	564	5
P25	男	40 岁	1∶320	45.79	25.9	682	810	143	6
P26	男	35 岁	1∶320	30.93	14.9	1430	759	91	7
P27	男	42 岁	1∶320	34.37	24	12	17	32	5
P28	女	68 岁	1∶320	32.6	17.7	57	80	144	4

a:评分≥16 为达到确诊标准

近年来研究证实肝炎病毒的感染常伴随自身免疫表现和/或自身免疫性疾病,免疫耐受机制失衡和淋巴细胞增殖异常相关的肝外体征也经常出现[1,7]。肝炎患者体内亦常伴随自身抗体的存在,这些抗体可能引发组织病理损伤和器官功能障碍,加重肝炎患者的临床表现[8-10]。有研究表明[11],在慢性乙肝患者中,自身抗体的阳性率可达 15%。另一项 290 例慢性丙肝患者自身抗体的研究显示[12],ANA、ASMA 和 LKM-1 的阳性率分别是 9%、20% 和 6%。目前自免肝主要用激素治疗,而干扰素是治疗病毒性肝炎的主要药物,但是它本身有诱发自身免疫性疾病的风险,因此对于自身抗体滴度较高的患者应该禁用或慎用[13-14]。因此,自身抗体的检测,对病毒性肝炎可能并发的自身免疫性疾病的早期诊断和预防很有必要,而且对于病毒性肝炎临床治疗方案的拟订也同样很有参考价值。

有证据表明 AIH 与病毒性肝炎可发生重叠感染,并且 AIH 患者中也可检测到抗病毒性肝炎抗体的存在[15-16]。本研究对 HBV 和 AIH 患者血清自身抗体的特点进行比较分析,发现两组患者均存在多种自身抗体,而且种类相似。但是 HBV 组 AMA、抗 LKM-1 及抗 SLA/LP 抗体的检出率均明显低于 AIH 组。另外,HBV 组患者 ANA 抗体检出率和滴度也比较低,在 306 例患者中仅 28 例为阳性(9.1%),且多数为低滴度 1∶100(19/28,67.8%),而 AIH 组中,在 235 例患者中有 189 例 ANA 阳性(80.42%),其中滴度≥1∶320 的为 135 例(135/189,71.43%),AIH 患者以高滴度为主,HB 以低滴度(1∶100)为主,高滴度仅见 9 例患者。

ANA 免疫荧光模型包括均质型、颗粒型、核仁型、核点型、核膜型、着丝点等,不同的核型对应的靶抗原不同,本实验显示 AIH 患者主要以核均质型(42.3%)、核仁型(31.7%)为主,而 HB 患者以颗粒型(42.8%)较常见,与赵海琳观点一致[17]。核仁型有随病情的

衍变而增高的趋势,提示在慢性肝病衍变过程中自身免疫的变化可能多集中在与细胞增殖、分裂有关的核仁成分上。

ANA 阳性的 28 例乙肝患者只有滴度 1∶1 000 那例患者达到 AIH 确诊标准。慢乙肝患者血清中检出高滴度的 ANA 时要结合临床资料排除自免肝,单靠自身抗体结果无法对疾病进行诊断需结合 Ig 水平和组织学特点进行综合考虑。

参考文献:

[1] 刘滨. 慢性乙型肝炎非器官特异性自身抗体的检测及其临床意义[J]. 临床医药实践, 2011, 20(11): 841 - 842. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8631.2011.11.020.

[2] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324 - 329.

[3] Czaja A J, Freese D K, American Association for the Study of Liver Disease. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2002, 36(2): 479 - 497. DOI: 10.1053/jhep.2002.34944

[4] Alvarez F, Berg P A, Bianchi F B, *et al*. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis[J]. J Hepatol, 1999, 31(5): 929 - 938.

[5] Self S E. Autoantibody testing for autoimmune disease[J]. Clin Chest Med, 2010, 31(3): 415 - 422. DOI: 10.1016/j.ccm.2010.04.001

[6] Cancado E L, Abrantes-Lemos C P, Terrabuio D R. The importance of autoantibody detection in autoimmune hepatitis [J]. Front Immunol, 2015, 6: 222. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00222

[7] Jadali Z, Alavian S M. Autoimmune diseases co-existing with hepatitis C virus infection[J]. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2010, 9(4): 191 - 206. DOI: 09.04/ijaai.191206

[8] 陈东, 奚颖霞, 陈海哨, 等. 自身抗体在乙型和丙型肝炎及自身免疫性肝炎中的特点分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(3): 715 - 716, 719.

[9] 李琳彬, 郭广波, 余焰, 等. 自身抗体在自身免疫性肝病诊断中的价值[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(15): 2051 - 2052, 2056. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.15.005

[10] 蒋依娜,王越,吕毅,等.自身免疫性肝炎的病理学特点及肝移植疗效[J].中华消化外科杂志,2016,15(5):477 - 481. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2016.05.015

[11] Cacoub P, Saadoun D, Bourliere M, *et al*. Hepatitis B virus genotypes and extrahepatic manifestations[J]. J Hepatol, 2005, 43(5): 764 - 770. DOI: 10.1016/j.jhep.2005.05.029

[12] Cassani F, Cataleta M, Valentini P, *et al*. Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile[J]. Hepatology, 1997, 26(3): 561 - 566. DOI: 10.1002/hep.510260305

[13] di-Cesare E, Previti M, Russo F, *et al*. Interferon-alpha therapy may induce insulin autoantibody development in patients with chronic viral hepatitis[J]. Dig Dis Sci, 1996, 41(8): 1672 - 1677.

[14] Trikudanathan G V, Ahmad I, Israel J L. Concurrent autoimmune hepatitis and grave's disease in hepatitis C during pegylated interferon α-2a and ribavirin therapy[J]. Saudi J Gastroenterol, 2011, 17(5): 348 - 352. DOI: 10.4103/1319-3767.84494

[15] Rigopoulou E I, Zachou K, Gatselis N, *et al*. Autoimmune hepatitis in patients with chronic HBV and HCV infections: patterns of clinical characteristics, disease progression and outcome[J]. Ann Hepatol, 2013, 13(1): 127 - 135.

[16] Georgiadou S P, Zachou K, Liaskos C, *et al*. Occult hepatitis B virus infection in patients with autoimmune liver diseases[J]. Liver Int, 2009, 29(3): 434 - 442. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2008.01851.x

[17] 赵海琳. HBV 相关疾病患者自身抗体研究进展[J]. 现代医药卫生, 2012, 28(1): 89 - 90.

(**收稿**:2015-11-24;**修回**:2016-03-04)

(编辑 王 红)