DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.04.003

病毒性肝炎患者抗-LSP抗体的临床意义

——SPA-RIA和ELISA检测结果的评价

李梦东 何长清 郑智勇 程懋坪

(第二附属医院 传染病教研室)

提 要 用SPA-RIA对168例各型肝炎患者血清中的抗-LSP抗体进行了检测，另外178例患者(其中109例同时也用SPA-RIA检测)则用ELISA进行检测，并进一步将其抗-LSP抗体分为IgG、IgM 及IgA 型。用上述两种方法同时检测的109例患者的结果表明，SPA-RIA 阳性的抗体可能主要代表IgG型抗-LSP。在大多数急性肝炎和慢性肝炎患者，皆能测出循环性抗-LSP抗体。作者认为对LSP的体液免疫应答可能不是病毒性肝炎发病机理的唯一启动因素，而更像是肝细胞损伤后抗原性变异的结果。

关键词 肝脏特异性膜脂蛋白 (LSP)；葡萄球菌蛋白A沉淀法放射免疫测定 (SPA-RIA)；酶联免疫吸附测定 (ELISA)；慢性活动性肝炎 (CAH)；慢性迁延性肝炎 (CPH)

自从Meyer Zum Büschenfelde等[1]对肝特异性膜脂蛋白 (LSP) 进行了比较系统的研究之后，不少人认为抗-LSP 自身免疫应答可能在CAH 的发病机理中起重要作用。近来我们先后利用葡萄球菌A蛋白的放射免疫沉淀法 (SPA-RIA)对168例各型病毒性肝炎患者的血清进行了检测，另外还用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 对各型病毒性肝炎178例患者的血清IgG、IgM及IgA型抗-LSP抗体进行了分析，同时用上述两种方法检测者共109例患者，本文乃对此结果进行分析和探讨。

观察对象及方法

1. 各型肝炎患者均依照1983年郑州会议所制订的标准确定诊断[2]。HBsAg 的检测采用RPHA法。

2. LSP的纯化乃参照McFarlane等[3]的方法，免疫家兔得抗-LSP血清。

3. 采用氯胺T法将LSP用 $Na^{125}I$ 进行标记，参照Jensen等[4]的方法进行抗-LSP抗体的测定。标记LSP的百分结合率=

$$\frac{\text{剩余液CPM}-0.5\text{ml上清液CPM}-\text{本底}}{\text{剩余液CPM}+0.5\text{ml上清液CPM}-\text{本底}}\times 100$$

本组正常值由20名健康献血员均值加3个标准差 17.09+11.49=28.58。凡双管样本平均百分结合率超过此数值者为抗-LSP 抗体阳性。非肝炎的其它传染病患者16例检测结果均为阴性。

4. 用改良的低pH过碘酸钠法将马抗人IgG、IgA 和抗人μ 链血清与辣根过氧化物酶偶联。以上抗体的特异性均经免疫双扩散和免疫电泳鉴定证明。在测定抗-LSP IgM、IgA 之前，血清标本先用葡萄球菌A蛋白处理，以除去其中的IgG。测定样本于波长492nm处测 O.D 值，取每份标本的三孔均值(P)，并按下式计算出结果：

$$\frac{P}{N}=\frac{P}{\bar{X}_n+2SD}$$

根据50例健康献血员的测定值($N=\bar{X}_{50}+2SD$)，规定P/N值≥1.1者为阳性。本试验批内变异系数为2.1～2.9%，批间变异系数为6.6～8.4%。16例非肝炎传染病患者均为阴性结果。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

结　果

如果把ELISA 检测 IgG、IgM或 IgA 型抗－LSP抗体中任何一项为阳性者，即视为抗-LSP 抗体阳性病例，则 ELISA、SPA-RIA 及两者同时对同一血清标本进行检测的结果，见表 1 。

表 1　各型肝炎患者抗－LSP 抗体的检测结果

	ELISA			SPA-RIA				ELISA 和 RIA			
	例数	阳性数	%	例数	阳性数	%	平均百分结合率 (X̄±SE%)	例数	两者皆阳性(%)	两者皆阴性(%)	符合率
急性肝炎	46	37	80.4	65	43	66.2	41.23±1.36	23	15(65.2)	4(17.4)	82.6
HBsAg⊕	23	19	82.6	24	15	62.5	41.1±2.29	10	7(70.0)	2(20.0)	90.0
HBsAg⊖	23	18	78.3	41	28	68.3	41.3±1.73	13	8(61.5)	2(15.4)	76.9
慢性活动性	60	47	78.3	49	41	83.6	42.89±1.39	43	31(72.1)	3(6.9)	79.1
HBsAg⊕	44	33	75.0	36	30	83.3	43.5±1.76	37	26(70.3)	3(8.1)	78.4
HBsAg⊖	16	14	87.5	13	11	84.6	41.3±1.96	6	5(83.3)	0	83.3
慢性迁延性	28	10	35.5	22	14	63.6	32.48±0.41	11	6(54.5)	4(36.4)	90.9
HBsAg⊕	16	6	37.5	13	10	76.9		5	4(80.0)	0	80.0
HBsAg⊖	12	4	33.3	9	4	44.4		6	2(33.3)	4(66.7)	100.0
急、亚急性重型	10	10	100.0	10	9	90.0	40.19±2.4	10	7(70.0)	1(10.0)	80.0
慢性重型	18	16	88.9	12	9	75.0		12	9(75.0)	1(8.3)	83.3
HBsAg携带者	16	3	18.8	10	1	10.0		10	1(10.0)	8(80.0)	90.0

用ELISA和SPA－RIA 两种方法同时检测的 109例患者中，SPA－RIA 阳性者共79例，此79例患者用ELISA检测结果，IgG、IgM及IgA型抗体皆阳性，或仅IgG型抗体阳性者共65例，说明SPA-RIA法测得的抗-LSP抗体主要反映 IgG 型抗体。另外有 14 例（17.7%）是不符合的。SPA－RIA 法阴性者共30例中，经 ELISA 检测，IgG、IgM 及 IgA 型抗体皆阴性者共21例；三者皆阳性者加之IgG 型抗体阳性者共 5 例，阴性结果的不符合率为16.7%。两种方法共有19例的结果是不符合的(17.4%)（表 2 ）。

表 2　ELISA及SPA－RIA检测抗－LSP抗体性质的对比

SPA-RIA		阳性（例数）						阴性（例数）					
ELISA		例数	IgG IgM IgA 皆+	IgG IgM IgA 皆-	IgG +	IgM +	IgA +	例数	IgG IgM IgA 皆+	IgG IgM IgA 皆-	IgG +	IgM +	IgA +
急性肝炎	HBsAg⊕	7	0	0	6	5	3	3	0	2	1	0	0
	HBsAg⊖	9	1	1	6	5	0	4	0	2	1	1	0
慢性活动性	HBsAg⊕	31	11	5	13	2	7	6	1	3	32	1	1
	HBsAg⊖	6	1	1	3	1	2	0					
慢性迁延性	HBsAg⊕	5	0	1	4	1	0	0					
	HBsAg⊖	2	1	0	1	0	0	4	0	4	0	0	0
急、亚急重型	HBsAg⊕	5	2	0	3	1	0	1	0	1	0	0	0
	HBsAg⊖	4	3	0	1	0	0	0					
慢性重型	HBsAg⊕	8	1	0	6	1	5	0					
	HBsAg⊖	1	0	0	1	1	0	3	0	1	0	1	1
HBsAg携带者		1	0	0	1	0	0	9	0	8	0	1	0
合　计		79	20	8	45	17	17	30	1	21	4	4	2

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

对急性肝炎患者21例于发病后第2周开始用ELISA方法进行抗－LSP IgG型抗体连续观察，在休息治疗的过程中，抗－LSP抗体均逐步下降，到病程第6周已全部转为阴性(图1)。反之，各型重型肝炎患者14例，其病程短者半月，长者10年以上，于入院后开始连续观察，结果表明IgG型抗－LSP抗体大多持续阳性（图2）。本组CAH患者男女性别之比为5∶1，年龄主要在20～40岁，病程大多在1～5年之间，对其中21例治疗前IgG型抗－LSP抗体阳性者，于治疗后肝功能好转时再次对比观察了抗－LSP抗体，转阴性者8例，滴度上升者8例，滴度下降而未能转阴性者5例（图3）。

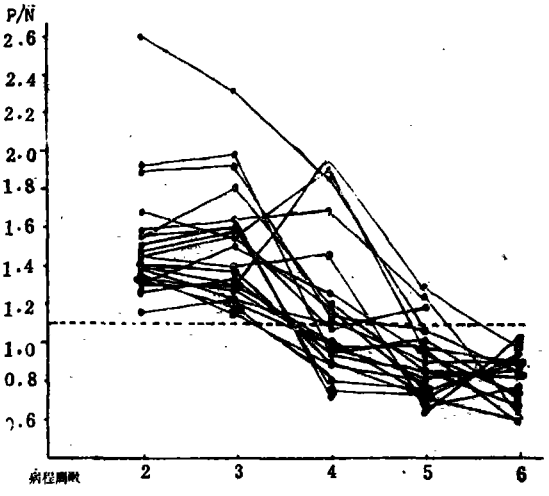


图1　21例急性肝炎患者IgG型抗－LSP抗体的动态变化

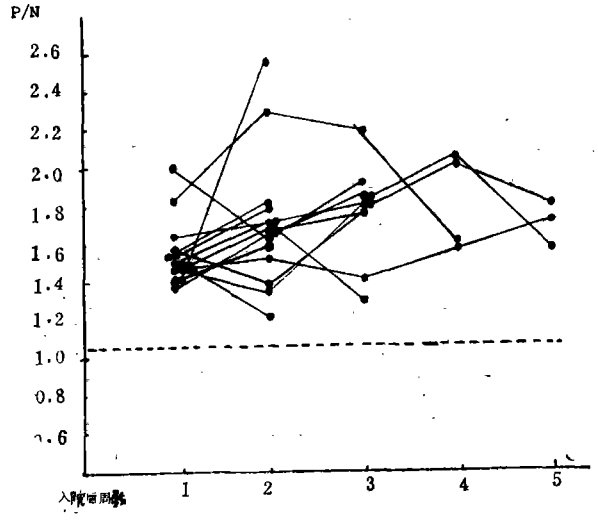


图2　14例重型肝炎患者IgG型抗－LSP抗体的动态变化

讨　论

根据本文检测结果来看，用比较敏感的ELISA或国内很少开展的SPA－RIA方法，无论是急性或慢性肝炎；无论是HBsAg阳性或阴性，大都能测出循环性抗－LSP抗体，这与Jensen等[4]、Hopf等[5]及Kakumu等[6]的研究结果是一致的。

急性肝炎患者大多能顺利恢复，抗-LSP抗体也大多转为阴性，而CAH患者却病情迁延不愈，抗－LSP抗体不容易转为阴性，重型肝炎患者的抗－LSP抗体大多持续异常，说明抗－LSP抗体可以共同出现，但其转归却不同；急性肝炎和CAH患者的临床表现也大不相同，因此，不得不设想LSP的体液免疫应答可能不是CAH发病机理中唯一的启动因素，而很可能是肝细胞损伤后，抗原性变异的后果。

如果SPA-RIA检测结果主要反映出IgG型抗体，在急性肝炎中有部份病例IgM型抗

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

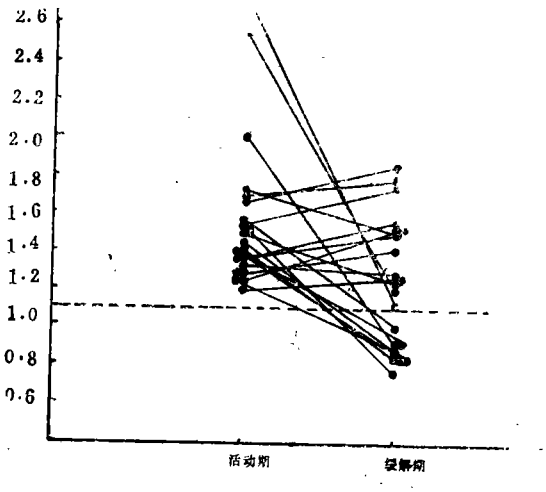


图3　21例CAH患者治疗前后的IgG型抗－LSP抗体动态变化

体单独阳性，在CAH和重型肝炎中均有不少病例伴有 IgM或 IgA型抗体阳性，这样一方面会使两种方法的符合率有所下降，另一方面也说明在这些情况下肝细胞的急性损伤仍占重要地位。

抗-LSP 抗体的临床意义仍有待进一步深入研究。

参 考 文 献

1. Meyer Zum Büschenfelde KH, et al: Experimental chronic active hepatitis in rabbits following immunisation with human liver protein. Clin Exp Immunol 1972; 11:99～108
2. 病毒性肝炎防治方案。中华内科杂志1984; 23:312～317
3. McFarlane IC, et al: Purification and characterization of human liver specific membrane lipoprotein (LSP). Clin Exp Immunol 1977; 27:381～390
4. Jensen DM, et al: Detection of antibodies directed against a liver-specific membrane lipoprotien in pateints with acute and chronic active hepatitis. N Engl J Med 1978; 299:1～7
5. Hopf U, et al: Detection of a liver-membrane autoantibody in HBsAg-negative chronic active hepatitis. N Engl J Med 1976; 294:578～582
6. Kakumu S, et al: Occurrence and significance of antibody to liver-specific membrane lipoprotein by double-antibody immunoprecipitation method in sera of patients with acute and chronic liver diseases. Gastroenterol 1979; 76:665～672

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

The Clinical Significance of Anti-LSP Antibodies in the Sera of Patients with Viral Hepatitis: An Evaluation with SPA-RIA & ELISA

Li Mengdong, He Changqing, Zheng Zhiyong, Cheng Maoping

(Department of Infectious Diseases, Second Teaching Hospital,

Third Military Medical College)

Antibodies against LSP in the sera of 168 patients with various types of viral hepatitis were determined with SPA-RIA. The sera of another group of 178 patients (109 of them were from the first group) with viral hepatitis were studied with ELISA for the same antibodies, which were further divided into three categories, that is, IgG, IgM and IgA classes. The results of 109 patients examined with both of the two methods, indicated that anti-LSP antibodies measured by SPA-RIA might mainly represent anti-LSP IgG class. It was found that circulating anti-LSP antibodies could easily be detected in most patients with either acute or chronic hepatitis. After analyzing the results, the authors suggest that the humoral immune response against LSP might not be the sole initiating factor in the pathogenesis of viral hepatitis, they are more likely the result of the antigen variation of the injured liver cells.

Key words: Liver specific membrane lipoprotein (LSP); Staphylococcal protein A radioimmunoprecipitation assay (SPA-RIA); Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA); Chronic active hepatitis (CAH); Chronic persistent hepatitis (CPH)

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net