

自身免疫性肝炎 I 型患者自身抗体与血清生物化学指标的相关性分析

刘玲¹, 李晓东², 肖明中², 赵友云¹, 彭晓明¹ (1.湖北省中医院 检验科, 武汉 430061; 2.湖北省中医院 肝病科, 武汉 430061)

摘要: 目的 探讨自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH) I 型患者自身抗体与其血清生物化学指标的相关性。方法 选取2010年12月至2014年12月于湖北省中医院就诊的163例AIH- I 型患者为研究组, 另外纳入197例健康献血者为对照组, 采用酶联免疫法(ELISA)检测AIH- I 型患者的抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)、抗纤维肌动蛋白抗体(anti-filamentous actin antibody, AFA)和抗平滑肌抗体(anti-smooth muscle antibody, ASMA), 采集全部研究对象的血清进行生物化学指标(ALT、AST、ALP、TBil、 γ -GT、GLO)和免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM)的检测, 应用SPSS 19.0统计软件对检测结果进行统计学分析。结果 AIH- I 型患者ANA、AFA和ASMA的阳性率分别为84.66%、75.46%和70.55%。与对照组相比, AIH- I 型患者生物化学指标除ALP外, 其他均显著升高。AIH- I 型患者的ANA与AST、TBil低度相关, AFA与ALT、AST和IgG低度相关, ASMA与ALT、AST和IgM低度相关。结论 AIH- I 型患者自身抗体ANA、AFA、ASMA与其血清生物化学指标的相关性较差, 二者对AIH- I 的诊断价值不能相互替代。

关键词: 肝炎, 自身免疫性; 自身抗体; 生物化学指标; 相关性

Correlation analysis of autoantibodies and biochemical indicators in patients with autoimmune hepatitis type I

LIU Ling¹, LI Xiao-dong², XIAO Ming-zhong², ZHAO You-yun¹, PENG Xiao-ming¹ (1.Department of Clinical Laboratory, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China; 2.Department of Liver Diseases, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation of autoantibodies and biochemical indicators in patients with autoimmune hepatitis (AIH) type I. **Methods** Total of 163 patients with AIH- I from December 2010 to December 2014 in Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine were selected as the research group and other 197 blood donors were selected as the controls. The antinuclear antibody (ANA), anti-filamentous actin antibodies (AFA) and anti-smooth muscle antibodies (SMA) in patients with AIH- I were evaluated by ELISA and the serum biochemical indicators in patients with AIH- I type and the controls were detected, all the results were analyzed by SPSS 19.00 software. **Results** The positive rates of ANA, AFA and ASMA in patients with AIH- I type were 84.66%, 75.46% and 70.55%, respectively. Except for ALP, the biochemical indicators were significantly higher in patients with AIH- I than those of the controls. The ANA was lowly correlated with AST and TBil, the AFA was lowly correlated with ALT, AST and IgG and the ASMA was lowly correlated with ALT, AST and IgM. **Conclusions** The autoantibodies including ANA, AFA and ASMA have a low correlation with biochemical indicators in patients with AIH- I, and the diagnostic value of autoantibodies and biochemical indicators can not be replaced by each other.

Key words: Hepatitis, autoimmune; Autoantibodies; Biochemical indicators; Correlation

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是由人体自身免疫反应介导的慢性进行性肝脏疾病,其临床特征为不同程度的血清转氨酶升高、高蛋白血症和自身抗体阳性,组织学特征是以淋巴细胞和浆细胞浸润为主的界面性肝炎,AIH若不能及时有效治疗,最终会导致肝硬化和肝功能衰竭^[1,2]。根据血清自身抗体可将AIH分为I、II、III 3型,其中AIH-I型最常见,AIH-I型的重要诊断和分型指标是抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)、抗纤维肌动蛋白抗体(anti-filamentous actin antibody, AFA)以及抗平滑肌抗体(anti-smooth muscle antibody, ASMA)^[3-5],目前有关这3种自身抗体与AIH-I型患者血清生物化学指标相关性的研究报道较少,本研究对AIH-I型患者自身抗体与血清生物化学指标进行统计分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2010年12月至2014年12月湖北省中医院确诊的163例AIH-I型患者的临床资料及血清标本,凡患有其他自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、系统性脉管炎、硬皮病、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、慢性溃疡性结肠炎、多发性脑脊髓硬化症、特发性多神经炎等的患者均不作为本次的研究对象。同时从本院输血科收集197例健康献血者作为对照组。收集全部研究对象的血清,分装后-80℃放置备用。所有研究对象均签订知情同意书,并保留详细的临床资料。

1.2 方法

1.2.1 AIH-I型患者的检测指标 ①一般临床表现:包括性别、年龄、临床症状;②影像学检查:超声检查或CT等观察患者初诊时肝脏情况;③血清生物化学指标检查:检查患者血清ALT、AST、ALP、TBil、 γ -GT、GLO以及免疫球蛋白(IgA、IgM、IgG);④AIH-I型自身抗体检查:检查患者血清ANA、AFA、ASMA等;⑤肝脏组织病理学检查:对可疑患者实施肝脏活组织检查。

1.2.2 AIH的诊断 参考1993年AIH诊断评分标准^[6]、1999年AIH修订诊断评分标准^[7]和2008年AIH简化评分诊断标准^[8],并综合患者的临床表现、实验室结果和肝脏组织学特点进行AIH的诊断。本研究入选的AIH患者诊断积分系统评估得分 ≥ 7 分,主要诊断方法包括:①无遗传代谢类疾病(例如 α_1 抗胰蛋白酶、血清铜蓝蛋白等指标正常),无肝炎病毒感染,过往或现在均无饮酒或服用已知对肝脏有损害

的药物史;②血清AST、ALT显著升高,其中免疫球蛋白IgG升高大于正常值上限;③某些自身抗体阳性,包括ANA、AFA、ASMA、抗肝肾微粒体抗体、抗线粒体抗体及其亚型、抗肝细胞胞浆I型抗体、抗可溶性肝抗原/肝胰抗原抗体;④肝脏病理学表现以界面肝炎为主,无胆管的病理改变。

1.2.3 AIH分型 已经诊断为AIH的患者参考文献标准^[4],按照患者自身抗体的检测情况分型,AIH-I的分型主要依据患者自身抗体ANA、AFA、ASMA等结果。

1.2.4 自身抗体检测 采用ELISA法检测自身抗体(ANA检测采用美国Zeus公司试剂、AFA检测采用美国INOVA诊断公司试剂、ASMA检测采用三明博峰生物科技有限公司试剂)。参考试剂说明书提供的标准,以结果浓度 > 30 U判定为阳性,浓度 < 20 U判定为阴性,浓度在 $20 \sim 30$ U判定为可疑。检测方法如下:①将标本解冻,按要求稀释后加入反应孔内,然后立即加入生物素标记的抗体,振荡混匀,37℃温育1小时,甩去孔内液体,洗净拍干。将阴性和阳性对照质控样本同患者标本一同检测。②每孔加入酶标记抗体(如亲和链酶素-HRP等),37℃温育30分钟,甩去孔内液体,洗净拍干。③每孔分别加入底物A、B,37℃温育10分钟。④取出反应板加入终止液,在450 nm波长处测定各孔的吸光度值。⑤以吸光度值为纵坐标,相应的标准品浓度为横坐标绘制标准曲线,根据吸光度值由标准曲线计算样本浓度。

1.2.5 生物化学指标的检测 采用美国雅培C-8000全自动生化分析仪检测患者血清ALT、AST、ALP、TBil、 γ -GT、GLO和免疫球蛋白IgG、IgA、IgM等项目,全部项目均按试剂说明书操作。将质控标本与患者样本同时检测,并确保检测结果全部在控。

1.2.6 统计学处理 应用SPSS 19.0统计软件进行数据分析,对正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,对偏态分布的计量资料以M(范围)表示,组间资料比较采用 t 检验、秩和检验或方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。对AIH-I型患者自身抗体的吸光度值和生物化学指标采用Pearson相关性分析, $|r| < 0.3$ 为无相关性, $0.3 \leq |r| < 0.5$ 为低度相关, $0.5 \leq |r| < 0.8$ 为显著相关, $|r| \geq 0.8$ 为高度相关。

2 结果

2.1 患者一般情况及临床表现 163例AIH-I型患者

的平均年龄为(59.26 ± 10.24)岁, 大多患者隐袭性起病, 临床症状及体征各不相同, 常见症状包括全身无力、恶心、呕吐、上腹部肿胀或疼痛、关节痛、肌肉痛等, 部分患者无明显临床症状, 只有在生物化学检查肝功能出现异常后才就诊, 仅有少数患者表现为急性起病。患者检查出肝功能异常后, 需结合临床症状、自身抗体、生物化学指标和肝脏病理检测结果等给予确诊。

2.2 AIH- I 型患者自身抗体ANA、AFA和ASMA的检测结果 按照ANA、AFA和ASMA的ELISA阳性预测值 ≥ 30 U为标准, 163例AIH- I 型患者ANA、AFA和ASMA的阳性人数分别为138例、123例和115例, 阳性率分别为84.66%、75.46%和70.55%。

2.3 AIH- I 型患者生物化学检测结果 除ALP与正常对照组相比轻度升高外(与正常对照组相比无统计学差异, $t = 1.081$, $P = 0.082$), ALT、AST、TBil、 γ -GT、GLO、IgG、IgM和IgA均显著升高(P 值分别为0.001、0.001、0.003、0.003、0.006、0.001、0.008和0.004), 见表1。

2.4 AIH- I 型患者自身抗体ANA、AFA和ASMA与生物化学指标的相关性分析 ANA与AST和TBil低度相关, 与其他指标无相关性; AFA与ALT、AST

和IgG低度相关, 与其他指标无相关性; ASMA与ALT、AST和IgM低度相关, 与其他指标无相关性, 见表2。

3 讨论

AIH患者常常病因不明、起病隐匿并且缺乏特异性临床表现和相应的病原体, 有些AIH患者会出现全身无力、精神疲乏、瘙痒、黄疸和腹痛等症状^[9]。目前的研究认为, AIH的诊断必须综合患者的临床表现、实验室指标、肝脏病理表现等多方面的检查结果综合判断, 并排除引起慢性肝炎的其他可能原因^[10,11]。大部分早期诊断的AIH患者使用免疫抑制剂能有效控制病情发展, 但如果不能及早诊断、及时治疗, 患者可能会出现肝硬化或功能衰竭, 因此寻找敏感性和特异性高的AIH诊断指标十分重要。对于AIH- I 型的诊断除需观察患者的临床症状外, 检查患者血清生物化学指标和自身抗体都很重要^[12,13], 然而目前对AIH- I 型患者血清生化指标和自身抗体相关性的研究较少。

自身免疫性肝炎是以肝细胞炎性破坏为主的, AIH- I 型患者某些血清生物化学指标的高低与疾病严重程度直接相关^[14], 故AIH- I 型患者ALT、AST升高较明显, 与正常对照差异越大, 其肝组织病

表1 AIH- I 型患者生物化学指标检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	γ -GT (U/L)	TBil (μ mol/L)
AIH- I ($n = 163$)	126.57 \pm 38.09	118.82 \pm 42.57	74.53 \pm 20.12	92.38 \pm 17.56	31.29 \pm 11.58
对照组 ($n = 197$)	18.67 \pm 12.91	24.34 \pm 10.21	69.69 \pm 16.22	32.24 \pm 14.16	12.44 \pm 6.61
t 值	5.351	4.538	1.081	3.607	3.443
P 值	0.001	0.001	0.082	0.003	0.003

组别	GLO (g/L)	IgG (g/L)	IgM (g/L)	IgA (g/L)
AIH- I ($n = 163$)	54.32 \pm 11.25	24.61 \pm 8.69	1.68 \pm 1.64	4.15 \pm 1.61
对照组 ($n = 197$)	24.74 \pm 10.32	11.81 \pm 4.98	1.34 \pm 1.18	2.21 \pm 1.26
t 值	2.567	5.083	2.009	3.416
P 值	0.006	0.001	0.008	0.004

表2 AIH- I 型患者 ANA、AFA 和 ASMA 与其生物化学指标的相关性

项目	ANA (U)		AFA (U)		ASMA (U)	
	r	P 值	r	P 值	r	P 值
ALT (U/L)	0.20	0.14	0.48	0.06	0.39	0.11
AST (U/L)	0.39	0.09	0.44	0.08	0.43	0.08
ALP (U/L)	0.27	0.15	0.13	0.44	0.22	0.14
γ -GT (U/L)	0.08	0.54	0.28	0.12	0.11	0.51
TBil (μ mol/L)	0.42	0.08	0.11	0.51	0.22	0.14
GLO (g/L)	0.14	0.43	0.27	0.15	0.17	0.38
IgG (g/L)	0.22	0.15	0.47	0.07	0.28	0.13
IgM (g/L)	0.16	0.41	0.29	0.15	0.33	0.10
IgA (g/L)	0.24	0.13	0.12	0.43	0.18	0.42

注: | r | < 0.3 为无相关性, $0.3 \leq | r | < 0.5$ 为低度相关

理学改变越严重^[15]。本研究结果显示, AIH- I 型患者血清ALT、AST升高显著, 实验室检测出ALT和(或)AST反复或持续升高是导致本研究对象163例患者就诊并住院的主要原因之一。本研究中AIH- I 型患者血清生物化学指标除ALP与正常对照组相比仅有轻度升高之外, ALT、AST、TBil、 γ -GT、GLO、IgG、IgM和IgA均显著升高, 说明患者血清生物化学指标的变化是AIH- I 型的一项重要的重要的筛查指标, 特别是临床无明显不适而血清生物化学指标异常的患者更应引起高度重视。

然而, 仅仅依据患者血清生物化学指标的变化很难确诊AIH- I, 这是由于各种病毒性肝炎、化学损伤性肝炎、肝脏脂肪代谢异常以及各种遗传代谢性疾病等都可能引起患者肝功能受损, 继而引起血清生物化学指标的改变。随着临床经验的积累和对AIH诊断及治疗能力的提高, 已逐渐认识到自身抗体在AIH诊断和分型中的重要作用, 目前许多AIH诊疗指南中已将自身抗体提高到与ALT、AST、ALP和球蛋白等重要诊断指标相同的地位^[2]。目前已有较多的研究证实, ANA和ASMA是AIH- I 型的重要诊断和分型指标^[16-18]。AFA是ASMA的特异性亚型, 有研究认为, 相较于ASMA, AFA诊断AIH- I 型的特异性和敏感性更好^[19-22]。本研究发现163例AIH- I 型患者特异性抗体ANA、AFA和ASMA的阳性率分别为84.66%、75.46%和70.55%, 即超过70%的AIH- I 型患者检测结果超过正常值上限, 说明检测患者自身抗体对诊断AIH- I 型有重要的参考价值。虽然AIH- I 型患者ANA、AFA、ASMA等自身抗体的阳性率较高, 但由于目前该病的发病机制尚未明确, 患者肝脏的损伤涉及复杂的细胞免疫和体液免疫过程, AIH- I 型患者自身抗体的出现是病理损伤的原因或结果目前尚无定论, 因此仅凭患者自身抗体检测结果的高低并不能确定疾病的严重程度^[19,23]。

虽然检查AIH- I 型患者的自身抗体和生物化学指标对诊断该疾病都非常重要, 但目前有关AIH- I 型患者自身抗体ANA、AFA和ASMA与其血清生化指标的相关性研究不多, 研究AIH- I 型患者的自身抗体和生物化学指标的相关性对于分析了解和诊断病情十分重要。本研究结果显示, AIH- I 型患者自身抗体ANA、AFA和ASMA与血清生物化学指标相关性较低。从AIH- I 型患者自身抗体ANA、ASMA和AFA的变化无法推断出生物化学指标的变化, 反之亦然。因此, 对于任何慢性肝病患者, 若发现其生物化学指标等项目异常, 同时能够排除病毒性肝

炎、肝脏化学性损伤、肝脏脂肪代谢异常及遗传性代谢疾病等, 就应该考虑检测患者的自身抗体, 检查患者血清生物化学指标与自身抗体不能相互替代。

需要注意的是, 目前临床也可发现一些自身抗体阴性的AIH患者, 其血清标本检测不到传统的自身抗体标志物, 这给临床疾病诊断带来了很大的困难^[24-26]。本研究显示163例AIH- I 型患者ANA、AFA和ASMA的阳性例数分别为138例、123例、115例, 即AIH- I 型患者ANA、AFA、ASMA检测结果正常的人数分别为25例、40例和48例, 分别占AIH- I 型患者总人数的15.44%、25.54%和29.45%, 这类自身抗体阴性或可疑的AIH- I 型患者需要加大关注力度, 除需要及时进行肝脏生物化学指标和影像学检查外, 尽早实施肝脏组织病理检查是较好的选择^[27], 以便早期诊断和及时治疗。

总之, 虽然AIH- I 型患者自身抗体ANA、AFA和ASMA与其生物化学指标对该疾病都具有一定的诊断价值, 但二者的相关性不大, 不能相互替代。出现此情况的原因以及上述两项指标在患者疾病发展进程中的作用及变化情况有待于继续深入研究。

参考文献

- [1] Nedin H, Loreto H. Autoimmune liver disease: novelties in management[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2014, 38: 273-276.
- [2] Trivedi PJ, Hirschfield GM. Treatment of autoimmune liver disease: current and future therapeutic options[J]. Ther Adv Chronic Dis, 2013, 4: 119-141.
- [3] Czaja AJ. Challenges in the diagnosis and management of autoimmune hepatitis [J]. Can J Gastroenterol, 2013, 27: 531-539.
- [4] Czaja AJ. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis[J]. Clin Liver Dis, 2015, 19: 57-79.
- [5] Grunwald D, Kothari D, Malik R. Noninvasive markers in the assessment and management of autoimmune liver diseases[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2014, 26: 1065-1072.
- [6] Johnson PJ, McFarlane IG, Alvarez F, et al. Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group[J]. Hepatology, 1993, 18: 998-1005.
- [7] Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, et al. International Autoimmune Hepatitis Group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis[J]. J Hepatol, 1999, 31: 929-938.
- [8] Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2008, 48: 169-176.
- [9] 王绮夏, 邱德凯, 马雄. 2010年美国肝病学会自身免疫性肝炎指南解读[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2011, 3: 23-28.
- [10] WANG Q, YANG F, MIAO Q, et al. The clinical phenotypes of autoimmune hepatitis: A comprehensive review[J]. J Autoimmun, 2016, 66: 98-107.
- [11] Kuzmina Z, Gounden V, Curtis L, et al. Clinical significance of autoantibodies in a large cohort of patients with chronic

- graft-versus-host disease defined by NIH criteria[J]. *Am J Hematol*,2015,90:114-119.
- [12] 邓拥军, 肖明中, 李晓东, 等. 194例自身免疫性肝炎患者的临床特征分析[J]. *临床肝胆病杂志*,2015,31:1473-1476.
- [13] Schotte H, Willeke P, Schmalhorst J, et al. Diagnostic performance of an anti-actin autoantibody binding enzyme immunodot blot in autoimmune hepatitis type 1[J]. *J Clin Lab Anal*,2016,30:123-129.
- [14] Roep BO, Buckner J, Sawcer S, et al. The problems and promises of research into human immunology and autoimmune disease[J]. *Nat Med*,2012,18:48-53.
- [15] 肖潇, 邱德凯, 马雄. 自身免疫性肝炎[J]. *中华消化杂志*,2013,33:63-66.
- [16] 张玲娟, 古春昱, 胥佳, 等. 自身免疫性肝病基础与临床研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*,2014,30:458-461.
- [17] 孙丽梅, 赵艳明, 王一鹏, 等. 多抗原组合筛查试剂筛查自身免疫性肝病的临床意义[J]. *临床肝胆病杂志*,2014,30:405-408.
- [18] Liberal R, Mieli-Vergani G, Vergani D. Clinical significance of autoantibodies in autoimmune hepatitis[J]. *J Autoimmun*,2013,46:17-24.
- [19] Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, et al. Autoantibody diagnostics in clinical practice [J]. *Autoimmun Rev*,2012,11:207-211.
- [20] Zachou K, Oikonomou K, Renaudineau Y, et al. Anti-[alpha] actinin antibodies as new predictors of response to treatment in autoimmune hepatitis type 1[J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2012,35:116-125.
- [21] CUI X, ZHANG X, YIN Q, et al. F-actin cytoskeleton reorganization is associated with hepatic stellate cell activation [J]. *Mol Med Rep*,2014,9:1641-1647.
- [22] Couto CA, Bittencourt PL, Porta G, et al. Antismooth muscle and antiactin antibodies are indirect markers of histological and biochemical activity of autoimmune hepatitis[J]. *Hepatology*,2014,59:592-600.
- [23] Villalta D, Girolami E, Alessio MG, et al. Autoantibody Profiling in a Cohort of Pediatric and Adult Patients With Autoimmune Hepatitis[J]. *J Clin Lab Anal*,2016,30:41-46.
- [24] Mehendiratta V, Mitroo P, Bombonati A, et al. Serologic markers do not predict histologic severity or response to treatment in patients with autoimmune hepatitis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*,2009,7:98-103.
- [25] Czaja AJ. Cryptogenic chronic hepatitis and its changing guise in adults[J]. *Dig Dis Sci*,2011,56:3421-3438.
- [26] WANG QX, JIANG WJ, MIAO Q, et al. Clinical and histological features of autoantibody-negative autoimmune hepatitis in Chinese patients: A single center experience [J]. *J Dig Dis*,2013,14:175-180.
- [27] Czaja AJ. Autoantibody-negative autoimmune hepatitis[J]. *Dig Dis Sci*,2012,57:610-624.

收稿日期: 2015-05-03

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对来稿参考文献格式的要求

执行GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出,并将序号置于方括号中,排列于文后。内部刊物、未发表资料(不包括已被接受的待发表资料)、个人通信等请勿作为文献引用,确需引用时,可将其在正文相应处注明。日文汉字请按日文规定书写,勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过3人全部著录;超过3人可以只著录前3人,后依文种加表示“等”的文字。作者姓名一律姓氏在前、名字在后,外国人的名字采用首字母缩写形式,缩写名后不加缩写点;不同作者姓名之间用“,”隔开,不用“和”、“and”等连词。请于文献题名项后增加标注文献类型标志项目,示例如下:

[1] 陈登原. 国史旧闻 [M]. 北京: 中华书局,2000:29.

[2] 袁训来, 陈哲, 肖书海, 等. 蓝田生物群: 一个认识多细胞生物起源和早期演化的新窗口 [J]. *科学通报*,2012,55(34):3219.

[3] 余建斌. 我们的科技一直在追赶: 访中国工程院院长周济 [N/OL]. *人民日报*,2013-01-12(2). [2013-03-20]. http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb_20130112_5-02.htm.

本刊编辑部