

# 自身免疫性肝炎患者抗中性粒细胞胞质抗体谱的检测

黄新辉, 张玉红, 谭立明, 邹小健, 陈娟娟, 李 华, 王外梅

## ■背景资料

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种由自身免疫介导的慢性炎症, 自身抗体的检测是当下临床诊断AIH的重要手段, 但是往往无理想的高敏感性及高特异性抗体, 抗中性粒细胞胞质抗体谱(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)是由专门针对中性粒细胞或单核细胞浆靶抗原的一组异质性抗体组成的抗体谱, 探讨联合检测ANCAs对诊断AIH的临床意义。

黄新辉, 邹小健, 江西省丰城市人民医院 江西省丰城市 331100

张玉红, 南昌大学第二临床学院 江西省南昌市 330006

谭立明, 陈娟娟, 李华, 王外梅, 南昌大学第二附属医院检验科 江西省南昌市 330006

黄新辉, 主管技师, 主要从事临床免疫检验的相关研究。

南昌市科技局基金资助项目, No. 2011-ZCSF-YLWSYRKJK-066

作者贡献分布: 研究经费、实验设计、实验质量控制及论文修改由谭立明负责; 黄新辉与张玉红负责实验研究与论文撰写; 邹小健、陈娟娟、李华及王外梅参与实验研究。

通讯作者: 谭立明, 主任技师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院检验科. yuuje@126.com

电话: 0791-82867799

收稿日期: 2013-05-08 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

## Clinical significance of detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with autoimmune hepatitis

Xin-Hui Huang, Yu-Hong Zhang, Li-Ming Tan,  
Xiao-Jian Zou, Juan-Juan Chen, Hua Li, Wai-Mei Wang

Xin-Hui Huang, Xiao-Jian Zou, People's Hospital of  
Fengcheng City, Fengcheng 331100, Jiangxi Province,  
China

Yu-Hong Zhang, Second Clinical Medical College of  
Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province,  
China

Li-Ming Tan, Juan-Juan Chen, Hua Li, Wai-Mei Wang,  
Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital  
of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi  
Province, China

Supported by: Nanchang Technology Foundation, No.  
2011-ZCSF-YLWSYRKJK-066

Correspondence to: Li-Ming Tan, Chief Technician, Department  
of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital  
of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006,  
Jiangxi Province, China. yuuje@126.com

Received: 2013-05-08 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

## Abstract

**AIM:** To explore the significance of detection of anti-myeloperoxidase antibody (ANCAs) in the diagnosis of autoimmune hepatitis (AIH).

**METHODS:** In total, 48 AIH patients, 190 non-AIH patients and 50 healthy volunteers were

included in this retrospective study. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect anti-RP3, anti-MPO and ALA, while indirect immunofluorescence (IIF) was employed to detect ANCAs.

**RESULTS:** The positive rates of ANCA, p-ANCA, x-ANCA and ALA in the AIH group had significant differences compared with the non-AIH group (except for PSC). The positive rate of anti-MPO was significantly higher in the AIH group than in the non-AIH group ( $P < 0.01$ ). Of all specimens in the AIH group, only 1 was positive for c-ANCA and PR3 simultaneously. There was a good correlation between anti-MPO and ANCA, between anti-MPO and p-ANCA, and between ALA and x-ANCA in the AIH group. The kappa values of anti-MPO and ANCA as well as anti-MPO and p-ANCA were 0.819 and 0.875, respectively, showing excellent agreement.

**CONCLUSION:** Combined detection of ANCAs is helpful for the diagnosis of AIH and AIH subtypes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Autoimmune hepatitis; Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies; Anti-lactoferrin antibody; Anti-proteinase 3 antibody; Anti-myeloperoxidase antibody

Huang XH, Zhang YH, Tan LM, Zou XJ, Chen JJ, Li H, Wang WM. Clinical significance of detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with autoimmune hepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2440-2445 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2440.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2440>

## 摘要

**目的:** 探讨抗中性粒细胞胞质抗体谱(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCAs)检测在自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)患者的临床诊断价值, 为AIH的相关研究提供临床依据。

## ■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院  
消化内科

**方法:** 对南昌大学第二附属医院2008-07/2012-03符合纳入标准的48例AIH、190例非-AIH患者及50例健康体检者采用ELISA法检测抗乳铁蛋白抗体(anti-lactoferrin antibody, ALA)、抗蛋白酶3抗体(抗-PR3)和抗髓过氧化物酶抗体(抗-MPO), 免疫荧光法检测ANCAs, 回顾性分析检测结果。

**结果:** (1)AIH组ANCA、p-ANCA、x-ANCA及ALA阳性率与非-AIH各组(PSC除外)比较有统计学意义, 抗-MPO阳性率为54.2%, 与非AIH各组比较均有 $P < 0.01$ ; (2)所有标本中仅AIH组有1例同时c-ANCA、抗-PR3阳性, 虽对诊断AIH特异性高但无临床价值; (3)配对 $\chi^2$ 检测, 抗-MPO与ANCA、p-ANCA, ALA与x-ANCA对AIH的诊断无统计学意义; 一致性分析, 抗-MPO与ANCA、p-ANCA  $\kappa$ 值为0.819、0.875, 一致性极好。

**结论:** ANCAs抗体间存在一定的相关性, 联合检测可提高AIH的诊断率, 对AIH患者的临床鉴别、诊断有重要意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 自身免疫性肝炎; 抗中性粒细胞胞质抗体谱; 抗乳铁蛋白抗体; 抗蛋白酶3抗体; 抗髓过氧化物酶抗体

**核心提示:** 抗-MPO与抗中性粒细胞胞质抗体谱(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCAs)、p-ANCA抗体间极度相关性, 存在共同影响自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)的可能, 联合检测ANCAs可提高AIH的诊断率, 采用正确的串并联检测方式对AIH的临床诊断及鉴别诊断有重要价值。

黄新辉, 张玉红, 谭立明, 邹小健, 陈娟娟, 李华, 王外梅. 自身免疫性肝炎患者抗中性粒细胞胞质抗体谱的检测. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2440-2445 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2440.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2440>

## 0 引言

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种由自身免疫介导的损伤肝脏的慢性炎症, 严重影响患者的生活质量, 且常伴有其他自身免疫性疾病较难辨别, 如不及早确诊接受正确治疗发展为肝硬化后果严重<sup>[1]</sup>。相关自身抗体阳性是AIH的主要表现之一, 自身抗体的检测是当下临床诊断自身免疫性疾病的重要手段, 但是

往往不理想的高敏感性及高特异性抗体, 联合检测自身抗体谱可提高诊断率, 本研究采用免疫荧光法和ELISA法检测南昌大学第二附属医院符合纳入标准的48例AIH及190例非AIH患者及50例健康体检者血清中抗中性粒细胞胞质抗体谱(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCAs), 总结并回顾性分析检测结果, 探讨其对AIH的临床诊断价值, 现将研究结果报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 48例AIH及190例非AIH患者来自2008-07/2012-03在南昌大学第二附属医院门诊、住院确诊病例。48例AIH患者中男6例、女42例, 13-68岁, 平均40岁。190例非AIH分别为原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)53例, 男8例、女45例, 22-68岁, 平均45岁; 原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)26例, 男17例、女9例, 21-65岁, 平均40岁; 乙型肝炎(hepatitis B, HB)65例, 男28例、女45例, 18-60岁, 平均35岁; 丙型肝炎(hepatitis C, HC)46例, 男21例、女25例, 20-60岁, 平均42岁。对照组50例均为南昌大学第二附属医院体检中心健康体检者, 男20例、女30例, 23-59岁, 平均38岁。所有入选者自愿参与并签署知情同意书。诊断依据: (1)自身免疫性肝病参考2010年美国肝病学会最新诊疗指南<sup>[2]</sup>; (2)病毒性肝炎参考中华卫生部2008年更新的病毒性肝炎诊断指南<sup>[3]</sup>。纳入标准: 符合所有条件者予以纳入: (1)知情并自愿参与研究; (2)符合诊断标准且有完整临床资料或肝组织学病理资料; (3)对所有自愿参与患者的资料重新评估, 否定合并血色病、抗胰蛋白酶缺乏症、Wilson病等其他遗传性肝损疾病及其他获得性肝脏疾病, 否定合并痛风、糖尿病、苯丙酮尿症; (4)发病前大量饮酒史, 无明确服用肝毒性药物史, 无恶性肿瘤史, 无酒精性肝病等其他肝脏疾病史。排除标准: 以下情况者予以剔除: (1)妊娠或哺乳期妇女、失代偿期肝硬化患者; (2)不符合纳入标准。

## 1.2 方法

**1.2.1 标本的采集:** 采集空腹静脉不抗凝血2.0-3.0 mL, 1000 g离心15 min分离血清, -20 °C冷冻待检, 避免反复冻融。

**1.2.2 间接免疫荧光法:** 检测ANCAs, 包括核周型抗中性粒细胞胞质抗体(perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies, p-ANCA)、胞质型抗中性粒细胞胞质抗体(cytoplasmic antineutrophil

## ■ 研发前沿

本研究采用ELISA法检测ALA、抗-PR3和抗-MPO, 免疫荧光法检测ANCAs, 回顾性分析检测结果, 分析自身抗体在AIH患者的临床诊断价值及抗体间的相关性以及联合检测对提高AIH诊断率的价值。

## ■ 相关报道

Deniziaut报道 ANCA是由专门针对中性粒细胞或单核细胞浆靶抗原的一组异质性抗体组成的抗体谱;谭立明等研究发现抗-MPO与AIH存在密切关系;Mahler等发现大量中性粒细胞颗粒蛋白如乳铁蛋白在AIH、PSC不同程度的表现为阳性,RP3、MPO被认为是ANCA的靶抗原。

表 1 自身免疫性肝炎及非自身免疫性肝炎患者自身抗体检测结果  $n(\%)$ 

分组	$n$	抗中性粒细胞胞质抗体	核周型抗中性粒细胞胞质抗体	胞质型抗中性粒细胞胞质抗体	不典型抗中性粒细胞胞质抗体	抗髓过氧化物酶抗体	抗蛋白酶3抗体	抗乳铁蛋白抗体
自身免疫性肝炎	48	31(64.6)	25(52.1)	1(2.1)	10(20.8)	26(54.2)	1(2.1)	9(18.8)
非-自身免疫性肝炎	190	18(9.47) <sup>bc</sup>	15(7.89) <sup>bc</sup>	0(0.0)	5(2.63) <sup>b</sup>	7(3.68) <sup>b</sup>	0(0.0)	1(0.53) <sup>b</sup>
原发性胆汁性肝硬化	53	4(7.5)	3(5.7)	0(0.0)	3(5.7) <sup>a</sup>	4(7.5)	0(0.0)	0(0.0)
原发性硬化性胆管炎	26	13(50)	12(46.2)	0(0.0)	2(7.7)	3(11.5)	0(0.0)	1(3.8)
乙型肝炎	65	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
丙型肝炎	46	1(2.2)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
对照组	50	0(0.0) <sup>b</sup>	0(0.0) <sup>b</sup>	0(0.0)	0(0.0) <sup>b</sup>	0(0.0) <sup>b</sup>	0(0.0)	0(0.0) <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P<0.01$  vs 自身免疫性肝炎; <sup>b</sup> $P<0.05$  vs 自身免疫性肝炎; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 对照组。

cytoplasmic antibody, c-ANCA)、不典型抗中性粒细胞胞质抗体(atypical antineutrophil cytoplasmic antibody, x-ANCA)。试剂盒由德国欧蒙公司生产, ANCA采用在生物薄片马赛克上覆有中性粒细胞(乙醇或甲醛固定)和Hep-2细胞和猴肝4种基质的复合片, 4℃保存备用。操作严格按照试剂说明及本室作业指导书进行。

1.2.3 ELISA法: 检测抗乳铁蛋白抗体(anti-lactoferrin antibody, ALA)、抗蛋白酶3抗体(anti-proteinase 3 antibody, 抗-PR3)、抗髓过氧化物酶抗体(anti-myeloperoxidase antibody, 抗-MPO), 试剂由德国欧蒙公司生产。将样品稀释, 按加样方案向相应微孔中分别加稀释血清、阴性、阳性对照和空白对照各100 μL, 室温温育30 min, 洗板3次, 加酶标抗体100 μL再室温温育30 min, 同前洗板3次, 加底物显色, 5 min后加终止液, 用450 nm波长比色, 计算结果。

1.2.4 评价指标: 根据经金标准确诊的患者体内抗体检测结果计算自身抗体的临床评价指标: 敏感性、特异性、准确性、阳性似然比、阴性似然比和约登指数均严格, 准确性>0.75、约登指数>0.5具有临床价值。串联试验, 联合灵敏度 = A灵敏度×B灵敏度, 联合特异度 = A特异度 + [(1-A特异度)×B特异度]; 并联试验, 联合灵敏度 = A灵敏度 + [(1-A灵敏度)×B灵敏度], 联合特异度 = A特异度×B特异度。

**统计学处理** 统计分析应用SPSS16.0软件, 计数资料以例数(百分比)描述。组间单因素分析采用 $\chi^2$ 检验, 抗体间优势分析采用配对 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 有显著性统计学意义,  $P<0.01$ 有非常显著性统计学意义。抗体间一致性分析计算 $\kappa$ 值,  $P<0.01$ 时, 0.4-0.6为中度一致, 0.6-0.8为高度一

致, >0.8一致性极好,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 48例AIH及190例非AIH及50例健康体检者ANCA的抗体检测 结果AIH检测ANCA、p-ANCA、c-ANCA、x-ANCA、抗-MPO、抗-PR3及ALA结果显示其阳性率分别为64.6%、52.1%、2.1%、20.8%、54.2%, 2.1%、18.8%, 分别与非AIH组及对照组进行组间比较, 除x-ANCA外( $P<0.05$ ), 均 $P<0.01$ , 差异有非常显著性意义(表1)。

2.2 AIH患者自身抗体检测的各项临床评价指标结果 AIH相关自身抗体检测中的敏感性、特异性、准确性、阴性似然比、阴性似然比及约登指数最高分别为ANCA为64.58%、抗-PR3为100%、抗-MPO为89.93%、ALA为45%、抗-PR3和c-ANCA均为0.98%及ANCA为0.57%(表2)。

2.3 AIH组抗体间优势分析( $p$ )和一致性分析( $\kappa$ ) 配对 $\chi^2$ 检测, 抗-MPO与ANCA、p-ANCA, ALA与x-ANCA对AIH的诊断无统计学意义; 一致性分析, 抗-MPO与ANCA、p-ANCA  $\kappa$ 值为0.819、0.875, 一致性极好(表3)。

2.4 AIH自身抗体串、并联实验组的临床评价指标 单独检测约登指数无临床意义, A组: 抗-MPO和ANCA串联; B组: 抗-MPO和p-ANCA串联; C组: ALA和x-ANCA并联; D组: A和C并联; E组: B和C并联。联合检测约登指数有临床意义(>0.5), 提高了AIH的诊断率(表4)。

## 3 讨论

AIH是一种自身免疫性慢性肝炎, 发病原因可能



表 2 在自身免疫性肝炎中各项指标评价结果

分组	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)	阴性似然比	阳性似然比	约登指数
抗中性粒细胞胞质抗体	64.58	92.50	87.85	8.61	0.38	0.57
核周型抗中性粒细胞胞质抗体	52.08	93.75	86.81	8.33	0.51	0.46
胞质型抗中性粒细胞胞质抗体	2.13	100	83.68	—	0.98	0.02
不典型抗中性粒细胞胞质抗体	20.83	97.92	85.07	10	0.16	0.19
抗髓过氧化物酶抗体	54.17	97.08	89.93	18.57	0.47	0.51
抗蛋白酶3抗体	2.13	100	83.68	—	0.98	0.02
抗乳铁蛋白抗体	18.75	99.58	86.11	45	0.82	0.18

# ■创新盘点

本研究用ELISA法检测ALA、抗-PR3和抗-MPO,免疫荧光法检测ANCAs,分析抗体间、抗体与AIH间相关性,抗体检测诊断AIH的一致性,采用串并联方式联合检测以提高AIH的诊断率。

表 3 AIH组抗体间优势分析P和一致性分析κ值

分组	抗中性粒细胞胞质抗体和抗髓过氧化物酶抗体	抗中性粒细胞胞质抗体和核周型抗中性粒细胞胞质抗体	抗髓过氧化物酶抗体和核周型抗中性粒细胞胞质抗体	抗乳铁蛋白抗体和不典型抗中性粒细胞胞质抗体	抗乳铁蛋白抗体和抗髓过氧化物酶抗体	抗乳铁蛋白抗体和抗中性粒细胞胞质抗体	抗乳铁蛋白抗体和核周型抗中性粒细胞胞质抗体
P值	0.062	0.031	1	1	0.002	0.000	0.004
κ值	0.819 <sup>b</sup>	0.747 <sup>b</sup>	0.875 <sup>b</sup>	0.672 <sup>b</sup>	0.036	0.225 <sup>a</sup>	-0.137

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 抗乳铁蛋白抗体和抗髓过氧化物酶抗体。

表 4 串、并联实验组临床评价指标

分组	A组	B组	C组	D组	E组
敏感性(%)	34.98	28.21	35.67	58.17	53.81
特异性(%)	99.78	99.81	97.51	97.30	97.32
约登指数	0.35	0.28	0.3318	0.55	0.51

A: 抗-MPO和ANCA串联; B: 抗-MPO和p-ANCA串联; C: ALA和x-ANCA并联; D: A和C并联; E: B和C并联。

与体内免疫微环境的平衡紊乱和免疫遗传背景及环境因素刺激引起的免疫耐受缺陷有关<sup>[4]</sup>,主要血清学和免疫学特征表现为γ-球蛋白或IgG升高、氨基转移酶增高、自身抗体阳性,组织学病理特点为汇管区浆细胞或白细胞浸润、界面性肝炎、桥接坏死及慢性纤维化,急性加重期或急性发病时出现明显的小叶中心带坏死<sup>[5]</sup>。AIH多见于中年女性,男女比例约为1.0:3.6,无明显特异性症状且缺乏特异性及高敏感性诊断指标,导致AIH诊断困难,若不及时治疗发展至肝功能失代偿性肝硬化,6 mo病死率高达40%,此时肝移植是唯一有效的办法,所以及早确诊对AIH患者的预后极为重要,临床常结合患者血清学检测结果、临床表现及肝组织病理表现综合考虑甚至做排除性诊断,随着免疫学检验技术的不断提高,可采用联合检测自身抗体的方法提高疾病的诊断率。

ANCAs是由专门针对中性粒细胞或单核细胞浆靶抗原的一组异质性抗体组成的抗体谱<sup>[6]</sup>,其免疫荧光染色型包括核周型p-ANCA、胞质型c-ANCA、非典型x-ANCA等,其中p-ANCA常出现在AIH和PSC患者血清中,PBC较少见,与中性粒细胞核膜蛋白相结合,常用于PSC、AIH重新分型或一些不明原因的慢性肝脏疾病的检测。髓过氧化物酶(myeloperoxidase deficiency, MPO)是中性粒细胞功能与活化的标志,也是p-ANCA的主要靶抗原之一,MPO被p-ANCA结合后功能受到抑制,体内免疫系统出现异常,血清中抗髓过氧化物酶抗体(抗-MPO)必然发生变化,p-ANCA染色主要是MPO的作用结果,核外周具有广泛的、不均匀的多个荧光病灶。p-ANCA阳性可表现在AIH与PSC重叠综合征患者中,在小孩体内更为明显,据报道<sup>[6]</sup>在I-AIH中检测p-ANCA阳性率为37%-96%,可能与研究者及研究对象的不同有关,然而其是否与预后相关仍未得到证实。胞质型c-ANCA主要靶抗原是一种叫蛋白酶3(proteinase 3, PR3)的中性丝氨酸蛋白酶,是中性粒细胞嗜天青颗粒的主要成分,大量中性粒细胞颗粒蛋白(MPO、PR3除外),比如乳铁蛋白,这些抗原在AIH、PSC等患者体内不同程度的表现为阳性,敏感性为17%-60%,RP3、MPO被认为是ANCAs的靶抗原<sup>[7,8]</sup>,本试验检测所有标本中仅AIH组有1例且同时抗-PR3、c-ANCA抗体

### ■应用要点

临床常结合患者血清学检测结果、临床表现及肝组织病理表现综合考虑甚至做排除性诊断,但是常伴有其他自身免疫性疾病较难辨别,往往无理想的高敏感性及高特异性抗体,随着免疫学检验技术的不断提高,可采用联合检测自身抗体的方法提高疾病的诊断率。

阳性,虽对诊断AIH特异性高达100%,但敏感性极低,有效性无临床价值,对诊断AIH无意义。研究<sup>[9]</sup>发现抗-MPO与AIH存在密切关系。作者对48例AIH、190例非AIH患者及50例健康体检者联合检测ANCAs,综合分析发现,其对AIH和其他肝脏疾病的明确诊断及临床鉴别有重要价值。

我们检测AIH组ANCA、p-ANCA阳性率为64.6%(31/48)、52.1%(25/48),与报道<sup>[10-12]</sup>一致,与PBC及病毒性肝炎比较,经 $\chi^2$ 检验均为 $P<0.01$ ,有非常显著性统计学意义,ANCA对AIH的敏感性最高为64.58%,准确性87.85%,约登指数为0.57, p-ANCA对AIH的敏感性最高为52.08%,准确性86.81%,有临床价值,但是PSC组检测ANCA、p-ANCA阳性率为50%、46.2%,经 $\chi^2$ 检验,与AIH组比较均无统计学意义。AIH组抗-MPO阳性率为54.2%(26/48),PBC及PSC组阳性率为7.5%(4/53)、11.5%(3/26),经 $\chi^2$ 检验 $P<0.01$ ,均有非常显著性统计学意义,抗-MPO对AIH的敏感性高达54.17%,特异性高达97.08%,准确性最高89.93%,约登指数为0.51有临床意义,本研究表明检测抗-MPO对AIH的临床诊断、与其他肝脏疾病相鉴别及AIH发病机制的相关研究存在重要价值,特别是对AIH和PSC的鉴别有重要意义。AIH组抗体间优势分析,经配对 $\chi^2$ 检验,抗-MPO与ANCA、p-ANCA间 $P>0.05$ ,可见ANCA、p-ANCA两者与抗-MPO对AIH的诊断无统计学意义;ANCAs抗体间一致性分析,抗-MPO与ANCA、p-ANCA的 $\kappa$ 值为0.819( $P<0.01$ )、0.875( $P<0.01$ ),一致性极好,ANCA与p-ANCA的 $\kappa$ 值为0.747( $P<0.01$ ),属于高度一致,经统计分析抗-MPO、ANCA、p-ANCA三者在AIH患者体内存在互相联系甚至相互影响,为进一步研究AIH的发病机制提供了临床依据。

AIH组检测ALA阳性率为18.8%,非-AIH组各组(PSC除外)均为阴性,经 $\chi^2$ 检验 $P<0.01$ ,均有非常显著性统计学意义,且PSC组仅发现1例阳性,ALA对AIH的特异性最高为99.58%,虽然敏感性仅为18.75%,但准确性高达86.11%,有临床价值,显然ALA对AIH有高特异性,对AIH的鉴别诊断有重要价值。AIH组检测x-ANCA阳性率为20.8%,PBC组阳性率为5.7%,经 $\chi^2$ 检验 $P<0.05$ ,有显著性统计学意义,但PSC组与AIH组比较 $P>0.05$ ,x-ANCA对AIH的特异性高达97.08%,准确性为85.07%,亦有临床意义。AIH组抗体间优势分析,配对 $\chi^2$ 检验,ALA与x-ANCA有 $P>0.05$ ,对AIH的诊断无统计学意义,且两者一致性分析

$\kappa$ 值为0.672( $P<0.01$ ),属于高度一致,研究表明乳铁蛋白是中性粒细胞的一种颗粒蛋白,通过本研究可能这种颗粒蛋白与x-ANCA在患者体内有相互联系,对AIH影响的具体机制尚待研究。经配对 $\chi^2$ 检验,ALA与抗-MPO、ANCA、p-ANCA均有 $P<0.01$ ,对AIH的诊断有非常显著性统计学意义,且基本无一致性,可见虽然三者分别对AIH都较显著的敏感性或特异性,但抗体间无相关性,对AIH的影响可能不存在相互作用<sup>[13-15]</sup>,具体机制有待进一步研究。

肝组织的免疫损伤是病毒性肝炎的主要发病机制,研究<sup>[9]</sup>发现病毒性肝炎可引起自身免疫紊乱导致机体免疫机制损伤,感染病毒性肝炎后可诱发自身免疫性肝病,病毒性肝炎患者体内可检测到多种自身抗体阳性,导致难以鉴别自身免疫性肝病和病毒性肝炎以及两者合并的患者。我们通过研究发现,AIH组检测ANCA、p-ANCA、x-ANCA、抗-MPO、ALA阳性率分别为64.6%、52.1%、20.8%、54.2%、18.8%,与病毒性肝炎相比,经 $\chi^2$ 检验 $P<0.01$ ,均有非常显著性统计学意义,且病毒性肝炎中仅发现1例HCV患者ANCA阳性,ANCAs其余抗体均为阴性,显然检测ANCAs对鉴别诊断自身免疫性肝病和病毒性肝炎及两者重叠综合征有重要意义。在疾病的演变及治疗过程中,血清中多样性及多变性的相关自身抗体含量有所波动,所以绝对的、单一的抗体检测结果不能作为AIH的诊断指标。我们通过采用联合检测患者血清中ANCAs,并试图采用串、并联的方法提高AIH的诊断率,经统计分析抗-MPO、ANCA及p-ANCA三者在AIH高度一致,且三者在AIH中阳性率相对较高,ALA与x-ANCA高度一致,观察检测结果ANCAs中唯有抗-MPO对AIH与PSC有统计学意义,串联检测抗-MPO、ANCA或串联检测抗-MPO、p-ANCA(都为阳性是才判为阳性),ALA、x-ANCA对AIH的特异性较高,并联检测ALA、x-ANCA(任何一个为阳性就判为阳性),再将两结果并联可提高抗体检测对诊断AIH的敏感性和特异性。通过实验作者认识到,单独检测ANCAs中的抗体,仅抗-MPO、ANCA约登指数大于0.5,且抗-MPO、ANCA相关性高度一致,敏感性分别为54.17%、64.58%,单独检测对AIH有意义并不大,抗-MPO阳性率在AIH与非AIH都有非常显著性统计学意义,将抗-MPO与ANCA或p-ANCA串联后再与ALA、x-ANCA并联,结果令人欣慰,敏感性为58.17%、53.81%,

敏感性为97.30%、97.32%, 通过这种综合考虑 ANCA的方法将诊断AIH的约登指数提高到了0.5以上, 具有临床价值。

ANCAs抗体间存在一定相关性, 存在共同影响AIH的可能, 具体机制尚待进一步探究, 联合检测ANCAs可提高AIH的诊断率, 采用正确的串并联检测方式对AIH的临床鉴别及诊断有重要价值。

#### 4 参考文献

- 1 Gugenheim J, Castaing D, Bismuth H. [Liver transplantation. Technical aspects]. *Soins Chir* 1987; (78-79): 17-19 [PMID: 3321327 DOI: 10.5812/hepatmon.808]
- 2 Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010; 51: 2193-2213 [PMID: 20513004 DOI: 10.1002/hep.23584]
- 3 The People's Republic of China Ministry of Health (WS299-2008) in diagnosis of infectious diseases in standard. Beijing: Standards Press of China, 2008: 298-301
- 4 Mackay IR. Autoimmune hepatitis: what must be said. *Exp Mol Pathol* 2012; 93: 350-353 [PMID: 23174606 DOI: 10.1016/j.yexmp.2012.11.001]
- 5 Vergani D, Mieli-Vergani G. Cutting edge issues in autoimmune hepatitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42: 309-321 [PMID: 21207191 DOI: 10.1007/s12016-010-8236-9]
- 6 Deniziaut G, Ballot E, Johanet C. Antineutrophil cytoplasmic auto-antibodies (ANCA) in autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 105-107 [PMID: 22998811 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.07.008]
- 7 Lochman I, Král V, Lochmanová A, Lupač J, Cebecauer L. ANCA in the diagnosis of neutrophil-mediated inflammation. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 295-298 [PMID: 21094701 DOI: 10.1016/j.autrev.2010.11.003]
- 8 Mahler M, Radice A, Yang W, Bentow C, Seaman A, Bianchi L, Sinico RA. Development and performance evaluation of novel chemiluminescence assays for detection of anti-PR3 and anti-MPO antibodies. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 719-726 [PMID: 22265712 DOI: 10.1016/j.cca.2012.01.004]
- 9 谭立明, 彭卫华, 董叶, 李华, 刘宁, 蔡莉莉, 章白苓, 王园园. 抗髓过氧化物酶抗体检测对诊断自身免疫性肝炎的临床意义. *免疫学杂志* 2009; 25: 697-700, 704
- 10 王爱莉. 92例自身免疫性肝炎患者自身抗体测定的结果分析. *国际检验医学杂志* 2011; 32: 1240-1241
- 11 Iguchi A, Wada Y, Kobayashi D, Sato H, Oyama T, Nakatsue T, Murakami S, Kuroda T, Nakano M, Narita I. A case of MPO- and PR3-ANCA-positive hypertrophic cranial pachymeningitis with elevated serum IgG4. *Mod Rheumatol* 2013; 23: 151-155 [PMID: 22350578 DOI: 10.1007/s10165-012-0613-1]
- 12 Radice A, Bianchi L, Sinico RA. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies: methodological aspects and clinical significance in systemic vasculitis. *Autoimmun Rev* 2013; 12: 487-495 [PMID: 22921790 DOI: 10.1016/j.autrev.2012.08.008]
- 13 Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmune manifestations in viral hepatitis. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 73-85 [PMID: 23010889 DOI: 10.1007/s00281-012-0328-6]
- 14 Hervier B, Hamidou M, Haroche J, Durant C, Mathian A, Amoura Z. Systemic lupus erythematosus associated with ANCA-associated vasculitis: an overlapping syndrome? *Rheumatol Int* 2012; 32: 3285-3290 [PMID: 21805174 DOI: 10.1007/s00296-011-2055-z]
- 15 Tanaka A, Tsujimoto I, Ito Y, Sugiura Y, Ujihira N, Sezaki R. Temporal artery involvement in microscopic polyangitis. *Intern Med* 2011; 50: 1033-1037 [PMID: 21532228]

#### ■同行评价

本文选题结合临床, 设计合理, 可读性和科学性较好, 研究结果具有一定的学术意义和临床参考价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利

