

乙肝患者 HBV 载量与 IgA, IgG, IgM 及 C3, C4 相关性研究*

何涛君, 吴正林, 钟小强, 聂署萍, 陆学东 (广东医学院附属福田医院检验医学部, 广东深圳 518033)

摘要:目的 旨在探讨深圳市乙肝患者 HBV-DNA 与免疫球蛋白(IgA, IgG, IgM)和补体(C3, C4)的关系。方法 首先采用实时荧光定量 PCR 技术检测 210 例乙肝患者的 HBV-DNA, 按检测结果 10^n copies/ml 进行分组, 可分为 $10^2 \sim 10^8$ copies/ml 7 组实验组。然后对 7 组实验组和对照组同时进行 IgA, IgG, IgM 及 C3, C4 检测, 分析乙肝患者 HBV-DNA 与 IgA, IgG, IgM 及 C3, C4 的相关性。结果 乙肝患者 HBV-DNA 为 $10^5 \sim 10^8$ copies/ml 时, 均出现了 IgA, IgG, IgM 的增高($U=12.43, 10.96, 6.42, P<0.01$)及 C3, C4 的降低($U=8.37, 6.0, P<0.01$), 而在 $10^2 \sim 10^4$ copies/ml 只出现 IgA 和 IgM 的增高($U=2.36, 2.04, P<0.05$), 其他指标差异均无统计学意义。在 7 组实验组的两两比较中, 只有 10^4 组与 10^5 组出现了显著性的变化(IgA, IgM 增高, C4 降低; $U=2.39, 2.46, 2.09, P<0.05$, IgG 增高, $U=3.25, P<0.01$), 而其他低载毒量组之间和高载毒量组之间均无显著性差异。结论 乙肝患者体内不同的 HBV 载量会引起 IgA, IgG, IgM 及 C3, C4 相应的改变, 特别是当 HBV 载量为 $10^5 \sim 10^8$ copies/ml 的 4 个实验组, 伴随着 HBV-DNA 的增高均出现 IgA, IgG, IgM 增高及 C3, C4 降低, 严重的影响了机体免疫功能, 两者呈正相关($r=0.967, P<0.01$)。 10^4 组与 10^5 组各指标出现显著性改变, 提示对乙肝患者的抗病毒护肝治疗中, 要尽量将 HBV 载量控制在 10^4 copies/ml 以下, 才能达到最小程度损伤免疫功能的疗效。

关键词:乙型肝炎; HBV 载量; IgA; IgG; IgM; 补体 C3, C4

中图分类号: R512.62; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)04-067-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.04.018

Study on the Relationship between Patients with Hepatitis B Viral Loads and Immunoglobulin A, G, M and Complement C3, C4

HE Tao-jun, WU Zheng-lin, ZHONG Xiao-qiang, NIE Shu-ping, LU Xue-dong

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Futian Hospital
of Medical College of Guangdong, Guangdong Shenzhen 518033, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between Hepatitis B patients with different viral loads and immunoglobulin A, G, M and complement C3, C4. **Methods** Firstly, followed by real-time fluorescence quantitative PCR detection 210 cases of hepatitis B patients with HBV-DNA levels, according to 10^n copies/ml different viral load detection results, it was divided into $10^2 \sim 10^8$ copies/ml of the experimental groups. Then the experimental groups and control group were simultaneously detected in immunoglobulin A, G, M and complement C3, C4. Analysed the correlation between HBV loads and immunoglobulin A, G, M and complement C3, C4. **Results** When the viral loads of hepatitis B patients were $10^5 \sim 10^8$ copies/ml, the testing results of IgA, IgG and IgM were both increasing ($U=12.43, 10.96, 6.42, P<0.01$), while C3 and C4 were both decreasing ($U=8.37, 6.0, P<0.01$). When the viral loads of hepatitis B patients were $10^2 \sim 10^4$ copies/ml, only IgA and IgM were increasing ($U=2.36, 2.04, P<0.05$), the other testing results had no statistical significance. Between the test of 7 experimental groups compared with each other, only 10^4 group and 10^5 group had significantly changed (IgA and IgM were increasing, C4 was decreasing, $U=2.39, 2.46, 2.09, P<0.05$, IgG was increasing, $U=3.25, P<0.01$), but between other low viral loads or high viral loads were not significantly differences. **Conclusion** The different viral loads of hepatitis B patients could cause the different changes of immunoglobulin A, G, M and complement C3, C4, especially in the 4 groups from 10^5 to 10^8 copies/ml. Followed by increasing in viral loads, there were immunoglobulin A, G, M increasing and complement C3, C4 decreasing, and also serious impact on the immune function of organism. There was a positive correlation between viral loads in vivo and immune damages, correlation coefficient ($\gamma=0.967, P<0.01$). When the viral loads from 10^4 to 10^5 copies/ml, the testing results had changed significantly. It suggest that should control viral loads under 10^4 copies/ml in the hepatitis B antiviral treatment, so the effect of immune function damage will be the minimum.

Keywords: hepatitis B; HBV loads; IgA; IgG; IgM; complement C3, C4

乙型肝炎是一种具有较强传染性, 且较难治愈的疾病, 其发病机制及病情进展与免疫功能调节紊乱有关, 免疫功能紊乱才是其主要的发病机制。目前用于评估 HBV 复制的指标主要是 HBV-DNA

* 基金项目: 2014 年深圳市福田区卫生公益性科研项目(FTWS2014006)。

作者简介: 何涛君(1981—), 女, 硕士, 副主任检验师, 主要从事生化及免疫检验工作, Tel: 15986686103, E-mail: hetaojun2005@126.com。

和 HBeAg,但经过系统治疗后 HBeAg 也可转阴,就只有 HBV-DNA 可反映乙肝病毒在体内的复制情况。因此对 HBV-DNA 的监测可了解乙肝患者的传染性,是保护乙肝患者及改善其预后的关键^[1~3]。本研究旨在通过对乙肝患者体内不同的 HBV-DNA 水平与 IgA, IgG, IgM 及补体 C3, C4 的关系,进一步探讨病毒感染后包括体液免疫和补体在内的机体免疫功能的紊乱,了解到 HBV-DNA 对机体免疫系统的影响。如何进行有效的提高患者的肝细胞的免疫能力,将成为临床医生所关注的重要问题^[4,5]。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2013 年 6 月~2014 年 6 月深圳市福田医院收治的慢性乙型肝炎患者 210 例,所有患者均符合中华医学会传染病与寄生虫分会、肝病学会在 2000 年制定的《慢性乙型肝炎防治方案》中的诊断标准。其中男性 124 例,女性 86 例;年龄 14~68 岁,平均年龄 33.5 ± 8.8 岁,以 HBV-DNA 检测患者体内的 HBV 载量 $10^2 \sim 10^8$,依次分为 7 组作为实验组;同时选择健康体检人员 60 例作为对照组,其中男性 36 例,女性 24 例,年龄 16~68 岁,平均年龄 45.4 ± 7.2 岁。所有患者除乙型肝炎外无心肺和肾脏功能异常,体检人群心肺肝肾功能均正常,为健康人群,且所有受试人员近期均无抗菌药物和免疫调节剂的服用史。试验组和对照组人员的年龄、性别等一般资料的差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 试剂及仪器 乙肝 HBV-DNA 检测所用试剂盒购自深圳匹基生物工程有限公司,ROTOR GENE 全自动荧光定量 PCR 分析仪由 Corbett

Research 公司制造,免疫球蛋白及补体检测试剂购自 Beckman 公司,仪器为 Beckman 公司的 IMMAGE800。所有试剂均在有效期内使用,并严格按照试剂说明书操作。

1.3 方法 所有受试人员于清晨空腹采集静脉血 5 ml 并分离血清进行相关指标的检测,无溶血现象。HBV-DNA 采用实时荧光定量 PCR 法检测,免疫球蛋白(IgG, IgA, IgM)及补体(C3, C4)测定采用免疫散射比浊法。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件,统计结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$),大样本计量资料表示采用 U 检验,检查水准 $\alpha=0.05$ 。若 $P<0.05$ 表明差异具有统计学意义, $P<0.01$ 则差异具有统计学显著性意义。同时,对乙肝病毒载量为 $10^5 \sim 10^8$ copies/ml 的 HBV-DNA 检测值与免疫球蛋白、补体检测结果之间进行相关性研究。

2 结果

2.1 乙肝患者体内不同的 HBV 载量与对照组之间 IgA, IgG, IgM 及补体 C3, C4 的检测结果 见表 1。乙肝患者的 DNA 水平为 $10^5 \sim 10^8$ copies/ml 时,均出现了 IgA, IgG 和 IgM 的增高($U=12.43, 10.96, 6.42, P<0.01$), C3 和 C4 的降低($U=8.37, 6.0, P<0.01$),而在 $10^2 \sim 10^4$ copies/ml 只出现 IgA 和 IgM 的增高($U=2.36, 2.04, P<0.05$),其他指标差异均无统计学意义。在 7 组实验组的两两比较中,只有 10^4 组与 10^5 组出现了显著性的变化(IgA, IgM 增高, C4 降低, $U=2.39, 2.46, 2.09, P<0.05$; IgG 增高, $U=3.25, P<0.01$),而其他低载毒量之间和高载毒量之间差异均无统计学显著性意义。

表 1 7 组实验组和对照组的 IgA, IgG, IgM 及 C3, C4 的检测结果($\bar{x} \pm s$, g/L)

分 组	n	IgA	IgG	IgM	C3	C4
10^2 组	34	$2.98 \pm 1.29^{\star}$	$12.38 \pm 3.33^{\bullet}$	$1.37 \pm 0.60^{\bullet}$	$1.01 \pm 0.22^{\bullet}$	$0.22 \pm 0.05^{\bullet}$
10^3 组	48	$3.75 \pm 1.41^{\star}$	$14.03 \pm 2.93^{\star}$	$1.61 \pm 0.87^{\#}$	$1.11 \pm 0.34^{\bullet}$	$0.24 \pm 0.07^{\bullet}$
10^4 组	34	$3.59 \pm 1.43^{\star}$	$13.04 \pm 3.03^{\bullet}$	$1.64 \pm 0.84^{\#}$	$0.98 \pm 0.33^{\bullet}$	$0.22 \pm 0.04^{\bullet}$
10^5 组	16	$4.58 \pm 0.65^{\star}$	$16.68 \pm 2.39^{\star}$	$2.76 \pm 1.15^{\star}$	$0.73 \pm 0.34^{\star}$	$0.17 \pm 0.05^{\star}$
10^6 组	16	$4.89 \pm 0.50^{\star}$	$17.06 \pm 0.71^{\star}$	$3.37 \pm 1.83^{\star}$	$0.63 \pm 0.10^{\star}$	$0.16 \pm 0.03^{\star}$
10^7 组	46	$5.07 \pm 0.55^{\star}$	$18.13 \pm 1.71^{\star}$	$3.60 \pm 0.89^{\star}$	$0.65 \pm 0.11^{\star}$	$0.16 \pm 0.01^{\star}$
10^8 组	16	$5.13 \pm 0.69^{\star}$	$17.56 \pm 0.72^{\star}$	$4.39 \pm 1.46^{\star}$	$0.56 \pm 0.11^{\star}$	$0.14 \pm 0.02^{\star}$
对照组	60	2.09 ± 0.73	11.79 ± 1.90	1.14 ± 0.45	1.10 ± 0.20	0.24 ± 0.06

注: $\star P<0.01$, $^{\#} P<0.05$, $^{\bullet} P>0.05$ 。

2.2 3 种免疫球蛋白与 2 种补体水平在实验组和对照组对比分析

2.2.1 免疫球蛋白 IgA, IgG 和 IgM 在实验组和对照组对比分析: IgA 在 HBV-DNA 为 $10^2 \sim 10^8$ copies/ml 均增高,差异具有统计学显著性意义($U=8.80, P<0.01$)。IgG 在 HBV-DNA 为 $10^2, 10^4$ copies/ml, 差异无统计学意义($U=1.11, P>$

0.05); $10^3, 10^5 \sim 10^8$ copies/ml, 差异具有统计学显著性意义($U=9.41, P<0.01$)。IgM 在 HBV-DNA 为 10^2 copies/ml, 差异无统计学意义($U=1.37, P>0.05$); $10^3 \sim 10^4$ copies/ml, 差异具有统计学意义($U=2.34, P<0.05$); $10^5 \sim 10^8$ copies/ml, 差异具有统计学显著性意义($U=6.42, P<0.01$)。3 种免疫球蛋白在实验组和对照组对比的

关系,见图1。

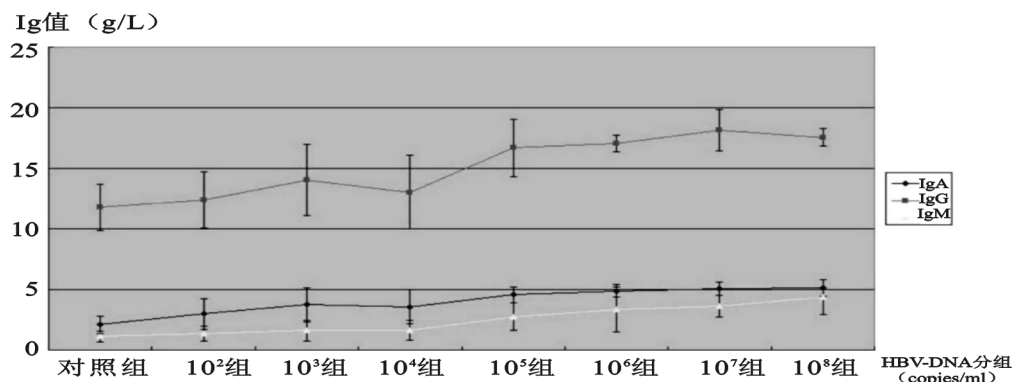


图1 对照组和7组实验组的3种免疫球蛋白检测结果的比较

2.2.2 补体C3和C4在实验组和对照组对比分析:C3在HBV-DNA为 $10^2 \sim 10^4$ copies/ml,差异无统计学意义($U=1.01, P>0.05$); $10^5 \sim 10^8$ copies/ml,差异具有统计学显著性意义($U=8.37, P<0.01$)。C4在HBV-DNA为 $10^2 \sim 10^4$ copies/

ml,差异无统计学意义($U=1.13, P>0.05$); $10^5 \sim 10^8$ copies/ml,差异具有统计学显著性意义($U=6.0, P<0.01$)。2种补体在实验组和对照组对比的关系,见图2。

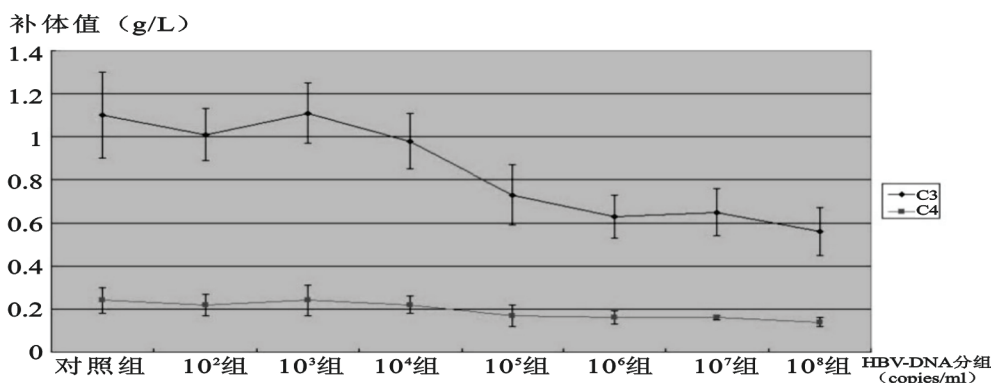


图2 对照组和7组实验组的2种补体检测结果的比较

2.3 乙肝患者体内不同的HBV载量之间的IgA, IgG, IgM及C3, C4对比分析 HBV-DNA在 10^2 组与 10^3 组, 10^3 组与 10^4 组各免疫球蛋白及补体指标差异均无统计学意义; 10^4 组与 10^5 组出现了显著性的变化, IgA, IgM增高, C4降低($U=2.39, 2.46, 2.09, P<0.05$), IgG增高, ($U=3.25, P<0.01$); 10^5 组与 10^6 组, 10^6 组与 10^7 组, 10^7 组与 10^8 组之间对比除了 10^6 组与 10^7 组的IgG增高($U=2.45, P<0.05$)外,其他检测指标差异均无统计学意义。

3 讨论 全球中慢性HBV携带者以亚洲人所占的比例最大,据相关文献报道,我国的慢性HBV携带者约为1.25亿,且大多数是在儿童期感染或通过母婴传播所致,其中发展成进展性肝病的患者约占慢性HBV携带者的15%~40%。少数患者可转化为肝硬化或肝癌。因此,它已是威胁人类健康的世界性疾病,也是我国当前流行比较广泛的一种病。慢性肝炎和肝硬化患者体内的免疫球蛋白水平与肝功能损伤密切相关。由于儿童及青壮年

是乙型肝炎病毒的主要侵犯对象,难治愈且易反复,危害性极大。因此,对于乙型肝炎的预防与早期诊治具有极其重要意义^[6~8]。

本研究通过对210例HBV-DNA阳性患者的IgA, IgG, IgM及补体C3, C4检测,得出伴随着HBV载量的增加,会出现IgA, IgG, IgM增高及补体C3, C4下降,与相关文献中的报道一致^[4]。特别是当HBV载量为 $10^5 \sim 10^8$ copies/ml的4组实验组,伴随着HBV-DNA的增高均出现3种免疫球蛋白增高及2种补体降低,严重的影响了机体免疫功能,两者呈正相关($r=0.967, P<0.01$)。 10^4 组与 10^5 组各检测指标出现了显著性改变,提示对乙肝患者的抗病毒护肝治疗中,要尽量将HBV载量控制在 10^4 copies/ml以下,才能达到最小程度损伤免疫功能的疗效。这也提示了我们, 10^5 copies/ml是研究中的一个分水岭。超过这个滴度的载毒量,3种免疫球蛋白增高和2种补体降低的差异除了极个别的一个指标有意义,其他均无统计学意义。这一特异的个体差异出现在 10^6 组和 10^7

组的IgG增加,说明了IgG更容易出现在慢性病毒感染后的变态免疫反应中,可以认为是较为敏感的一个指标。

免疫球蛋白作为抗体的一种表现形式具有抗体活性,然而在机体发生了感染时合成可明显增加,因此,乙型肝炎患者免疫球蛋白的检测对于患者而言具有明显的指导作用,临床已用于感染性疾病的检测。也有研究证实,肝实质破坏的严重程度越高,免疫球蛋白的增高程度越高,其间具有明显的相关性,因此是慢性乙型肝炎诊治的重要指标。血清补体是一组具有酶活性的球蛋白,具有溶菌、溶细胞的免疫活性。肝脏是合成补体的主要场所,当肝脏发生病变时其合成能力也会相应下降^[9~11]。我们的检测结果提示慢性重症肝病患者大多呈现高免疫球蛋白血症,而低补体水平。对乙肝患者要采用干预治疗措施,需要控制病人体内的病毒携带量。我们的实验得出的结论是要尽量把HBV-DNA控制在 10^4 copies/ml以下,才能够减缓其对机体免疫功能的损伤,从而进一步控制慢性乙型肝炎的恶性和不良转化。

因此,在临床诊疗乙型肝炎时,应结合血清IgA, IgG, IgM及补体C3, C4进行综合评判,其可为乙肝患者的病情进展提供实验室依据。综上所述,3种免疫球蛋白和2种补体水平不仅能辅助对乙肝患者免疫状况综合评估,而且能对乙肝病毒的复制及病情的变化有效地监测,具有极其重要的临床指导意义。

参考文献:

- [1] 张青梅,任传梅. HBV感染相关疾病患者AFP和HBVDNA定量结果分析[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(1): 128-130.
Zhang QM, Ren CM. Analysis of related diseases in patients with AFP and HBVDNA quantitative results of HBV infection[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(1): 128-130.
- [2] 谭玉华,林艳芬,廖思红,等. 时间分辨荧光免疫法检测HBV PreS1Ag试剂盒的应用评价[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 23(6): 58-62.
Tan YH, Lin YF, Liao SH, et al. Application value of time-resolved fluoroimmunoassay for detecting hepatitis B virus PreS1Ag[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 23(6): 58-62.
- [3] 汪浩,邹文静. 时间分辨荧光免疫分析法测定乙型肝炎HBsAg的临床价值分析[J]. 吉林医学, 2015, 36(2): 310.
Wang H, Zou WJ. Time resolved analysis of the clinical value of determination of hepatitis B HBsAg fluorescence immunoassay [J]. Jilin Medical Journal, 2015, 36(2): 310.
- [4] 王方,石婷婷,刘丽儿. 慢性乙型肝炎患者免疫球蛋白检验的临床探讨[J]. 中医临床研究, 2014, 6(24): 69-70.
Wang F, Shi TT, Liu LE. Clinical study on immune globulin test of patients with chronic hepatitis B[J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2014, 6(24): 69-70.
- [5] 张建刚. 肝炎病毒抗原抗体标志物与HBV-DNA联合检测的相关性探讨[J]. 中国继续医学教育, 2014, 6(8): 124-126.
Zhang JG. The relationship between the joint detection mark and HBV-DNA antibody to hepatitis virus antigen [J]. China Continuing Medical Education, 2014, 6(8): 124-126.
- [6] 单芙蓉,卢紫燕,刘刚,等. 2004~2013年深圳市乙型肝炎病毒流行特征分析[J]. 微生物学免疫学进展, 2014, 42(6): 49-52.
Shan FX, Lu ZY, Liu G, et al. Analysis on the epidemiological characteristics of hepatitis B in Shenzhen in 2004~2013[J]. Prog in Microbiol Immunol, 2014, 42(6): 49-52.
- [7] 杨国绘,许文龙,窦琳琳,等. 1 128例HBV-DNA定量和乙肝血清学标志物定量结果之间的相关性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(2): 351-354.
Yang GH, Xu WL, Dou LL, et al. Study on relationship between the quantitative detection of HBV DNA and serological markers in 1 128 hepatitis B patients [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2013, 23(2): 351-354.
- [8] 张文,张红玉,曾年伟. HBeAg定量阳性和乙肝DNA的相关性研究及临床价值[J]. 现代医药卫生, 2011, 27(3): 338-339.
Zhang W, Zhang HY, Zeng NW. Correlation research and HBeAg quantitative positive with HBV DNA and its clinical value [J]. Modern Medicine & Health, 2011, 27(3): 338-339.
- [9] 乔莹,黄芬,蔡鑫泽,等. HBV感染诱发AID高表达与肝细胞癌变相关性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(1): 13-18.
Qiao Y, Huang F, Cai XZ, et al. Relation between hepatocellular carcinogenesis and an aberrant expression of activation induced deaminase triggered by chronic HBV infection [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2015, 22(1): 13-18.
- [10] 王颖,刘胜军,杨飞兰,等. 乙型肝炎病毒检测YMDD基序变异情况分析[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(6): 69-71, 75.
Wang Y, Liu SJ, Yang FL, et al. Analysis of hepatitis B virus' YMDD motif mutations [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(6): 69-71, 75.
- [11] 张静. 重组人干扰素 α -2b注射液治疗儿童慢性乙型肝炎疗效分析[J]. 中国实用医药, 2015, 10(2): 118-119.
Zhang J. Analysis of therapeutic effect of interferon alpha -2b injection in the treatment of children with chronic hepatitis B recombinant human [J]. China Practical Medicine, 2015, 10(2): 118-119.

收稿日期: 2014-11-01

修回日期: 2015-02-27