

丙型肝炎患者自身抗体检出率、 丙肝病毒载量及肝功能间的相关性*

甘志超, 刘莹, 赵冰红, 郭桂玲, 黄前川 (广州军区武汉总医院检验科, 武汉 430070)

摘要:目的 研究丙型肝炎患者自身抗体检出率、丙肝病毒(HCV)载量及肝功能三者之间的相关性。方法 检测168例丙肝患者自身抗体、丙肝病毒载量以及肝功能结果,并选取和检测129例健康对照者的自身抗体,其中计数资料采用卡方检验、计量资料采用 t 检验或者非参数秩和检验,统计分析丙肝患者与健康对照组自身抗体检出率差异,分析丙肝患者中自身抗体、病毒载量以及肝功能三者间的相关性,并分析自身抗体检出率与患者年龄、性别的关系。结果 丙肝患者自身抗体阳性检出率为35.12%(59/168),各抗体阳性率分别为:抗核抗体(ANA)33.93%,抗平滑肌抗体(SMA)2.98%,抗线粒体M2抗体(AMA-M2)1.80%,抗肝肾微粒体抗体(anti-LKM1)1.20%。抗胞浆抗体和抗可溶性肝抗原抗体未检出阳性。丙肝患者自身抗体总检出率及抗核抗体检出率较健康对照组高($\chi^2=23.179, P=0.000; \chi^2=21.360, P=0.000$)。丙肝患者中,自身抗体阳性组与阴性组间丙肝病毒载量、总胆红素、谷氨酸氨基转移酶以及天冬氨酸氨基转移酶水平差异无统计学意义($\chi^2=0.113, P=0.945; Z=-1.087, P=0.277; Z=-1.356, P=0.175; Z=-0.153, P=0.878$);自身抗体检出率与性别无关($\chi^2=2.897, P=0.089$),而与年龄相关($t=3.274, P=0.001$)。HCV RNA阴性组与阳性组间谷氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶水平以及年龄的差异具有统计学意义($Z=-6.430, P=0.000; Z=-6.123, P=0.000; t=-3.152, P=0.002$),HCV RNA阴性组年龄低于阳性组(44.17岁 vs 55.27岁)。结论 丙肝患者容易发生自身免疫,自身抗体的产生与年龄有关,而与体内丙肝病毒载量的高低无关,也不能预测患者的肝功能损伤情况。HCV载量与患者年龄及肝损伤相关,高龄组病毒载量较高,肝损伤较严重。

关键词:丙型肝炎病毒;自身抗体;肝功能;自身免疫;相关性

中图分类号:R512.63;R392.1 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)03-108-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.03.030

Correlation among the Positive Rate of Autoantibody, HCV Load and the Status of Liver Function in Patients Infected HCV

GAN Zhi-chao, LIU Ying, ZHAO Bing-hong, GUO Gui-ling, HUANG Qian-chuan

(Department of Clinical Laboratory,

Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Region, Wuhan 430070, China)

Abstract: Objective To analyze the correlation between the positive rate of autoantibody and hepatitis C virus load and the relationship between the positive incidence and the status of liver function in patients infected HCV. **Methods** 168 patients infected hepatitis C virus were included, to detect serum autoantibody, HCV loads and liver function file. And 129 healthy controls were collected to test the serum autoantibody. Using the Chi-square test to analyze the count data, and performing student test or Nonparametric test to study measurement data, compared the positive rate of autoantibody in patients with HCV and that in healthy controls. Analyzed the correlation among the positive incidence of autoantibody, HCV load and the status of liver function in patients infected HCV, and studied the relationship of the positive rate of autoantibody with age and also with gender of the patients. **Results** The positive rate of autoantibody in patients with HCV was 35.12% (59/168), in which ANA accounted for 33.93%, SMA took up 2.98%, AMA-M2 made up 1.80% and anti-LKM1 1.20%. No patient existed LC-1 or SLA/LP in his/her serum. The total positive rate of autoantibody and ANA both were higher in patients than in healthy controls ($\chi^2=23.179, P=0.000; \chi^2=21.360, P=0.000$). There existed no significant difference in the levels of HCV load, total bilirubin (TBil), ALT and AST between the patients whose autoantibody examinations were positive and those who were negative in autoantibody test ($\chi^2=0.113, P=0.945; Z=-1.087, P=0.277; Z=-1.356, P=0.175; Z=-0.153, P=0.878$). The positive rate of autoantibody not correlated with the gender ($\chi^2=2.897, P=0.089$), but related to the age ($t=3.274, P=0.001$) of the patients. There existed significant difference in the levels of ALT, AST and the age between the patients HCV RNA negative and those HCV RNA positive ($Z=-6.430, P=0.000; Z=-6.123, P=0.000; t=-3.152, P=0.002$), and the patients whose HCV RNA were negative younger than those who with HCV RNA positive (44.17 vs 55.27 years). **Conclusion** It is easy for autoimmunity to occur on persons infected HCV. The posi-

* 作者简介:甘志超(1986-),男,初级检验师,医学硕士,研究方向:病毒性肝炎的分子诊断及耐药机制。

通讯作者:黄前川;E-mail:hqcwuhan@126.com。

tive rate of autoantibody is related to patients' age, but not to the HCV amount in patients. Besides, it cannot predict the status of the patients' liver injury that whether the autoimmunity appears. But HCV load correlated with patients' age and liver injury, which older group patients bring higher virus load and had more serious liver damage.

Keywords: hepatitis C virus; autoantibody; liver function; autoimmunity; correlation

研究表明,丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染者体内可存在自身免疫现象,外周血中可检测到自身抗体^[1,2]。自身抗体的产生,可能导致丙肝患者多个器官功能的损害,加重患者的病情。因此,确定丙肝患者是否存在自身免疫现象及自身免疫与患者一般特点及肝脏功能损伤的关系,对于丙肝患者的诊疗及预后评估,都十分重要。本研究即通过回顾性分析 168 例丙肝患者的自身抗体检出情况及自身免疫与肝功能、病毒载量的联系,为临床诊治丙肝患者提供参考。

1 材料与方法

1.1 一般资料 168 例慢性丙型肝炎患者均来自 2013 年 8 月~2014 年 8 月于广州军区武汉总医院就诊的患者,其中男性 89 例,女性 79 例,年龄 20~79 岁,平均年龄(47.60±14.97)岁,患者临床诊断均符合中华医学会肝病学分会、中华医学会传染病与寄生虫病学分会 2004 年制订的《丙型肝炎防治指南》相关标准^[3],所有患者 anti-HCV 抗体或 HCV-RNA 阳性。同时选取健康体检者 129 例作为正常对照,排除并发乙肝、丙肝和自身免疫病。

1.2 主要仪器、试剂和检测方法 所有检测采用患者外周静脉血。自身抗体的检测试剂来源于德国欧蒙(Euroimmun),其中抗核抗体(ANA)、抗平滑肌抗体(SMA)的检测采用间接免疫荧光法(IIF),抗线粒体抗体 M2 型(AMA-M2)、抗肝肾微粒体抗体-I(anti-LKM1)、抗可溶性肝抗原/抗肝胰抗原(SLA/LP)及抗肝细胞胞质抗体-I(LC-1)的检测采用免疫印迹法。HCV RNA 定量检测使用实时荧光定量 PCR 试剂盒(科华,上海),检测灵敏度 1.0×10^3 IU/ml,PCR 仪器为 SLAN-96P(宏石,上海)。丙肝抗体检测采用 ELISA 法,试剂源于科华。血清总胆红素(TBIL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)的检测采用 AU5400 全自动生化分析仪及相应配套试剂。

1.3 统计学分析 正态分布的计量资料以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验进行统计;非正态分布的计量资料以中位数及范围[M(Min, Max)]表示,采用非参数秩和检验(*Z*)进行统计;计数资料以例数或百分率(%)进行描述,统计分析采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 自身抗体, HCV RNA 及肝功能检测结果

2.1.1 自身抗体:168 例丙肝患者中,有 59 例患者检出自身抗体,自身抗体阳性检出率为 35.12%。ANA 阳性者 57 例,阳性率 33.93%;其中单独阳性者 49 例,其余 8 例中分别有 3 例并发 SMA 阳性,3 例并发 AMA-M2 抗体阳性,2 例并发 anti-LKM1 阳性。SMA 阳性者 5 例,阳性检出率为 2.98%,单独阳性者 2 例。AMA-M2 阳性者 3 例,anti-LKM1 阳性者 2 例,皆为并发 ANA 阳性。SLA/LP 与 LC-1 未检测出阳性者。

2.1.2 HCV RNA 168 例丙肝患者 HCV RNA 阴性($< 1.0 \times 10^3$ IU/ml)者 87 例,HCV RNA 阳性($\geq 1.0 \times 10^3$ IU/ml)者 81 例。HCV RNA 最小值 $< 1.0 \times 10^3$ IU/ml,最大值 9.4×10^7 IU/ml,中位数 $< 1.0 \times 10^3$ IU/ml。

2.1.3 肝功能检测结果:168 例丙肝患者的 TBIL, ALT, AST 检测中位值及范围分别为 13.60 μ mol/L (3.7, 155.5), 30.5 U/L (8.0, 427.0), 29.0 U/L (10.0, 762.0)。

2.2 自身抗体的相关因素

2.2.1 HCV 感染:与健康对照组相比,丙肝感染者自身抗体总检出率及抗核抗体检出率较高,差异有统计学意义($\chi^2 = 23.179, 0.000; 21.360, 0.000$),其余自身抗体检出率差异均无统计学意义,见表 1。

表 1 丙肝患者及健康对照组自身抗体检出率的比较

项 目	健康组(<i>n</i> =129)	丙肝组(<i>n</i> =168)	χ^2 值	P 值
自身抗体(%)	14(10.9)	59(35.1)	23.179 ^a	0.000
ANA(%)	14(10.9)	57(33.9)	21.360 ^a	0.000
SMA(%)	0(0.0)	5(3.0)	2.314 ^b	0.128
AMA-M2(%)	0(0.0)	3(1.8)	0.884 ^b	0.347
anti-LKM1(%)	1(0.8)	2(1.2)	0.000 ^b	1.000
SLA/LP	0	0	0	
LC1	0	0	0	

注:^a,与健康对照组相比,检出率的差异有统计学意义;^b,采用卡方检验的连续校正。

2.2.2 HCV RNA 水平:丙肝患者中自身抗体阴性组 HCV RNA 检出率为 48.62%(53/109),阳性组 HCV RNA 检出率为 47.46%(28/59)。两组在不同的 HCV RNA 水平范围($< 10^3, 10^3 \sim 10^6, 10^6 \sim 10^8$)的分布差异无统计学意义($\chi^2 = 0.113, P = 0.945$),见表 2。

表2 丙肝患者自身抗体检出率与 HCV RNA 水平的关系(IU/ml)

项 目	HCV RNA $<10^3$	HCV RNA $10^3 \sim 10^6$	HCV RNA $10^6 \sim 10^8$
自身抗体阴性	56	19	34
自身抗体阳性	31	11	17
合计	87	30	51

丙肝患者自身抗体阴性组及阳性组 HCV RNA 中位数及范围分别为 $<10^3$ ($<10^3$, 8.01×10^7) IU/ml, $<10^3$ ($<10^3$, 9.40×10^7) IU/ml, 通过两独立样本秩和检验发现两组 HCV RNA 水平差异无统计学意义 ($\chi^2 = -0.628, 0.530$), 见表 3。

表3 自身抗体阴性组及阳性组丙肝患者年龄、性别、丙肝病毒载量以及肝功能的比较[中位数(范围)]

项 目	自身抗体阴性	自身抗体阳性	$Z(t[\chi^2])$ 值	P 值
年龄(岁)	44.9±14.9	52.6±14.0	(3.274)	0.001
例数(男/女)	109(63/46)	59(26/33)	[2.897]	0.089
HCV RNA(IU/ml)	$<10^3$ ($<10^3$, 8.01×10^7)	$<10^3$ ($<10^3$, 9.40×10^7)	-0.628	0.530
TBIL(μ mol/L)	13.8(3.7, 155.5)	13(3.7, 100.2)	-1.087	0.277
ALT(U/L)	33(10, 418)	28(8, 427)	-1.356	0.175
AST(U/L)	29(10, 762)	26(12, 373)	-0.153	0.878

2.2.3 TBIL, ALT, AST 水平: 丙肝患者自身抗体阴性组与阳性组比较, TBIL, ALT 和 AST 的水平差异无统计学意义 ($\chi^2 = -1.087, 0.277$; $-1.356, 0.175$; $-0.153, 0.878$), 见表 3。

2.2.4 性别、年龄: 自身抗体阴性组与阳性组丙肝患者, 性别差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.897, 0.089$), 而年龄差异具有统计学意义 ($t = 3.274, 0.001$), 自身抗体阳性组丙肝患者平均年龄大于阴性者 (52.6

±14.0 岁 vs 44.9±14.9 岁)。

2.3 HCV RNA 水平与肝功能指标及年龄、性别的关系 HCV RNA 阴性组 (HCV RNA $<1.0 \times 10^3$ IU/ml) 与阳性组 (HCV RNA $\geq 1.0 \times 10^3$ IU/ml) 丙肝患者间 ALT 及 AST 水平差异具有统计学意义 ($\chi^2 = -6.430, 0.000$; $-6.123, 0.000$), 且年龄的差异亦具有统计学意义 (44.17 vs 55.27; $t = -3.152, 0.002$), 见表 4。

表4 HCV RNA 阴性及阳性组年龄、性别及肝功能指标的比较[中位数(范围)]

组 别	HCV RNA 阴性	HCV RNA 阳性	$Z(t[\chi^2])$ 值	P 值
年龄(岁)	44.2±14.9	51.3±14.3	(-3.152)	0.002
例数(男/女)	87(45/42)	81(44/37)	[0.114]	0.736
TBIL(μ mol/L)	13.2(3.7, 155.5)	15.2(3.7, 100.2)	-1.868	0.062
ALT(U/L)	22(8, 418)	46(11, 427)	-6.430	0.000
AST(U/L)	20(10, 403)	43(10, 762)	-6.123	0.000

3 讨论 丙型肝炎病毒感染人体后, 常伴有自身免疫现象, 如类风湿关节炎、舍格伦综合征、溶血性贫血及严重血小板减少等, 是甲状腺功能紊乱、糖尿病及自身免疫性肝炎的发生机制之一^[4], 在患者外周血中, 可检测到相应的自身抗体^[5]。目前人们对于丙肝自身抗体与年龄、性别、肝功能及病毒载量等因素的相关性观点不一^[2,6]。本研究发现, 丙肝患者自身抗体总检出率 35.12% (59/168), 以抗核抗体 (ANA) 为主, 其次为抗平滑肌抗体 (SMA), 显著高于健康对照者, 差异具有统计学意义, 与吴云忠等^[2]报道相近 (34.5%), 高于李雅馨等^[6]的研究 (27.9%)。多种自身抗体检测阳性, 提示丙肝患者存在自身免疫现象, 比如 anti-LKM1, 是自身免疫性肝炎的标志性抗体, 这表明丙肝病毒的感染可能促进自身免疫病的发生。导致丙肝患者自身抗体检出率差异的原因可能与地域人种差异、检测方

法不同、基础疾病、年龄及性别差异等相关。自身抗体的出现, 是否与病毒载量存在相关性, 对于患者的诊断和治疗显得都很重要。通过分析我们发现丙肝患者中自身抗体阳性者与阴性者在不同丙肝病毒载量区段的分布, 以及两组患者 HCV RNA 水平的差异无统计学意义, 这提示自身抗体的产生与丙肝病毒载量没有相关性, 高载量病毒并没有增加自身抗体的产生。可能的原因是自身抗体的产生对于病毒载量不存在剂量依赖关系。关于这一点, 我们的研究与李雅馨等^[6]的研究结果一致。此外, 本研究还发现丙肝患者中自身抗体阳性者和阴性者的总胆红素 (TBIL)、谷氨酸氨基转移酶 (ALT) 以及天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的水平差异并无统计学意义。提示自身抗体的产生和存在, 并没有引起肝脏功能的明显改变, 可见, 自身抗体是否为阳性不能作为判断患者 (下转 113 页)

者不同分期间无明显差异($P < 0.05$),可见监测DN患者血清MMP-10水平可预测肾脏损伤程度。

总之,血清MMP-10水平与2型糖尿病微血管并发症有关,它可能是2型糖尿病肾病患者肾脏损伤程度的靶标,是临床治疗此类疾病潜在的靶点。

参考文献:

- [1] 辜彦,王裕圻. 2型糖尿病肾病患者血浆MMP-2和MMP-9水平检测的临床意义[J]. 中国医药指南, 2009, 7(22): 46-47.
Gu Y, Wang YY. Clinical significance of detection the MMP-2 and MMP-9 levels in type 2 diabetic nephropathy[J]. Guide of China Medicine, 2009, 7(22): 46-47.

(上接110页)肝脏功能状态的一个指标。此外,自身抗体和性别亦没有相关性。分析发现自身抗体与年龄有关。自身抗体阳性的丙肝患者,年龄高于阴性者(52.6 ± 14.0 岁 vs 44.9 ± 14.9 岁)。此现象同样出现于其他自身免疫病中,原因可能为老年人的胸腺发生萎缩退化,引起免疫系统功能紊乱,从而易发自身免疫病^[7]。分析发现HCV RNA水平与肝功能有关,HCV RNA阳性者比HCV RNA阴性者ALT及AST水平高,差异具有统计学意义。这表明,丙肝病毒载量和患者的肝功能损伤具有相关性,病毒载量高者,肝功能损伤更重,这与Shahid等^[8]的研究一致。这可能由病毒复制引起免疫反应、感染促发炎症等多种途径导致肝损伤^[9,10]。此外,HCV RNA阳性患者年龄高于阴性患者(55.27 vs 44.17)岁,而病毒复制与否与患者性别没有明显关系。这可能是由于随着年龄的增大,人体的免疫力有所下降,病毒更易复制;而免疫力的性别差异不明显,因此两性间的病毒复制无明显差异。

综上所述,丙肝患者容易发生自身免疫,自身抗体的产生与丙肝病毒载量、肝功能和性别没有明显相关性,但与年龄有关,自身抗体阳性者年龄大于阴性者。同时,病毒载量与肝功能之间有明显相关性,这提示丙肝患者肝功能异常主要是由病毒引起的免疫损伤及炎症反应等所致,自身免疫可能是导致肝外病理表现的原因。

参考文献:

- [1] Garazzino S, Calitri C, Versace A, et al. Natural history of vertically acquired HCV infection and associated autoimmune phenomena[J]. Eur J Pediatr, 2014, 173(8): 1025-1031.
[2] 吴云忠,路遥,申戈,等. 慢性丙型肝炎病毒感染患者血清自身抗体检测的临床研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2010, 24(4): 282-285.
Wu YZ, Lu Y, Shen G, et al. Clinical study on serum

- [2] 许戎. 糖尿病肾病生物学标记物新进展[J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(9): 583-585.
Xu R. Recent progress of biomarkers for diabetic kidney disease[J]. Chin J Lab Med, 2015, 38(9): 583-585.
[3] Toni M, Hermida J, Goñi MJ, et al. Matrix metalloproteinase-10 plays an active role in microvascular complications in type 1 diabetic patients[J]. Diabetologia, 2013, 56(12): 2743-2752.
[4] Yang Y, Mao D, Chen X, et al. Decrease in retinal neuronal cells in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Mol Vis, 2012(18): 1411-1420.
[5] Tan RJ, Liu Y. Matrix metalloproteinases in kidney homeostasis and diseases[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2012, 302(11): F1351-F1361.

收稿日期: 2016-02-29

修回日期: 2016-05-11

- autoantibodies of patients with chronic hepatitis C[J]. Chinese J Exp Clin Virol, 2010, 24(4): 282-285.
[3] 中华医学会肝病学会, 中华医学会传染病与寄生虫病学会. 丙型肝炎防治指南[J]. 中华传染病杂志, 2004, 22(2): 131-136.
Chinese Society of Hepatology, CMA the Macroeepidemiology of Parasitic and Infectious Diseases. The guide of hepatitis C prevention and treatment[J]. Chin J Infect Dis, 2004, 22(2): 131-135.
[4] Calvaruso V, Craxi A. Immunological alterations in hepatitis C virus infection[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(47): 8916-8923.
[5] Yang DH, Ho LJ, Lai JH, et al. Useful biomarkers for assessment of hepatitis C virus infection-associated autoimmune disorders[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(11): 2962-2970.
[6] 李雅馨, 杨彦佳, 杨梅, 等. 聚乙二醇干扰素 α -2a联合利巴韦林治疗自身免疫抗体阳性慢性丙型肝炎的临床疗效[J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(5): 345-347.
Li YX, Yang YJ, Yang M, et al. Efficacy of combination therapy with pegylated-interferon alfa-2a plus ribavirin in autoantibody-positive chronic hepatitis C patients[J]. Chin J Hepatol, 2013, 21(5): 345-347.
[7] Abo T, Tomiyama C, Watanabe H. Biology of autoreactive extrathymic T cells and B-1 cells of the innate immune system[J]. Immunol Res, 2012, 52(3): 224-230.
[8] Shahid M, Idrees M, Nasir B, et al. Correlation of biochemical markers and HCV RNA titers with fibrosis stages and grades in chronic HCV-3a patients[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2014, 26(7): 788-794.
[9] Spaan M, Janssen HL, Boonstra A. Immunology of hepatitis C virus infections[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2012, 26(4): 391-400.
[10] Zampino R, Marrone A, Restivo L, et al. Chronic HCV infection and inflammation: Clinical impact on hepatic and extra-hepatic manifestations[J]. World J Hepatol, 2013, 5(10): 528-540.

收稿日期: 2015-02-16

修回日期: 2015-03-14