

• 论 著 •

慢性乙型肝炎病毒感染者免疫耐受期的早期肾损伤监测

刘成永, 彭素真, 闫家徽

(江苏省徐州市传染病医院检验科 221004)

摘要:目的 检测尿微量清蛋白(mALB)、尿 β_2 -MG、尿 N-乙酰- β -氨基葡萄糖苷酶(NAG 酶),评价慢性“乙型肝炎病毒感染者免疫耐受期”的早期肾损伤。方法 测定乙型肝炎病毒(HBV)感染“免疫耐受”者实验组(122 例)尿微量清蛋白、尿 β_2 -MG 和尿 NAG 酶,同时与健康者(60 例)和慢性乙型肝炎患者(60 例)进行对照分析,同时结合血液肾功能、HBV DNA 含量、感染期,评价 HBV 感染免疫耐受期的早期肾损伤。结果 实验组尿液 3 项水平显著高于健康对照组而低于慢性乙型肝炎患者组;实验组大于 35 岁者尿液 3 项指标均值显著高于小于 35 岁组;HBV 感染免疫耐受者 HBV DNA 对数值在 4.00~6.00 之间的 β_2 -MG 和 mALB 均值水平显著低于对数值在 6.00 以上的。结论 血液中 HBV DNA 的含量越高,对肾脏的致病作用就越强。

关键词:肝炎病毒,乙型; 免疫; 肾损伤

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.16.013

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)16-1816-02

Monitoring on early renal damage during immune tolerant phase in patients with chronic hepatitis B virus infection

Liu Chengyong, Peng Suzhen, Yan Jiawei

(Department of Clinical Laboratory, Municipal Hospital for Infectious Diseases of Xuzhou, Jiangsu 221004, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the early renal damage during immune tolerant phase in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** Urinary β_2 -microglobulin(β_2 -MG), urinary microalbumin(mALB) and urinary N-acetyl- β -glucosaminidase(NAGase) were detected for 122 cases of patients at immune tolerant phase with chronic HBV infection(experimental group), 60 healthy individuals(healthy control group) and 60 cases of patients with chronic hepatitis B (CHB group), and were used to evaluate the early renal damage in patients with chronic HBV infection, combined with serum indexes of renal function, levels of HBV DNA and infection period. **Results** Levels of the 3 detected urinary items of experimental group were significantly higher than those of healthy control group and lower than those of CHB group. In experimental group, levels of the 3 urinary items of the individuals less than 35 years old were significantly lower than those more than 35 years old, and levels of β_2 -MG and mALB of the individuals with HBV DNA log-value between 4.00—6.00 were significantly lower than those with HBV DNA log-value over 6.00.

Conclusion It could be suggested that the higher of the level of HBV DNA, the stronger pathopoiesis on kidney.

Key words: hepatitis B virus; immunity; renal damage

乙型肝炎病毒(HBV)可导致肝炎、肝硬化甚至肝癌,并由其可引发乙型肝炎病毒相关性肾炎(hepatitis B virus associated nephritis, HBVGN)。目前,对 HBVGN 的发病机制尚处于探讨阶段,多数学者认为 HBV 抗原抗体复合物沉积于肾组织是其发病机制,但是,HBV 直接感染肾组织细胞也可能是导致肾炎发生的原因^[1]。现拟对临床诊断为“慢性乙型肝炎病毒感染者免疫耐受期”的感染者,通过检测其尿微量清蛋白(mALB)、尿 β_2 -MG、尿 N-乙酰- β -氨基葡萄糖苷酶(NAG 酶),本组简称尿液 3 项,探讨血液中 HBV DNA 含量与肾功能损害的关系及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2006~2007 年徐州市传染病医院体检诊断为“慢性乙型肝炎病毒感染者免疫耐受期”的患者 130 例,诊断标准是血清 HBsAg 和 HBeAg 阳性,HBV DNA $>1 \times 10^4$ copy/mL,血清 ALT 正常^[2]。同时无糖尿病、高血压、结缔组织疾病等对肾脏有潜在损害的情况,检测时未服用肾毒性药物。在之后 1 年内至少复查两次血清 HBsAg、HBeAg、HBV DNA、肝功能、肾功能,并且 1 年后检测尿 mALB、尿 β_2 -MG、尿 NAG 酶,检测时间点前后 5 d 要求送 3 次晨尿标本,取均值记录,尿液常规蛋白定性为阴性。去除不符合诊断标准和不能按要求送检晨尿者,并选择有家族史者共 122 例作为实验组,其中男、女性比 1:4.2,35 岁以下 82 例,年龄(30.5 \pm 12.4)岁。另选择健康者 60 例作为健康对照组,男、女性比 1:4.0,35 岁以下 40 例,年龄(29.5 \pm 11.1)岁。肝功能异常的

慢性乙型肝炎患者 60 例患者对照组,男、女性比 1:4.0,35 岁以下 39 例,年龄(31.6 \pm 14.2)岁。同样进行血液和尿液 3 项等相关检查。

1.2 方法 HBV DNA 检测使用 Lightcycler 实时荧光定量扩增仪,试剂由深圳匹基公司提供;HBV 标志物试剂由华大吉比爱公司提供;血清肝功能检测采用 Olympus AU-400 生化仪和原装配套试剂,尿 mALB、尿 β_2 -MG、尿 NAG 酶的检测试剂由北京科美东雅公司提供。以上检测均以室内质量控制为基础。

1.3 统计学处理 采用 PEMS 3.0 医学统计软件进行分析。

2 结果

2.1 一般资料比较 实验组与健康对照组中 35 岁以下所占百分率($\chi^2=0.0054, P=0.9412$)和年龄($t=0.5290, P=0.5975$)比较差异无统计学意义;实验组与患者对照组中 35 岁以下所占百分率($\chi^2=0.0884, P=0.7662$)和年龄($t=0.5359, P=0.5927$)比较,差异无统计学意义。

2.2 实验组、健康对照组和患者对照组各项检测指标 健康对照组与实验组比较,血液尿素氮、肌酐差异无统计学意义($t=1.1683, 0.4072, P=0.2442, 0.6843$);尿液 NAG、 β_2 -MG 和 mALB 差异均有统计学意义($t'=4.5688, 5.1537, 8.8478, t'a=1.9842, 1.9892, 1.9881, P<0.05$)。患者对照组与实验组比较,血液尿素氮、肌酐差异无统计学意义($t=0.0915, 1.2571, P=0.0972, 0.2104$);尿液 NAG、 β_2 -MG 和 mALB 差异均有统计学意义($t'=5.0614, 4.0533, 7.1245, t'$

$\alpha=1.994\ 7、1.995\ 9、1.996\ 6, P<0.05$), 见表 1。

2.3 患者对照组与实验组的不同年龄段 HBV DNA 含量和尿液 3 项监测指标 见表 2。

2.3.1 健康对照组小于 35 岁和大于 35 岁者比较 尿液

表 1 实验组、健康对照组和患者对照组各检测指标的比较($\bar{x}\pm s$)

组别(n)	血液检测项目				尿液检测项目		
	ALT(U/L)	HBV DNA	尿素氮(mmol/L)	肌酐(μ mol/L)	NAG(U/L)	β_2 -MG(mg/L)	mALB(mg/L)
健康对照组(60)	23.5 \pm 8.6	—	3.65 \pm 0.78	56.3 \pm 12.5	5.6 \pm 2.1	0.17 \pm 0.05	13.25 \pm 5.56
患者对照组(60)	86.3 \pm 27.3	5.96 \pm 0.54	3.80 \pm 0.56	60.2 \pm 15.8	13.2 \pm 6.3	0.28 \pm 0.10	37.25 \pm 13.44
实验组(122)	24.6 \pm 7.2	6.02 \pm 0.35	3.79 \pm 0.75	57.2 \pm 14.7	8.3 \pm 5.8	0.22 \pm 0.08	23.36 \pm 9.82

—:表示无数据。

表 2 患者对照组与实验组不同年龄段的 HBV DNA 含量和尿液 3 项监测指标的比较($\bar{x}\pm s$)

检测项目	患者对照组(n=60)		实验组(n=122)	
	小于 35 岁 (n=40)	大于 35 岁 (n=20)	小于 35 岁 (n=82)	大于 35 岁 (n=40)
NAG(U/L)	5.30 \pm 3.2	6.00 \pm 2.5	6.00 \pm 2.1	13.60 \pm 7.1
β_2 -MG(mg/L)	0.16 \pm 0.04	0.19 \pm 0.06	0.17 \pm 0.04	0.25 \pm 0.08
mALB(mg/L)	12.25 \pm 4.76	15.05 \pm 8.66	17.35 \pm 10.66	32.25 \pm 12.63

2.3.2 实验组小于 35 岁和大于 35 岁者比较 尿液 NAG、 β_2 -MG 和 mALB 差异有统计学意义($t'=6.63、5.970\ 9、6.427\ 6, t'_\alpha=2.021\ 3、2.019\ 1、2.014\ 2, P<0.05$), 见表 2。

2.4 实验组 HBV DNA 对数值在 4.00~6.00 和 6.00 以上分组的尿液 3 项水平 见表 3。

表 3 实验组 HBV DNA 对数值 4.00~6.00 和 6.00 以上分组的尿液 3 项水平比较($\bar{x}\pm s$)

HBV DNA 对数值(n)	NAG(U/L)	β_2 -MG(mg/L)	mALB(mg/L)
4.00~6.00(58)	7.3 \pm 4.2	0.16 \pm 0.07	15.36 \pm 8.81
6.00 及以上(64)	9.0 \pm 6.2 Δ	0.27 \pm 0.08*	31.45 \pm 9.83*

$\Delta P>0.05$, 与 6.00 以上对数值比较; * $P=0.000\ 0、0.000\ 0$, 与 6.0 以上对数值比较。

3 讨论

目前,对于 HBVGN 的发病机制主要有 3 种学说:HBV 循环复合物致病、HBV 感染导致免疫功能失调及病毒直接感染肾脏致病^[3]。近年来随着原位分子杂交技术和 PCR 技术的应用和推广,发现在 HBVGN 患者的肾组织中存在 HBV DNA 及完整的 HBV 颗粒,提示 HBV 直接侵袭肾组织也可能是致病的重要途径^[4]。肾脏中 HBV 基因或基因组的持续存在导致 HBV 抗原在肾组织的表达,并可能引起细胞的病理改变和持续免疫损伤。

β_2 -MG 是相对小分子质量蛋白质,几乎全部可从肾小球自由滤过,99% 以上又被近曲小管上皮细胞以胞饮的方式重吸收并转运到溶酶体分解为氨基酸,正常尿液中含量很低,所以被视为肾小管重吸收功能受损的标志性蛋白^[5]。NAG 来源于肾小管上皮细胞,可由于本身的损害,导致溶酶体酶释放增加,致使尿中活性增高,是肾小管损害最敏感的指标^[6]。mALB 是肾小球滤过膜电荷选择性屏障损伤的重要蛋白质标志物,近年来,检测 mALB 广泛应用于评价各种原发或继发性肾脏病变,可检出常规尿检阴性的轻度损害,具有较高的特异性和敏感性^[7-8]。

本研究对 HBV 感染“免疫耐受”者检测尿液中 mALB、 β_2 -MG 和 NAG 酶,同时与健康对照者和慢性乙型肝炎患者对照

NAG、 β_2 -MG、mALB 差异无统计学意义($t'=0.928\ 4、2.022\ 6、1.347\ 7, t'_\alpha=2.061\ 4、2.084\ 2、2.083\ 8, P>0.05$), 见表 2。

分析,提示 3 组中血液尿素氮和肌酐均值水平在正常范围且差异无统计学意义的情况下,HBV 感染“免疫耐受”者尿液 3 项指标显著高于健康对照组而低于慢性乙型肝炎患者对照组,说明 HBV 感染“免疫耐受”者有早期肾功能损伤,但严重程度仍低于慢性乙型肝炎患者。健康对照组小于 35 岁者尿液 3 项结果低于大于 35 岁者,但差异无统计学意义,而 HBV 感染“免疫耐受”者中大于 35 岁的尿液 3 项均值水平显著高于小于 35 岁者,健康者尿液 3 项均值水平有随年龄的增大而增高的趋势,本组未作感染者感染病程的统计,但从数据分析显示感染者的年龄越大,肾损伤的程度越高,这可能与病程和(或)年龄有关。HBV 感染“免疫耐受者”HBV DNA 对数值在 4.00~6.00 之间的 β_2 -MG 和 mALB 均值水平显著低于对数值在 6.00 以上的,提示 HBV DNA 的含量越高,对肾脏的致病作用就越强。

因此,尽管有关免疫耐受的机制目前尚不清楚且研究难度很大,许多学者对肝脏病理、生理方面的研究做了许多工作^[9-10],但是尿 mALB、尿 β_2 -MG 和尿 NAG 酶的研究结果显示,HBV 感染“免疫耐受”者肾功能早期损伤在常规检测阴性之前就已发生,应及时发现并进行肾功能保护,可逆转肾损伤或防止进一步加重,并可进行 HBV 感染致肾脏病理损伤的研究。在临床工作中,尿 mALB、尿 β_2 -MG 和尿 NAG 酶,不仅可以检测其他疾病的早期肾损害,还可以对肝脏病早期肾损害进行监测^[11-12]。

参考文献

- [1] 陈楠,王朝晖,任红,等.肾组织中乙型肝炎病毒 DNA 和 RNA 的存在及其意义[J].中华医学杂志,2001,81(21):1309-1312.
- [2] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南[J].中华传染病杂志,2005(23):421-431.
- [3] 于艳,张静,王汉民.乙型肝炎病毒感染对肾小球肾炎致病作用的比较分析[J].中国中西医结合肾病杂志,2006,10(7):342-344.
- [4] 刘卫平,王贵强.乙型肝炎病毒相关性肾炎研究进展[J].国外医学流行病学与传染病学分册,2005,7(32):356-358.
- [5] 姚建.肾小管标志蛋白及其临床意义[J].中华肾脏病杂志,1997,6(13):113-115.
- [6] 张元庆,陈育春.肝硬变病程中的肾脏血流动力学变化与肾损害[J].世界华人消化杂志,1998,6(3):212-213.
- [7] 殷思纯,翟洁卿,尹红.肝硬化患者的肾功能改变[J].广东医学,2006,9(27):905-906.
- [8] 陈晓玲.尿微量清蛋白白检测对慢性肝病伴肾损害的早期诊断意义探讨[J].四川医学,2004,2(25):354-355.
- [9] 李嘉,赵桂鸣,李颖.“免疫耐受期”慢性乙型肝炎病毒感染者临床与肝脏病理学特点[J].中华传染病杂志,2008,14(26):662-665.
- [10] 周晓军,丛文铭.我国肝脏病理学近十年的回顾与展望[J].中华病理学杂志,2005,5(34):493-496.

续表 1 卵巢癌、良性卵巢疾病和对照组 12 种肿瘤标志物测定结果

肿瘤标志物	卵巢癌组		良性卵巢疾病组		对照组	
	$\bar{x} \pm s$	阳性数(%)	$\bar{x} \pm s$	阳性数(%)	$\bar{x} \pm s$	阳性数(%)
AFP(ng/mL)	5.3±3.2	1(2.2)	5.1±2.3	0(0)	4.4±3.8	0(0)
f-PSA(ng/mL)	0.3±0.4	0(0)	0.3±0.5	0(0)	0.2±0.5	0(0)
PSA(ng/mL)	0.7±1.1	0(0)	0.4±0.9	0(0)	0.5±1.4	0(0)
CA125(kU/mL)	103.6±72.1	31(68.9)	11.2±7.5	4(4.9)	10.8±8.3	0(0)
HGH(ng/mL)	2.3±1.5	3(6.7)	1.9±1.8	3(3.7)	2.1±1.9	1(2.8)
CA153(kU/mL)	17.6±11.6	3(6.7)	15.6±12.8	5(6.1)	14.2±13.4	2(5.6)

2.2 卵巢癌组主要肿瘤标志物阳性率 主要肿瘤标志物阳性率依次为:CA125 68.9%,CEA 33.3%,CA242 17.7%,CA199 13.3%,FRT 11.1%;其中前 4 项的阳性率高于其他两组,差异有统计学意义($P < 0.05$);铁蛋白阳性率与良性卵巢病变组和正常对照组的差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.3 血清 CA125、CEA、CA242 和 CA199 测定对卵巢癌的诊断效能 主要肿瘤标志物中 CA125 单指标的灵敏度、特异性和准确度高于后 3 项,差异有统计学意义(P 值分别为:0.012、0.018 和 < 0.001)。应用上述 4 项指标联合诊断,凡指标中 1 项阳性即判定为阳性,联合诊断的灵敏度低于 CA125 单指标、高于后 3 项单指标,特异性均低于单项指标,准确度高于 CEA、CA242 和 CA199 单指标比较、与 CA125 单指标比较差异无统计学意义,见表 2。

表 2 血清 CA125、CEA、CA242、CA199 及联合检测对卵巢癌的诊断灵敏度、特异性和准确度(%)

指标	灵敏度	特异性	准确度
CA125	68.9(31/45)	96.6(114/118)	90.0(145/163)
CEA	33.3(15/45)	93.2(110/118)	76.7(125/163)
CA242	17.7(8/45)	94.5(112/118)	73.6(120/163)
CA199	13.3(6/45)	96.6(114/118)	73.6(120/163)
CA125+CEA+CA242+CA199	86.7(39/45)	83.1(98/118)	84.0(137/163)

3 讨 论

肿瘤标志物可检测出直径小至 1~3 mm 的早期肿瘤。目前公认的理想肿瘤标志物应具备^[1-2]:(1)灵敏度高,能早期发现相关肿瘤;(2)特异性好,能进行鉴别诊断;(3)具有器官特异性,能对肿瘤进行定位;(4)与病情程度、肿瘤大小或分期相关性好;(5)能评测肿瘤的治疗效果;(6)能预测肿瘤的预后。有研究证明 CA125 测定在卵巢癌普查筛选、辅助诊断及鉴别诊断、疗效观察及病情监测等有重要临床意义^[3]。Rocconi 等^[4]报道 56 例卵巢癌,CA125 的诊断灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值和准确度分别为 61.3%、97.5%、87.1%、79.5% 和 85.6%。本研究显示,CA125 的诊断灵敏度、特异性和准确度分别为 68.8%、96.6% 和 90.0%,而且与其他主要肿瘤阳性标志物 CEA、CA242 和 CA199 比较,单指标 CA125 的诊断性能最佳。

在同一肿瘤中可以出现多种肿瘤标志物,而不同肿瘤又可出现同一种肿瘤标志物,故均为非特异性肿瘤相关抗原,单项

肿瘤标志物检测尚难达到上述要求。近年采用的蛋白质芯片技术具有高通量、微型化和自动化的特点,更适于多种标志物的联合检测,故选择相关肿瘤标志物进行联合检测在早期诊断和预后判断中具有重要参考价值。Yurkovetsky 等^[5]应用 CA125、CA153、CA242、CA199 和 CEA 5 项肿瘤标志物联合检测,与单指标 CA125 比较,诊断灵敏度、特异性和准确度明显提高。本研究也证实,联合检测 CA125、CEA、CA242 和 CA199 兼顾了诊断灵敏度和特异性,诊断准确度高达 84%。本研究表明,应用多肿瘤标志物蛋白芯片检测技术,综合分析多肿瘤标志物水平及动态变化,可提高在卵巢癌的诊断及治疗中的应用价值。

肿瘤标志物在胚胎组织、良性肿瘤、甚至于正常组织中广泛存在,且肿瘤标志物的产生还受到一些生物活性因子的影响^[6],而且联合检测在提高检出率的同时也增加了假阳性的概率。因此,在肿瘤标志物检测结果的应用中应紧密结合临床表现,特别是结合影像特点综合判断、动态观察,是提高肿瘤诊断准确性最有效的方法和措施之一。

参考文献

- [1] Eggeling F, Davies H, Lomas L, et al. Tissue-specific microdissection coupled with protein-chip array technologies: application in cancer research[J]. Biotechniques, 2005, 29(1): 1066-1069.
- [2] Visintin I, Feng Z, Longton G, et al. Diagnostic markers for early detection of ovarian cancer[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(4): 1065-1072.
- [3] Juretzka MM, Barakat RR, Chi DS, et al. CA125 level as a predictor of progression-free survival and overall survival in ovarian cancer patients with surgically defined disease status prior to the initiation of intraperitoneal consolidation therapy[J]. Gynecol Oncol, 2008, 108(2): 336-341.
- [4] Rocconi RP, Matthews KS, Kemper MK, et al. Chemotherapy related myelosuppression as a marker of survival in epithelial ovarian cancer patients[J]. Gynecol Oncol, 2007, 104(1): 176-180.
- [5] Yurkovetsky ZR, Linkov FY, Malehorn DE, et al. Multiple biomarker panels for early detection of ovarian cancer[J]. Future Oncol, 2006, 2(6): 733-741.
- [6] Bast RC, Badgwell D, Lu Z, et al. New tumor markers: CA125 and beyond[J]. Int J Gynecol Cancer, 2005, 15(3): 264-271.

(收稿日期:2011-05-09)

(上接第 1817 页)

- [11] 马勇, 许吉斌. 血清 Cys-C、 β_2 -MG、RBP 在 2 型糖尿病肾病早期诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(2): 212-213.
- [12] 李强, 吴杰红, 孙守勋. 联合检测尿 β_2 -MG、NAG 及 AAP 在地震

挤压伤肾损害中的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4): 380-381.

(收稿日期:2011-05-10)