

• 临床检验研究论著 •

慢性丙型病毒性肝炎患者自身抗体动态变化与 HCV-RNA 基因型关系研究^{*}

杨建军¹, 李朝霞^{1△}, 田淑菊¹, 毛维武¹, 龚晏莹¹, 屈 延¹, 张文杰¹, 刘 芳², 焦志刚²

(1. 甘肃省第二人民医院感染科, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃出入境检验检疫局国际体检中心, 甘肃兰州 730020)

摘要:目的 研究慢性丙型肝炎病毒感染者体内自身免疫抗体的动态变化, 及其与 HCV-RNA 基因型的关系。方法 62 例慢性(丙型病毒性肝炎患者 HCV 感染经 RT-PCR 证实。HCV 基因型的检测采用 Simmonds 基因分型法。抗线粒体抗体(AMA)、抗肝肾微粒体抗体(LKM)、抗可溶性肝抗原(SLA)、抗去唾液酸糖蛋白受体抗体(ASG)和抗肝细胞膜抗原抗体(LMA)采用 ELISA 检测。结果 62 例慢性丙型肝炎患者中, 54 例(87.75%)为 I 型 HCV 感染, 其中 I a 型 4 例(6.45%), I b 型 38 例(61.27%), I c 型 12 例(19.35%); 4 例(6.45%)为 II a 型; 1 例(1.63%)为混合型(I b 型+II a 型); 2 例(3.25%)为未分型。同时检测出 I 型 HCV 感染的 54 例中有 21 例检出自身抗体阳性(38.9%), II a 型 HCV 感染的 4 例中有 1 例检出自身抗体阳性(25%)。I b 型和 II a 型混合感染的 1 例及未分型的 2 例均为阴性。62 例 HCV 感染者中自身抗体阳性者共 22 例(35.48%), 其中男 7 例(24.14%), 女 15 例(44.45%), 两者比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。阳性患者平均年龄为(55.67 ± 6.75)岁明显高于阴性患者(40.21 ± 7.51)岁, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在该地区的慢性丙型肝炎患者中, 基因型分布以 I b 型为主。HCV 感染者中普遍存在自身抗体, 自身抗体的出现与年龄及性别有明显关系, 但与 HCV 基因型无明显相关。基因 I 型 HCV 感染者抗病毒治疗可诱发自身抗体水平的升高, 但它是一过性的现象, 在抗病毒治疗结束后部分自身抗体可降低甚至消失。

关键词: 肝炎, 丙型, 慢性; 基因型; 自身抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.008

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)24-2960-03

Research on association between dynamic changes of serum autoantibodies in patients with chronic hepatitis C and HCV-RNA genotype^{*}

Yang Jianjun¹, Li Zhaoxia^{1△}, Tian Shujie², Mao Weiwu¹, Gong Yanxuan¹, Qu Yan¹, Zhang Wenjie¹, Liu Fang², Jiao Zhigang²

(1. Department of Infectious Diseases, the Second People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000, China;

2. International Medical Center, Gansu entry-exit inspection and quarantine bureau, Lanzhou, Gansu 730020, China)

Abstract: Objective To study the chronic virus hepatitis C infected patients immune antibody dynamic change, and the relationship between immune antibody and HCV-RNA gene type. **Methods** 62 cases patients be confirmed of HCV infection by RT-PCR. The HCV genotype detected use of the Simmonds genotyped method. The ELISA analysis method be use to detected anti-mitochondrial antibody(AMA), anti-liver and kidney micro-antibodies(LKM), anti-soluble liver antigen(SLA/LP), anti saliva acid glycoprotein receptor antibodies(ASG) and anti-liver cell membrane antigen antibody(LMA). **Results** In 62 cases patients of chronic viral hepatitis C, 54 cases(87.75%) for I type HCV infection, in which 4 cases(6.45%) for I a, 38 cases(61.27%) for I b, 12 cases(19.35%) for I c; another 4 patients(6.45%) for II a, 1 cases(1.63%) for hybrid(I b type + II a type); 2 cases(3.25%) were not parting. At the same time, HCV genotype I infector in 54 cases have 21 cases detected autoantibody positive(38.9%), HCV genotype II a infector in 4 cases have 1 case detected autoantibody positive(25%). I b type and II a type mixed infection and 1 case not parting 2 cases are negative. There are 22 cases of autoantibodies positive in 62 cases of HCV infector, the male 7 cases(24.14%), female 15 cases(44.45%), both comparative differences have statistical significance($P < 0.05$). Positive patients[mean age (55.67 ± 6.75) years old] is obviously higher than that of the negative patients[(40.21 ± 7.51) years old], ($P < 0.05$). **Conclusion** This study indicates that genotype I b is major HCV genotypes in district's of chronic viral hepatitis C patients. HCV infector commonly exist autoantibody, the emergence of autoantibodies with age and gender have obvious relationship, but the emergence no significant correlation with HCV genotypes. HCV genotype I infectors may induce autoantibody level by antiviral treatment, but it is a transient phenomenon, the autoantibodies can reduce or disappear after the end part of by antiviral treatment.

Key words: hepatitis C, chronic; genotype; autoantibodies

丙型肝炎病毒(HCV)感染可伴有多种自身免疫反应^[1-2], 长期自身免疫功能异常其结果必然影响抗病毒治疗效果, 导致多器官功能异常。作者通过检测 62 例慢性丙型肝炎患者 HCV-RNA 基因型, 同时检测自身抗体, 旨在探讨自身抗体与慢性丙型肝炎患者基因型的关系并作分析以探讨其

病因, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 6 月至 2011 年 2 月, 选取甘肃省第二人民医院收治的 62 例慢性丙型肝炎住院患者。其中男 29 例, 女 33 例, 年龄 19~79 岁, 平均(46.59 ± 15.38)岁。所有

患者均有明确的输血史或使用血制品史,感染时间为 1987~1995 年,在病程上无差异性,诊断均符合 2004 年中华医学会《丙型肝炎防治指南》中的诊断标准^[3]。所有患者均使用聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林(利巴韦林用量依据患者体重质量计算,10~15 mg/kg·d)抗病毒治疗。初始治疗均给予聚乙二醇化干扰素 180 μg,皮下注射,每周 1 次,治疗过程中根据患者耐受程度调整,疗程均为 48 周,如治疗过程中出现病毒反弹则延长疗程至 72 周。

1.2 仪器与试剂 自身抗体检测采用上海逸峰生物科技有限公司试剂盒;抗-HCV 采用华美公司试剂盒;基因型检测采用上海克隆生物科技有限公司试剂盒。

1.3 方法 血清抗核抗体(ANA 参考值 5~100 IU/L)、抗线粒体抗体(AMA 参考值 5~150 IU/L)、抗肝肾微粒体抗体(LKM 参考值 2~40 IU/L)、抗可溶性肝抗原抗体(SLA 参考值 2~50 IU/L)、抗唾液酸糖蛋白受体抗体(ASG 参考值 2~50 ng/L)和抗肝细胞膜抗原抗体(LMA 参考值 10~300 IU/L)采用 ELISA,操作过程按照试剂盒说明步骤进行。抗-HCV 采用 ELISA 法测定。HCV-RNA 基因分型使用实时荧光定量 RT-PCR,采用文献[4]报道的 Simmonds 分型法对 HCV 5'NCR 进行酶切分析,通过基因测序分析,以 GenBank 中各型参考株序列作为参比对照,得出基因型,操作过程按照试剂盒说明步骤进行。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS17.0 统计软件处理,计数资料进行 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 慢性丙型肝炎患者自身抗体检出情况 62 例慢性丙型肝炎患者中有 22 例出现 1 项或 1 项以上自身抗体阳性,总检出率为 35.48%(22/62),其中 AMA 30.65%(19/62),LKM 37.1%(23/62),SLA 29.03%(18/62),ASG 25.8%(16/93),LMA 25.8%(16/62)。

2.2 62 例 HCV 感染者基因型检出情况 见表 1。

表 1 62 例 HCV 感染者基因型分型结果

基因型	I型			II型	混合型	未分型	合计
	Ia	Ib	Ic	IIa	(Ib+IIa)		
n	4	38	13	4	1	2	62
百分比(%)	6.45	61.27	19.35	6.45	1.63	3.25	100

2.3 性别、年龄与自身抗体的关系 62 例 HCV 感染者中自身抗体阳性者共 22 例,其中男 7 例,女 15 例,差异有统计学意义($P<0.05$),阳性患者平均(55.67±6.75)岁,阴性患者平均(40.21±7.51)岁,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。HCV 基因型的分布与患者年龄、性别无明显相关。

2.4 自身抗体动态变化与 HCV 基因型的关系 见表 2。

表 2 不同基因型自身抗体动态变化结果(±s)

基因型		自身抗体	抗病毒治疗			
			0 周	24 周	48 周	72 周
I 型	I a(n=4)	AMA(IU/L)	206.38±60.31	141.42±38.62	173.56±42.26	136±26.85**
		LKM(IU/L)	57.31±18.95	40.68±16.62	36.74±13.51	36.54±8.62*
		SLA/LP(IU/L)	63.06±16.41	55.59±14.58	42.38±12.49	24.16±9.83
		ASG(ng/L)	75.76±16.17	46.62±13.74	35.53±12.63	38.75±9.64
		LMA(IU/L)	221.37±77.48	226.78±51.29	256.38±62.29*	176.35±49.24
	I b(n=38)	AMA(IU/L)	180.25±60.31	189.42±38.62	206.56±42.26*	115±26.85**
		LKM(IU/L)	58.31±18.95	62.38±16.62	76.74±13.51**	32.62±8.62*
		SLA/LP(IU/L)	61.96±16.41	63.59±14.58	93.78±12.49**	34.36±9.83*
		ASG(ng/L)	61.76±17.17	66.62±13.74	75.53±12.63	38.75±9.64**
		LMA(IU/L)	248.37±87.48	294.78±61.29*	276.38±72.29	186.35±49.24
	I c(n=12)	AMA(IU/L)	110.38±40.31	156.42±38.62*	186.56±42.26**	123±36.85
		LKM(IU/L)	67.35±17.95	50.33±15.62	43.75±12.51	27.04±9.32**
		SLA/LP(IU/L)	88.66±15.41	82.59±14.58	93.78±12.49*	34.36±9.83**
		ASG(ng/L)	35.76±15.17	46.62±12.74	35.53±11.63	38.75±9.64
		LMA(IU/L)	156.09±70.21	159.34±66.67	167.21±65.86	154.62±68.75
II 型	II a(n=4)	AMA(IU/L)	113.26±27.32	123±25.41	129±21.31	101±19.63
		LKM(IU/L)	29.39±6.63	30.21±5.87	32.21±6.57	27.42±6.08
		SLA/LP(IU/L)	33.13±9.39	32.65±8.63	36.13±9.56	31.25±8.72
		ASG(ng/L)	35.14±9.48	36.61±9.87	37.61±9.97	34.94±8.73
		LMA(IU/L)	176.09±70.21	169.34±66.67	167.21±65.86	164.62±68.75

* : $P<0.05$,与 24、48、72 周比较; ** : $P<0.01$,与 24、48、72 周比较。

3 讨 论

近年来有报道慢性丙型肝炎患者血清中自身抗体的总检出率为 47.0%^[5],本研究结果,慢性丙型肝炎患者血清自身抗体阳性率为 35.48%,说明 HCV 感染容易引起宿主自

身免疫功能紊乱。机制可能与 HCV 和肝细胞膜靶抗原具有相同的抗原决定簇相关^[6]。

慢性丙型肝炎患者自身抗体的出现,提示体内免疫功能已出现紊乱,且随着病情的加重,伴发自身免疫性肝炎的

可能性增加^[7-8]。本研究分析显示不同性别 HCV 感染者自身抗体阳性率有显著差异,女性 HCV 感染者随着病情的加重和年龄增长,自身抗体的阳性率也明显增加,可能与丙型肝炎慢性化时间长、病情迁延有关。

甘肃兰州地区 HCV 基因型以 I b 型为主^[9],这与之前所做的研究结果相一致,作者通过检测发现 HCV 基因型与自身抗体比较差异无统计学意义, I b 型自身抗体阳性患者在年龄、性别方面比较均无明显相关性。但 I b 型 HCV 感染者自身抗体检出情况明显高与(21/54)其他基因型患者,且常出现多种自身抗体,这可能与基因型 I 型为难治性丙型肝炎及中和抗体的产生有一定的关系^[10]。其他基因型与自身抗体的关系还需做进一步研究。

本研究使用先进的 ELISA 定量试剂盒检测自身抗体,通过检测不同基因型患者抗病毒治疗前、中、后自身抗体的动态变化,发现基因 I a、I b 和 I c 患者在治疗中、后期部分自身抗体与治疗前相比差异有统计学意义($P<0.05$);而基因 II a 型患者在治疗过程中及结束后自身抗体水平与治疗前相比均无明显差异,说明抗病毒治疗能够诱发自身抗体水平的升高,尤其是在抗病毒治疗 48 周时,可出现多种自身抗体阳性,但它只是一过性的现象,在抗病毒治疗疗程结束后,部分自身抗体可降低至治疗前的水平,并且差异有统计学意义。甚至某些自身抗体随着病情的好转而消失。通过动态监测发现 HCV 感染者自身抗体无论是抗病毒治疗前、治疗中还是结束后,自身抗体水平均未超过检测上限的 2 倍,但抗病毒治疗中,自身抗体可出现不同程度的升高,说明干扰素能够增强自身免疫反应,因此对与丙型肝炎合并自身免疫功能异常者要定期复查自身抗体。不同 HCV 感染者基因型自身抗体水平比较发现,基因 I 型患者在抗病毒治疗过程中更易出现自身抗体水平升高。因此对基因 I 型 HCV 感染者合并有自身抗体异常者,

应慎重选择抗病毒治疗方案,临床医生在治疗中,应根据患者自身抗体水平情况,实施个体化治疗方案。

参考文献

[1] 张春明,牛广华,钱铸山. 丙型肝炎病毒感染血清中自身抗体检测结果分析[J]. 临床肝胆病杂志,2006,22(2):107-108.
[2] 陈智,潘修成. 丙型肝炎与自身免疫性疾病[J]. 中华肝脏病杂志,2006,14(3):236-237.
[3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志,2000,8(6):324-329.
[4] 孙南雄,范晓峰. 丙型肝炎病毒 Simmonds 基因分型法酶切分型的研究[J]. 江苏医药,1999,25(7):481-483.
[5] 李颖,徐鑫,刘沛,等. 慢性丙型肝炎患者自身抗体检测的临床意义[J]. 肝脏,2007,1(12):17-19.
[6] Zachou K, Rigopoulou E, Dalekos GN. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease[J]. J Autoimmune Dis, 2004,1(1):2.
[7] Pawlotsky JM, Ben Yahia M, Andre C, et al. Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study[J]. Hepatology, 1994,19(4):841-848.
[8] Obermayer-Straub P, Strassburg CP, Manns MP. Autoimmune hepatitis[J]. J Hepatology, 2000,32(Suppl 1):181-197.
[9] 李玲,王坤,涂学亮,等. 丙型肝炎孕妇血清中自身抗体的检测与分析[J]. 检验医学与临床,2011,6(8):700-702.
[10] 李蕴铤,魏来,王文冰,等. 自身免疫性肝炎临床、免疫学及病理学特征分析 142 例[J]. 世界华人消化杂志,2006,14(36):3534-3538.

(收稿日期:2012-06-19)

(上接第 2959 页)

31、33、52、58 型的流行度和变化趋势。(4)本研究表明宫颈 HPV 感染三个阶段前 9 位分别依次为:一般群体女性 43 型 23 例(19%)、16 和 58 型各 12 例(9.9%)、33 型 10 例(8.3%)、52 型 9 例(7.4%)、18 和 42 型各 7 例(5.8%)、53 和 56 型各 6 例(5.0%);癌前病变 16 型 64 例(35.4%)、18 型 36 例(19.9%)、31 和 33 型各 18 例(10.0%)、58 型 16 例(8.8%)、52 型 8 例(4.4%)、6 型 5 例(2.8%)、43 和 59 型各 3 例(1.7%);宫颈癌 16 型 44 例(57.1%)、18 型 10 例(13.0%)、33 型 6 例(7.8%)、11、31、43、45、52、58 型各 2 例(2.6%)。三个阶段宫颈 HPV 感染低危型总感染率为 34.5%,而高危型总感染率为 229.8%,提示癌前病变和宫颈癌以高危型为主(90.2%和 88.3%),低危型只占很少的比例(4.5%和 5.2%)。

总之,宫颈癌是一种可预防的疾病,只有宫颈癌的预防措施落实到位,才能真正地将发展中国家宫颈癌的发病率和死亡率降下来,造福于广大的发展中国家妇女^[6-10]。

参考文献

[1] 耿建祥,王旭波. 人乳头瘤病毒检测及其临床应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:381-427.
[2] 兰建云,邵伟伟,袁苏娟,等. 外耳道乳头状瘤中的人乳头瘤病毒检测及其临床意义[J]. 医学研究生学报,2010,23(4):391-393.

[3] 张金浩,耿建祥,吴崑崙,等. 结直肠肿瘤中 HPV 感染的基因分析[J]. 医学研究生学报,2011,24(2):154-157.
[4] 李海,邓志勇,张阳,等. 人乳头瘤病毒在阴茎鳞癌组织中的表达及意义[J]. 现代实用医学,2010,22(9):1037-1038.
[5] 严粉琴,耿建祥,肖蔚,等. 已婚女性宫颈上皮细胞中人乳头状瘤病毒基因分型 2 000 例分析[J]. 实用妇产科杂志,2012,28(5):390-393.
[6] Giuliano AR, Tortolero-Luna G, Ferrer E, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditions[J]. Vaccine, 2008,26(1):17-28.
[7] Zhao R, Zhang WY, Wu MH, et al. Human papillomavirus infection in Beijing, People's Republic of China: a population-based study[J]. Br J Cancer, 2009,101(9):1635-1640.
[8] Jiang P, Liu J, Zeng X, et al. Association of TP53 codon 72 polymorphism with cervical cancer risk in Chinese women[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2010,197(2):174-178.
[9] 郎景和. 妇科肿瘤临床诊治的挑战与对策[J]. 中国癌症防治杂志,2012,4(1):1-4.
[10] McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses[J]. Virus Res, 2009,143(2):195-208.

(收稿日期:2012-07-23)