

## • 临床检验研究论著 •

## 丙型肝炎病毒感染者 17 种自身抗体的检测及其临床意义

钟运华<sup>1</sup>, 庄俊华<sup>2△</sup>, 赵 蓉<sup>1</sup>, 张战锋<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学, 广东广州 510405; 2. 广东省中医院, 广东广州 510120)

**摘要:**目的 观察丙型肝炎病毒(HCV)感染者的自身抗体情况,了解HCV感染后疾病严重程度与抗核抗体(ANA)谱阳性率的关系。**方法** 收集 123 例 HCV 感染患者的血清标本作为 HCV 组,根据病毒感染的严重程度将其分为 3 组:A 组,急性丙型肝炎 17 例;B 组,慢性丙型肝炎 64 例;C 组,肝硬化 42 例。将排除病毒感染和自身免疫性疾病的健康者 52 例作为对照组。采用间接酶联免疫吸附测定法检测抗 HCV 抗体,线性免疫印迹法检测 123 例 HCV 感染者血清中抗 dsDNA、核小体、组蛋白、SmD1、增殖细胞核抗原(PCNA)、P0、SSA/Ro60kD、SSA/Ro52kD、SSB/La、CENP-B、Scl70、U1-snRNP、AMA-M2、Jo-1、PM-Scl、Mi-2 和 Ku 抗体。**结果** 47.2%(58/123)HCV 感染者至少 1 种自身抗体阳性,明显高于对照组的 9.6%,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。ANA 谱 17 种自身抗体阳性率由高到低依次为:抗 SSA/Ro52kD 抗体(23.6%)、抗 SSB/La 抗体(6.5%)、抗 Mi-2 抗体(5.7%)、抗 PCNA 抗体(4.9%)、抗核小体抗体(3.3%)、抗 Ku 抗体(3.3%),抗 dsDNA、SmD1、AMA-M2、PM-Scl 抗体均为 1.6%,抗组蛋白、P0、SSA/Ro60kD、CENP-B、U1-snRNP、Jo-1 抗体均为 0.8%,未发现抗 Scl-70 抗体。ANA 谱阳性率与 HCV 感染者的性别和年龄无关( $P > 0.05$ )。急性丙型肝炎患者、慢性丙型肝炎患者与肝硬化患者的 ANA 谱阳性率分别为 47.1%、40.6% 和 57.1%,差异无统计学意义( $P = 0.25$ )。**结论** HCV 感染者可检测到多种自身免疫性疾病特异度抗体,其 ANA 谱阳性率与性别、年龄及 HCV 感染疾病的严重程度均无关。

**关键词:**肝炎病毒属; 抗体, 抗核; 自身免疫**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.03.009**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)03-0275-03

## 17 kinds of auto-antibodies in patients with hepatitis C virus infection

Zhong Yunhua<sup>1</sup>, Zhuang Junhua<sup>2△</sup>, Zhao Rong<sup>1</sup>, Zhang Zhanfeng<sup>1</sup>

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China; 2. Guangdong Province

Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

**Abstract: Objective** To assess the prevalence of auto-antibodies in patients with HCV infection and observe the significance of ANA profile prevalence in HCV infected severity. **Methods** Indirect enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) was used to detect anti-HCV antibody. Line immunoassay (LIA) was used to detect 17 auto-antibodies in 123 patients with HCV infection. **Results**

58 of 123 patients with HCV infection had one autoantibody at least, whose prevalence (47.2%) was statistically higher than control group (9.6%). The prevalence of 17 kinds of auto-antibodies in patients respectively showed 29 (23.6%) of HCV infected patients had anti-SSA/Ro52kD, 8 (6.5%) had anti-SSB/La, 7 (5.7%) had anti-Mi-2, 6 (4.9%) had anti-PCNA, 4 (3.3%) had anti-Nucleosome and anti-Ku, 2 (1.6%) had anti-dsDNA, anti-SmD1, anti-AMA-M2, anti-PM-Scl, 1 (0.8%) had anti-CENP-B, anti-SSA/Ro60kD, anti-U1 snRNP, anti-Jo 1, none had anti-Scl 70. The presence of antibodies in ANA profile were not associated with subject's gender or age( $P > 0.05$ ), the prevalence of ANA profile in patients with acute hepatitis C, chronic hepatitis C, cirrhosis were 47.1%, 40.6% and 57.1% respectively, showing no significant differences. **Conclusion** Several specific antibodies in autoimmunity diseases are at present in patients with HCV infection. The prevalence of ANA profile has no correlation with sex, and age, and liver disease severity.

**Key words:**hepacivirus; antibodies, antinuclear; autoimmunity

丙型肝炎病毒(HCV)感染是全球第二大多发性病毒性慢性疾病,据世界卫生组织统计,全球 HCV 的感染率约为 3%。HCV 是最容易诱发机体自身免疫性反应的病毒之一,HCV 感染与众多自身免疫性疾病有关,本研究通过抗核抗体(ANA)谱的检测,探讨系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征、硬皮症、混合型结缔组织疾病、原发性胆汁性肝硬化和肌炎 6 种疾病的特异度抗体与 HCV 感染之间的关系,为临床诊治 HCV 相关疾病提供实验依据。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 收集广东省中医院和深圳市第三人民医院 2010 年 10 月至 2012 年 12 月收治的 123 例 HCV 感染患者的血清标本作为 HCV 组,其中男 71 例、女 52 例;年龄 2~80 岁,

平均(41.0±15.0)岁,所有患者的诊断均符合丙型病毒性肝炎诊断标准(WS213-2008)。根据病毒感染的严重程度将上述患者分为 3 组:A 组,急性丙型肝炎 17 例;B 组,慢性丙型肝炎 64 例;C 组,肝硬化 42 例。将排除病毒感染和自身免疫性疾病的健康者 52 例作为对照组,其中,男 27 例、女 25 例;年龄 22~50 岁,平均 38.7 岁。

**1.2 主要仪器与试剂** 主要仪器为 Imark 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)、Tenfly 免疫印迹分析仪(深圳市亚辉龙生物科技有限公司)。主要试剂为抗 HCV 抗体试剂盒(上海科华生物工程股份有限公司)、ANA 谱检测试剂盒(德国 IMTEC 公司)。

**1.3 方法**

**1.3.1 间接酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测** 所有患者采

集肘静脉血,实验操作和结果判断均参照说明书。

**1.3.2 线性免疫印迹法(LIA)检测** 免疫印迹膜条包被有dsDNA、核小体、组蛋白、SmD1、增殖细胞核抗原(PCNA)、P0、SSA/Ro60kD、SSA/Ro52kD、SSB/La、CENP-B、Scl70、U1-snRNP、AMA-M2、Jo-1、PM-Scl、Mi-2和Ku共17种抗原,可同时检测相应的抗体。

**1.4 统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用t检验;计数资料用率表示,率的比较采用 $\chi^2$ 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

在123例HCV患者中,58例(47.2%)患者至少有一种抗体阳性,其中44例(35.8%)患者显示一种自身抗体阳性,11例(8.9%)患者血清检测到2种自身抗体,3种自身抗体同时阳性的患者只有3例,未发现4种及以上抗体共同阳性的病例。5例对照血清均为单一阳性,阳性率为9.6%(5/52),HCV组及对照组受检者抗体阳性率差异有统计学意义( $\chi^2=22.4, P<0.01$ )。

ANA谱17种自身抗体阳性率由高到低依次为:抗SSA/Ro52kD抗体(23.6%)、抗SSB/La抗体(6.5%)、抗Mi-2抗体(5.7%)、抗PCNA抗体(4.9%)、抗核小体抗体(3.3%)、抗Ku抗体(3.3%),抗dsDNA、SmD1、AMA-M2、PM-Scl抗体均为1.6%,抗组蛋白、P0、SSA/Ro60kD、CENP-B、U1-snRNP、Jo-1抗体均为0.8%,未发现抗Scl-70抗体,见图1。对照组健康者抗SmD1、SSB/La、AMA-M2、PM-Scl、Ku抗体阳性各1例,阳性率均分别为1.9%。

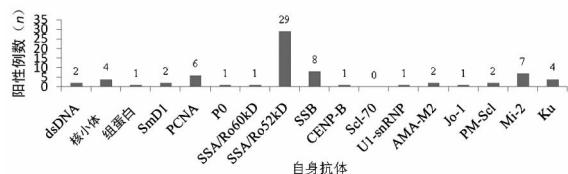


图1 123例HCV感染者17种自身抗体检测结果

ANA谱阳性的HCV感染者中,23例女性ANA谱阳性,占女性患者的44.2%(23/52),35例男性ANA谱阳性,占男性患者的49.3%(35/71),不同性别感染者的ANA谱阳性率差异无统计学意义( $P=0.578$ )。抗体阳性组与阴性组受检者年龄差异无统计学意义( $P=0.495$ )。见表1。

表1 HCV感染者性别、年龄与ANA谱的关系

组别	n	男(n)	女(n)	年龄(岁)
ANA谱抗体阳性组	58	35	23	42.0±16.0
ANA谱抗体阴性组	65	36	29	40.0±15.0

HCV抗体阳性而转氨酶正常者、慢性肝炎患者和肝硬化患者的ANA谱阳性率分别为47.1%(8/17)、40.6%(26/64)和57.1%(24/42)。3组患者ANA谱阳性率差异无统计学意义( $\chi^2=2.77, P=0.25$ )。

## 3 讨 论

至今已发现至少36种疾病与HCV感染有关,其中大部分为自身免疫性紊乱相关性疾病,如自身免疫性甲状腺炎、干燥综合征和唾液腺炎等。慢性丙型肝炎患者血清中常发现ANA、抗平滑肌抗体、抗线粒体抗体、类风湿因子、抗心磷脂抗体、抗DNA抗体等自身抗体。

本实验使用LIA膜条检测17种抗体,其中47.2%(58/123)HCV感染者至少1种自身抗体阳性,高于深圳地区周厚清等<sup>[1]</sup>报道的丙型肝炎患者ANA阳性率(25.6%),由于他们使用荧光免疫技术,与LIA方法学原理不同,而且使用基质抗原不同,因此,检测结果有差别。数据显示,HCV感染者中,不同性别和年龄患者的ANA谱阳性率差异无统计学意义,HCV感染的严重程度与ANA谱阳性率也无关。

抗SSA/Ro52kD抗体检出率(23.6%)最高,其中女性10例,男性19例,二者的差异无统计学意义( $P=0.331$ )。24.4%的HCV感染者发现抗SSA/Ro抗体(包括SSA/Ro52kD和SSA/Ro60kD),与早期D'Amico等<sup>[2]</sup>报道的阳性率[23.1%(22/96)]相近,但其报道的抗SSB/La抗体的阳性率(20.2%)明显高于本实验的6.5%。抗SSA/Ro抗体与干燥综合征或SLE密切相关,根据免疫印迹法统计的资料,抗Ro52抗体与干燥综合征有更强的联系,而抗Ro60抗体与SLE相关性更密切。早期研究发现,干燥综合征与HCV感染有关,在HCV感染相关II型冷球蛋白血症中干燥综合征发生率仅6%<sup>[3]</sup>。虽然在有HCV感染干燥综合征患者涎腺上皮细胞检测出HCV,而在不伴有涎腺上皮炎症的HCV感染者涎腺上皮中未检测出HCV。因此,HCV感染并非干燥综合征发生的必要或充分条件<sup>[4]</sup>。

本实验发现,SLE特异度抗体在HCV感染者中的检出率,抗PCNA抗体最高,可能与抗PCNA抗体具HCV抗体的共同表位有关。抗dsDNA、核小体、组蛋白、SmD1、PCNA和P0抗体6种SLE特异度抗体在HCV感染者的检出率,依次为1.6%、3.3%、0.8%、1.6%、4.9%和0.8%,都是单一抗体阳性,而这些是已排除SLE的HCV患者。抗dsDNA抗体对SLE诊断的灵敏度为52.4%,特异度为94.2%;抗核小体抗体对SLE诊断的灵敏度为59.9%,特异度为94.9%<sup>[5]</sup>;抗PCNA抗体对SLE诊断的灵敏度仅为3%~5%,特异度为95%,抗dsDNA抗体和抗核小体抗体的灵敏度比抗PCNA抗体好,而特异度略差。Hsu等<sup>[6]</sup>报道163例HCV感染者中有27例(16.6%)PCNA抗体阳性,而这些PCNA抗体阳性的HCV患者不符合SLE的诊断标准,推测PCNA抗体与HCV抗体有共同的表位。

抗Jo-1、PM-Scl、Mi-2和Ku抗体的检测用于辅助诊断多肌炎/皮肌炎(PM/DM)疾病,其中抗Jo-1抗体是标志性抗体。抗Jo-1抗体比抗Mi-2抗体对PM/DM的灵敏度高,特异度较低,在HCV患者中,抗Jo-1抗体阳性率(0.8%)比抗Mi-2抗体阳性率低约5%。迄今尚无直接证据表明HCV感染会导致皮肌炎,但有研究发现皮肌炎和HCV感染存在偶然的联系<sup>[7]</sup>,HCV是已经被确证与某些自身抗体的产生有关,而20%~31%的皮肌炎患者可检测到抗Mi-2抗体<sup>[8-9]</sup>,一个169bp的cDNA产物与人类Mi-2 $\beta$ 抗原有88.8%的同源性,蛋白水平的同源性达100%,由此,形成这样的假说:抗HCV抗体或者HCV酶复合物可能会与宿主蛋白的同源区域发生交叉反应导致自身免疫性疾病,慢性HCV感染是通过自身免疫机制导致皮肌炎的<sup>[10]</sup>。本文123例HCV感染者中抗Mi-2抗体的阳性率为5.7%(7/123),为假说提供了实验依据。

硬皮症、混合型结缔组织疾病和原发性胆汁性肝硬化各自的特异度抗体也同样可以在HCV感染者发现,但检出率都比较低,至于这几种自身免疫性疾病是否与HCV感染相关,有待进一步研究。

(下转第279页)

化具有协调作用。

在真核生物中, DNMT1 是维持 DNA 甲基化的关键酶, 其表达与基因印记、细胞分化和发育、肿瘤形成等密切相关, HDAC1 是乙酰化过程的关键酶。本研究中, DNMT1 和 HDAC1 在卵巢癌组织中高表达, 提示 DNMT1 和 HDAC1 表达增强是卵巢癌发生的早期事件。二者高表达率随组织异型程度的增加而逐渐增高, 具有一致的表达趋势, 说明 DNMT1 和 HDAC1 在诱导基因转录抑制、最终导致肿瘤形成的机制中具有协同作用的分子基础, 提示二者共同促进了卵巢癌的进展。针对 DNMT1 和 HDAC1 的肿瘤治疗研究证实, 二者的抑制剂能有效抑制肿瘤细胞生长, 提示 DNMT1 和 HDAC1 可能成为卵巢癌早期诊疗的新靶点<sup>[16-17]</sup>。深入研究甲基化和去乙酰化在肿瘤形成中的机制, 将有助于克服卵巢癌诊疗的难关。

## 参考文献

- [1] 杨新苗. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂与蛋白酶体抑制剂协同抑制乳腺癌细胞及分子机制研究[D]. 上海: 复旦大学, 2008.
- [2] 穆玉兰, 刘鸣, 汤春生, 等. 卵巢癌筛查研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2007, 23(10): 804-805.
- [3] 韩艳, 张美花, 金铁峰, 等. HDAC1 和 HDAC6 蛋白过表达在卵巢浆液性癌中的临床病理学意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2010, 26(4): 394-396, 401.
- [4] 贾妍, 邹颖刚, 陈军, 等. 组蛋白去乙酰化酶 1 在人上皮性卵巢癌组织中的表达[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(2): 256-258.
- [5] Scartozzi M, De Nictolis M, Galizia E, et al. Loss of hMLH1 expression correlates with improved survival in stage III-IV ovarian cancer patients[J]. Eur J Cancer, 2003, 39(8): 1144-1149.
- [6] Singal R, Ginder GD. DNA methylation[J]. Blood, 1999, 93(12): 4059-4070.
- [7] Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics[J]. Trends Genet, 2000, 16(4): 168-174.
- [8] Lo KW, Cheung ST, Leung SF, et al. Hypermethylation of the p16

(上接第 276 页)

目前, 较少关于多种自身免疫性疾病与 HCV 感染关系的报道, 特别是多肌炎/皮肌炎特异度抗体与 HCV 感染相关的研究。本研究发现, HCV 感染者中可检测到多种自身免疫性疾病特异度抗体。检测 HCV 患者血清中自身抗体水平, 有利于临床医生正确区分伴随自身免疫反应的 HCV 感染与单纯 HCV 感染, 而 ANA 阳性的 HCV 感染患者也容易被误诊为风湿性疾病或者其他自身免疫性疾病, 因此, 建议临床医生多参考关于 HCV 感染和自身抗体之间关系的研究。

## 参考文献

- [1] 周厚清, 董敏. 丙型肝炎患者血清自身抗体检测的临床研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(1): 131-132.
- [2] D'Amico E, Palazzi C, Cacciato P, et al. Anti-ENA antibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection[J]. Dig Dis Sci, 2002, 47(4): 755-759.
- [3] Ramos-Casals M, Loustaud-Ratti V, De Vita S, et al. Sjögren syndrome associated with hepatitis C virus: a multicenter analysis of 137 cases[J]. Medicine, 2005, 84(2): 81-89.
- [4] Agnello V, De Rosa FG. Extrahepatic disease manifestations of HCV infection: some current issues[J]. J Hepatol, 2004, 40(2): 341-352.

gene in nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Res, 1996, 56(12): 2721-2725.

- [9] Okano M, Xie S, Li E. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases[J]. Nat Genet, 1998, 19(3): 219-220.
- [10] Robertson KD, Uzvolgyi E, Liang G, et al. The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b: coordinate mRNA expression in normal tissues and overexpression in tumors[J]. Nucleic Acids Res, 1999, 27(11): 2291-2298.
- [11] Mizuno S, Chijiwa T, Okamura T, et al. Expression of DNA methyltransferases DNMT1, 3A, and 3B in normal hematopoiesis and in acute and chronic myelogenous leukemia[J]. Blood, 2001, 97(5): 1172-1179.
- [12] 林洁, 来茂德. DNA 甲基化、组蛋白去乙酰化与基因表达抑制[J]. 临床与实验病理学杂志, 2006, 22(3): 353-357.
- [13] Geiman TM, Robertson KD. Chromatin remodeling, histone modifications, and DNA methylation—how does it all fit together? [J]. J Cell Biochem, 2002, 87(2): 117-125.
- [14] Rountree MR, Bachman KE, Herman JG, et al. DNA methylation, chromatin inheritance, and cancer[J]. Oncogene, 2001, 20(24): 3156-3165.
- [15] Chen D, Ma H, Hong H, et al. Regulation of transcription by a protein methyl transferase[J]. Science, 1999, 284(5423): 2174-2177.
- [16] Missaglia E, Donadelli M, Palmieri M, et al. Growth delay of human pancreatic cancer cells by methylase inhibitor 5-aza-2'-deoxy-cytidine treatment is associated with activation of the interferon signalling pathway[J]. Oncogene, 2005, 24(1): 199-211.
- [17] Kouraklis G, Misiakos EP, Theocharis S. Histone deacetylase inhibitors as a potential therapeutic agent for human cancer treatment[J]. Target Oncol, 2006, 1(1): 34-41.

(收稿日期: 2013-10-08)

- [5] Bizzaro N, Villalta D, Giavarina D, et al. Are anti-nucleosome antibodies a better diagnostic marker than anti-dsDNA antibodies for systemic lupus erythematosus? A systematic review and a study of metanalysis[J]. Autoimmun Rev, 2012, 12(2): 97-106.
- [6] Hsu TC, Tsay GJ, Chen TY, et al. Anti-PCNA autoantibodies preferentially recognize C-terminal of PCNA in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Clin Exp Immunol, 2006, 144(1): 110-116.
- [7] Kee KM, Wang JH, Lee CM, et al. Chronic hepatitis C virus infection associated with dermatomyositis and hepatocellular carcinoma[J]. Chang Gung Med J, 2004, 27(11): 834-839.
- [8] Targoff IN, Reichlin M. The association between Mi-2 antibodies and dermatomyositis[J]. Arthritis Rheum, 1985, 28(7): 796-803.
- [9] Roux S, Seelig HP, Meyer O. Significance of Mi-2 autoantibodies in polymyositis and dermatomyositis[J]. J Rheumatol, 1998, 25(2): 395-396.
- [10] Toshikuni N, Torigoe R, Mitsunaga M, et al. Dermatomyositis associated with hepatocellular carcinoma in an elderly female patient with hepatitis C virus-related liver cirrhosis[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(10): 1641-1644.

(收稿日期: 2013-11-06)