

• 论 著 •

抗去唾液酸糖蛋白受体抗体在慢性肝炎的分布差别研究

景博琼, 薛冰, 徐笛

(新疆医科大学第五附属医院, 乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 检测慢性乙型肝炎(简称慢性乙肝)、慢性丙型肝炎(简称慢性丙肝)患者和健康人群血清中抗去唾液酸糖蛋白受体抗体(anti-ASGPR)水平,观察 anti-ASGPR 与肝炎患者疾病发展的关系。**方法** 选取 HBV 感染患者 60 例(慢性乙肝患者 30 例,慢性乙肝后肝硬化患者 30 例)、HCV 感染患者 60 例(慢性丙肝患者 30 例,慢性丙肝后肝硬化患者 30 例),60 例健康体检者为对照组,检测所有研究对象血清中 anti-ASGPR、ALT 的水平。**结果** (1)HBV、HCV 感染组血清 anti-ASGPR 水平均比对照组明显增高,差异均有统计学意义($P<0.01$)。慢性乙肝后肝硬化组血清 anti-ASGPR 水平明显比慢性乙肝组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。慢性丙肝后肝硬化组血清 anti-ASGPR 水平明显比慢性丙肝组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。anti-ASGPR 与 ALT 值无相关性。(2)丙肝组 anti-ASGPR 血清学水平明显高于乙肝组,差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 检测 anti-ASGPR 有助于临床的鉴别诊断,对治疗和预后具有重要的意义。

关键词:抗去唾液酸糖蛋白受体抗体; 慢性乙型肝炎; 慢性丙型肝炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.16.024

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)16-2268-03

Study on distribution difference of anti-ASGPR antibody in chronic hepatitis

JING Boqiong, XUE Bing, XU Di

(Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

Abstract: **Objective** To detect the serum anti-sialic acid glycoprotein receptor antibody (anti-ASGPR) levels in the patients with chronic hepatitis B (CHB), chronic hepatitis C (CHC) and healthy people, and to observe the relationship between anti-ASGPR and the disease development in the patients with hepatitis. **Methods** Totally 60 patients with hepatitis B virus (HBV) infection (30 cases of CHB and 30 cases of CHB cirrhosis) and 60 patients with hepatitis C virus (HCV) infection (30 cases of CHC and 30 cases of CHC cirrhosis) were selected with 60 persons undergoing the physical examination as the control group. The anti-ASGPR and ALT levels in all research subjects were detected with ELISA. **Results** (1) The anti-ASGPR level in the HBV and HCV infection groups was significantly higher compared with the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.01$). The anti-ASGPR level in the CHB cirrhosis group was significantly higher than that in the CHB group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The anti-ASGPR level in the CHC cirrhosis group was significantly higher than that in the CHC group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). No correlation between anti-ASGPR and ALT was found. (2) The anti-ASGPR level in the CHC group was significantly higher than that in the CHB group, and the difference was statistically significant ($P<0.01$). **Conclusion** The detection of anti-ASGPR is helpful for clinical differential diagnosis and has an important significance for the treatment and prognosis.

Key words: anti-ASGPR; chronic hepatitis B; chronic hepatitis C

研究表明自身免疫是慢性肝病肝细胞损伤机制中的一条可能途径,参与疾病的发生、发展过程。乙型肝炎(乙肝)病毒(HBV)和丙型肝炎(丙肝)病毒(HCV)感染后的肝组织损伤是机体一系列免疫反应造成肝细胞的病理免疫损伤。慢性乙肝患者和慢性丙肝患者存在自身免疫现象,患者血清中可检出多种自身免疫抗体,其中抗去唾液酸糖蛋白受体抗体(anti-ASGPR)所识别的靶抗原具有肝脏特异性,所以 anti-ASGPR 是反映肝细胞自身免疫性损伤的一种可靠标志。作者对慢性乙肝、慢性丙肝患者和健康人群血清中 anti-ASGPR 水平进行检测,观察 anti-ASGPR 与肝炎患者疾病发展的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2014 年 1 月至 2015 年 12 月就诊的 HBV 感染患者共 60 例,其中男 31 例、女 29 例,年龄 21~77 岁、平均(48±12.4)岁,慢性乙肝患者 30 例、慢性乙肝后肝硬化患者 30 例;HCV 感染患者共 60 例,其中男 28 例、女 32

例,年龄 22~85 岁、平均(56±13.5)岁,慢性丙肝患者 30 例、慢性丙肝后肝硬化患者 30 例。HBV 感染、HCV 感染患者的诊断标准均参照 2000 年 9 月由中华医学会传染病学分会、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》制订的肝炎肝硬化诊断标准。60 例健康体检者为对照组,其中男 28 例、女 32 例,年龄 19~78 岁、平均(46±16.3)岁。

1.2 仪器与试剂 anti-ASGPR 采用酶联免疫反应测定(试剂购自武汉伊艾博科技有限公司),抗-HBV、抗-HCV 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定(试剂购自华美公司),丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测采用贝克曼 DXI800 分析仪及配套试剂。

1.3 方法 采集受检者空腹静脉血 4 mL,离心后检测血清 ALT、anti-ASGPR 水平,检测仪器均由工程师对仪器进行校准且室内质控在控,检测过程严格按照试剂说明书进行操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,采用 Spearman

相关性分析探讨病毒感染患者 anti-ASGPR 与 ALT 的相关性,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HBV 感染组试验结果 HBV 感染组患者血清 anti-ASGPR 水平比对照组明显增高,差异有统计学意义 ($P<0.01$)。慢性乙肝后肝硬化组血清 anti-ASGPR 水平明显比慢性乙肝组高,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。相关分析显示 anti-ASGPR 与 ALT 无相关性。见表 1。

表 1 HBV 感染组实验结果 ($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	anti-ASGPR(U/mL)	ALT(U/L)
HBV 感染组			
慢性乙肝组	30	37.28±29.80*#	48.72±23.95*
慢性乙肝后肝硬化组	30	123.77±36.26*	75.73±38.39*
对照组	60	11.85±5.83	26.28±9.46

注:与对照组比较,* $P<0.01$;与慢性乙肝后肝硬化组比较,# $P<0.05$ 。

2.2 HCV 感染组试验结果 HCV 感染组患者血清 anti-ASGPR 水平比对照组明显增高,差异有统计学意义 ($P<0.01$)。慢性丙肝后肝硬化组血清 anti-ASGPR 水平明显比慢性丙肝组高,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。通过相关性分析 anti-ASGPR 与 ALT 无相关性。见表 2。

表 2 HCV 感染组试验结果 ($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	anti-ASGPR(U/mL)	ALT(U/L)
HCV 感染组			
慢性丙肝组	30	92.12±72.48*#	46.63±24.19*#
慢性丙肝后肝硬化组	30	233.77±103.83*	80.16±52.01*
对照组	60	11.85±5.83	26.28±9.46

注:与对照组比较,* $P<0.01$;与慢性丙肝后肝硬化组比较,# $P<0.05$ 。

2.3 HBV 感染组与 HCV 感染组 anti-ASGPR 水平比较 慢性乙肝患者血清 anti-ASGPR 水平与慢性丙肝比较,差异有统计学意义 ($t=3.832,P<0.01$);慢性乙肝后肝硬化患者血清 anti-ASGPR 水平与丙肝后肝硬化比较,差异有统计学意义 ($t=5.478,P<0.01$)。

3 讨 论

ASGPR 又称半乳糖受体。ASGPR 的胞外结构域含有糖识别结构域(CRD),能识别和结合半乳糖残基和 N-乙酰半乳糖胺残基。当 CRD 与特异的糖残基结合后,即发生受体介导的胞吞作用。ASGPR 的主要功能是清除外周血循环中失去末端唾液酸而暴露半乳糖残基或乙酰半乳糖胺残基的糖蛋白、脂蛋白和凋亡细胞^[1],还介导嗜肝病毒如 HBV 和 HCV 与肝细胞的结合及摄取。故 ASGPR 与嗜肝病毒感染及肝硬化、肝癌发生有一定的关联。ASGPR 目前被认为是肝特异性脂蛋白的重要成分之一,为肝特异性跨膜糖蛋白。ASGPR 有肝特异性和种属特异性。因位于细胞膜表面,易成为细胞免疫和体液免疫反应的靶抗原,现已在自身免疫性肝炎患者血清中筛选出 ASGPR 特异性 T 细胞克隆,患者的淋巴细胞对 ASGPR 刺激可产生显著的增殖反应,故认为 ASGPR 为自身免疫反应的靶抗原^[2]。其相应抗体为 anti-ASGPR,anti-ASGPR 是存在于自

身免疫性肝炎患者血清中唯一的器官特异性自身抗体,其效价与肝损伤程度呈正相关,与肝脏疾病活动程度密切相关是判断疾病活动强度及预后主要指标。

人类感染 HBV 后临床表现不尽相同,可以引发慢性无症状乙肝表面抗原携带、慢性乙肝、重型肝炎、肝硬化及肝细胞癌等不同结局^[3]。人类感染 HBV 后,HBV 并不能直接引起肝细胞病变,免疫反应特别是细胞介导的免疫反应在肝细胞损害的发生中起主导作用^[4-5]。这些证据提示:以细胞免疫反应为主的宿主免疫反应可能在决定 HBV 感染结局的临床表型多样性方面起着重要作用。HCV 通过入侵肝细胞,同时通过多种途径损害免疫系统破坏机体的免疫耐受性,诱发产生自身免疫反应从而加重肝损伤^[6]。丙肝患者血清中存在多种自身抗体,丙肝患者自身抗体的出现不仅与 HCV 感染有关,而且与 HCV 感染的严重程度、病程长短有关。

本研究表明慢性肝炎与肝硬化组血清 anti-ASGPR 水平均明显高于健康对照组,且肝硬化组水平明显高于慢性肝炎组,说明自身抗体通过免疫反应参与了乙肝及丙肝的炎性反应,并影响了疾病的发展及转归,这与国内外研究结果相符合^[7-8]。本研究表明丙肝组 anti-ASGPR 水平均明显高于乙肝组,与赵明才等^[9]报道相似,HCV 感染后诱导的自身免疫炎性反应高于 HBV 感染,这与 HCV 感染后慢性化程度高,且与肝硬化、肝癌等的发生及发展显著相关。在国内外一些研究中表明自身抗体与肝功能有一定的相关性^[9],而在本研究中 anti-ASGPR 与 ALT 相关性不显著,这可能与患者用药及治疗情况有关,肝特异性抗体增高引起肝组织自身免疫性反应而破坏肝细胞程度有待进步研究。

综上所述,机体在感染 HBV 及 HCV 后,产生多种自身抗体以诱导免疫反应,对肝细胞造成损害,引起坏死和炎性反应。anti-ASGPR 是肝脏的器官特异性自身抗体,本研究通过对 anti-ASGRP 测定可特异性了解肝脏的免疫反应,其在乙肝及丙肝患者血清中的水平明显高于健康人,且 anti-ASGRP 水平与疾病的发展及转归有一定的相关性,为临床诊疗与监测提供依据,对治疗和预后具有重要的帮助。

参考文献

[1] Park EI,Mi Y,Unverzagt C,et al. The asialoglycoprotein receptor clears glycoconjugates terminating with sialic acid alpha 2,6GalNAc[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005,102(47):17125-17129.

[2] Chisari FV. Rous-Whipple Award Lecture. Viruses, immunity,and cancer: lessons from hepatitis B[J]. Am J Pathol,2000,156(4):1117-1132.

[3] 任红,袁正宏,唐红,等. 慢性乙肝临床转归的相关影响因素及机制[C]//2012 中国消化系疾病学术大会论文集汇编,上海,2012. 北京:中华医学会,2012:209-211.

[4] 范列英,仲人前,孔宪涛. 慢性乙型肝炎患者血清中肝特异性自身抗体的检测[J]. 第二军医大学学报,2000,21(4):309.

[5] 秦立新,陈远林,张仁生. 孕妇乙型肝炎病毒感染与血清自身抗体的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志,2005,15(11):1712-1714.

3 讨 论

血小板活化后,颗粒膜蛋白 CD62p、PAC-1 活性显著性改变^[4]。PAC-1 与血小板表面的 GPII b/III a 和纤维蛋白原(Fg)结合^[5],在 Ca²⁺ 的协助下发生血小板聚集^[2]。所以,检测血小板聚集功能对于早期血栓形成的风险评估,阐明疾病的病理机制及临床治疗方案的选择有重要意义。

LTA 经过 PRP 与 PPP 透光度对比,经光电转换换算为聚集百分数 ADP%^[3]。FC 以检测血小板早期活化标志物 PAC-1^[6] 及后期活化标志物 CD62P 来分析血小板聚集功能。VerifyNow 通过加入前列腺素 E1(PGE1)抑制 ADP 与 P2Y1 受体结合,特异性检测服用噻氯吡啶类药物(如氯吡格雷)抑制 P2Y12 后的小血小板聚集功能。同时,以凝血酶激活通路(不受 P2Y12 阻断剂影响)的血小板聚集值作为基线,两者对比后得出 INHI%。TEG 早期用于临床输血,近年扩展到心脑血管疾病的风险评估、预测、监测^[6-7]。原理:枸橼酸化高岭土激活全血测得 MA 值(TEG 图中两线之间最大距离的 1/2,表示血块聚集的最大强度,MA_{高岭土}),激活剂 A 测得 MA 值(纤维蛋白作用部分,MA_A),ADP 测得 MA 值(MA_{ADP}),经公式 $ADP_{TEG-INHI}(\%) = \frac{MA_{高岭土} - MA_{ADP}}{MA_{高岭土} - MA_A} \times 100\%$ 计算。此凝血监测方案已在世界 40 多个国家使用^[3]。PL-11 通过加入 ADP 诱导血小板聚集前、后的血小板数量对比得出聚集率,反映血小板聚集功能。

本实验中,5 个仪器测得的健康对照组与单服氯吡格雷组参数对比,发现 VerifyNow 测得的 PRU、BASE 与 TEG 测得的 MA(凝血酶)(mm)3 个参数之间差异无统计学意义。可能原因:BASE 是凝血酶通路的小血小板聚集率,MA(凝血酶)(mm)也是凝血酶激活的小血小板聚集幅度值,这两个参数无差异。这说明本次实验健康对照组与患者组在凝血酶引起的凝血功能方面差异没有统计学意义,但并不能下结论:凝血酶诱导的小血小板聚集功能无差别。原因有二:(1)凝血酶是人体凝血系统最主要的节点,它不仅与血小板功能相关性强,与凝血因子的功能相关性也很强。此结果的产生很可能是两者共同合力的作用,本研究并未分析凝血因子方面的状况。(2)本实验中,观察例数还不足,普遍性有待进一步的研究。其他 ADP%、ADP 激活的 PAC-1、CD62p 受体活化百分率,INHI%,TEG 测得 ADP 诱导的 MA(mm)值 6 个参数有差异,证明氯吡格雷有一定的抗血小板聚集功能,但是抑制强度不强。可能是其药效比较温和,或者是与遗传变异性、患者依从性差、氯吡格雷剂量不足以及 CYP3A4 相关的药物间相互作用等因素有关^[8]。从表 2 的结果可以看出其中相关性最好的是 ADP%和 MAR%。同时,ADP%与其他参数(TEG 测得的% Agg 除外)相关性都较好,说明了 LTA 是检查血小板聚集功能的良好方法。而其他仪器参数之间相关性一般,说明 Veri-

fyNow、FC 两种方法与 LTA 比较起来,优点并不明显。TEG 结果和其他 4 种仪器的分析结果基本无相关性,原因有:(1)本实验的检测例数较少,偶然性较大;(2)此方法学存在缺憾。具体原因需要同行们进行更深入的研究。

综上所述,PL-11 有一定的准确性与可靠性,可供临床选择;FC 特异性好、灵敏度高,但费用昂贵,对操作技能要求高,可作为常规结果的辅助性确认;VerifyNow 操作简便,适用于急诊、床边检验(POCT);TEG 展示凝血全过程,其中可发现各环节的缺陷与异常,适于凝血系统异常的观察判断。LTA 操作便捷、廉价、结果稳定,在医院普及率高,是临床监测血小板聚集功能的首选方法。

参考文献

[1] Jeong YH, Kim IS, Choi BR, et al. The optimal threshold of high post-treatment platelet reactivity could be defined by a point-of-care VerifyNow P2Y12 assay[J]. Eur Heart J, 2008, 29(17): 2186-2187.

[2] Hobson AR, Petley GW, Dawkins KD, et al. A novel fifteen minute test for assessment of individual time-dependent clotting responses to aspirin and clopidogrel using modified thrombelastography[J]. Platelets, 2007, 18(7): 497-505.

[3] 任军伟, 张艳萍, 丛玉隆, 等. 血栓弹力图与光电比浊法检测氯吡格雷抗血小板功能[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(6): 48-50.

[4] 徐敬敏, 陈颖, 胡有东. 急性脑梗死硫酸氢氯吡格雷治疗前后 CD62P 和 CD63 的关系[J]. 中国误诊学杂志, 2012, 12(8): 1834-1835.

[5] 张妍, 段传志, 李铁林, 等. 血小板活化特异性标志物 PAC-1 和 CD62p 与急性脑梗死病情严重程度的相关性[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2011, 37(11): 698-701.

[6] Swallow RA, Agarwala RA, Dawkins KD, et al. Thromboelastography: potential bedside tool to assess the effects of antiplatelet therapy? [J]. Platelets, 2006, 17(6): 385-392.

[7] 李建华, 曹剑, 范利. 氯吡格雷抵抗临床防治的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2015, 17(12): 1324-1326.

[8] 关杰, 任军伟, 朱远, 等. 光学比浊法与连续血小板计数法监测血小板聚集功能的比较[J]. 解放军医学院学报, 2013, 34(8): 838-841.

(收稿日期:2016-02-28 修回日期:2016-06-27)

(上接第 2269 页)

[6] 檀玉芬, 闫惠平, 赵艳, 等. 丙型肝炎和自身免疫性肝炎自身抗体的特点分析[J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(5): 622-625.

[7] 王妙婵, 徐爱芳, 刘苑. 慢性乙肝进展过程中自身抗体检测的临床意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(6): 852-853.

[8] 李昌华, 杨广燕. 慢性丙肝患者血清中自身抗体的检测以

及临床意义评估[J/CD]. 临床医药文献电子杂志, 2015, 23(23): 4762.

[9] 赵明才, 陈琼, 罗光成, 等. 乙型肝炎和丙型肝炎患者血清抗肝特异性抗体测定[J]. 川北医学院学报, 2012, 27(5): 450-453.

(收稿日期:2016-03-07 修回日期:2016-06-13)