

• 短篇论著 •

慢性乙型肝炎病毒感染患者 DNA 载量与机体免疫状态的关系^{*}

孟凡萍¹,郝 坡^{2△}

(1. 重庆三峡中心医院医学检验科,重庆 400001;2. 重庆三峡医药高等专科学校医学技术系,重庆 400020)

摘要:目的 探讨慢性 HBV 感染患者 DNA 载量与机体免疫状态的关系。方法 将该院 2017 年 3 月至 2018 年 12 月门诊及住院的慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染者 120 例分为 5 个处理组,并以体检健康者 30 例作为健康对照组,用流式细胞仪检测各组患者淋巴细胞亚群状况,用荧光定量 PCR 仪检测 HBV DNA 载量。结果 与健康对照组比较,HBV 感染的处理组的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 均有明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着 HBV DNA 载量的升高而升高,各处理组的 CD4⁺/CD8⁺ 较健康对照组有明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着 HBV DNA 载量的升高呈下降趋势。结论 慢性 HBV 感染患者免疫状态与 DNA 载量有关,HBV DNA 载量越高,机体免疫反应越活跃,机体细胞免疫逐步出现紊乱。

关键词:乙型肝炎病毒; 慢性乙型肝炎; DNA 载量; 淋巴细胞亚群

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.030

文章编号:1673-4130(2018)20-2572-02

中图法分类号:R446.5;R446.6

文献标识码:B

乙型肝炎病毒(HBV)是一种 DNA 病毒,属于嗜肝 DNA 病毒科,人体感染后引起急、慢性乙型肝炎(以下简称乙肝)或成为无症状病毒携带者,迁延难愈,最终可能发展成为肝硬化、肝癌等^[1]。中国 HBV 感染率为 60%~70%;乙肝表面抗原携带率约占总人口的 7.18%,以此计算,全国约有 9 300 万人携带 HBV,其中慢性乙肝患者约 3 000 万例,慢性乙肝发病率高达 9.09%^[2]。但目前对慢性乙肝发病机制尚未彻底清楚,多数学者认为与免疫应答或免疫调节功能紊乱有关^[3-4]。成人、儿童及幼儿感染 HBV 后,分别有 5%、30% 和 95% 成为慢性 HBV 感染者,这表明机体免疫成熟程度是决定 HBV 持续感染的重要因素^[5]。HBV 虽有“嗜肝性”,但感染后并不直接损伤肝细胞,而是由机体自身的免疫损伤,即机体启动淋巴细胞介导的细胞免疫反应清除 HBV,从而引发肝细胞病理改变,这是乙肝的发病机制,故人体感染 HBV 后,淋巴细胞亚群的改变是 HBV 在体内复制的主要原因^[6],可见 HBV DNA 载量与淋巴细胞亚群之间具有相关性。本研究旨在探讨慢性 HBV 感染患者 DNA 载量与机体免疫状态的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2017 年 3 月至 2018 年 12 月门诊及住院的慢性 HBV 感染者 120 例。所有病例的诊断均符合中华医学会传染病与寄生虫学分会的

《病毒性肝炎防治方案》中的临床诊断标准,排除甲型肝炎病毒(HAV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒(HDV)、戊型肝炎病毒(HEV)感染及酒精性、药物性肝损伤。入选人群需 1 年内未接受免疫治疗,未使用影响免疫功能的药物。根据 HBV DNA 载量将慢性 HBV 感染者分为 5 个处理组:HBV DNA < 500 copies/mL 组(< 500 组),HBV DNA 500 ~ < 10⁴ copies/mL 组(500 ~ < 10⁴ 组),HBV DNA 10⁴ ~ < 10⁶ copies/mL 组(10⁴ ~ < 10⁶ 组),HBV DNA 10⁶ ~ < 10⁸ copies/mL 组(10⁶ ~ < 10⁸ 组)和 HBV DNA ≥ 10⁸ copies/mL 组(≥ 10⁸ 组)。同时选取本院体检健康者 30 例作为健康对照组。

1.2 方法 采用流式细胞仪检测各组受试者 T 淋巴细胞亚群,用荧光定量 PCR 仪检测 HBV 载量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

与健康对照组比较,5 个处理组的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 水平比均有明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着 HBV DNA 载量的升高而升高;5 个处理组的 CD4⁺/CD8⁺ 则比健康对照组有明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着 HBV DNA 载量的升高呈下降趋势。见表 1。

* 基金项目:重庆市卫生局科技计划项目(2011-2-411);重庆市万州区科研项目(201302002);重庆三峡医药高等专科学校校级课题(2014mpxz18)。

△ 通信作者,E-mail:hpo1979@126.com。

本文引用格式:孟凡萍,郝坡.慢性乙型肝炎病毒感染患者 DNA 载量与机体免疫状态的关系[J].国际检验医学杂志,2018,39(20):2572-2573.

表 1 各组淋巴细胞亚群水平比较($\bar{x} \pm s$, 个/ μL)

组别	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
健康对照组	989.2 ± 35.4	682.2 ± 26.8	407.1 ± 22.1	1.67 ± 0.08
<500 组	1 292.1 ± 57.2 *	839.1 ± 23.2 *	538.0 ± 21.1 *	1.56 ± 0.07 *
5 × 10 ² ~ <10 ⁴ 组	1 386.2 ± 54.2 *	779.0 ± 26.6 *	634.3 ± 23.8 *	1.23 ± 0.04 *
10 ⁴ ~ <10 ⁶ 组	1 421.0 ± 66.4 *	762.0 ± 30.4 *	682.1 ± 19.5 *	1.16 ± 0.04 *
10 ⁶ ~ <10 ⁸ 组	1 467.3 ± 65.7 *	755.3 ± 33.2 *	812.1 ± 21.5 *	0.93 ± 0.03 *
≥10 ⁸ 组	1 583.0 ± 68.8 *	677.2 ± 29.8 *	939.2 ± 25.4 *	0.72 ± 0.03 *

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$

3 讨 论

HBV 虽有“嗜肝性”,但 HBV 感染机体后并不直接对肝细胞造成损伤,而是激活淋巴细胞介导的细胞免疫反应,清除 HBV 而引发的自身肝细胞损伤。所以乙肝的发生发展与机体的细胞免疫功能状态有密切关系,淋巴细胞亚群的功能紊乱是导致 HBV 在体内持续复制的主要原因^[7-8]。

机体细胞免疫功能由 T 淋巴细胞介导,CD3⁺ 是成熟 T 淋巴细胞表面标志,故本实验选用检测 CD3⁺ 的数目来作为 T 淋巴细胞数目,人群参考范围为 955~2 860 个/ μL ,T 淋巴细胞有 2 种表面标记,即 CD4⁺ 和 CD8⁺,一般认为,CD4⁺ 介导细胞免疫反应,而 CD8⁺ 参与体液免疫反应。CD4⁺ T 淋巴细胞的人群参考范围为 500~1 400 个/ μL ,CD8⁺ T 淋巴细胞为 238~1 250 个/ μL 。CD4/CD8 被认为是机体免疫状态的评估,参考范围为 1.00~2.47,此比例降低,说明细胞免疫受损^[9]。

本研究分别用流式细胞分析技术和荧光定量 PCR 技术对慢性 HBV 感染患者外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 及血清中的 HBV DNA 载量水平进行了检测,通过分析不同病毒载量与淋巴细胞亚群变化的关系,探讨血清 HBV DNA 载量与细胞免疫功能的关系。研究结果发现,与健康对照组比较,HBV 感染的处理组的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 均有显著升高,且随着 HBV DNA 载量的升高而升高,各处理组的 CD4⁺/CD8⁺ 则比健康对照组有显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着 HBV DNA 载量的升高呈下降趋势。

本课题组前期通过应用流式细胞仪检测患者淋巴细胞亚群,对 28 例慢性乙肝患者和 12 例乙肝肝硬化患者的免疫状况进行分析,结果显示慢性 HBV 感染后,随着病情进展,由慢性肝炎到肝硬化,细胞免疫功能逐渐衰退,体液免疫功能在慢性乙肝期降低,随着病情进展到肝硬化期后,略显增高,可能因为细胞免疫衰退而呈代偿作用之故,与本研究结果一致。HBV 持续感染患者体内的病毒如何影响机体的免疫

功能,其分子机制是值得广大学者探讨的问题,期待进一步的研究。

4 结 论

慢性 HBV 感染患者免疫状态与 DNA 载量有关,HBV DNA 载量越高,机体免疫反应越活跃,CD4⁺、CD8⁺ 均有升高,但 CD8⁺ 升高幅度更大,说明机体细胞免疫已经受损,并随着 HBV DNA 载量的升高而逐步出现紊乱。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Hepatitis B[EB/OL]. [2018-01-27]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/en/>.
- [2] 梁晓峰,陈园生,王晓军,等.中国 3 岁以上人群乙型肝炎血清流行病学研究[J].中华流行病学杂志,2005,26(9):655-658.
- [3] YF L, CHU C M. Hepatitis B virus infection[J]. Lancet, 2009, 373(9663):582-592.
- [4] 王萍,胥冰,张丽君,等.不同类型 HBV 感染者外周血 Treg/Th17 细胞的变化及意义[J].陕西医学杂志,2013,42(11):1456-1459.
- [5] CHISARI F V, FERRARI C. Hepatitis B virus immunopathogenesis[J]. Annu Rev Immunol, 1995, 13:29-60.
- [6] WANG F S. Clinical immune characterization of hepatitis B virus infection and implications for immune intervention: Progress and challenges[J]. Hepatol Res, 2007, 37(Suppl 3):S339-346.
- [7] ZHANG Z, ZHANG J Y, WHERRY E J, et al. Dynamic programmed death 1 expression by virus-specific CD8 T cells correlates with the outcome of acute hepatitis B[J]. Gastroenterology, 2008, 134(7):1938-1949.
- [8] 李彩东,吴斌,陈锡莲,等.不同病毒载量 HBV 感染者外周血 T 淋巴细胞亚群和转化生长因子 β 的变化及意义[J].临床肝胆病杂志,2014,30(9):882-886.
- [9] 曾跃红,田海清,王新华,等.乙型病毒性肝炎临床转归与机体细胞免疫功能状况的相关性研究[J].中国医药导报,2015,12(5):8-11.