

慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA含量与抗核抗体的相关性

陈志刚, 杨军, 周婷, 周迪, 李宏

■背景资料

研究HCV感染与自身免疫的关系, 将有助于探讨HCV发病机制, 对于CHC的临床治疗具有重要的意义。目前对不同HCV RNA含量时ANA变化还鲜有报道, 本实验通过对慢性丙型肝炎患者血清中ANA检测, 比较其与HCV RNA含量的关系, 并进一步分析了其特征, 评价其在丙型肝炎诊断及治疗中的作用。

陈志刚, 杨军, 周婷, 周迪, 李宏, 新疆石河子大学医学院一附院医学实验室 新疆维吾尔自治区石河子市 832000
石河子大学医学院基础与临床医学联合科研基金资助项目, No. LHJJ200609
作者贡献分布: 此课题由陈志刚设计; 研究过程由陈志刚, 杨军, 周婷, 周迪及李宏操作完成; 研究所用试剂及分析工具由陈志刚提供; 数据分析及论文写作由陈志刚完成。
通讯作者: 陈志刚, 832000, 新疆维吾尔自治区石河子市, 新疆石河子大学医学院一附院医学实验室, czg113126@163.com
收稿日期: 2008-04-14 修回日期: 2008-05-13
接受日期: 2008-05-20 在线出版日期: 2008-07-18

Relationship between serum HCV RNA and anti-nuclear antibody in chronic HCV-infected patients

Zhi-Gang Chen, Jun Yang, Ting Zhou, Di Zhou, Hong Li

Zhi-Gang Chen, Jun Yang, Ting Zhou, Di Zhou, Hong Li, Department of Medical Lab Research, the First Affiliated Hospital of the Medical College, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Basic and Clinical Medicine Joint Research Fund Innovation Program of Shihezi Medical University, No. LHJJ200609

Correspondence to: Zhi-Gang Chen, Department of Medical Lab Research, the First Affiliated Hospital of the Medical College, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. czg113126@163.com

Received: 2008-04-14 Revised: 2008-05-13

Accepted: 2008-05-20 Published online: 2008-07-18

Abstract

AIM: To retrospectively analyze relationship between serum HCVRNA and anti-nuclear antibody (ANA) thereby to elucidate significance of autoimmunology in hepatitis C virus (HCV)-infected patients.

METHODS: Fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) was performed to determine HCVRNA content in 60 serum samples of HCV-infected patients and in 30 healthy controls. Indirect immunofluorescence assay (IIF) was performed to determine anti-nuclear antibody in serum.

RESULTS: Compared with the normal control

group, ANA positive rate was significantly higher in HCV-infected patients ($\chi^2 = 13.45, P < 0.01$). With the elevated serum HCVRNA, ANA positive rate gradually increased ($\chi^2 = 22.5, P < 0.01$). Granular pattern was primary in ANA three groups, but with HCV RNA content increased, the positive proportion of ANA was gradually elevated. Low titer was mainly present in anti-nuclear antibody of HCV-infected patients. With the increased virus concentration, high titer of anti-nuclear antibody had a increasing trend.

CONCLUSION: There is a certain degree of auto-immune phenomena in HCV-infected patients, which is strengthened with increasing viral load. Determination of relationship between HCV infection and autoimmunology will be helpful to understanding of HCV pathogenesis and of great significance to CHC clinical diagnosis and treatment.

Key Words: Chronic hepatitis C; Anti-nuclear antibody

Chen ZG, Yang J, Zhou T, Zhou D, Li H. Relationship between serum HCV RNA and anti-nuclear antibody in chronic HCV-infected patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(20): 2316-2319

摘要

目的: 回顾性分析慢性丙型肝炎(CHC)患者血清HCV RNA含量与抗核抗体(ANA)的变化规律, 探讨自身免疫在丙型肝炎病毒(HCV)感染中的意义。

方法: 荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测60例CHC患者及30例健康者血清中HCV RNA含量。间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)检测血清中抗核抗体。

结果: CHC患者与正常对照组比较, ANA阳性率显著增高($\chi^2 = 13.45, P < 0.01$)。随着血清中HCV RNA含量升高, ANA阳性率逐渐增高(χ^2

■同行评议者

杨林, 副研究员, 中山大学附属第三医院感染病科; 王炳元, 教授, 中国医科大学附属第一医院消化内科

= 22.5, $P < 0.01$). 三组ANA核型均以颗粒型为主, 但抗核仁抗体随着HCV RNA含量升高, 阳性比例逐渐升高. CHC患者的抗核抗体以低滴度为主, 随着病毒含量的增高, 高滴度的抗核抗体有增多的趋势.

结论: CHC患者存在一定程度自身免疫现象, 随着病毒载量增高而加重. 明确HCV感染与自身免疫的关系, 将有助于探讨HCV发病机理, 对于CHC的临床诊断、治疗具有重要的意义.

关键词: 慢性丙型肝炎; 抗核抗体

陈志刚, 杨军, 周婷, 周迪, 李宏. 慢性丙型肝炎患者血清HCV-RNA含量与抗核抗体的相关性. 世界华人消化杂志 2008; 16(20): 2316-2319
http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2316.asp

0 引言

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染严重威胁人类健康, 特别是与自身免疫的关系, 已越来越受到人们广泛关注^[1-3]. 研究HCV感染与自身免疫的关系, 将有助于探讨HCV发病机制, 对于慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的临床治疗具有重要的意义. 对CHC患者自身抗体检测以往多有报告^[4-8], 但对不同HCV RNA含量时抗核抗体的(anti nuclear antibodies, ANA)产生规律、核型和滴度的描述及其与临床相关性的研究还鲜有报道. 本实验通过对CHC患者血清中ANA的检测, 比较其与HCV RNA含量的关系, 并进一步分析其特征, 评价其在CHC诊断及治疗中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-01/07我院门诊及住院CHC患者60例, 男37例, 女23例, 年龄22-67(平均44.16)岁. 诊断符合2000年(北京)第十次全国病毒性肝炎及感染病学术会议所修订诊断标准. 所有病例近3 mo内未使用过干扰素, 均排除HBV感染、其他病毒感染、自身免疫性疾病及其他引起免疫功能改变的疾病. 献血员30例为正常对照, 男17例, 女13例, 年龄20-66(平均42.62)岁(肝功能正常, 肝炎病毒标志物阴性, 排除其他自身免疫性疾病). 两组年龄、性别差异无显著性.

1.2 方法 HCV RNA的检测, 采用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR). 用PE5700荧光PCR仪(美国Perkin Elmer公司)自动检测, 试剂由广州中山医科大学达安基因诊断中心提供, 检测值用

表1 血清HCV RNA含量与抗核抗体检出率的关系

分组	n	阳性数	阳性率(%)
对照组	30	2	6.7
低载量组	20	6	30.0 ^a
中载量组	20	7	35.0 ^a
高载量组	20	14	70.0 ^{bce}

^a $P < 0.05$, $\chi^2 = 4.9$, $\chi^2 = 6.5$; ^b $P < 0.01$, $\chi^2 = 19.4$ vs 对照组;
^c $P < 0.05$, $\chi^2 = 6.4$ vs 低载量组; ^e $P < 0.05$, $\chi^2 = 4.9$ vs 中载量组.

拷贝/L表示. 我们把HCV RNA按病毒载量分为3组: HCV RNA $\geq 10^8$ /L为高病毒载量组, 10^8 - 10^5 /L为中载量组, 10^5 -80 000/L为低载量组, 献血员为正常对照组(<80 000/L). IIF检测自身抗体试剂盒购自德国欧盟公司, 试剂盒联合使用为已固定在载玻片上的人类上皮细胞(Hep-2)和灵长类肝脏组织切片这两种基质. 荧光二抗为FITC标记的羊抗人IgG. 标本集中用同批试剂一批检测, 实验步骤按试剂盒所附说明书进行, 待测血清自1:100起稀释, 检测阳性血清分别进行1:320、1:1000稀释以确定最终滴度. 结果判定在石河子大学医学院一附院医学实验室进行, 同时, 由石河子大学医学院病理教研室的专家对结果进行确定, 一致率达到90%以上.

统计学处理 阳性率间比较均采用 χ^2 检验.

2 结果

2.1 CHC患者及正常人血清ANA检测结果分析 60例CHC患者血清共检出27例ANA阳性, 阳性率为45.00%, 而30健康对照组检出2例ANA阳性, 阳性率为6.67%, 两组阳性率比较, 差异非常显著($\chi^2 = 13.45$, $P < 0.01$).

2.2 血清HCV RNA含量与ANA检出率的关系 根据血清中HCV RNA含量将其分为4组, 结果发现: 随着HCV RNA含量升高, 自身抗体阳性率逐渐增高, 4组间抗核抗体的比例经行 χ^2 检验差异有统计学意义($\chi^2 = 22.5$, $P < 0.01$), 3组患者ANA阳性率都高于正常对照组($P < 0.05$), 随着病毒载量的增高有逐渐增高的趋势, 而且高载量组ANA阳性率显著高于低载量组和中载量组($P < 0.05$, 表1).

2.3 血清HCV RNA含量与抗核抗体的荧光图型变化 ANA的核型有多种, 均以颗粒型为主, 但低、中、高病毒载量组的抗核仁型抗体的比例数逐渐升高(表2).

2.4 血清HCV RNA含量与ANA阳性的滴度分布情况 CHC患者的抗核抗体以低滴度为主, 但随

■创新盘点

对CHC患者自身抗体检测以往多有报告, 但对不同HCV RNA含量时抗核抗体的产生规律、核型和滴度的描述及其与临床相关性的研究还鲜有报道.

应用要点

本研究通过对慢性丙型肝炎患者不同HCV RNA含量时抗核抗体的变化及其与临床相关性的研究,评价其在丙型肝炎诊断及治疗中的作用,这对于实施个体化治疗具有临床价值。

表 2 血清HCV RNA含量与抗核抗体的荧光图型变化

分组	n	抗核抗体						
		阳性数	H	SP	Md	N	MSA	Centro
对照组	30	2	0	2	0	0	0	0
低载量组	20	6	1	3	0	1	0	1
中载量组	20	7	1	2	1	2	1	0
高载量组	20	14	1	4	2	5	1	1

H: 均质型; Sp: 斑点型; Md: 抗核点型; Centro: 抗着丝点抗体; N: 核仁型; MSA: 纺锤体抗体。

随着病毒含量的增高,高滴度的抗核抗体有增高的趋势(表3)。

3 讨论

许多病毒感染可诱发自身免疫反应,其中以HCV诱导的自身免疫最为常见^[7]。HCV感染可通过分子模拟现象激活自身免疫反应性CD8⁺T细胞,从而导致自身免疫^[9-10],因此HCV感染患者存在明显的自身免疫现象。已有研究表明,自身免疫是HCV损伤机体的一个重要因素^[11]。

本研究结果表明,在HCV RNA⁺血清中ANA的阳性率为45.00%,显著高于健康对照组6.67%($P<0.01$),提示HCV感染可伴有明显的自身免疫现象。HCV感染者体内出现自身抗体是丙型肝炎病变发展过程中的一种特征性表现,并可能是肝炎病毒造成肝组织损伤的机制之一。

对于ANA阳性率是否与病毒复制水平有关有不同报道^[12-14]。本研究发现ANA的阳性率随着病毒含量的增高而显著增高($P<0.01$),说明ANA阳性率与病毒复制水平有关。在我们以往的研究中已经证明HCV感染可导致免疫调节功能紊乱即随着血清中HCV RNA含量升高CHC患者存在一定程度Th1/Th2型细胞的失衡,以Th2型细胞因子表达占优势,并随着病毒载量增高而加重^[15]。由此可见Th1细胞功能低下,而Th2细胞功能亢进,导致CD8⁺细胞(Tc)不能有效地清除病毒和不能有效抑制病毒的复制,出现持续感染,而可能引起一些慢性炎症反应因子持续分泌,可促进机体自身免疫的发生和发展,使慢性HCV感染者肝细胞慢性损伤和纤维化。

我们的研究发现ANA的核型有多种,均以颗粒型为主,但随着病毒含量的增高,荧光模式更加多样,抗核仁型抗体的比例数逐渐升高。提示病毒复制水平影响患者自身免疫。而自身免疫的变化可能多集中在与细胞增殖、分裂有关的核仁成分上。

表 3 血清HCV RNA含量与ANA阳性的滴度分布情况

分组	n	1 : 100	1 : 320	1 : 1000
对照组	2	2	0	0
低载量组	6	5	1	0
中载量组	7	4	2	1
高载量组	14	7	5	2

有报道显示丙型肝炎患者出现自身抗体以低滴度为主^[7,16],我们的研究发现,CHC患者的抗核抗体以低滴度为主,但随着病毒含量的增高,高滴度的抗核抗体有增高的趋势,这表明ANA的滴度与HCV RNA的复制水平有密切关系。高滴度的自身抗体的出现通常被认为是自身免疫性肝脏疾病的标志性抗体。这11例高滴度抗体的产生可能是病毒感染过程中的自身免疫反应所导致的,亦可能是HCV患者同时合并有自身免疫性肝病,确切机制有待于进一步研究。但一般认为,多数自身抗体在低滴度时,是自身免疫反应或疾病的标志,不直接影响免疫系统功能,在高滴度时才与自身免疫性疾病密切相关。对于丙型肝炎患者的治疗,干扰素已被公认为抗病毒治疗的有效药物,但干扰素抗病毒治疗可诱导或增强自身免疫,若存在高滴度自身抗体时,用干扰素治疗就会使病情恶化。而激素类可治疗自身免疫性疾病,但使病毒复制增强,因此有HCV感染及有自身免疫现象特别是存在较高滴度自身抗体的患者,如何选择治疗方案成为关键问题。临床医师在对HCV感染患者进行治疗过程中,进行自身抗体的检测以及滴度的监测,这对于患者实施个体化治疗具有重要临床价值。

4 参考文献

- 1 韩咏梅,陈静. 丙型肝炎病毒感染者血清中自身抗体的检测及临床意义. 实用医药杂志 2005; 22: 607
- 2 Giordano N, Amendola A, Papakostas P, Cipolli F, Agate VM, Battisti E, Marchi B, Nuti R. Immune and autoimmune disorders in HCV chronic liver disease: personal experience and commentary on literature. *New Microbiol* 2005; 28: 311-317
- 3 张春明,牛广华,钱铸山. 丙型肝炎病毒感染者血清中自身抗体检测结果分析. 临床肝胆病杂志 2006; 22: 107-108
- 4 Squadrito G, Previti M, Lenzi M, Le Rose EP, Caccamo G, Restuccia T, Di Cesare E, Pollicino T, Raimondo G. High prevalence of non-organ-specific autoantibodies in hepatitis C virus-infected cirrhotic patients from southern Italy. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 349-353
- 5 Zusinaite E, Metskula K, Salupere R. Autoantibodies and hepatitis C virus genotypes in chronic hepatitis C patients in Estonia. *World J Gastroenterol* 2005; 11:

- 488-491
- 6 Mahrous S, Mangoud A, Eissa M, Sabee E, Amin I, Ismail A, Morsy T, Afefy A, el-Shorbagy E, Nour Eldin E, Mostafa Y, Abouel-Magd Y, el-Sadawy M, Ragab H, Hassan M, Lakouz K, Abdel-Aziz K, Saber M, el-Hady G. Autoantibodies in HCV infected patients at Sharkia Governorate, Egypt. *J Egypt Soc Parasitol* 2004; 34: 429-446
 - 7 吴赤红, 徐小元, 田庚善, 于岩岩. 慢性丙型肝炎患者血清自身抗体检测的研究. *中华医学杂志* 2006; 86: 390-393
 - 8 许顺姬, 韩学吉, 朴红心. 延边地区慢性丙型肝炎患者血清中自身抗体的检测及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2889-2891
 - 9 Longman RS, Talal AH, Jacobson IM, Albert ML, Rice CM. Presence of functional dendritic cells in patients chronically infected with hepatitis C virus. *Blood* 2004; 103: 1026-1029
 - 10 张悦, 朱玉琨, 王惠莹, 郑勤, 吕耀. 慢性丙型肝炎患者自身抗体检测的临床分析. *西南国防医药* 2004; 14: 166-167
 - 11 齐名, 熊华, 邵海枫, 刘新钰, 宗永兰, 吴引伟, 李保全, 李鹤林. 不同基因型丙型肝炎病毒感染者的自身免疫表现. *临床检验杂志* 2002; 20: 8-10
 - 12 陈琳, 王峰, 倪丽萍, 吴月平. 丙型肝炎75例血清自身抗体水平测定. *南通大学学报(医学版)* 2007; 27: 129-130
 - 13 梁仲城. 丙型肝炎患者自身抗体检测的临床意义. *右江民族医学院学报* 2005; 27: 647-649
 - 14 李颖, 徐鑫, 刘沛, 王雪莲, 王贵新. 慢性丙型肝炎患者自身抗体检测的临床意义. *肝脏* 2007; 12: 17-19
 - 15 陈志刚, 杨军, 周婷, 周迪, 李红. 慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA含量与IFN- γ 及IL-4的变化关系. *临床检验杂志* 2007; 32: 146
 - 16 王宵伟, 王江滨, 孟祥伟. 自身免疫性肝炎与丙型肝炎伴自身免疫现象者抗体水平的比较与临床分析. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 176-177

■同行评价
本文对不同HCV RNA含量时抗核抗体的产生规律、核型和滴度的描述及其与临床相关性的研究, 可能对HCV的发病机制和治疗提供实验基础, 具有一定的实际意义。

编辑 李军亮 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成t_{1/2}或T, Vmax不能写Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ, Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, Vd, T_{1/2} CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白. (常务副总编辑: 张海宁 2008-07-18)