

血清乙肝病毒 DNA 载量对乙型肝炎病毒 相关性肾炎病理变化的影响

蒋伟, 刘丽秋

(青岛大学医学院附属医院肾内科, 山东 青岛 266003)

[摘要] 目的: 回顾性研究血清乙型肝炎病毒 DNA (hepatitis B virus DNA, HBV-DNA) 载量与乙型肝炎病毒相关性肾炎 (hepatitis B virus associated-glomerulonephritis, HBV-GN) 肾脏病理演变的相关性。方法: 根据血清 HBV-DNA 载量, 将 41 例 HBV-GN 患者分为 3 组, 分别为低度复制组、中度复制组、高度复制组。分析其中 35 例膜性肾病患者病理分期与病毒 DNA 复制的相关性; 根据免疫组织化学染色结果, 比较 HBV-DNA 复制水平对肾组织 HBV 抗原沉积的影响, 以及 HBV 抗原沉积对膜性肾病病理变化的影响。结果: 随着 HBV-DNA 复制增加, 35 例膜性肾患者的肾脏病理损害逐渐加重, DNA 定量水平与病理变化之间存在相关性; 随着 HBV-DNA 复制的增加, HBV 抗原在肾小球沉积的数量增加; 随着 HBV 抗原沉积的增加, 膜性肾患者的肾脏病理损害加重。结论: 随着 HBV-DNA 复制增多, 乙肝病毒抗原成分沉积增多, 肾脏病理损害逐渐加重, 其变化存在相关性。

[关键词] 肝炎病毒, 乙型; 肾炎; DNA, 病毒; 病理学

[中图分类号] R692.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-7347(2008)09-0857-04

Effect of content of hepatitis B virus DNA in the serum on the pathologic change in hepatitis B virus associated-glomerulonephritis

JIANG Wei, LIU Li-qiu

(Department of Nephrology, Attached Hospital of Medical School, Qingdao University,
Shandong Qingdao 266003, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between the content of hepatitis B virus DNA (HBV-DNA) in the serum and the pathologic change in hepatitis B virus associated-glomerulonephritis (HBV-GN). **Methods** Forty one HBV-GN patients were divided into 3 groups by the content of HBV-DNA in the serum: low replicate group, midrange replicate group, and high replicate group. The relationship with the content of HBV-DNA in the serum and pathologic stage or change was analyzed in 35 membranous glomerulopathy patients; Effect of the content of hepatitis B virus DNA in the serum on HBVAg deposition in glomeruli of kidney was examined by immunohistochemistry; Effect of HBVAg deposition on pathologic change was observed in membranous glomerulopathy patients. **Results** With the multiplication of HBV-DNA in the serum, the pathologic lesion was aggravating from Stage I to Stage III in membranous glomerulopathy patients; the deposition of HBVAg in glomeruli of kidney was increasing; with the increasing of deposition of HBVAg in glomeruli of kidney, the pathologic lesion was aggravating in membranous glomerulopathy patients. **Conclusion** With the multiplication of HBV-DNA in the serum, the deposition of HBVAg in glomeruli of kidney increa-

收稿日期 (Date of reception) 2007-01-03

作者简介 (Biography) 蒋伟(1980-), 男, 山东诸城人, 医师, 从事肾小球硬化机制的研究。

通讯作者 (Corresponding author) 蒋伟, E-mail: jw-qy@163.com

ses, and the pathologic lesion aggravates, which have significant correlation.

Key words: hepatitis B virus; nephritis; DNA, virus; pathology

[*J Cent South Univ (Med Sci)*, 2008, 33(9):0857-04]

乙型肝炎病毒相关性肾炎(hepatitis B virus associated-glomerulonephritis, HBV-GN)是指由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)直接或间接诱发的肾小球肾炎,经血清免疫学及肾活检免疫荧光所证实,并排除其它继发性肾小球肾炎的一种疾病。HBV-GN的病理类型多种多样,目前比较公认的病理类型有膜性肾病及膜增生性肾小球肾炎,其它还包括IgA肾病、系膜增生性肾小球肾炎、狼疮性肾炎等病理类型。乙型肝炎病毒DNA(HBV-DNA)复制与病毒携带者的临床表现及预后密切相关,乙型肝炎呈世界性流行,据世界卫生组织报告,全球约20亿人曾感染过HBV(其中3.5亿为慢性HBV感染者),目前研究发现病毒复制与肝组织病变可能存在某种量效关系^[1-2]。但HBV-DNA复制与肾脏病理损害及病理变化是否存在相关性,目前尚未有研究报道。本文通过临床回顾性研究,探讨HBV-DNA复制水平与HBV-GN肾脏病理演变的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取近5年来在我科收治的HBV-GN患者41例,其中男30例,女11例,年龄17~64(36.3±10.1)岁。41例患者均行肾穿刺活检病理证实存在HBV抗原沉积,符合我国1989年制定的乙型肝炎病毒相关性肾炎的诊断标准^[3]。41例患者存在不同程度HBV-DNA复制,在肾穿刺活检病理中膜性肾病35例,占85.4%,膜增生性肾小球肾炎5例,占12.2%,系膜增生性肾小球肾炎1例,占2.4%。

1.2 HBV-DNA定量检测方法 HBV-DNA采用FQ-PCR定量检测,试剂选用深圳匹基公司生产的乙肝病毒(HBV)核酸扩增(PCR)荧光检测试剂盒。方法如下:(1)根据血清HBV-DNA载量水平将HBV-GN患者分为3组,分别为低度复制组(DNA < 10⁵ copies/mL)、中度复制组(10⁵ copies/mL ≤ DNA < 10⁷ copies/mL)、高度复制组(DNA ≥ 10⁷ copies/mL)。其中低度复制组膜性肾病6例,系膜增生性肾小球肾炎1例;中度复制组膜性肾病20例,膜增生性肾小球肾炎2例;

高度复制组膜性肾病9例,膜增生性肾小球肾炎3例。分析35例膜性肾病患者病理分期与病毒复制水平的相关性,其它病理类型样本量少不予相关分析。(2)41例切片均随机选取10个肾小球,观察每个肾小球有无阳性染色(DAB染色),根据染色结果计算阳性率,并比较HBV-DNA复制水平对HBV抗原沉积的影响。(3)35例膜性肾病根据病理分期分为3组,分别为膜性肾病I期组、膜性肾病II期组和膜性肾病III期组。根据HBV抗原免疫组化染色结果计算阳性率,比较病理分期与HBV抗原沉积有无差别。

1.3 统计学处理 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间资料比较采用One-way ANOVA单因素方差分析,两组间比较运用t检验;计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清HBV-DNA载量与膜性肾病病理分期的相关性 随着血清HBV-DNA载量的增加,乙型肝炎病毒相关性膜性肾病(hepatitis B virus associated-membranous glomerulopathy, HBV-MN)患者的病理损害逐渐加重,复制数量级越大病变越重。低度复制组中膜性肾病I期占50%,II期占33.3%,III期占16.7%;而高度复制组中膜性肾病I期占11.1%,II期占33.3%,III期占55.6%,其差异具有统计学意义($P < 0.05$,表1,图1)。

表1 血清HBV-DNA载量与膜性肾病病理分期关系(例)
Tab. 1 Relationship of the HBV-DNA content in serum and pathologic stage (case)

分组	病理分期		
	I期	II期	III期
低度复制组	3	2	1
中度复制组	2	15*##	3##
高度复制组	1	3	5**

与低度复制组比较, ** $P < 0.01$; 与高度复制组比较, ## $P < 0.01$ 。

2.2 血清HBV-DNA载量对HBV抗原沉积的影响 随着血清HBV-DNA载量的增加,免疫

组织化学肾小球染色阳性率增加,即 HBV 抗原在肾小球沉积的数目是增加的,低度复制组与高度复制组之间、中度复制组与高度复制组之间差别具有统计学意义(均 $P < 0.01$),而低度复制组与中度复制组之间未显示统计学差别($P > 0.05$,表 2)。

表 2 血清 HBV-DNA 载量对 HBV 抗原沉积的影响($\bar{x} \pm s$)
Tab.2 Effects of the content of HBV-DNA in surum on HBV Ag deposition in glomeruli($\bar{x} \pm s$)

分组	n	HBV 抗原沉积阳性率(%)
低度复制组	7	0.2286 ± 0.1380
中度复制组	22	0.3318 ± 0.1492
高度复制组	12	0.4833 ± 0.1403 * * ##

与低度复制组比较, * * $P < 0.01$;与中度复制组比较, ## $P < 0.01$

随着膜性肾病分期不同,可以看出 HBV 抗原在肾小球沉积的数目增加,即 HBV 抗原在肾小球沉积的数目增加,肾脏病理损害加重。膜性肾病 III 期与 I 期、II 期沉积数目具有统计学差别($P < 0.05$),I 期与 II 期之间未显示统计学差别($P > 0.05$,表 3,图 2)。

表 3 HBV 抗原沉积对膜性肾病病理变化的影响($\bar{x} \pm s$)
Tab.3 Effects of HBVAg deposition on pathologic change in membranous glomerulopathy($\bar{x} \pm s$)

病理分期	n	HBV 抗原沉积阳性率(%)
I 期	6	0.2333 ± 0.1506
II 期	20	0.3250 ± 0.1517
III 期	9	0.4778 ± 0.1563 * *

与膜性肾病 I 期比较, * $P < 0.05$;与膜性肾病 II 期比较, # $P < 0.05$

2.3 HBV 抗原沉积对膜性肾病病理变化的影响

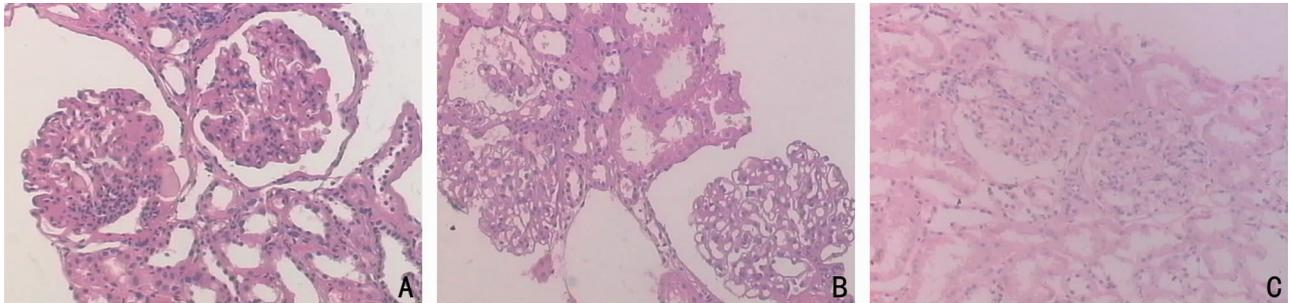


图 1 肾脏病理学变化(HE × 100)。A: 基底膜弥漫性增厚,HBV-DNA 定量为 6.3×10^7 copies/mL; B: 基底膜轻中度增厚,HBV-DNA 定量为 4×10^5 copies/mL; C: 仅见基底膜轻度增厚,HBV-DNA 定量为 5.8×10^3 copies/mL。

Fig.1 Changes of kidney pathology (HE × 100). A: Basement membranes were diffuse thickening, the content of HBV-DNA was 6.3×10^7 copies/mL; B: Basement membranes were partial thickening, the content of HBV-DNA was 4×10^5 copies/mL; C: Basement membranes were slight thickening, the content of HBV-DNA was 5.8×10^3 copies/mL.

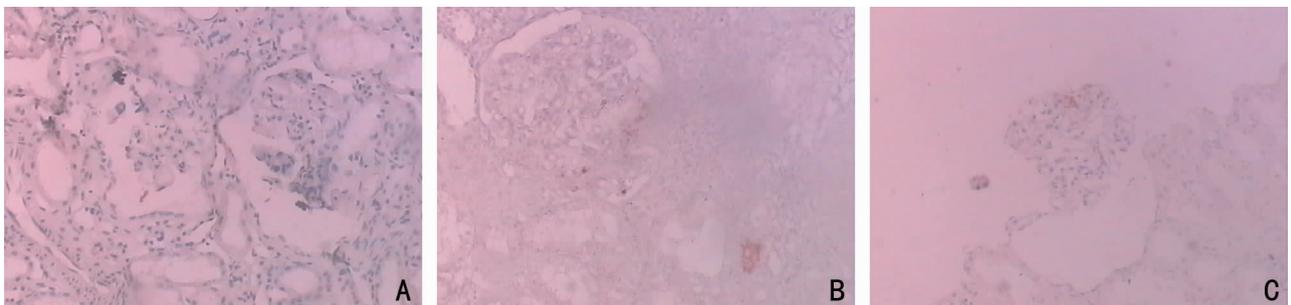


图 2 肾脏的免疫组织化学(IHC × 100)。A: 免疫组织化学示 HBsAg(+), HBcAg(+), 染色物质肾小球沉积多,肾小球基底膜弥漫性重度增厚; B: 免疫组织化学示 HBsAg(+), HBcAg(+), 染色物质肾小球沉积较多,肾小球基底膜轻中度增厚; C: 免疫组织化学示 HBsAg(+), HBcAg(+), 染色物质肾小球沉积较少,肾小球基底膜轻度增厚。

Fig.2 Kidney stained by immunohistochemical method (IHC × 100). A: The staining for HBsAg and HBcAg were positive, and the staining were high intensity in glomeruli, the basement membranes were diffuse thickening; B: The staining for HBsAg and HBcAg were positive, and the staining were high intensity in glomeruli, the basement membranes were partial thickening; C: The staining for HBsAg and HBcAg were positive, and the staining were low intensity in glomeruli, the basement membranes were slight thickening.

3 讨 论

血清 HBV-DNA 载量检测是临床观察病毒复制、传染性及采取临床治疗手段的关键指标。一般情况下 HBV-DNA 拷贝小于 10^3 意义不大。随着病毒定量的增多,病毒含量越高,病毒在体内的复制越活跃,传染性越强。在目前的一些研究中发现^[4,5],慢性乙肝患者其乙型肝炎病毒的复制与肝组织损害呈相关性,而在 HBV-GN 患者中是否存在类似关系尚无研究报道。1971 年 Combes 等^[6]首先在 1 例 53 岁的膜性肾病患者肾穿刺标本中发现肾小球基底膜上有乙型肝炎病毒表面抗原成分沉积。到目前,血清乙型肝炎病毒抗原成分都已证实在肾脏病理标本中沉积,可有一种或多种抗原阳性。至今,HBV-GN 致病机制尚不十分明确,存在多种发病机制,但比较肯定的发病机制是免疫复合物沉积在肾组织,通过激活补体及一系列细胞因子导致肾脏病理损害^[7]。HBsAg 与 HBeAg 相对分子质量较大,不能通过肾小球基底膜,主要沉积在内皮下及系膜区,形成循环免疫复合物的主要来源;而 HBeAg 相对分子质量较小,可以穿过基底膜沉积于上皮,是原位免疫复合物的主要来源。近几年研究发现 HBsAg 与 HBV-DNA 之间也存在联系。这些都间接提示在 HBV-DNA 复制与肾脏病理变化之间存在紧密联系,甚至量效关系。

通过本临床研究发现,随着 HBV-DNA 复制增多,肾脏病理免疫组化显示乙肝病毒抗原成分沉积增多,肾脏病理损害有逐渐加重的趋势。通过对 35 例 HBV-MN 患者病理分析,大部分病理显示为不典型膜性肾病,当 HBV-DNA 处于低复制水平时,在光镜下弥漫性或不规则基底膜增厚,未见钉突形成及明显系膜增生;免疫组织化学表现为阳性染色物质在肾小球毛细血管壁的沉积,累及肾小球较少而局限。随着 HBV-DNA 复制增多,可有钉突形成及明显的系膜增生甚至肾小球节段硬化;免疫组织化学可见阳性染色物质的沉积增多且累及小球数增多。即 HBV-DNA 复制水平、免疫复合物沉积、肾脏病理损害三者之间存在相关性,其变化具有统计学意义。其机制可能为 HBV-DNA 复制增多,其抗原在肾脏沉积几率增加,免疫复合物沉积增多导致多种炎症细胞及介质的激活及动员加强,最终导致肾脏病理损害。

本研究说明 HBV-DNA 复制水平可影响患者的肾脏病理损伤程度,而且临床治疗过程中也发

现患者的生化指标及预后存在差别,据此可为肾脏病理活检、临床 HBV-GN 的治疗及预后判断提供参考。但 HBV-GN 的发病机制及病理演变过程是非常复杂的,存在体液免疫、细胞免疫、多种炎症细胞及炎症介质参与,并受到遗传因素及生物社会学因素的影响^[8],因此上述可能机制尚缺乏基础研究理论支持,需要基础医学领域的深入研究以进一步探讨其本质。同时鉴于样本量及回顾性研究的限制,本研究结果也需要大规模多中心的流行病学研究进一步证实。

参考文献:

- [1] Buti M, Sanchez F, Cotina M, et al. Quantitative hepatitis B virus DNA testing for the early prediction of the maintenance of response during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B [J]. *J Infect Dis*, 2001, 183(8): 1277.
- [2] 王虹, 王省良, 万成松, 等. 微板核酸杂交-ELISA 方法对肝炎病人血清中 HBVDNA 的定量检测与分析 [J]. *第一军医大学学报*, 1999, 19(4): 354.
WANG Hong, WANG Xing-liang, WAN Cheng-song, et al. Quantification and analysis of HBV DNA in hepatitis patient serum using sandwich hybridisation-ELISA assay on microplate [J]. *Journal of First Military Medical University*, 1999, 19(4): 354.
- [3] 中华内科杂志编委会. 乙型肝炎病毒相关性肾炎座谈会纪要 [J]. *中华内科杂志*, 1990, 29(1): 519.
Editorial Committee of Chinese Journal of Internal Medicine. Summary of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis conversazione [J]. *Chinese Journal of Internal Medicine*, 1990, 29(1): 519.
- [4] Mels G C, Bellati G, Leandro G, et al. Fluctuation in viremia, aminotransferases and IgM antibody to hepatitis B core antigen in chronic hepatitis B patients with disease exacerbations [J]. *liver*, 1994, 14(2): 175-181.
- [5] 王砚冰, 石铭. 慢性乙型肝炎肝组织损害程度与 HBV-DNA 定量的关系 [J]. *临床研究*, 2006, 3(9): 442.
WANG Yan-bing, SHI Ming. The relationship with the liver lesion of chronic type B hepatitis and the quantity of HBV-DNA [J]. *Lab Med Clin*, 2006, 3(9): 442.
- [6] Canbes B, Shorey J, Banera A, et al. Glomerulonephritis with deposition of hepatitis B antigen-antibody complexes in glomerular basement membrane [J]. *Lancet*, 1971, 2(5): 234.
- [7] Bhimma R, Coovadia H M, Adhikari M. hepatitis B virus-associated nephropathy in black south African children [J]. *Pediatr Nephrol*, 1998, 12(6): 479-484.
- [8] Park M H, Song E Y, Ahn C, et al. Two subtypes of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis are associated with different HLA-DR2 alleles in Koreans [J]. *Tissue Antigens*, 2003, 62(6): 505-511.