

慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA载量与丙型肝炎抗体及抗核抗体的相关性

贾艳会, 范志娟, 郭华, 周淑芬, 刘树业

■背景资料

丙型肝炎是我国第二大类病毒性肝病,《丙型肝炎防治指南》指出丙型肝炎的实验室诊断包括抗-丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)检测,同时指出干扰素(interferon, IFN)- α 是抗-HCV的有效药物,对接受抗病毒治疗患者的随访监测应包括HCV RNA,近年有学者认为在IFN治疗过程中,会诱导或增强自身免疫的发生。因此在IFN治疗过程中监测HCV RNA,自身抗体,抗-HCV等有重要意义。

贾艳会, 范志娟, 周淑芬, 刘树业, 天津市第三中心医院检验科 天津市 300170

郭华, 天津市第三中心医院肝胆病研究所 天津市 300170
 贾艳会, 主管技师, 硕士, 主要从事临床检验和分子生物学的研究。

作者贡献分布: 本论文由刘树业设计; 材料收集、数据分析与文章撰写主要由贾艳会完成; 范志娟辅助收集材料和数据分析; 实验指标检测主要由郭华与周淑芬完成。

通讯作者: 刘树业, 教授, 主任技师, 硕士生导师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院检验科。

lshye@163.com

电话: 022-84112081

收稿日期: 2015-06-04 修回日期: 2015-07-10

接受日期: 2015-07-14 在线出版日期: 2015-08-18

Correlations between HCV RNA load and titers of anti-HCV antibody and anti-nuclear antibody in chronic hepatitis C patients

Yan-Hui Jia, Zhi-Juan Fan, Hua Guo, Shu-Fen Zhou, Shu-Ye Liu

Yan-Hui Jia, Zhi-Juan Fan, Shu-Fen Zhou, Shu-Ye Liu, Clinical Laboratory of Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

Hua Guo, Institute for Hepatobiliary Disease, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

Correspondence to: Shu-Ye Liu, Professor, Chief Technician, Clinical Laboratory of Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. lshye@163.com

Received: 2015-06-04 Revised: 2015-07-10

Accepted: 2015-07-14 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To investigate the correlations between hepatitis C virus (HCV) RNA load and the

titers of anti-HCV antibody and anti-nuclear antibody (ANA), and the change in ANA titers before and after interferon treatment, to provide guidance for the treatment of chronic hepatitis C (CHC).

METHODS: Serum samples were collected from 112 patients with CHC from January 2013 to February 2014 at Tianjin Third Central Hospital. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) was performed to detect HCV RNA, ELISA was used for the detection of anti-HCV antibody, and indirect immunofluorescence (IIF) was performed for the detection of ANA. Spearman correlation analysis was used to analyse the correlations between Log HCV RNA and the titers of anti-HCV antibody and ANA. Independent samples *t*-test and K independent samples test analysis were used to analyse the correlation between Log HCV RNA and the titer of ANA. Rank sum test was used to compare ANA titers before and after treatment with interferon for one month.

RESULTS: There was no correlation between HCV RNA load and the titer of anti-HCV antibody ($r = 0.078$, $P = 0.465$). There was a correlation between HCV RNA load and ANA titer ($r = 0.744$, $P = 0.001$). There was a significant difference in HCV RNA between the ANA(+)/(-) groups ($P = 0.001$). HCV RNA varied among different titers of ANA ($\chi^2 = 32.58$, $P = 0.001$). The change in ANA titers before and after interferon treatment was statistically significant ($Z = 2.60$, $P = 0.001$). Most CHC patients had a low titer of ANA. With the increase in viral load, the number

■同行评议者

林潮双, 主任医师, 博士生导师, 中山大学附属第三医院感染科

of patients with a high titer of ANA had an increasing trend.

CONCLUSION: HCV RNA can be used to evaluate the antiviral effect. There is a certain degree of autoimmune phenomenon in patients with CHC. Interferon can enhance autoimmunity in the course of therapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis C; Hepatitis C virus RNA; Anti-Hepatitis C virus; Anti-nuclear antibody; Interferon

Jia YH, Fan ZJ, Guo H, Zhou SF, Liu SY. Correlations between HCV RNA load and titers of anti-HCV antibody and anti-nuclear antibody in chronic hepatitis C patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(23): 3766-3770 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3766.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i23.3766>

摘要

目的: 探讨丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)RNA载量与抗-HCV滴度的相关性, 分析HCV RNA载量与抗核抗体(anti-nuclear antibody, ANA)滴度的变化规律及干扰素治疗前后ANA滴度的变化, 为慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的治疗提供指导。

方法: 收集2013-01/2014-02收治天津市第三中心医院的112例CHC患者血清, 实时荧光定量聚合酶链反应检测HCV RNA, ELISA法检测抗-HCV, 间接免疫荧光法检测ANA, Log HCV RNA与抗-HCV滴度及ANA滴度的相关性采用Spearman相关分析, 采用独立样本的t检验及多个独立样本非参数检验分析Log HCV RNA与ANA滴度的关系。干扰素治疗前及治疗1 mo后ANA滴度的比较采用秩和检验。

结果: HCV RNA载量与抗-HCV滴度不存在相关关系($r = 0.078$, $P = 0.465$); HCV RNA载量与ANA滴度存在相关关系($r = 0.744$, $P = 0.001$), ANA阳性与ANA阴性患者的HCV RNA载量有差异($P = 0.001$); 不同ANA滴度组HCV RNA载量有差异($\chi^2 = 32.58$, $P = 0.001$)。干扰素治疗前后ANA滴度变化有统计学意义($Z = 2.60$, $P = 0.001$)。CHC患者的ANA以低滴度为主, 随着病毒载量的增高, 高滴度的ANA例数有增多的

趋势。

结论: HCV RNA载量的高低可作为抗病毒疗效评估的观察指标; CHC患者存在一定程度自身免疫现象; 干扰素治疗过程中会增强自身免疫的发生。

© 2015版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 慢性丙型肝炎; 丙型肝炎病毒RNA; 丙型肝炎抗体; 抗核抗体; 干扰素

核心提示: 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV) RNA载量的高低可作为抗病毒疗效评估的观察指标; 慢性丙型肝炎患者存在一定程度自身免疫现象; 干扰素治疗过程中会增强自身免疫的发生。研究HCV感染与自身免疫的关系, 有助于我们认清HCV发病机制, 对丙型肝炎的治疗有重要指导意义。

贾艳会, 范志娟, 郭华, 周淑芬, 刘树业. 慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA载量与丙型肝炎抗体及抗核抗体的相关性. *世界华人消化杂志* 2015; 23(23): 3766-3770 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3766.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i23.3766>

0 引言

丙型肝炎是继乙型肝炎之后我国第二大类病毒性肝病, 全世界约有1.7亿人感染丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)^[1]。丙型肝炎抗体(抗-HCV)是HCV感染的标志。我国已有近4000万例丙型肝炎患者, 占全球HCV感染者的1/4^[2]。而HCV-RNA是HCV的遗传物质, 是病毒复制的物质基础。近年来HCV与自身免疫的关系日益受到人们的重视^[3], 研究HCV感染与自身免疫的关系, 有助于我们认清HCV发病机制, 对丙型肝炎的治疗有重要指导意义。本研究旨在探讨HCV RNA载量与抗-HCV滴度及抗核抗体(anti-nuclear antibody, ANA)的相关性, 为慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的治疗提供指导意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-01/2014-02收治天津市第三中心医院的112例初发CHC患者血清, 其中, 男性58例, 女性54例, 年龄23-74岁, 平均54.07岁±10.91岁。入选标准: (1)符合2004年版《丙型肝炎防治指南》的诊断标准^[4]; (2)所有患者均

■ 研究前沿

目前IFN治疗过程中多检测血清生化学指标, 而忽视自身抗体抗核抗体(anti-nuclear antibody, ANA)等的检测, 自身抗体低滴度时, 一般以抗病毒治疗为主; 高滴度时, 则以免疫抑制剂治疗为主。而ANA等自身抗体的出现将决定着治疗方案的选择。

■ 相关报道

王宵伟等报道丙型肝炎患者出现自身抗体以低滴度为主; 陈志刚等认为高滴度的ANA与自身免疫性疾病密切相关; 高滴度ANA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所导致的。

■ 创新盘点

本文将HCV RNA载量及ANA滴度进行相关分析, 同时将IFN治疗前后ANA滴度进行比较, 以探讨治疗后HCV RNA载量及ANA滴度关系及ANA滴度变化。

排除透析治疗、HBV感染、自身免疫性疾病及免疫功能缺陷; (3)所有患者分别在入院未治疗时及接受干扰素和利巴韦林联合治疗方案1 mo后于清晨空腹采血检测HCV RNA, 抗-HCV和ANA。

1.2 方法

1.2.1 HCV RNA的检测: 采用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测HCV RNA, 仪器为Vii ATM 7实时荧光定量PCR仪, 试剂由上海科华生物工程股份有限公司提供, 检测值用IU/mL表示。

1.2.2 抗-HCV滴度的检测: 采用ELISA检测抗-HCV, 试剂由北京万泰和上海科华, 两种试剂检测均为阳性(S/Cutoff>1), 才确证抗-HCV阳性, 结果用S/Cutoff表示。

1.2.3 ANA的检测: 采用间接免疫荧光技术检测ANA, 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。ANA滴度 $\geq 1:100$ 为阳性, 以血清稀释度报告有1:100, 1:320, 1:1000。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件, 计量资料以mean \pm SD表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用多个独立样本非参数检验, 相关分析采用Spearman相关分析, 等级资料的比较采用秩和检验, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCV RNA载量与抗-HCV滴度相关性 112例CHC患者经1 mo后, 其中RNA阳性82例, RNA阴性30例。将HCV RNA对数即Log HCV RNA与抗-HCV滴度进行Spearman相关分析, 结果显示 $r=0.078$, $P=0.465$, 故不认为HCV RNA载量与抗-HCV滴度存在相关关系。

2.2 干扰素治疗前后ANA滴度变化 干扰素治疗前ANA阳性27例, 1:100占15例, 1:320占8例, 1:1000占4例; 干扰素治疗后ANA阳性32例, 1:100占18例, 1:320占10例, 1:1000占4例。采用秩和检验对治疗前后ANA滴度变化进行分析, 结果 $Z=2.60$, $P=0.001$, 故认为在干扰素治疗前后ANA滴度有差异。

2.3 HCV RNA载量与ANA阳性/阴性关系 82例RNA阳性患者中ANA阳性32例, 检出率为

39.02%。将ANA阳性与ANA阴性组患者血清的Log HCV RNA进行 t 检验($P<0.05$), 故认为在接受干扰素治疗过程中ANA阳性与ANA阴性组患者血清的HCV RNA载量有差异(分别为 5.58 ± 0.81 , 3.46 ± 0.75 , $P<0.05$)。两组间年龄、性别无差异。

2.4 HCV RNA载量与ANA滴度关系 32例ANA阳性血清中, 1:100有18例占56.3%, Log HCV RNA为 4.89 ± 0.93 。1:320有10例占28.1%, Log HCV RNA为 5.87 ± 0.21 。1:1000有4例占15.6%, Log HCV RNA为 6.24 ± 0.27 。采用多个样本非参数检验进行比较, 结果 $\chi^2=32.58$, $P<0.05$, 因此认为不同ANA滴度组HCV RNA载量有差异。将HCV RNA载量与ANA滴度进行Spearman相关分析, 结果 $r=0.744$, $P=0.001$, HCV RNA载量与ANA滴度之间存在相关性。

3 讨论

HCV RNA为单股正链RNA, 是HCV的遗传物质, 是病毒复制的物质基础。《丙型肝炎防治指南》指出暴露HCV后1-3 wk, 外周血可检测到HCV RNA, 3 mo后约90%患者抗-HCV阳转。本研究中112例CHC患者经过治疗后有82例HCV RNA阳性, 30例HCV RNA阴转, 抗-HCV仍持续存在, 说明抗-HCV不是中和抗体, HCV RNA载量的高低可作为抗病毒疗效评估的观察指标。Spearman相关分析 $r=0.078$, $P=0.465$, 说明HCV RNA载量与抗-HCV滴度不存在线性相关关系。

近年来, 有文献[5]报道HCV感染患者存在明显的自身免疫现象, 因此本研究在探讨HCV RNA载量与抗-HCV滴度的同时, 也研究了HCV RNA载量与ANA的关系。112例CHC患者中ANA阳性患者32例, 检出率为39.02%, 统计结果表明ANA阳性与ANA阴性患者的HCV RNA载量有差异, 提示HCV感染可伴有明显的自身免疫现象, 机制可能是: (1)分子模拟机制: HCV病毒蛋白和人体某些自身蛋白之间有共同的抗原决定簇, 易导致交叉免疫反应, 当免疫耐受和免疫反应的平衡被破坏时, 机体免疫系统便持续不断攻击自身细胞或组织, 产生自身抗体^[6,7]; (2)细胞因子之间的协调作用: HCV可作用于细胞因子, 通过诱导辅助性T细胞/细胞毒性T细

胞从而逃避免疫应答^[8]。HCV与T细胞结合可以促使T细胞释放白介素(interleukin, IL)-2和IL-4等, IL-2可以促进T细胞活化、增殖和分化, IL-4可以促使CD4⁺ T细胞向Th2方向分化, 从而使浆细胞分化为B细胞并产生自身抗体^[9,10]。Li等^[11]认为对于自身抗体呈阳性的CHC患者, 利巴韦林和聚乙二醇干扰素联合治疗能够有效地降低HCV RNA载量。经干扰素治疗后的32例ANA阳性患者中, 以低滴度(1:100)为主, 与文献^[12]报道的丙型肝炎患者出现自身抗体以低滴度为主一致。将ANA阳性患者的滴度进一步与HCV RNA载量进行分析, 统计结果表明不同ANA滴度组HCV RNA载量有差异($\chi^2 = 32.58, P < 0.05$), 将HCV RNA载量与ANA滴度进行Spearman相关分析, 结果表明二者相关($r = 0.744, P < 0.05$), 即HCV RNA载量越高, ANA滴度也越高, 这表明ANA的滴度与HCV RNA的复制水平高低有密切关系。陈志刚等^[13]认为高滴度的ANA才与自身免疫性疾病密切相关; 高滴度ANA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所导致的。有报道^[14,15]认为干扰素治疗过程中会诱导机体产生ANA抗体等自身抗体, 本研究发现112例CHC患者未经治疗时ANA阳性27例, 治疗后升至32例, 且主要是低滴度的增加(3例), 2例由1:100升至1:320, 采用秩和检验对治疗前后ANA滴度变化进行分析, 结果 $Z = 2.60, P < 0.05$, 故认为在干扰素治疗前后ANA滴度有差异, 因此我们认为干扰素治疗后可以增强自身免疫的发生。

丙型肝炎患者检测自身抗体对治疗有一定的指导作用: 干扰素已被公认为抗HCV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, 而自身免疫性肝炎多用免疫抑制剂治疗, 两者作用相反。自身抗体低滴度时, 一般以抗病毒治疗为主; 高滴度时, 则以免疫抑制剂治疗为主。HCV感染伴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。因此, 在治疗过程中, 除检测肝功能等血清学指标外, 检测HCV RNA载量、抗-HCV滴度和ANA滴度, 对CHC的治疗有指导意义。

4 参考文献

- Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 558-567 [PMID: 16122679 DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70216-4]
- Ford N, Kirby C, Singh K, Mills EJ, Cooke G, Kamarulzaman A, duCros P. Chronic hepatitis C treatment outcomes in low- and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Bull World Health Organ* 2012; 90: 540-550 [PMID: 22807600 DOI: 10.2471/BLT.11.097147]
- Heim MH. Innate immunity and HCV. *J Hepatol* 2013; 58: 564-574 [PMID: 23063572 DOI: 10.3390/v1031073]
- 中华医学会肝病学分会中华医学会传染病与寄生虫病分会. 丙型肝炎防治指南. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 194-198
- Yang DH, Ho LJ, Lai JH. Useful biomarkers for assessment of hepatitis C virus infection-associated autoimmune disorders. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2962-2970 [PMID: 24659887 DOI: 10.3748/wjg.v20.i11.2962]
- Ferri C, Antonelli A, Mascia MT, Sebastiani M, Fallahi P, Ferrari D, Pileri SA, Zignego AL. HCV-related autoimmune and neoplastic disorders: the HCV syndrome. *Dig Liver Dis* 2007; 39 Suppl 1: S13-S21 [PMID: 17936215 DOI: 10.1016/S1590-8658(07)80005-3]
- Moorman JP, Wang JM, Zhang Y, Ji XJ, Ma CJ, Wu XY, Jia ZS, Wang KS, Yao ZQ. Tim-3 pathway controls regulatory and effector T cell balance during hepatitis C virus infection. *J Immunol* 2012; 189: 755-766 [PMID: 22706088 DOI: 10.4049/jimmunol.1200162]
- Antonelli A, Ferrari SM, Ruffilli I, Fallahi P. Cytokines and HCV-related autoimmune disorders. *Immunol Res* 2014; 60: 311-319 [PMID: 25381483 DOI: 10.1007/s12026-014-8569-1]
- Conca P, Tarantino G. Hepatitis C virus lymphotropism and peculiar immunological phenotype: effects on natural history and antiviral therapy. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2305-2308 [PMID: 19452570 DOI: 10.3748/wjg.15.2305]
- Sansonno L, Tucci FA, Sansonno S, Lauletta G, Troiani L, Sansonno D. B cells and HCV: an infection model of autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2009; 9: 93-94 [PMID: 19318140 DOI: 10.1016/j.autrev.2009.03.008]
- Li YX, Yang YJ, Yang M, Chen LY, Lu JJ, Ma YJ, Liu K, Lei XZ, Tang H. [Efficacy of combination therapy with pegylated-interferon alfa-2a plus ribavirin in autoantibody-positive chronic hepatitis C patients]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2013; 21: 345-347 [PMID: 24025134 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.05.008]
- 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及临床分析. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 176-177
- 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: 2316-2319
- Sansonno D, Dammacco F. Hepatitis C virus, cryoglobulinaemia, and vasculitis: immune complex relations. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 227-236 [PMID: 16122679 DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70216-4]

应用要点

本研究显示ANA的滴度与HCV RNA的复制水平高低有密切关系, HCV RNA载量越高, ANA滴度也越高, 且IFN治疗后可增强自身免疫的发生。

■同行评价

本文探讨HCV RNA载量与抗-HCV滴度的相关性, 分析HCV RNA载量与ANA滴度的变化规律. 研究内容具有临床实际意义和指导价值, 文字简明、精炼、重点突出.

15 15792740 DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70053-0]
Oliveira TL, Caetano AZ, Belem JM, Klemz BC, Pinheiro MM. Interferon- α induced psoriatic

arthritis and autoimmune hemolytic anemia during chronic hepatitis C treatment. *Acta Reumatol Port* 2014; 39: 327-330 [PMID: 25341062]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

•消息•

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下.

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均阅读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理.

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.