

• 论 著 •

慢性乙型肝炎患者在不同肝功能情况下外周血中的 T 淋巴细胞亚群、补体 C3、补体 C4 及 HBV-DNA 的比较^{*}

谢容根, 张丽华[△], 毕玉珍

(广东省东莞市第三人民医院感染科 523326)

摘要:目的 比较慢性乙型肝炎(CHB)患者在不同肝功能情况下外周血中 T 淋巴细胞亚群、补体 C3、C4 与 HBV-DNA。方法 选取 136 例 CHB 患者, 根据治疗前后肝功能变化情况将患者分为好转组和恶化组。检测 2 组患者外周血中 T 淋巴细胞亚群、补体 C3、C4 和 HBV-DNA。结果 好转组 72 例, 恶化组 64 例, 恶化组患者与好转组患者 CD3⁺ 比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。恶化组患者与好转组患者比较, CD4⁺ 明显减少, 而 CD8⁺ 明显增加, 同时 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显下降, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。恶化组患者补体 C3、C4 水平相较于好转组均有不同程度的下降, 差异均有统计学意义($t=12.124, P=0.003, t=4.041, P=0.010$)。好转组患者和恶化组患者 HBV-DNA 比较, 差异无统计学意义($t=-2.598, P=0.793$)。结论 相比于补体 C4、T 细胞亚群和 HBV-DNA, 补体 C3 水平更能反映 CHB 患者肝功能损伤的情况。

关键词:慢性乙型肝炎; T 淋巴细胞亚群; 补体 C3; 补体 C4; HBV-DNA

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.14.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)14-1882-03

Comparison of T-lymphocyte subpopulations, complement C3, C4 and HBV-DNA in the peripheral blood of patients with chronic hepatitis B under different hepatic function^{*}

XIE Ronggen, ZHANG Lihua[△], BI Yuzhen

(Department of Infection, the Third People's Hospital of Dongguan, Dongguan, Guangdong 523326, China)

Abstract:Objective To compare the T-lymphocyte subpopulations, complement C3, C4 and HBV-DNA in the peripheral blood of patients with chronic hepatitis B under different liver function. **Methods** A total of 136 patients with chronic hepatitis B were selected, the patients were divided into improved group and deteriorated group according to the changes of hepatic function. T-lymphocyte subpopulations, complement C3, complement C4 and HBV-DNA in two groups were determined. **Results** A total of 72 patients were included in improved group, 64 patients were included in deteriorated group. CD4⁺ in deteriorated group was significantly decreased, and CD8⁺ was significantly increased compared with those in improved group ($P<0.05$), CD3⁺ had no statistical difference between the two groups ($P>0.05$). Complement C3 and complement C4 in deteriorated group decreased compared with those in the improved group ($t=12.124, P=0.003; t=4.041, P=0.010$). However, HBV-DNA had no statistical difference between two groups ($t=-2.598, P=0.793$). **Conclusion** Compared with T-lymphocyte subpopulations, complement C4 and HBV-DNA, complement C3 has a better sensitivity to reflect the damage of the hepatic function in patients with chronic hepatitis B.

Key words: chronic hepatitis B; T-lymphocyte subpopulations; complement C3; complement C4; HBV-DNA

慢性乙型肝炎(CHB)是一种由乙型肝炎病毒(HBV)感染引起的以肝细胞免疫损伤为主的全身免疫相关性疾病^[1]。目前公认 CHB 患者存在不同程度的免疫功能紊乱, 与 HBV 的清除有关, 若患者免疫力下降, 则 HBV 复制加速, 导致肝细胞受损程度加剧, HBV 便更难清除^[2-3], 且与疾病进程有关^[4], 当 CHB 向终末期肝病发展时, 患者的免疫力极低^[5]。CHB 患者进入免疫清除期后, 机体免疫力与自行抑制 HBV 有关。本研究比较了 CHB 患者不同肝功能情况下外周血 T 淋巴细胞亚群(CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺), 补体 C3、C4 及 HBV-DNA 载量的变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 1 月至 2015 年 12 月东莞市第三人民医院收治的 136 例 CHB 患者, 平均(36.45±8.72)岁, 所有病例均符合 2010 年全国病毒性肝炎学会会议修订的《慢

性乙型肝炎防治指南》^[5], 所有患者均排除甲、丙、丁、戊型等其他类型的肝炎病毒感染; 排除酒精性肝炎、自身免疫性肝炎; 排除肝脏疾病、恶性肿瘤、自身免疫性疾病及其他感染性疾病; 排除药物过敏者。其中男 103 例, 年龄 18~66 岁, 平均(36.62±8.81)岁; 女 33 例, 年龄 21~54 岁, 平均(35.91±8.55)岁。入院时详细询问所有患者的病史及过往用药情况, 入院当天对所有患者进行肝功能常规 15 项生化指标检测(检测仪器为日本 Olympus AU2700 全自动生化分析仪), 以确定患者的临床肝功能分级(轻度、中度、重度)。136 例患者谷氨酰转氨酶、清蛋白、丙氨酸转氨酶、天门冬氨酸转氨酶水平分别为(110.3±66.7)、(43.5±26.4)、(93.2±36.1)、(97.3±40.3)U/L, 总胆红素为(49.2±71.3)μmol/L。136 例患者中入院前使用抗病毒药物 62 例(45.6%), 未使用过抗病毒药物 74 例(54.4%); 入院前使用保肝降酶药物 23 例(16.9%), 未

^{*} 基金项目: 东莞市医疗卫生科技计划一般项目[东科(2014)104 号之 230]。

作者简介: 谢容根, 男, 主治医师, 主要从事感染性疾病的诊治研究。 [△] 通信作者, E-mail: zlhua0831@163.com。

使用过 113 例(83.1%);HBeAg 阴性 60 例(44.1%),HBeAg 阳性 76 例(55.9%);肝功能分级轻度 3 例(2.2%),中度 62 例(45.6%),重度 71 例(52.2%)。

1.2 治疗方法及患者分组 所有患者均给予核苷类似物抗病毒药物治疗,2 周后再次进行肝功能常规 15 项生化指标检测。肝功能以总胆红素和丙氨酸氨基转移酶作为评价指标。比较所有患者入院当天和接受抗病毒治疗 2 周后的肝功能,将患者分为 2 组:(1)肝功能好转组(简称为好转组),72 例;(2)肝功能恶化组(简称为恶化组),64 例。检测 2 组患者外周血中的补体 C3、C4、T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)和 HBV-DNA。2 组患者治疗前后的总胆红素和丙氨酸氨基转移酶水平比较见表 1。

表 1 2 组患者治疗前后的总胆红素和谷氨酰氨基转移酶水平比较(̄x±s)

组别	n	指标	治疗前	治疗后
好转组	72	总胆红素(μmol/L)	47.3±21.5	30.2±20.1*
		丙氨酸氨基转移酶(U/L)	103.7±36.4	58.6±32.5*
恶化组	64	总胆红素(μmol/L)	48.6±30.2	60.7±18.3*
		丙氨酸氨基转移酶(U/L)	101.5±40.3	136.9±50.2*

注:与治疗前比较,*P<0.05。

1.3 检测方法

1.3.1 T 淋巴细胞亚群测定 分别抽取 2 组患者清晨空腹外周血 1 mL,测定患者外周血 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺。取抗凝全血 100 μL,分别加入 20 μL 三单克隆抗体(CD3-PE-CY5/CD4-FTTC/CD8-PE,购于德国 BD 公司),室温孵育 20 min,加入 2 mL 溶血素室温避光 10 min,1 000 r/min 离心 5 min 后丢弃上清液,沉淀用 1 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 1 次后再次离心,沉淀用 PBS 溶解后于流式细胞仪上检测。

1.3.2 补体 C3、C4 测定 分别抽取 2 组患者清晨空腹外周血 1 mL,测定其中补体 C3 和补体 C4。采用免疫散射比浊法,检测试剂购于北京利德曼生化股份有限公司,仪器为德灵 BN II 特种蛋白仪。

1.3.3 HBV-DNA 测定 HBV-DNA 定量检测试剂盒购于深圳普瑞康生物技术有限公司,检测步骤参照使用说明书,采用荧光定量聚合酶链反应进行检测,仪器采用上海宏石医疗科技有限公司生产的全自动医用 PCR 分析系统(SLAN-96P 型)。结果判断:HBV-DNA<10² copies/mL 为阴性,HBV-DNA≥10² copies/mL 为阳性。

1.4 统计学处理 所有资料的统计学分析均应用 SPSS19.0 软件。呈正态分布、方差齐性的计量资料均以 ̄x±s 表示,2 组均数比较采用独立样本 t 检验。P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组患者外周血 T 淋巴细胞亚群比较 对 2 组患者进行了外周血 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺)检测,并计算 CD4⁺/CD8⁺ 比值。恶化组患者与好转组患者 CD3⁺ 比较,差异无统计学意义(P>0.05)。恶化组患者与好转组患者比较,CD4⁺ 明显减少,而 CD8⁺ 明显增加,同时 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显下降,差异均有统计学意义(P<0.05)。见表 2。

表 2 2 组患者外周血 T 淋巴细胞亚群比较(̄x±s)

组别	n	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
好转组	72	67.9±5.2	39.7±4.8	23.9±5.4	1.71±0.52
恶化组	64	68.5±8.3	29.3±3.8	33.8±6.2	1.13±0.33
t		-0.335	18.013	-5.352	2.204
P		0.973	0.011	0.033	0.017

2.2 2 组患者外周血补体 C3、C4 和 HBV-DNA 检测结果比较 恶化组患者补体 C3、C4 水平相较于好转组均有不同程度的下降,差异均有统计学意义(t=12.124、P=0.003,t=4.041、P=0.010)。好转组患者和恶化组患者 HBV-DNA 比较,差异无统计学意义(t=-2.598、P=0.793)。见表 3。

表 3 2 组患者外周血中补体 C3、C4 和 HBV-DNA 检测结果比较

组别	n	C3(g/L)	C4(g/L)	HBV-DNA(copies/mL)
好转组	72	0.83±0.26	0.30±0.16	(5.6±0.6)×10 ⁵
恶化组	64	0.69±0.28	0.23±0.13	(5.9±0.4)×10 ⁵
t		12.124	4.041	-2.598
P		0.003	0.010	0.793

3 讨 论

CHB 的发病机制非常复杂,目前尚未完全明了。HBV 本身并不引起肝细胞病变,肝功能病变主要取决于机体的免疫应答,尤其是细胞免疫应答。当机体出现免疫功能低下、不完全免疫耐受、HBV 基因突变逃避免疫清除等情况时可导致 CHB^[6];当机体处于超敏反应,大量抗原-抗体复合物产生并激活补体系统,导致大量肝细胞坏死,可诱发重型肝炎^[1]。而 T 淋巴细胞是人体主要的免疫细胞,在免疫系统中发挥重要功能^[7]。其中 CD3 识别全 T 细胞,CD4 识别辅助性诱导性 T 细胞,CD8 识别抑制或细胞毒性 T 细胞^[8]。补体 C3、C4 是补体系统中的重要组成蛋白,能反映机体免疫功能,肝脏是合成补体的主要器官,补体 C3、C4 也是反映肝损伤的重要指标^[9]。本研究比较 CHB 患者在接受抗病毒药物治疗前肝功能好转和肝功能恶化时外周血中 T 细胞亚群,补体 C3、C4 和 HBV-DNA 的差异,结果表明恶化组患者补体 C3、C4 水平均较好转组明显降低,特别是补体 C3,下降幅度较大;恶化组患者外周血中 CD4⁺ 较好转组患者降低,CD8⁺ 升高,而 CD3⁺ 比较无明显差异,从而使 CD4⁺/CD8⁺ 比值也明显比好转组低;2 组患者外周血中 HBV-DNA 无明显差异。陈轶等^[10]曾报道,CHB 患者较健康对照组患者的外周血中 CD4⁺ 明显下降,CD8⁺ 明显升高,CD4⁺/CD8⁺ 比值明显降低,本文研究结果与之一致。提示 CHB 患者在肝功能恶化时体内免疫状态出现紊乱,造成 CD4⁺ 细胞减少,从而抑制抗体生成,导致免疫功能紊乱。

补体系统是一组具有酶活性的蛋白质,广泛参与机体抗感染防御、维护内环境及免疫调节,也可介导免疫病理的损伤性反应^[11]。该系统由 30 余种可溶性蛋白与膜结合蛋白组成,其中最重要的是补体 C3 和补体 C4,临床上常作为反映补体系统功能的检测指标。本研究发现恶化组 C3、C4 值均较好转组低,其差异有统计学意义(P<0.05)。与国内多个研究的结论类似^[11-12]。邱国华等^[13]曾报道,不同类型的肝病组血清补体

C3 水平由高到低依次为急性肝炎组、CHB 组、肝细胞癌组、肝硬化组。CHB 患者血清补体 C3 下降的原因可能为:(1)CHB 导致机体免疫功能紊乱,体内形成大量抗原抗体复合物,激活补体系统,使 C3 被大量消耗;(2)补体 C3 是在肝脏合成的,CHB 患者的肝脏组织受病毒感染,从而使肝细胞合成补体 C3 能力下降;(3)CHB 可能会引起补体旁路激活途径中的 C3b 灭活因子即 I 因子的减少,使血清中补体 C3 大量消耗^[14]。在本研究中好转组患者和恶化组患者的 HBV-DNA 无明显差异。曾有研究报道,不同程度 CHB 患者在受抗病毒治疗后,HBV-DNA 无明显差异,可能与患者对抗病毒药物的反应性不同有关^[15]。HBV-DNA 载量的高低能反映病毒的复制水平,但其复制并不总伴有肝损伤,它的变化可能是病毒本身的因素,也可能是众多因素影响的综合结果^[16]。HBV-DNA 值的高低难以判断机体的免疫状况,其值的高低是机体免疫防御与病毒复制之间此消彼长的结果。

综上所述,CHB 患者外周血中的补体 C3 水平,似乎更能反映肝功能损伤的情况,相比 T 淋巴细胞亚群、补体 C4 和 HBV-DNA 具有更好的敏感性,对判断机体免疫防御与病毒复制之间此消彼长的状态具有更高的参考价值。而且,补体 C3 检测在许多基层医院均可开展,且价格相对较低,可作为指导 CHB 抗病毒治疗的参考指标之一。

参考文献

[1] 谢晶日,李婷婷,李明,等.慢性乙型病毒性肝炎免疫耐受的研究进展[J].中华中医药学刊,2014,32(1):12-14.
[2] 纪翠霞,胡九东,邢练军,等.乙型肝炎慢性化机制的研究现状[J].临床肝胆病杂志,2012,28(2):149-152.
[3] 黄河玉,方峰.补体在适应性免疫中的调节作用[J].中国免疫学杂志,2016,32(4):600-604.
[4] 滕惠琴,张盛杰,齐艳艳,等.慢性乙型肝炎病毒感染者 T 淋巴细胞亚群的变化[J].肝脏,2012,17(2):108-109.
[5] 中华医学会肝病学分会.慢性乙型肝炎防治指南 2010 年更新版[J/CD].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2011,5(1):50-60.

[6] 熊颖,房志刚,胡云毅,等.慢性乙型肝炎免疫治疗的研究[J].公共卫生与预防医学,2012,23(3):65-67.
[7] 于晓辉,赵夏平,王维,等.乙型肝炎肝硬化患者外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞的变化及临床意义[J].肝脏,2014,19(4):254-256.
[8] 叶蔚,王小奇,叶彬.不同程度肝硬化患者血 T 细胞亚群及补体系统检测的意义[J].浙江临床医学,2005,7(1):73-74.
[9] 杨晋辉,李祥金.乙型病毒性肝炎患者血清补体 C3、补体 C4 的临床意义[J].临床肝胆病杂志,2007,23(5):355-356.
[10] 陈轶,陈益耀,韩向阳,等.乙型肝炎病毒感染患者外周血 T 细胞亚群的表达特征与相关性研究[J].中华医院感染学杂志,2016,26(5):979-981.
[11] 林孟新,苏智军,郭如意.乙型肝炎患者血清免疫球蛋白和补体 C3/C4 检测的意义[J].实用肝脏病杂志,2015,18(2):182-183.
[12] 吕邦泰,高国生,冯家飞,等.慢性乙型肝炎患者血清补体 C3 和 C4 检测的临床意义再探讨[J].中国卫生检验杂志,2012,22(6):1327-1328.
[13] 邱国华,高媛娇,申戈,等.肝病患者血清补体 C3 检测的临床意义[J/CD].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2012,6(2):32-35.
[14] 刘兴晖,周新,宋惠,等.乙型肝炎病毒在体内外抑制补体 C3 和 C4 表达的研究[J].中华微生物学和免疫学杂志,2011,31(10):927-930.
[15] 张继承,鲁晓擘,张跃新.核苷类似物治疗慢性重型乙型肝炎后 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞表达下降[J].肝脏,2010,15(1):5-7.
[16] 王平忠,张中伟,周永兴,等.定量 PCR 检测慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 及其意义[J].世界华人消化杂志,2000,8(7):755-758.

(收稿日期:2017-01-14 修回日期:2017-03-20)

(上接第 1881 页)

Mycobacterium tuberculosis to levofloxacin[J].J Clin Microbiol,2004,42(11):5225-5228.
[10] 田亚楠,邹月丽,钱丽花,等.结核分枝杆菌耐药分子机制及应对策略[J].中国现代神经疾病杂志,2014,14(8):671-675.
[11] 洪创跃,刘小立,桂静,等.耐多药结核分枝杆菌 pncA 基因突变特征及与吡嗪酰胺耐药相关性研究[J].中华预防医学杂志,2012,46(5):436-439.
[12] Pierre-Audigier C,Surcouf C,Cadet-Daniel V,et al. Fluoroquinolone and pyrazinamide resistance in multidrug-resistant tuberculosis[J].Int Tuber Lung Dis,2012,16(2):221-223.
[13] 张会芬,苏俊华,李晓非,等.MGIT960 960 仪的临床应用评价[J].国际检验医学杂志,2013,34(18):2453-2454.

[14] 王冬敏,林健雄,彭东东,等.颗粒显色指示技术快速检测结核分枝杆菌对吡嗪酰胺耐药性的价值[J].中国防痨杂志,2011,33(9):596-599.
[15] 王敏,付光宇,罗江卫.刃天青显色法检测结核分枝杆菌的耐药性[J].检验医学与临床,2012,9(13):1587-1588.
[16] 卢峰岳,张天宇,谭耀驹,等.吡嗪酰胺敏感性检测在结核病治疗中的应用[J].广东医学,2015,10(10):1509-1511.
[17] 张虎,朱佳媚,何凯歌,等.硅胶固载咪唑离子液体的制备及二氧化碳吸附性能[J].现代化工,2011,31(11):45-48.
[18] Ando H,Mitarai S,Kondo Y,et al. Pyrazinamide resistance in multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in Japan[J].Clin Microbiol Infect,2015,16(8):1164-1168.

(收稿日期:2017-02-01 修回日期:2017-04-01)