

· 论 著 ·

HBV 持续感染患者血清 ANA、免疫球蛋白和补体水平及其临床意义*

余 卉¹, 刘少平², 宁立芬³

1. 泰康同济(武汉)医院检验科, 湖北武汉 430000; 2. 天门市第一人民医院检验科, 湖北天门 431700;
3. 武汉市汉阳医院检验科, 湖北武汉 430000

摘要:目的 探讨外周血抗核抗体(ANA)、免疫球蛋白和补体在乙型肝炎病毒(HBV)持续感染患者中的水平及意义。方法 将 92 例 HBV 感染患者分为慢性乙型肝炎(CHB)组 27 例和肝硬化组 65 例, 另选健康体检者 60 例为对照组, 比较 3 组 ANA、免疫球蛋白和补体水平, 分析 CHB 患者发生肝硬化的危险因素, 探讨各指标的诊断价值。结果 各组血清 IgG、IgA、IgM、C3 和 C4 水平差异有统计学意义($P < 0.05$); 肝硬化组、CHB 组、对照组 ANA 阳性率分别为 40.74%、21.54% 和 5.00% ($P < 0.05$)。ANA 阳性、IgG 和 IgA 均为 HBV 感染患者发生肝硬化的独立危险因素($P < 0.05$), C3 和 C4 则为肝硬化的重要保护因素($P < 0.05$)。ANA、IgA、C3 及 3 项指标联合检测诊断肝硬化的灵敏度分别为 40.74%、74.07%、70.37% 和 66.67%, 特异度分别为 80.00%、84.62%、81.54% 和 95.38%。结论 HBV 持续感染患者外周血 ANA、免疫球蛋白和补体水平明显升高, 且与患者肝硬化关系密切, 可为肝硬化早期诊断和治疗提供参考依据。

关键词: 乙型肝炎病毒; 持续感染; 抗核抗体; 免疫球蛋白; 补体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.02.004

中图法分类号: R446.1; R512.6+2

文章编号: 1673-4130(2021)02-0142-05

文献标志码: A

Levels and clinical significance of serum ANA, immunoglobulins and complements in patients with persistent HBV infection*

YU Hui¹, LIU Shaoping², NING Lifan³

1. Department of Clinical Laboratory, Taikang Tongji (Wuhan) Hospital, Wuhan, Hubei 430000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Tianmen Municipal First People's Hospital, Tianmen, Hubei 431700, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Wuhan Municipal Hanyang Hospital, Wuhan, Hubei 430000, China

Abstract: Objective To study the expression levels and significance of peripheral blood antinuclear antibody (ANA), immunoglobulins and complements in the patients with persistent hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** Ninety-two patients with HBV infection were divided into the chronic hepatitis B (CHB) group (27 cases) and liver cirrhosis group (65 cases), and other 60 subjects undergoing the healthy physical examination were selected as the control group. The expression levels of ANA, immunoglobulins and complements were compared among the three groups, and the risk factors of liver cirrhosis occurrence in the patients with CHB were analyzed and the diagnostic value of each index was analyzed. **Results** There were statistically significant differences in the levels of serum IgG, IgA, IgM, C3 and C4 among various group ($P < 0.05$). The positive rates of ANA in the liver cirrhosis group, CHB group and control group were 40.74%, 21.54% and 5.00% respectively ($P < 0.05$). Positive ANA, IgG and IgA were the independent risk factors for liver cirrhosis occurrence in the patients with HBV infection, while C3 and C4 were the important protective factors for cirrhosis ($P < 0.05$). The sensitivities of ANA, IgA, C3 and combined detection of these 3 indicators in the diagnosis of liver cirrhosis were 40.74%, 74.07%, 70.37% and 66.67% respectively, and the specificities were 80.00%, 84.62%, 81.54% and 95.38% respectively. **Conclusion** The levels of peripheral blood ANA, immunoglobulins and complements in the patients with persistent HBV infection are significantly increased, moreover are closely related to liver cirrhosis, which can provide the reference basis for early diagnosis and treatment of liver cirrho-

* 基金项目: 湖北省卫生健康委员会课题(WJ2019H215)。

作者简介: 余卉, 女, 主管技师, 主要从事生化检验研究。

本文引用格式: 余卉, 刘少平, 宁立芬. HBV 持续感染患者血清 ANA、免疫球蛋白和补体水平及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(2): 142-145.

sis.

Key words: hepatitis B virus; persistent infection; antinuclear antibody; immunoglobulins; complements

乙型肝炎病毒(HBV)在世界范围内广泛传播,统计结果显示,全球 HBV 感染者数量可能高达 20 亿,其中约 2.4 亿患者为慢性持续感染,且每年死亡患者数约为 60 万^[1-2]。我国为 HBV 感染主要高发地区,60 岁以下人群 HBV 携带率为 7.18%,感染者总数达 9 300 万,其中约 2 000 万可进展为慢性乙型肝炎(CHB)。由于现阶段抗病毒治疗尚无法彻底治愈乙型肝炎,CHB 患者肝细胞因持续炎症和损伤而导致病情进展为肝硬化甚至肝癌。因此,准确判断 HBV 感染状态对病情评估、治疗方案选择和预后评估均具有重要的参考价值^[3]。近年来有研究发现,HBV 持续感染可能导致机体免疫功能紊乱和自身免疫现象发生,并在 CHB 患者病情进展和转归中占有重要地位。抗核抗体(ANA)是临床最常见的自身抗体之一,常用于自身免疫性疾病的诊断、治疗监测和病情评估^[4-5]。本文主要探讨外周血 ANA、免疫球蛋白和补体在 HBV 持续感染患者中的表达水平及临床意义,为促进 CHB 诊治水平提高而提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 8 月至 2019 年 8 月本院收治的 HBV 感染患者 92 例为研究对象,其中男 54 例、女 38 例,年龄 26~74 岁、平均(51.83±9.27)岁。纳入标准:(1)符合 CHB 相关诊断标准^[6];(2)血清 HBV DNA>1.0×10³ copy/mL;(3)年龄 18~80 岁。排除标准:(1)合并其他肝炎病毒感染或肝组织损伤;(2)伴其他免疫性疾病;(3)伴恶性肿瘤或心、肾功能不全;(4)妊娠或哺乳期女性;(5)前 6 个月内接受免疫调节治疗。根据肝组织活检结果将研究对象分为 CHB 组、肝硬化组。另外选取本院同期健康体检者 60 例为对照组,其中男 34 例、女 26 例,年龄 18~76 岁、平均(52.64±9.08)岁。各组研究对象年龄和性别差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经本院伦理委员会审核通过。患者及家属知晓本研究并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 实验室检查 抽取各组研究对象空腹外周静

脉血 5 mL,离心后取上清液-80℃保存待用,采用免疫比浊法(试剂盒为厂家配套检测试剂盒)检测血清免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 A(IgA)和免疫球蛋白 M(IgM)水平;采用美国 Beckman Coulter Image800 免疫化学系统及配套试剂检测血清补体 C3 和 C4 水平;采用间接免疫荧光法(试剂盒由德国欧盟实验诊断有限公司生产)检测血清 ANA 滴度,以 1:100 为起始滴度,滴度≥1:100 者为阳性,对结果为阳性者分别按 1:320 和 1:1 000 的比例进行稀释以测量最终滴度。所有操作均严格按照说明书要求完成,正常参考值范围:IgA 0.82~4.35 g/L、IgM 0.46~3.04 g/L、IgG 7.51~15.6 g/L、C3 0.79~1.52 g/L、C4 0.16~0.38 g/L。

1.2.2 肝组织活检 采用 16G 一次性穿刺针(美国 Bard 公司)进行肝组织穿刺活检。合格标本标准为长度≥1.5 cm 且镜下汇管区数量≥6 个。经 4%甲醛固定和石蜡包埋后 4 μm 连续切片,经苏木精-伊红(HE)染色、Gordon-Sweets 银氨染色和 Masson 三色套染后参照 Scheuer 系统判断有无肝硬化。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析。计数资料以率或例数表示,组间比较行 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;采用多因素 Logistic 回归分析 CHB 患者发生肝硬化的危险因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线探讨 ANA、免疫球蛋白和补体对肝硬化的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝硬化组、CHB 组和对照组免疫球蛋白和补体检测结果比较 经肝组织活检,将 HBV 持续感染患者分为 CHB 组(65 例)和肝硬化组(27 例)。肝硬化组血清 IgG、IgA 及 IgM 水平高于 CHB 组和对照组,C3 和 C4 水平低于 CHB 组和对照组,CHB 组血清 IgG、IgA 及 IgM 水平高于对照组,C3 和 C4 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 肝硬化组、CHB 组和对照组免疫球蛋白和补体检测结果比较($\bar{x}\pm s$,g/L)

组别	<i>n</i>	IgG	IgA	IgM	C3	C4
肝硬化组	27	16.39±4.05*#	3.42±0.94*#	1.86±0.45*#	0.92±0.24*#	0.18±0.06*#
CHB 组	65	12.78±3.26*	2.69±0.58*	1.52±0.37*	1.25±0.32*	0.26±0.08*
对照组	60	10.84±2.91	2.13±0.47	1.29±0.31	1.40±0.38	0.30±0.08
<i>F</i>		34.579	77.901	29.217	30.651	35.223
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组相比, * $P < 0.05$; 与 CHB 组相比, # $P < 0.05$ 。

2.2 肝硬化组、CHB 组和对照组 ANA 检测结果比较 肝硬化组、CHB 组和对照组 ANA 阳性率分别为 40.74%、21.54% 和 5.00%，其中肝硬化组各滴度的阳性率均高于对照组，1:1 000 滴度的阳性率高于 CHB 组，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 肝硬化组、CHB 组和对照组 ANA 检测结果比较 [n(%)]

组别	n	ANA 滴度			总阳性率
		1:100	1:320	1:1000	
肝硬化组	27	6(22.22)*	3(11.11)*	2(7.41)*#	11(40.74)*
CHB 组	65	10(15.38)	4(6.15)	0(0.00)	14(21.54)*
对照组	60	3(5.00)	0(0.00)	0(0.00)	3(5.00)

注:与对照组相比, * $P < 0.05$; 与 CHB 组相比, # $P < 0.05$ 。

2.3 HBV 感染患者发生肝硬化的危险因素分析 多因素 Logistic 回归分析显示,血清 ANA 阳性、IgG 和 IgA 为 HBV 感染患者发生肝硬化的独立危险因素 ($P < 0.05$), C3 和 C4 则为重要的保护因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 HBV 感染患者发生肝硬化的危险因素分析

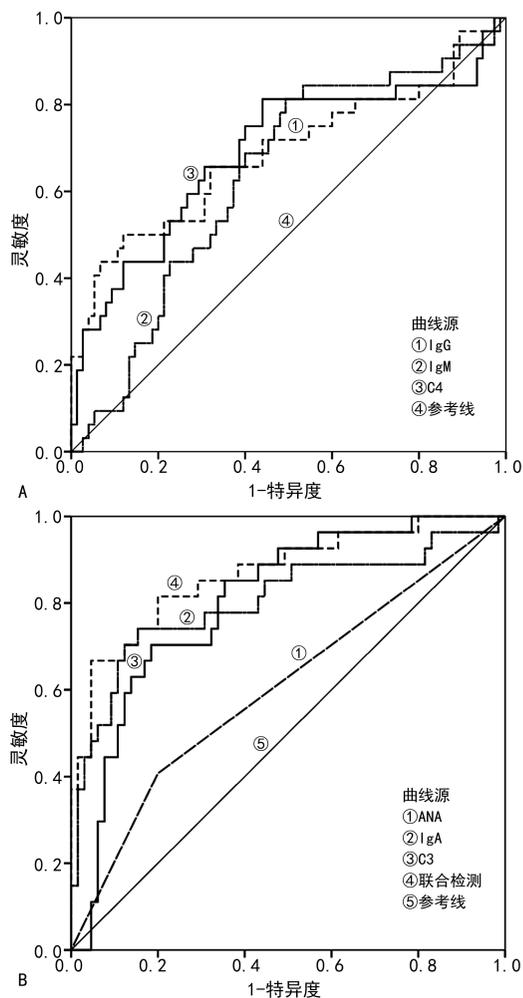
相关因素	β	SE	χ^2	OR	95%CI	P
ANA 阳性	0.748	0.362	4.270	2.113	1.039~4.295	0.039
IgG	0.526	0.241	4.764	1.692	1.055~2.714	0.030
IgA	0.497	0.203	5.994	1.644	1.104~2.447	0.015
IgM	0.384	0.219	3.074	1.468	0.956~2.255	0.080
C3	-0.713	0.352	4.103	0.490	0.246~0.977	0.043
C4	-0.568	0.274	4.297	0.567	0.331~0.970	0.039

2.4 各项指标对肝硬化的诊断价值分析 ANA 诊断 HBV 感染患者肝硬化的灵敏度和特异度分别为 40.74% 和 80.00%，IgA 的灵敏度和特异度分别为 74.07% 和 84.62%，补体 C3 的灵敏度和特异度分别为 70.37% 和 81.54%。将 ANA、IgA、补体 C3 3 项指标联合检测可进一步提升诊断价值,灵敏度和特异度分别为 66.67% 和 95.38%。见表 4、图 1。

表 4 各项指标对 HBV 感染患者肝硬化的诊断价值分析

项目	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC	95%CI	SE
ANA	40.74	80.00	0.207	0.604	0.496~0.704	0.054
IgA	74.07	84.62	0.587	0.805	0.709~0.880	0.058
IgG	59.26	86.15	0.454	0.765	0.665~0.847	0.058
IgM	77.78	58.46	0.362	0.668	0.562~0.763	0.065
C3	70.37	81.54	0.519	0.803	0.707~0.879	0.049
C4	96.30	49.23	0.455	0.778	0.680~0.858	0.051
联合检测	66.67	95.38	0.621	0.868	0.781~0.929	0.044

注:AUC 为曲线下面积;联合检测指 ANA+IgA+C3。



注:A 为 C4、IgG 和 IgM; B 为 ANA、IgA、C3 及三者联合检测。

图 1 ROC 曲线

3 讨论

CHB 的发病机制现阶段尚未完全明确,HBV 对肝细胞并无直接杀伤作用,但可通过免疫反应和炎症造成病理性损伤,具体机制可能包括淋巴细胞浸润、免疫复合物沉积以及免疫耐受破坏等^[7]。梁志军等^[8]报道显示,HBV 可影响患者 T 淋巴细胞亚群和免疫球蛋白水平,进而引起细胞免疫和体液免疫异常,因此对免疫功能进行检测有利于评估患者病情和判断预后。LANG 等^[9]研究认为,HBV 感染与机体适应性免疫反应关系密切,检测 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞等免疫学指标水平可为开展个体化免疫治疗提供参考信息。

免疫球蛋白主要由 B 淋巴细胞合成和释放,是机体受抗原刺激后产生的主要效应产物,补体是具有溶菌和溶细胞等免疫功能的活性蛋白,两者在 HBV 感染后的病原体清除过程中具有积极作用,同时也是导致肝功能损伤的重要原因。因此,检测一种或多种免疫球蛋白水平对肝脏疾病的诊断、病情监测和治疗指导均具有重要的参考价值^[10-11]。林孟新等^[12]研究认为 IgG、IgM、IgA、C3 和 C4 对肝脏疾病的诊断具有重

要价值。祁冬冬^[13]对 200 例 CHB 患者进行分析,结果表明,血清免疫球蛋白水平可直接反映 CHB 患者肝功能情况并为临床治疗提供可靠依据。本研究中肝硬化组、CHB 组和对照组血清 IgG、IgA 及 IgM 呈降低趋势,C3 和 C4 水平呈升高趋势,且各指标组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。这表明 HBV 持续感染可引起免疫球蛋白水平上升和补体水平降低,其中血清 IgG、IgA 和 IgM 水平升高一方面是由于病毒诱导而大量产生,另一方面还与患者肝功能损伤导致抗体清除能力减退有关。因此,检测血清 IgG、IgA 和 IgM 水平不仅可评估机体体液免疫水平,还可反映 CHB 病情和肝功能损伤程度。C3 和 C4 是连接免疫反应中经典途径和旁路途径的关键补体,其水平降低不仅与免疫复合物形成造成补体大量消耗有关,还可能与肝细胞损伤导致补体合成减少关系密切,故观察血清 C3 和 C4 水平变化可监测机体免疫状态和肝功能损伤情况,与邱厚兵等^[14]的研究结果相似。

自身免疫反应在肝脏疾病中较为常见,其发生可能与遗传、免疫系统过度激活等因素有关,且在 CHB 病情进展过程中发挥着重要作用^[15]。练明建等^[16]对 270 例肝硬化患者进行检测,发现其普遍存在自身免疫现象,且自身抗体阳性率与病因、性别及年龄等因素有关。本研究以滴度 $\geq 1:100$ 为 ANA 阳性进行研究,结果显示,肝硬化组、CHB 组和对照组阳性率分别为 40.74%、21.54% 和 5.00%,且肝硬化组各滴度的阳性率均高于对照组,1:1 000 滴度的阳性率高于 CHB 组,提示自身免疫反应在 CHB 发生和发展过程中占据重要地位,并且可能加重患者肝功能损伤。但有研究认为,CHB 患者的 ANA 低滴度仅反映机体处于自身免疫反应状态,而并未对免疫功能造成明显影响,而高滴度又可能因自身免疫性疾病所致,因此 ANA 阳性在 CHB 患者中的应用价值还有待进一步探讨。

肝硬化是肝炎症损伤的不可逆转阶段,及时发现和合理干预对控制病情进展具有重要意义。本研究采用多因素 Logistic 回归进行分析,结果显示,血清 ANA 阳性、IgG 和 IgA 均为 HBV 感染患者发生肝硬化的独立危险因素,C3 和 C4 则为重要的保护因素,表明 CHB 病情进展和发生肝硬化是免疫系统多项因素共同作用的结果。因此,对免疫功能进行干预对改善 CHB 患者预后具有积极作用。目前,病毒抑制联合免疫调节已成为 CHB 治疗具有广阔应用前景的新策略^[17]。此外,本研究采用 ANA、免疫球蛋白和补体对肝硬化和 CHB 进行鉴别诊断,结果显示 ANA 的灵敏度和特异度分别为 40.74% 和 80.00%,灵敏度较低的主要原因为 ANA 阳性率偏低所致,因此单独应用 ANA 时容易造成漏诊。3 种免疫球蛋白中 IgA 的诊断价值相对较高,灵敏度和特异度分别为 74.07% 和 84.62%,表明 IgA 类抗体在抗感染免疫中

发挥主要作用,因而能更准确地反映患者病情变化。补体 C3 的灵敏度和特异度分别为 70.37% 和 81.54%,C4 虽然灵敏度高达 96.30%,但特异度仅为 49.23%,因此整体准确率相较于 C3 明显偏低。采用 ANA、IgA 和 C3 3 项指标进行联合检测,灵敏度和特异度分别为 66.67% 和 95.38%,表明 ANA、免疫球蛋白和补体联合检测可为判断 CHB 患者发生肝硬化提供准确的参考依据,进而指导临床治疗和预后评估,同时还可有效减少肝组织穿刺活检等有创操作次数,对促进患者身心健康具有重要意义。

综上所述,外周血 ANA、免疫球蛋白和补体在 HBV 持续感染患者中水平较健康人群明显升高且与患者病情进展情况关系密切,是 CHB 患者发生肝硬化的主要危险因素,同时可为肝硬化早期诊断和治疗提供参考依据。

参考文献

- [1] LAI C L, WONG D, IP P, et al. Reduction of covalently closed circular DNA with long-term nucleos(t)ide analogue treatment in chronic hepatitis B[J]. J Hepatol, 2017, 66(2): 275-281.
- [2] SCHWEITZER A, HORN J, MIKOLAJCZYK R T, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013[J]. Lancet, 2015, 386(10003): 1546-1555.
- [3] 何京, 陈友鹏. 母婴乙型肝炎垂直传播影响因素与孕期抗病毒治疗进展[J]. 中华传染病杂志, 2017, 35(5): 311-314.
- [4] 刘亚男, 余迪, 姚兰. Galectin-9/Tim-3 信号通路在 HBV 感染中对机体固有免疫及适应性免疫调控的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(10): 156-161.
- [5] 闫秀萍, 侯青顺, 王慧, 等. 乙型肝炎肝硬化患者血清自身抗体检测的临床意义[J]. 中国医药导报, 2017, 14(29): 127-130.
- [6] 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015, 19(5): 1-18.
- [7] BAO S, ZHENG J, SHI G. The role of T helper 17 cells in the pathogenesis of hepatitis B virus-related liver cirrhosis[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(4): 3713-3719.
- [8] 梁志军, 李瑞娟, 王素娜, 等. 乙型肝炎肝硬化对外周血 T 细胞亚群、免疫球蛋白及补体水平的影响[J]. 陕西医学杂志, 2017, 46(12): 1655-1656.
- [9] LANG J, NEUMANN-HAEFELIN C, THIMME R. Immunological cure of HBV infection[J]. Hepatol Int, 2019, 13(2): 113-124.
- [10] SHA L, SUN Q Q, MAO W L, et al. Serum immunoglobulin A (IgA) level is a potential biomarker indicating cirrhosis during chronic hepatitis B infection[J]. Gastroenterol Res Pract, 2016, 2016: 2495073.
- [11] ROMANI S, HOSSEINI S M, MOHEBBI S R, et al. Dif-