

成都某院乙型肝炎患者的免疫特点分析

陈竹 曾义岚 唐玉珍 李守娟 王丽

【摘要】 目的 分析成都某院乙型肝炎患者的免疫特点。方法 将329例乙型肝炎患者分为急性乙型肝炎组、慢性乙型肝炎组、乙型肝炎肝硬化组及乙型慢加急性肝功能衰竭组,比较各组患者的免疫球蛋白、补体和T淋巴细胞亚群等免疫指标的差异。结果 急性乙型肝炎组与慢性乙型肝炎组相比,各项免疫指标差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。乙型肝炎肝硬化组患者的IgG、IgA和IgM水平分别为 (18.12 ± 5.70) g/L、 (3.63 ± 0.94) g/L和 (4.39 ± 0.82) g/L,显著高于其余3组;而该组患者CD3⁺T、CD4⁺T和CD8⁺T细胞计数分别为 (583.10 ± 276.35) 个/ μ l、 (339.13 ± 131.55) 个/ μ l和 (205.23 ± 41.22) 个/ μ l,显著低于其余3组(P 均 < 0.05)。乙型慢加急性肝功能衰竭组患者的补体C3和C4水平分别是 (0.39 ± 0.27) g/L和 (0.08 ± 0.07) g/L,显著低于其余3组(P 均 < 0.05)。随着肝功能损害程度的加重,慢性乙型肝炎患者的ALT、AST、TBil和IgG水平均逐渐升高,而补体C3、C4、CD3⁺T和CD4⁺T细胞计数则逐渐下降(P 均 < 0.05)。结论 乙型肝炎患者的免疫状态与疾病进展及病情严重程度有一定相关性,肝硬化及肝功能衰竭患者体内存在免疫球蛋白升高、补体下降及T细胞损耗等免疫紊乱的情况。

【关键词】 肝炎病毒,乙型;免疫状态;免疫球蛋白;补体;T淋巴细胞亚群

Study on the immune states of patients infected with hepatitis B virus in a hospital in Chengdu

Chen Zhu, Zeng Yilan, Tang Yuzhen, Li Shoujuan, Wang Li. The Second Ward, Public Health Clinical Center of Chengdu, Chengdu 610061, China

Corresponding author: Zeng Yilan, Email: 277796360@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the immune states of patients with hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** Total of 329 patients infected with HBV infection were divided into acute hepatitis B (AHB) group, chronic hepatitis B (CHB) group, cirrhosis group and acute-on-chronic liver failure (ACLF) group. The immune indexes such as immunoglobulin (Ig), complement (C) and T-lymphocyte subsets of groups above-mentioned were tested and analyzed, respectively. **Results** The immune indexes had non-significant differences between AHB group and CHB group (P all > 0.05). Patients in cirrhosis group had significantly higher levels of IgG, IgA and IgM, which were (18.12 ± 5.70) g/L, (3.63 ± 0.94) g/L and (4.39 ± 0.82) g/L, respectively; but had significantly lower levels of CD3⁺T, CD4⁺T and CD8⁺T cell counts (P all < 0.05), which were (583.10 ± 276.35) cells/ μ l, (339.13 ± 131.55) cells/ μ l and (205.23 ± 41.22) cells/ μ l. While, the levels of C3 and C4 were (0.39 ± 0.27) g/L and (0.08 ± 0.07) g/L in ACLF group, respectively, which were significantly lower than those in other groups. As liver damages progressed, the levels of ALT, AST, TBil and IgG all gradually increased, while the levels of C3 and C4 and the counts of CD3⁺T, CD4⁺T cell gradually declined. **Conclusions** The immune states of patients with hepatitis B have a certain relationship with disease progression or severity. The patients with cirrhosis and liver failure have autoimmune disorders, including high-level immunoglobulin, low-level complement and T cell loss.

【Key words】 Hepatitis B virus; Immune state; Immunoglobulin; Complement; T-lymphocyte subsets

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染呈世界性流行,可引起多种临床表现,如临床感染、

急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌等^[1]。有研究发现,机体的免疫反应与病毒清除、肝细胞的损伤程度以及疾病的预后转归有关^[2]。本文就不同疾病状态和病情严重程度的乙型肝炎患者的免疫状态进行综合评估,探讨免疫状态与疾病进展以及病情严重程度的相关性,现报道如下。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2016.01.018

基金项目:国家“十二五”科技重大专项(No.2012ZX10005004-005);四川省感染科青年医师临床科研课题

作者单位:610061 成都市,成都市公共卫生临床医疗中心二病区

通讯作者:曾义岚, Email: 277796360@qq.com

资料与方法

一、研究对象

选取2012年1月至2013年12月本院收治的329例乙型肝炎患者,其中男性259例,女性70例,年龄11~81岁,平均年龄(38.64 ± 10.32)岁。其中包括急性乙型肝炎患者25例,慢性乙型肝炎患者196例、乙型肝炎肝硬化患者70例和乙型慢加急性肝功能衰竭患者38例。急性乙型肝炎病例诊断符合2000年《病毒性肝炎防治方案》^[3]中的诊断标准,慢性乙型肝炎及肝硬化病例诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)》^[4],肝功能衰竭病例的诊断均符合《肝衰竭诊疗指南(2012年版)》^[5]中的诊断标准。其中,慢性乙型肝炎患者按照肝功能的损害程度,分为轻度24例、中度100例和重度72例^[3]。排除重叠其他病毒性肝炎、酒精性肝损伤、药物性肝损伤、妊娠、自身免疫性疾病、肝细胞癌或其他恶性肿瘤,及近半年内长期使用抗炎和免疫调节药物。本研究经医院伦理委员会批准,入选的患者均签署知情同意书。

二、方法

患者入院后即采集外周血,采用全自动生化分析仪测定肝功能;采用全自动特定蛋白分析仪测定免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)及补体(complement, C);采用FACS Calibur流式细胞仪测定外周血T细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺);采用酶联免疫吸附法检测乙型肝炎病毒标志物(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-Hbe和抗-HBc);采用荧光定量聚合酶链反应技术检测

HBV DNA;采用Echosens公司的肝脏瞬时弹性超声成像仪检测fibrosan弹性值(FS值)。

三、统计学处理

应用SPSS 17.0统计学软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态分布且差齐采用方差分析,正态分布且方差不齐采用Dunnett's T3或秩和检验,非正态分布数据采用秩和检验;计数资料采用例数和率表示,采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、各组患者的性别、年龄、肝功能、HBV DNA水平及FS值的比较

本研究中,各组患者的年龄、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBil)、HBV DNA载量及FS值等方面差异具有统计学意义(P 均 < 0.05)。其中,年龄方面:肝硬化 $>$ 肝功能衰竭 $>$ 慢性乙型肝炎 $>$ 急性乙型肝炎;肝功能损害程度方面:肝功能衰竭 $>$ 急性乙型肝炎 $>$ 慢性乙型肝炎 $>$ 肝硬化;HBV DNA载量:肝硬化 $<$ 急性乙型肝炎 $<$ 肝功能衰竭 $<$ 慢性乙型肝炎;FS值:肝功能衰竭 $>$ 肝硬化 $>$ 急性乙型肝炎 $>$ 慢性乙型肝炎,详见表1。

二、各组患者的免疫指标

本研究中,四组患者在IgG、IgA、IgM、C3、C4水平,CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T细胞计数

表1 各组患者的性别、年龄、HBV DNA、肝功能和FS值

组别	例数	男性[例(%)]	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	HBV DNA (IU/ml, $\bar{x} \pm s$)	ALT (U/L, $\bar{x} \pm s$)
急性乙型肝炎	25	21 (84.00)	35.64 $\pm$ 13.15	4.32 $\pm$ 1.97	1324.60 $\pm$ 670.65
慢性乙型肝炎	196	152 (77.55)	37.29 $\pm$ 12.32	5.45 $\pm$ 1.24	503.79 $\pm$ 283.78
肝硬化	70	53 (75.71)	49.09 $\pm$ 11.12	2.19 $\pm$ 1.37	82.80 $\pm$ 47.18
肝功能衰竭	38	33 (86.84)	40.68 $\pm$ 10.52	5.11 $\pm$ 2.14	1 030.68 $\pm$ 366.09
统计量		$\chi^2 = 2.443$	$F = 18.000$	$F = 34.710$	$F = 46.310$
P值		0.486	0.000	0.000	0.000
组别	例数	AST (U/L, $\bar{x} \pm s$)	TBil (μ mol/L, $\bar{x} \pm s$)	FS值 (kpa, $\bar{x} \pm s$)	
急性乙型肝炎	25	804.92 $\pm$ 396.69	189.64 $\pm$ 70.65	16.79 $\pm$ 13.29	
慢性乙型肝炎	196	320.94 $\pm$ 148.87	49.01 $\pm$ 26.81	15.31 $\pm$ 13.06	
肝硬化	70	79.42 $\pm$ 34.82	48.67 $\pm$ 19.86	20.85 $\pm$ 14.75	
肝功能衰竭	38	918.39 $\pm$ 299.79	337.12 $\pm$ 146.65	33.33 $\pm$ 19.18	
统计量		$F = 31.970$	$F = 136.770$	$F = 17.690$	
P值		0.000	0.000	0.000	

表2 各组患者的免疫指标 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)	C3 (g/L)	C4 (g/L)
急性乙型肝炎	25	13.93 ± 4.05	2.38 ± 0.79	1.31 ± 0.43	0.77 ± 0.30	0.17 ± 0.08
慢性乙型肝炎	196	14.54 ± 4.15	2.33 ± 0.89	1.35 ± 0.66	0.81 ± 0.21	0.18 ± 0.07
肝硬化	70	18.12 ± 5.70	3.63 ± 0.94	4.39 ± 0.82	0.71 ± 0.25	0.18 ± 0.05
肝功能衰竭	38	15.71 ± 6.06	3.17 ± 0.87	1.56 ± 0.79	0.39 ± 0.27	0.08 ± 0.07
<i>F</i> 值		13.410	21.820	22.100	33.990	13.240
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

组别	例数	CD3 ⁺ T细胞 (个/μl)	CD4 ⁺ T细胞 (个/μl)	CD8 ⁺ T细胞 (个/μl)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
急性乙型肝炎	25	1117.68 ± 547.41	618.44 ± 310.07	478.20 ± 178.91	1.35 ± 0.49
慢性乙型肝炎	196	1077.02 ± 404.82	579.71 ± 229.15	422.62 ± 118.85	1.55 ± 0.61
肝硬化	70	583.10 ± 276.35	339.13 ± 131.55	205.23 ± 41.22	2.34 ± 0.61
肝功能衰竭	38	946.13 ± 367.48	666.26 ± 251.17	415.68 ± 147.38	1.49 ± 0.43
<i>F</i> 值		26.640	6.460	17.890	14.230
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

表3 轻度、中度及重度慢性乙型肝炎患者的一般情况

组别	例数	男性 [例 (%)]	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	HBV-DNA (IU/ml, $\bar{x} \pm s$)	ALT (U/L, $\bar{x} \pm s$)
慢乙型肝炎轻度	24	15 (62.50)	37.38 ± 13.06	4.88 ± 2.09	73.42 ± 37.84
慢乙型肝炎中度	100	79 (79.00)	36.73 ± 12.29	5.44 ± 2.34	374.76 ± 225.33
慢乙型肝炎重度	72	58 (80.56)	38.05 ± 12.24	5.65 ± 2.15	826.47 ± 349.62
统计量		$\chi^2 = 3.598$	$F = 0.239$	$F = 1.085$	$F = 40.99$
<i>P</i> 值		0.165	0.788	0.34	0.000

组别	例数	AST (U/L, $\bar{x} \pm s$)	TBil (μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	FS 值 (kpa, $\bar{x} \pm s$)
慢乙型肝炎轻度	24	70.13 ± 44.45	17.43 ± 8.10	7.22 ± 3.23
慢乙型肝炎中度	100	209.42 ± 88.30	22.88 ± 15.38	12.07 ± 8.71
慢乙型肝炎重度	72	559.44 ± 329.92	95.84 ± 61.33	22.51 ± 16.42
统计量		$F = 39.150$	$F = 38.920$	$F = 22.790$
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

等免疫指标及CD4⁺/CD8⁺差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.05)。其中,肝硬化组患者的IgG、IgA、IgM水平和CD4⁺/CD8⁺显著高于其余3组,而CD3⁺ T、CD4⁺ T及CD8⁺ T细胞计数显著低于其余3组 (P 均 < 0.05);肝功能衰竭患者的C3和C4水平显著低于其余3组 (P 均 < 0.05);急性乙型肝炎与慢性乙型肝炎相比,各项免疫功能指标差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05),见表2。

三、免疫功能与病情严重程度的相关性

本研究结果显示,轻度、中度及重度的慢乙型肝炎患者在ALT、AST、TBil及FS值等差异具有统计学意义 (P 均 < 0.05)。随着肝功能损害程度加重,慢性乙型肝炎患者的ALT、AST、TBil水平、FS值及IgG水平均逐渐升高,而C3、C4水平,CD3⁺ T、CD4⁺ T细胞计数逐渐下降 (P 均 < 0.05),见表3~4。

讨 论

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染机体后,能够引起一系列的免疫应答,在抗病毒的同时,亦会造成不同程度的肝细胞损伤。T淋巴细胞是病毒特异性的免疫应答中最重要的效应器^[6],按照其CD (cluster of differentiation) 分子表型而分为CD4⁺ T和CD8⁺ T细胞。CD4⁺ T细胞主要是辅助性T细胞 (helper T lymphocyte, Th),又可分为Th1和Th2两个亚型,Th1通过分泌白细胞介素 (interleukin, IL) -2、干扰素 (interferon, IFN) - γ 、白三烯 (leukotriene, LT- α) 等细胞因子来介导细胞免疫,Th2则分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和IL-13等辅助体液免疫,还可以诱导B细胞产生Ig。CD8⁺ T细胞主要是细胞毒性T淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL),通过溶细胞或非溶细胞两种

表4 轻度、中度及重度慢性乙型肝炎患者的免疫指标 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)	C3 (g/L)	C4 (g/L)
慢乙型肝炎轻度	24	12.92 ± 3.35	2.19 ± 0.85	1.37 ± 0.74	1.11 ± 0.39	0.20 ± 0.06
慢乙型肝炎中度	100	13.77 ± 3.31	2.31 ± 0.79	1.26 ± 0.63	0.87 ± 0.18	0.19 ± 0.07
慢乙型肝炎重度	72	16.15 ± 4.91	2.41 ± 1.01	1.47 ± 0.68	0.73 ± 0.14	0.15 ± 0.08
F 值		9.760	0.560	2.050	10.880	6.110
P 值		0.000	0.580	0.130	0.000	0.003

组别	例数	CD3 ⁺ T细胞 (个/μl)	CD4 ⁺ T细胞 (个/μl)	CD8 ⁺ T细胞 (个/μl)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
慢乙型肝炎轻度	24	1139.87 ± 398.99	614.98 ± 230.08	449.33 ± 230.09	1.59 ± 0.48
慢乙型肝炎中度	100	1091.67 ± 457.39	599.58 ± 273.78	400.83 ± 188.75	1.54 ± 0.61
慢乙型肝炎重度	72	984.83 ± 382.22	524.09 ± 202.73	392.79 ± 210.04	1.55 ± 0.65
F 值		3.160	3.480	1.540	0.053
P 值		0.045	0.033	0.220	0.950

机制持续清除HBV感染的肝细胞^[7]。CTL应答的广度和力度决定了机体能否清除肝细胞内的病毒,也决定了肝细胞的损伤程度。同时,体液免疫也参与协助清除HBV,以免疫球蛋白及补体发挥了重要的作用。

本研究发现,急性乙型肝炎患者与慢性乙型肝炎相比,肝功能损害更为显著,但免疫球蛋白、补体水平,T淋巴细胞计数及CD4⁺/CD8⁺等多项免疫指标等方面差异均无统计学意义,其原因尚待进一步研究。乙型肝炎肝硬化患者体内的IgG、IgA和IgM水平显著升高,而CD3⁺T、CD4⁺T及CD8⁺T细胞计数显著降低,与相关报道一致^[8]。可能是由于长期的慢性HBV感染,造成机体T淋巴细胞数量及功能进行性损耗和缺失^[9],而B淋巴细胞功能亢进^[10],使得机体不能够有效地清除HBV,病毒得以持续存在,造成疾病缓慢进展,最终发展为肝硬化,甚至肝细胞癌。如果能够在慢性乙型肝炎的早期进行免疫干预,提高患者机体的细胞免疫功能,则有可能成功阻断HBV的复制,从而避免或者延缓病情发展至肝硬化阶段^[11]。

本研究将慢性乙型肝炎患者按照肝功能的损害程度,分为轻度、中度和重度,结果发现,随着肝功能损害程度的加重,在ALT、AST及TBil升高的同时,伴有FS值和IgG水平的逐渐升高,而C3、C4补体水平,CD3⁺T和CD4⁺T细胞计数逐渐下降,与相关报道一致^[12]。因此,肝功能衰竭的患者体内亦存在细胞免疫功能低下和体液免疫功能亢进的免疫紊乱状态,外周血T细胞亚群的变化趋势对判断病情、评估预后及指导免疫治疗具有重要意义^[12-14]。由于肝脏是合成C3和C4补体的主要场

所,肝功能异常时,C3和C4补体水平亦有相应的改变。换言之,C3和C4补体水平的下降程度与肝功能损害程度呈正相关性^[8],可作为评估病情、指导治疗和预测转归的监测指标。同时,C3补体是经典补体途径及替代途径的共同活化中心,C3补体水平对判断CHB患者的免疫状态也具有重要意义。慢性乙型肝炎患者体内存在不同程度的CD4⁺T细胞耗竭、单核细胞功能抑制和炎症因子高含量等免疫紊乱状态,尤以肝功能衰竭患者的炎症反应最为严重,免疫状态也最为低下^[15]。

总之,细胞免疫功能紊乱、T细胞亚群失衡与HBV感染慢性化和病情严重程度密切相关。研究发现,慢性乙型肝炎患者(受者)在接受了对HBV有免疫力的供者[即抗-HBs和(或)抗-HBc阳性]的骨髓移植后,可以清除体内的HBsAg,甚至产生抗-HBs,而且通过染色体检测,证实受者体内的T细胞来源于供者^[16]。提示慢性乙型肝炎患者一旦获得正常的细胞免疫功能,即能够及时清除病毒。肝硬化和肝功能衰竭的患者体内均存在细胞免疫功能低下和体液免疫功能亢进的免疫功能紊乱,且随病情进展有加重趋势,临床中采用适量的免疫调节药物,可能有助于此类患者清除HBV^[17],以促进肝功能恢复,从而改善预后。

参 考 文 献

- 1 But DY, Lai CL, Yuen MF, et al. Natural history of hepatitis related hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(11): 1652-1656.
- 2 Rehmann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cell and NK cells[J]. Nat Med, 2013, 19(7): 859-868.
- 3 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324-329.

- 4 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 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,2015,9(5):1-19.
- 5 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012年版)[J]. 中华临床感染病杂志,2012,5(6):321-322.
- 6 孙焕焕, 张永宏. T细胞在慢性乙型肝炎发病机制中的作用研究进展[J]. 传染病信息,2014,27(4):237-239.
- 7 杨晨辰, 黄睿, 刘勇, 等. 慢性HBV感染者不同免疫状态下及抗病毒治疗后外周血T细胞亚群比例和细胞因子水平特点[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2014,8(2):191-197.
- 8 谢婵, 谢俊强, 张宇锋, 等. 抗病毒治疗对慢性乙型肝炎患者免疫球蛋白及补体的影响[J]. 中华传染病杂志,2012,30(2):100-104.
- 9 Loggi E, Gamal N, Bihl F, et al. Adaptive response in hepatitis B virus infection[J]. J Viral Hepat,2014,21(5):305-313.
- 10 Farci P, Diaz G, Chen Z, et al. B cell gene signature with massive intrahepatic production of antibodies to hepatitis B core antigen in hepatitis B virus-associated acute liver failure [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2010,11(7):8766-8771.
- 11 刘坤, 杨亚萍, 段银环. 慢性HBV感染者外周血T细胞亚群与病毒载量, HBeAg的相关性分析[J]. 河北医药,2014,36(13):1940-1942.
- 12 郭银燕, 袁春蓓, 俞海英, 等. 慢性乙型肝炎与肝衰竭患儿外周血T淋巴细胞亚群的差异[J]. 肝脏,2014,19(7):514-517.
- 13 Veiga-Parga T, Sehrawat S, Rouse BT. Role of regulatory T cells during virus infection[J]. Immunol Rev,2013,255(1):182-196.
- 14 李健, 邹文娟, 梅小平. T细胞亚群变化与慢性重型病毒性肝炎转归关系分析[J]. 重庆医学,2013,42(18):2090-2092.
- 15 宫钰, 沈黎蔚, 王介非, 等. 乙型肝炎慢加急性肝衰竭不同时期炎症反应及免疫状态的动态变化研究[J]. 中华消化杂志,2011,31(1):11-16.
- 16 Lau GK, Suri D, Liang R, et al. Resolution of chronic hepatitis B and anti-HBs seroconversion in humans by adoptive transfer of immunity to hepatitis B core antigen[J]. Gastroenterology,2002,122(3):614-624.
- 17 唐宗生, 郝友华, 杨东亮. HBV持续性感染中T细胞功能耗竭的机制研究进展[J]. 中华肝脏病杂志,2012,20(11):871-873.

(收稿日期: 2015-02-24)

(本文编辑: 孙荣华)

陈竹, 曾义岚, 唐玉珍, 等. 成都某院乙型肝炎患者的免疫特点分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2016,10(1):78-82.