

· 临床基础 ·

慢性丙型肝炎感染患者内源性循环红细胞自体抗体与贫血的相关性研究

魏三舟¹, 孙飞^{1*}, 李敏¹, 鲁艳²

1. 孝昌县第一人民医院 检验科, 湖北 孝感 432900

2. 孝感市中心医院 检验科, 湖北 孝感 432100

摘要: **目的** 研究内源性循环红细胞 (EPO) 自体抗体与慢性丙型肝炎感染相关的贫血之间的关联性。**方法** 收集孝昌县第一人民医院 2014 年 1 月—2016 年 8 月被诊断出丙型肝炎病毒感染的抗病毒治疗患者的人口学和临床检查信息, 共有 121 名患者纳入本研究。采用酶联免疫吸附试验测定患者血清抗 EPO 抗体水平, 采用商用试剂盒测定血清中 EPO 水平, RT-PCR 法测定丙型肝炎病毒 RNA 水平。多变量 logistic 回归分析血清抗 EPO 抗体与慢性丙型肝炎病毒感染相关的贫血之间的关联性。**结果** 慢性丙型肝炎病毒感染患者中共有 53 名贫血和 67 名非贫血患者, 贫血患者年龄、网织红细胞比例、血清 EPO 水平和抗 EPO 抗体阳性率均高于非贫血组。但血红蛋白、白蛋白和丙型肝炎病毒 RNA 负荷水平均低于非贫血组。慢性丙型肝炎病毒感染伴随抗 EPO 抗体阳性患者的血清 EPO 水平较低 ($P < 0.001$), 但丙型肝炎病毒 RNA 负载却呈现出较高的水平 ($P < 0.001$)。慢性丙型肝炎病毒感染伴随抗 EPO 抗体阴性患者中血清 EPO 水平与血红蛋白水平呈现出负向相关性 ($P < 0.001$), 并呈现出明显的反向剂量反应关系, 但该相关性并未在抗 EPO 阳性患者中发现。多变量 logistic 回归分析发现网织红细胞比例每增加 1%, 血清 EPO 水平每增加 1 mU/mL, 贫血发生风险分别增加 32.2%、8.9%, 抗 EPO 抗体阳性患者贫血发生风险增高 5 倍。**结论** 丙型肝炎病毒相关性贫血的发生与自身免疫有关。慢性丙型肝炎病毒感染伴随抗 EPO 抗体阳性患者有较高的贫血发生风险。

关键词: 慢性丙型肝炎病毒感染; 抗内源性循环红细胞抗体; 贫血

中图分类号: R978.7 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2019)08 - 2496 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.08.054

Correlation between circulating autoantibodies to endogenous erythropoietin and anemia in patients with chronic hepatitis C infection

WEI San-zhou¹, SUN Fei¹, LI Min¹, LU Yan²

1. Department of Laboratory, Xiaochang First People's Hospital, Xiaogan 432900, China

2. Department of Laboratory, Xiaogan Central Hospital, Xiaogan 432100, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between circulating autoantibody to endogenous erythropoietin (EPO) and anemia in patients with chronic hepatitis C (HCV) infection. **Methods** Information of demographic and clinical examination of 121 patients with HCV infection and accepted antiviral treatment were collected in Xiaochang First People's Hospital from January 2014 to August 2016. Levels of serum anti-EPO antibody and EPO were detected by ELISA and a commercial kit, respectively. RT-PCR was used to determine HCV RNA levels. Multivariate logistic regression was used to evaluate the association between serum anti-EPO antibody and chronic HCV infection associated anemia. **Results** There were 53 and 67 chronic HCV infected patients with and without anemia, respectively. Higher levels of age, percent of reticulocyte, serum EPO and proportion of patients with positive anti-EPO antibody and lower levels of hemoglobin, albumin and HCV RNA were found among groups of anemia than non-anemia group. HCV infected patients with positive anti-EPO antibody had lower levels of serum EPO and higher levels of HCV RNA than patients with negative anti-EPO antibody ($P < 0.001$). A negative association and a reversed dose-response relationship between serum EPO and hemoglobin were found in patients with negative anti-EPO antibody ($P < 0.001$), but such results were not

收稿日期: 2018-12-06

作者简介: 魏三舟 (1974—), 男, 副主任技师, 本科, 研究方向为临床分子生物学、免疫学检测与诊断。E-mail: 979629044@qq.com

*通信作者 孙飞, 主管技师, 学士。E-mail: sunflyer2007@163.com

found among patients with positive anti-EPO antibody. Further, in the multiple logistic regression models, it was found that 1% increase in percent of reticulocyte and 1 mU/mL increasing in serum EPO were associated with 32.2% and 8.9% increased risk of anemia, while 5-fold increased anemia risk was found in chronic HCV infected patients with positive anti-EPO antibody. **Conclusion** The occurrence of hepatitis C virus-related anemia is associated with autoimmunity, and high risk of anemia is found among chronic HCV infected patients with positive serum anti-EPO antibody.

Key words: chronic HCV infection; autoantibodies to endogenous erythropoietin; anemia

丙型肝炎病毒呈全球性流行，在世界范围内影响数百万人的健康。据 WHO 统计，全球丙型肝炎病毒感染率约为 2.8%^[1]。贫血是慢性丙肝病毒感染的一个重要并发症，与升高的发病率、死亡率和生活质量相关^[2]。2011 年以前干扰素联合利巴韦林是丙型肝炎病毒的标准疗法，在抗病毒治疗开始后，与丙型肝炎病毒相关的贫血进一步恶化；在 24 或 48 周内，大约 2/3 的患者会出现贫血。抗病毒药物的出现彻底改变了治疗慢性丙型肝炎病毒感染的方法，减少了副作用，同时提高了治疗效果。然而这些新疗法也与严重的血液不良反应有关，可导致 10% 的治疗患者出现贫血，即使使用了干扰素和无干扰的药物组合^[3]。由于抗病毒治疗对血红蛋白水平的不利影响，已存在的与心血管相关的贫血可能导致抗丙型肝炎病毒的治疗延迟和较低的完成率^[4]。与许多慢性病毒感染类似，慢性丙型肝炎病毒感染的特点是慢性免疫刺激引起的大量自体免疫现象^[5]。已有研究表明慢性人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染有关的贫血与内源性循环红细胞 (EPO) 抗体有关^[6]，抗 EPO 抗体对纯红细胞发育不全和全身性红斑狼疮相关贫血有促进作用^[7]。本研究旨在确定慢性丙型肝炎病毒感染患者循环系统中抗 EPO 抗体水平，并研究该物质与心血管相关贫血发生的关联性。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集孝昌县第一人民医院 2014 年 1 月—2016 年 8 月被诊断出丙型肝炎病毒感染的抗病毒治疗患者的人口学和临床检查信息，排除丙型肝炎病毒感染以外患者，包括艾滋病毒合并感染、肿瘤、地中海贫血、肾衰竭、缺铁性贫血以及过去使用重组 EPO 治疗的患者。共有 121 名患者纳入本研究。本研究获得医院医学伦理委员会的批准，所有患者均知情同意。

肝硬化的诊断是基于现有的肝脏活组织检查或食管/心脏静脉曲张和超声检查结果。贫血诊断标准参照《诊断学》(第八版)^[8]，即男性外周血中的

血红蛋白水平 < 120 g/L，女性外周血中血红蛋白水平 < 110 g/L。

1.2 分组和取样

根据丙型肝炎病毒感染者是否伴有贫血症状将所有研究对象分为非贫血组和贫血组。收集慢性丙型肝炎病毒感染患者的外周静脉血，离心分离血清、分装、冷冻储存在 -80 °C。

1.3 观察指标

收集所有研究对象的临床检查信息，包括网织红细胞比例、血红蛋白水平、叶酸、维生素 B₁₂、胆红素水平等。血清抗 EPO 水平的检测是基于酶联免疫吸附试验 (ELISA)，根据是否检测到抗 EPO 分为阳性和阴性病例。血清中 EPO 的检测是通过商用型免疫印记实验试剂盒 (EPO-TracTM 125/RIA Kit)，若血清 EPO > 19 mU/mL 则为升高，若为 0~19 mU/mL 则为正常。使用 QIAamp 病毒 RNA 试剂盒 (QIAGEN) 从 150 μL 血清中提取丙型肝炎病毒 RNA，并采用 RT-PCR 法测定丙型肝炎病毒 RNA 水平。

1.4 统计学处理

首先对连续型观察指标变量行正态性检验：若符合正态性分布，则连续变量在两组之间的分布差异采用两组间独立样本 *t* 检验；否则采用两组间非参数检验 (Mann-Whitney test)。分类资料两组间的比较采用 χ^2 检验。血红蛋白水平与 EPO 之间相关分析采用 Pearson 相关分析法，采用 Logistic 回归分析抗 EPO 水平与贫血症状发生之间的关联性。上述分析均采用 SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, NC) 软件统计分析，行双侧检验。作图软件为 Graphpad prism 5 (Graphpad Software, Inc.)。

2 结果

2.1 贫血、非贫血丙型肝炎病毒感染患者基线人口学和临床资料比较

慢性丙型肝炎病毒感染患者中共有 53 名贫血和 67 名非贫血患者，两组间基线人口学和临床资料的比较见表 1。贫血和非贫血丙型肝炎病毒感染患者男、女性别比例为 37.8%、37.3%，分布无差异，

但贫血患者倾向于年龄更高的人群 (52.1 对比 46.5 岁, $P=0.031$)。贫血组的血红蛋白、白蛋白和丙型肝炎病毒 RNA 负荷水平均低于非贫血组 (分别为 10.1 对比 13.7 g/dL, 3.31 对比 4.13 g/dL, 680.3×10^3

IU/mL 对比 818.9×10^3 IU/mL), 但网织红细胞比例 (1.80%对比 1.11%)、血清 EPO 水平 (70.2 对比 33.5 mU/mL) 和抗 EPO 抗体阳性率 (18.9%对比 6.0%) 均高于非贫血组。

表 1 贫血与非贫血丙型肝炎病毒感染患者基线人口学和临床资料

Table 1 Baseline demographic and clinical data between anaemic and non-anaemic HCV infected patients

变量	贫血患者 (n=53)	非贫血患者 (n=67)	t/ χ^2	P
男/例	20	25	0.002	0.962
女/例	20	25	0.002	0.962
年龄/岁	52.1±10.3	46.5±9.8	2.139	0.031
血红蛋白/(g·dL ⁻¹)	10.1±1.7	13.7±1.5	3.017	0.004
铁/(mcg·dL ⁻¹)	81.3±51.2	93.6±55.7	0.513	0.712
维生素 B ₁₂ /(pg·mL ⁻¹)	911.2±760.1	544.4±312.3	1.830	0.071
叶酸/(ng·mL ⁻¹)	9.3±4.9	8.1±4.6	1.012	0.378
网织红细胞/%	1.80±1.2	1.11±0.63	2.536	0.014
总胆红素/(mg·dL ⁻¹)	2.1±6.1	0.80±0.55	1.589	0.127
直接胆红素/(mg·dL ⁻¹)	0.71±2.3	0.33±0.51	2.379	0.231
白蛋白/(g·dL ⁻¹)	3.31±0.71	4.13±0.66	2.398	0.021
AST/(U·L ⁻¹)	65.1±56.2	50.7±33.1	1.892	0.057
ALT/(U·L ⁻¹)	66.8±91.2	67.4±72.1	0.496	0.882
RNA/($\times 10^3$ IU·mL ⁻¹)	680.3±1011.3	818.9±1204.5	1.588	0.139
EPO/(mU·mL ⁻¹)	70.2±68.9	33.5±21.7	3.625	<0.001
抗 EPO 抗体阳性/例	10	4	3.177	0.029

2.2 血清抗 EPO 抗体阳性和阴性丙型肝炎病毒感染患者间 EPO 和丙型肝炎病毒 RNA 负载水平比较

与慢性丙型肝炎病毒感染伴随抗 EPO 阴性患者血清 EPO 水平比较, 抗 EPO 抗体阳性患者的血清 EPO 水平较低 ($P<0.001$), 但丙型肝炎病毒 RNA 负载却呈现出较高的水平 ($P<0.001$), 见表 2。

2.3 血清 EPO 与血红蛋白水平的相关性分析

慢性丙型肝炎病毒感染伴随抗 EPO 阳性患者

表 2 血清抗 EPO 抗体阳性和阴性丙型肝炎病毒感染患者间 EPO 和 RNA 负载水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 60$)

Table 2 Comparison of loading levels of EPO and HCV RNA between patients with positive and negative serum anti-EPO antibody ($\bar{x} \pm s, n = 60$)

组别	EPO/(mU·mL ⁻¹)	HCV RNA/($\times 10^3$ IU·mL ⁻¹)
抗 EPO 抗体阴性	38.5±5.4	518±18.6
抗 EPO 抗体阳性	19.4±3.2***	1 154±40.7***

与抗 EPO 抗体阴性组比较: *** $P<0.001$

*** $P<0.001$ vs anti-EPO antibody negative group

血清 EPO 水平与血红蛋白水平的线性方程为 $Y = -0.055\ 92\ X + 17.36$ ($P=0.760$), 两者之间无统计学相关性 (Pearson $r = -0.042, P=0.760$), 也无明显剂量反应关系。与此相比, 血红蛋白在 10~20 g/dL 时, 抗 EPO 抗体阴性患者血清 EPO 水平与血红蛋白水平线性方程为 $Y = -3.621\ X + 78.03$ ($P<0.001$), 两者呈现负向相关性 (Pearson $r = -0.381, P<0.001$)。

2.4 慢性丙型肝炎病毒感染患者 EPO 和抗 EPO 水平与贫血之间的关联性

因年龄、血红蛋白水平、网织红细胞率、白蛋白水平、血清 EPO 和抗 EPO 抗体阳性率在贫血和非贫血组间存在差异性, 故上述变量均纳入多变量 logistic 回归分析。结果见表 3。由结果可见, 网织红细胞比例每增加 1%, 血清 EPO 水平每增加 1 mU/mL, 贫血发生风险分别增加 32.2%、8.9%, 抗 EPO 抗体阳性患者贫血发生风险增高 5 倍。但年龄、血红蛋白和白蛋白水平与贫血发生均无统计学关联性。

表3 慢性丙型肝炎病毒感染患者 EPO 和抗 EPO 抗体水平与贫血之间的关联性

Table 3 Association between EPO, anti-EPO antibody levels and anemia in patients with chronic HCV infection

变量	OR	95% CI	P
年龄/年	1.021	0.992~1.033	0.127
血红蛋白/(g·dL ⁻¹)	0.894	0.652~1.241	0.373
网织红细胞/%	1.322	1.189~1.579	0.003
白蛋白/(g·dL ⁻¹)	0.998	0.723~1.123	0.741
EPO/(mU·mL ⁻¹)	1.089	1.036~1.112	0.036
抗 EPO 抗体阳性/例	6.102	4.389~9.281	<0.001

3 讨论

本研究中,在 10 名丙型肝炎病毒慢性肝炎患者血清中发现抗 EPO 抗体 (18.9%)。同时抗 EPO 抗体与高病毒载量、低 EPO 浓度和高贫血发生率相关。多元线性回归提示,抗 EPO 抗体是贫血的独立危险因素。慢性感染与自身免疫之间的关系是众所周知的,并且丙型肝炎病毒是最常与自身免疫现象相关的病毒之一,因为它既是嗜肝的又是嗜淋巴的,感染的淋巴组织代表病毒持续存在的位置^[9-11],从而引起免疫系统的慢性刺激,促进多-寡克隆 B 淋巴细胞扩增,并因此产生广谱的自身抗体^[12]。因此慢性丙型肝炎病毒感染不仅仅造成肝炎,还可以造成肝外器官特异性炎症(糖尿病、甲状腺炎)和全身性自身免疫性疾病。在一个纳入 1 020 名慢性丙型肝炎病毒感染患者的队列研究中,研究人员发现干燥综合征 (48%)、类风湿性关节炎 (15%)、系统性红斑狼疮 (13%)、结节性多动脉炎 (8%) 和抗磷脂综合征 (6%) 等全身性自身免疫性疾病可以共存^[13]。

本研究发现,循环中抗 EPO 抗体与高丙型肝炎病毒 RNA 病毒载量相关。有文献报道, HIV 感染者抗 EPO 抗体也与高病毒载量相关^[14]。由高病毒载量反映出来的病毒高复制率可以强烈地激活免疫系统^[11, 15-16],从而促进自身抗体的产生。研究证实, HIV 感染患者中,抗病毒治疗减少病毒载量的同时可以减少循环中的抗 EPO 抗体和贫血发生率,这说明病毒复制减少后,免疫系统的活性下调,因此抗 EPO 抗体就不再产生。Sulkowski 等^[17]研究表明,与不需要重组 EPO 支持治疗的患者相比,一些“严重”贫血患者(需要促红细胞生成剂支持)病毒载量更高 (RNA > 600 000 IU/mL)。这些数据表

明,大量病毒复制造成的免疫系统强烈地激活是产生抗 EPO 抗体的驱动力。分子模仿可能是另一种发病机制,如在 HIV-1 感染中已经显示的。涉及特定丙型肝炎病毒抗原和宿主自身抗原的分子模拟可能负责 B 淋巴细胞激活和自身抗体产生。

由于抗 EPO 抗体与贫血紧密相关,且为独立危险因素,所以与其他的循环自身抗体相比,抗 EPO 抗体有重要的临床意义。治疗前贫血在慢性丙型肝炎病毒感染患者中很常见^[18]。尽管治疗前丙型肝炎病毒患者相关的贫血症的病理生理学还不是很清楚,但据文献报道,有许多因素包括营养不足、出血、慢性疾病贫血、冷球蛋白血症、淋巴瘤和其他潜在的合并症与此相关^[19-20]。由于本研究属于观察性研究,不能确证是抗 EPO 抗体促进了这些患者贫血的发展;因此这些抗体也可能是反映疾病发展过程中免疫系统极度激活的伴随标记。然而,与贫血相关联的强度及其与其他独立性预测的因子表明,抗 EPO 抗体可能具有的病因学作用、机体的自身免疫可以被添加到丙型肝炎病毒相关性贫血的发病机制中。

在本研究中,与循环中没有抗 EPO 抗体的患者相比,循环中存在抗 EPO 抗体的慢性丙型肝炎病毒感染患者血清中的 EPO 水平更低。血红蛋白水平降低是肾 EPO 合成增加的刺激因素^[21]。实验发现在抗 EPO 抗体阳性的患者中,贫血对 EPO 的这种反应被抑制。尽管相对较少数量的患者不与实验的发现相符,但是充分描述了丙型肝炎病毒这种慢性疾病的贫血还具有低 EPO 水平和贫血对 EPO 生成刺激降低的特征。因此,在抗 EPO 阳性患者中观察到贫血和 EPO 水平低的原因可能与丙型肝炎病毒感染相关的慢性炎症有关。然而,在本研究中,慢性丙型肝炎病毒感染并没有循环抗 EPO 抗体的患者增加了 EPO 水平,反映了对贫血的正常应答。这些数据表明循环抗 EPO 对丙型肝炎病毒感染患者的红细胞生成有潜在的不利作用。Casadevall 等^[10]在一项关键的研究中显示,在纯红细胞再生障碍的患者中检测到抗 EPO 能够抑制 EPO 与其受体的结合并阻断其诱导红细胞生长的能力祖细胞。有研究报道称,在 HIV 感染患者中检测到的抗 EPO 是与 EPO 功能结构域结合,从而干扰其与受体的相互作用。尽管本研究没有提供直接证据,但抗 EPO 可能对 EPO 具有中和作用,从而导致丙型肝炎病毒相关性贫血的发展。

本研究的临床意义非常明确,因为治疗前丙型肝炎病毒感染性贫血与死亡率、发病率增加、生活质量差和推迟抗病毒治疗有关。至少在使用的抗病毒剂时,慢性丙型肝炎病毒感染的患者与治疗前贫血的患者不太可能启动并完成丙型肝炎病毒的全程治疗。更好地了解造成贫血的原因使实验可以为慢性丙型肝炎病毒患者提供更为合适的治疗方案。

综上所述,慢性丙型肝炎病毒感染患者中有较大比例具有循环的抗EPO,其与贫血发生、更高的病毒载量、更低的EPO水平以及EPO对贫血的弱应答有关。这些发现表明,丙型肝炎病毒相关性贫血的发生与自身免疫有关。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学分会. 丙型肝炎防治指南(2015年版)[J]. 中国肝脏病杂志: 电子版, 2015, 7(3): 19-35.
- [2] Mohanty A, Erqou S, McGinnis K A, et al. Therapy for hepatitis C virus infection increases survival of patients with pretreatment anemia [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2013, 11(6): 741-747.
- [3] Banerjee D, Reddy K R. Review article: safety and tolerability of direct-acting anti-viral agents in the new era of hepatitis C therapy [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 43(6): 674-696.
- [4] Ridruejo E. Hepatitis C treatment completion rates in routine clinical care [J]. *Liver Int*, 2010, 30(7): 1082.
- [5] Tomasiewicz K, Pokora-Pachowicz A, Kiciak S. Autoimmune reactions in the course of the hepatitis C virus (HCV) infection [J]. *Clin Exp Hepatol*, 2015, 1(2): 39-43.
- [6] Tsiakalos A, Routsias J G, Kordossis T, et al. Fine epitope specificity of anti-erythropoietin antibodies reveals molecular mimicry with HIV-1 p17 protein: a pathogenetic mechanism for HIV-1-related anemia [J]. *J Infect Dis*, 2011, 204(6): 902-911.
- [7] Casadevall N, Dupuy E, Molho-Sabatier P, et al. Autoantibodies against erythropoietin in a patient with pure red-cell aplasia [J]. *N Engl J Med*, 1996, 334(10): 630-633.
- [8] 万雪红, 卢雪峰. 诊断学 [M]. 第八版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [9] Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, et al. Hepatitis C virus syndrome: A constellation of organ- and non-organ specific autoimmune disorders, B-cell non-Hodgkin's lymphoma, and cancer [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(3): 327-343.
- [10] Calvaruso V, Craxi A. Immunological alterations in hepatitis C virus infection [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(47): 8916-8923.
- [11] Kondo Y, Ninomiya M, Kimura O, et al. HCV infection enhances Th17 commitment, which could affect the pathogenesis of autoimmune diseases [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98521.
- [12] Schiavinato A, Zanetto A, Pantano G, et al. Polyclonal and monoclonal B lymphocytes response in HCV-infected patients treated with direct-acting antiviral agents [J]. *J Viral Hepat*, 2017, 24(12): 1168-1176.
- [13] Ramos-Casals M, Muñoz S, Medina F, et al. Systemic autoimmune diseases in patients with hepatitis C virus infection: characterization of 1020 cases (The HISPAMEC Registry) [J]. *J Rheumatol*, 2009, 36(7): 1442-1448.
- [14] Burbelo P D, Klimavicz J S, Deeks S G, et al. Lack of evidence for molecular mimicry in HIV-infected subjects [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0127662.
- [15] Habip Z, Sohrabi P, Saribas S, et al. Neopterin and soluble CD14 levels as indicators of immune activation in cases with low anti-HCV reactivity and true HCV infection [J]. *Acta Virol*, 2017, 61(3): 264-272.
- [16] Coppola N, Zampino R, Bellini G, et al. CB2-63 polymorphism and immune-mediated diseases associated with HCV chronic infection [J]. *Dig Liver Dis*, 2016, 48(11): 1364-1369.
- [17] Sulkowski M S, Wasserman R, Brooks L, et al. Changes in haemoglobin during interferon alpha-2b plus ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C virus infection [J]. *J Viral Hepat*, 2004, 11(3): 243-250.
- [18] Kuntzen T, Kuhn S, Kuntzen D, et al. Influence of ribavirin serum levels on outcome of antiviral treatment and anemia in hepatitis C virus infection [J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0158512.
- [19] Romero-Gómez M, Berenguer M, Molina E, et al. Management of anemia induced by triple therapy in patients with chronic hepatitis C: challenges, opportunities and recommendations [J]. *J Hepatol*, 2013, 59(6): 1323-1330.
- [20] Elliott J, Mishler D, Agarwal R. Hyporesponsiveness to erythropoietin: causes and management [J]. *Adv Chronic Kidney Dis*, 2009, 16(2): 94-100.
- [21] Butt A A, Justice A C, Skanderson M, et al. Rate and predictors of treatment prescription for hepatitis C [J]. *Gut*, 2007, 56(3): 385-389.