

• 论 著 •

233 例患者多项实验室检测指标分析

吕晓丽, 邹菊贤, 徐爽, 杨文青, 李锐成, 沈建军, 张惠中[△]
(第四军医大学唐都医院临床实验与检验科, 西安 710038)

摘要:目的 分析丙型肝炎、肝硬化、肝癌患者血清丙型肝炎病毒(HCV)-RNA 载量、抗-HCV 及丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、甲胎蛋白(AFP)相关实验室指标变化情况,探讨 HCV 感染后不同疾病阶段患者检测指标间的相关性及其在疾病进展过程中的变化,为疾病的诊治提供依据。方法 采用实时荧光定量聚合酶链反应检测患者血清 HCV-RNA 载量,时间分辨荧光定量法检测抗-HCV 水平,全自动生化分析仪检测 ALT、AST 水平,化学发光法检测 AFP 水平。结果 丙型肝炎、肝硬化及肝癌 3 组患者 HCV-RNA 载量对数值分别为 5.96 ± 1.61 、 5.54 ± 1.26 、 5.19 ± 1.38 ,丙型肝炎组明显高于肝硬化组及肝癌组,差异均有统计学意义($t=2.677$ 、 1.771 , $P<0.05$),肝硬化组与肝癌组差异无统计学意义($t=1.612$, $P>0.05$)。随着 HCV-RNA 载量升高,抗-HCV 阳性率在丙型肝炎($r=0.729$)、肝硬化($r=0.900$)和肝癌($r=0.737$)阶段均升高,呈正相关,但与抗体水平无明显相关性。肝硬化和肝癌阶段抗体水平均较丙型肝炎组低,抗体阳性率均较丙型肝炎组高,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。丙型肝炎、肝硬化及肝癌 3 个阶段病毒载量与 AST、ALT、AFP 异常率均呈正相关,但与检测水平无明显相关性。结论 HCV-RNA 载量在疾病进展中有逐渐下降的趋势,提示在疾病的诊治过程中监测 HCV-RNA 对判断疾病的转归有重要作用;病毒载量与抗体、AST、ALT、AFP 异常率均呈正相关,但其水平无明显相关性,将抗-HCV 和 HCV-RNA 结果有机结合是临床诊断 HCV 感染的最佳选择,联合检测各项生化免疫指标在正确诊断和预测疾病进展及疗效观察中具有重要临床意义。

关键词:丙型肝炎;肝硬化;肝癌;HCV-RNA;抗-HCV

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.12.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)12-1621-03

Comprehensive analysis on multiple experimental detection indexes in 233 cases of patients

LV Xiaoli, ZOU Juxian, XU Shuang, YANG Wenqing, LI Ruicheng, SHEN Jianjun, ZHANG Huizhong[△](Department of Clinical Trials and Laboratory and Research Center, Tangdu Hospital,
Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710038, China)

Abstract: Objective To analyze the changes of HCV-RNA, anti-HCV, ALT, AST, AFP in serum of patients with hepatitis, cirrhosis or hepatocellular carcinoma and investigate the correlation between test indicators and the changes in disease progression, to provide the basis for the diagnosis and treatment of disease. **Methods** Real-time quantitative PCR was used to detect the serum HCV-RNA load, time-resolved fluorescence quantitative method was used to detect anti-HCV level, automatic biochemical analyzer was used to detect ALT, AST and chemiluminescence was used to detect AFP. **Results** HCV-RNA load in hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma were 5.96 ± 1.61 , 5.54 ± 1.26 , 5.19 ± 1.38 respectively. The HCV-RNA load in hepatitis group was significantly higher than that in cirrhosis group ($t=2.677$, $P<0.05$) and liver cancer group ($t=1.771$, $P<0.05$), but there was no significant difference between cirrhosis and liver cancer ($t=1.612$, $P>0.05$). With the increasing of HCV-RNA load, the positive rate of anti-HCV in hepatitis ($r=0.729$), cirrhosis ($r=0.900$) and liver cancer ($r=0.737$) were all increased, and it had a positive correlation in each group, but it showed no significant correlation with antibody level. Compared with hepatitis, the antibody level was lower in cirrhosis and liver cancer while the positive rate was higher, both without statistically significant ($P>0.05$). At different stages of the disease, viral load and AST, ALT, AFP were positively correlated with the abnormal rate but had no significant correlation with the measured concentrations. **Conclusion** HCV-RNA load in disease progression has tendency of gradually decreased, suggesting that HCV-RNA has important role in judging the prognosis of disease; the viral load was positively correlated with abnormal rate of antibodies, AST, ALT, AFP, but there is no significant correlation with the concentrations of them. Combined detection of anti-HCV with HCV-RNA is the best choice for the clinical diagnosis of HCV infection. Combined detection of various biochemical and immune indicators has important clinical significance in the diagnosis, prediction of disease progression and observation of the efficacy.

Key words: hepatitis C; cirrhosis; hepatocellular carcinoma; HCV-RNA; anti-HCV

丙型肝炎病毒(HCV)是黄病毒科的一种有包膜单股正链 RNA 病毒。HCV 感染可引起丙型肝炎,多数患者可进一步发展为慢性肝炎,进而发展为肝硬化甚至肝癌。HCV 感染呈世界性分布,全球感染人数估计有 1.78 亿,已成为严重的世界性公共卫生问题^[1]。最新调查表明,全世界每年新感染 HCV 患

者高达数十万人,我国属丙型肝炎高发区,阳性率高达 3.2%^[2-3]。HCV 感染已成为威胁人类健康的重要传染病之一,严重危害患者生命健康。了解患者体内 HCV-RNA 载量及相关指标变化,可早期发现 HCV 感染者并指导临床治疗;了解 HCV 感染后不同疾病阶段(丙型肝炎、肝硬化、肝癌)的

临床实验室检查特征,对评估疾病进展和患者预后有重要意义。本文分析了 94 例丙型肝炎患者,97 例丙型肝炎肝硬化及 42 例肝癌患者血清 HCV-RNA 载量、抗-HCV 及丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、甲胎蛋白 (AFP) 相关实验室检测指标。分析指标间的相关性及其在疾病进展过程中的变化情况,从而为疾病的诊断和治疗提供科学依据,为不同病程丙型肝炎患者提供有价值的检测方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009~2014 年在本院确诊的丙型肝炎、肝硬化、肝癌患者共 233 例,排除甲、乙、丁、戊型病毒性肝炎及可能引起肝功能异常的疾病,排除有肝炎相关异常指标者。

1.2 试剂与方法 实时荧光定量聚合酶链反应检测 HCV-RNA 载量,仪器为美国 ABI-7500 型全自动分析仪,试剂由广州达安基因有限公司生产。时间分辨法检测抗-HCV 水平,实验室人员严格按照说明书操作,每次试验均设空白对照,阴、阳性对照,定值血清, S/CO ≥ 1 判定为抗-HCV 阳性。酶速率法测定 ALT、AST 水平,由日立全自动生化分析仪完成。化学发光法检测 AFP 水平,试剂由罗氏公司提供。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,计数资料以 *n*(%) 表示,采用 χ^2 检验,变量间的关系用相关分析,以相关系数 (*r*) 表示,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 丙型肝炎、肝硬化及肝癌组 3 组患者 HCV-RNA 载量 见表 1。丙型肝炎、肝硬化和肝癌患者 HCV-RNA 阳性分别为 60 例、71 例、30 例。丙型肝炎、肝硬化及肝癌 3 组患者 HCV-RNA 载量不同,HCV-RNA 载量对数值分别为 5.96 ± 1.61、5.54 ± 1.26、5.19 ± 1.38,丙型肝炎组 HCV-RNA 载量明显高于肝硬化组及肝癌组,差异均有统计学意义 (*t* = 2.677、1.771, *P* < 0.05),肝硬化组与肝癌组患者 HCV-RNA 载量差异无统

计学意义 (*t* = 1.612, *P* > 0.05)。

表 1 3 组患者 HCV-RNA 载量结果

疾病种类	标本数	阳性数(<i>n</i>)	HCV-RNA 载量对数值($\bar{x} \pm s$)
丙型肝炎	94	60	5.96 ± 1.61
肝硬化	97	71	5.54 ± 1.26
肝癌	42	30	5.19 ± 1.38

2.2 不同 HCV-RNA 载量患者抗-HCV 结果 见表 2。丙型肝炎、肝硬化和肝癌患者 HCV-RNA 阳性分别为 60 例、71 例、30 例,其中 HCV-RNA 阳性和抗-HCV 阳性分别为 53 例、63 例、25 例。HCV-RNA 阳性和抗-HCV 阴性有 7 例,HCV-RNA 阴性和抗-HCV 阳性有 21 例。随 HCV-RNA 载量升高,抗-HCV 阳性率在丙型肝炎 (*r* = 0.729)、肝硬化 (*r* = 0.900) 和肝癌 (*r* = 0.737) 阶段均升高,二者呈正相关,但与抗体水平无明显相关性,其相关系数分别为 0.467、0.659、0.331。在疾病进展过程中,肝硬化和肝癌组抗体水平均较丙型肝炎组低,但差异无统计学意义 (*P* > 0.05),抗体阳性率均较丙型肝炎组高,但差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。

2.3 3 组患者不同 HCV-RNA 载量与 ALT、AST、AFP 结果分析 见表 3。本研究中,丙型肝炎患者 HCV-RNA 载量与 ALT、AST 异常率呈正相关 (*r* = 0.995, *P* = 0.032; *r* = 0.993, *P* = 0.039),但与检测水平无明显相关性;与 AFP 异常率及检测水平均无明显相关性。肝硬化患者随病毒载量升高,ALT、AST 异常率升高且均与病毒载量呈正相关,但病毒载量与检测水平无相关性;与 AFP 异常率及检测水平均无明显相关性。肝癌患者 HCV-RNA 载量与 ALT、AST、AFP 异常率均呈正相关,与检测水平无明显相关性。

表 2 不同 HCV-RNA 载量患者抗-HCV 结果分析

HCV-RNA (U/mL)	肝炎抗-HCV			肝硬化抗-HCV			肝癌抗-HCV		
	标本数	阳性[<i>n</i> (%)]	$\bar{x} \pm s$ (U/L)	标本数	阳性[<i>n</i> (%)]	$\bar{x} \pm s$ (U/L)	标本数	阳性[<i>n</i> (%)]	$\bar{x} \pm s$ (U/L)
低(10 ² ~10 ³)	15	11(73.30)	134.8 ± 184.2	17	14(82.35)	66.7 ± 125.5	9	6(66.67)	38.2 ± 34.03
中(10 ⁴ ~10 ⁵)	28	26(92.86)	44.4 ± 37.1	40	35(87.50)	38.5 ± 33.4	17	15(88.20)	79.0 ± 90.1
高(10 ⁶ ~10 ⁸)	17	17(100.00)	54.4 ± 58.3	14	14(100.00)	70.8 ± 26.9	4	4(100.00)	24.4 ± 15.2
合计	60	53(88.33)	75.6 ± 115.2	71	63(95.77)	51.5 ± 85.1	30	25(90.00)	59.7 ± 74.0

表 3 3 组患者不同 HCV-RNA 载量与 ALT、AST、AFP 结果分析

疾病种类	HCV-RNA (U/mL)	HCV-RNA 载量对数值($\bar{x} \pm s$)	<i>n</i>	ALT		AST		AFP	
				$\bar{x} \pm s$ (U/L)	异常结果[<i>n</i> (%)]	$\bar{x} \pm s$ (U/L)	异常结果[<i>n</i> (%)]	$\bar{x} \pm s$ (U/L)	异常结果[<i>n</i> (%)]
丙型肝炎	10 ² ~10 ³	3.57 ± 0.34	6	76.60 ± 95.60	3(50.0)	48.16 ± 20.91	3(50.0)	5.54 ± 5.67	1(16.7)
	10 ⁴ ~10 ⁵	5.34 ± 0.86	32	108.00 ± 160.30	23(71.9)	80.00 ± 100.96	21(65.6)	21.10 ± 40.20	8(25.8)
	10 ⁶ ~10 ⁸	7.51 ± 1.20	22	55.00 ± 51.20	20(90.9)	47.47 ± 28.50	21(95.5)	4.70 ± 4.40	2(9.50)
肝硬化	10 ² ~10 ³	3.05 ± 0.97	4	36.50 ± 14.20	2(50.0)	43.30 ± 15.90	2(50.0)	12.30 ± 14.30	1(25.0)
	10 ⁴ ~10 ⁵	5.03 ± 0.57	40	53.50 ± 30.60	29(72.5)	64.60 ± 31.90	27(67.5)	244.00 ± 889.40	19(47.5)
	10 ⁶ ~10 ⁸	6.77 ± 0.91	27	59.00 ± 40.80	24(88.9)	61.10 ± 40.20	24(88.9)	103.30 ± 407.30	12(44.4)
肝癌	10 ² ~10 ³	3.60 ± 0.28	6	63.80 ± 34.80	4(66.7)	78.50 ± 55.70	4(66.7)	1 750.00 ± 4 294.00	4(66.7)
	10 ⁴ ~10 ⁵	4.98 ± 0.59	17	64.00 ± 34.50	12(70.6)	94.80 ± 55.60	13(76.5)	3 690.00 ± 5 857.00	14(82.6)
	10 ⁶ ~10 ⁸	7.02 ± 1.29	7	60.90 ± 41.40	6(85.7)	73.00 ± 48.40	7(100.0)	7 530.00 ± 2 925.00	7(100.0)

3 讨论

丙型肝炎是我国主要的病毒性肝炎之一,主要经血液传

播,发病率仅次于乙型肝炎^[4]。HCV 感染后如未经早期诊断及合理治疗,约有 80% 的人会发展成慢性肝炎,其中 20%~

50% 的患者经过 10~30 年后会发展成肝硬化, 1%~4% 的患者会发展成原发性肝癌^[5-6]。目前, HCV 的发病机制尚不十分清楚, 但丙型肝炎患者异常的免疫因素尤其是细胞免疫以被越来越多的研究证实。在丙型肝炎的发病过程中, HCV 感染可使机体免疫系统活化并改变肝细胞膜成分, 活化的细胞可与改变的肝细胞膜成分发生免疫应答, 造成肝细胞损伤、肝功能改变等一系列表现^[7]。HCV-RNA 是反映病毒数量和复制活跃程度最可靠的指标, 抗-HCV 反映了机体的免疫状态, 是病毒感染的标记, ALT、AST 反映肝细胞损伤, AFP 在细胞癌变时升高。分析 HCV-RNA、抗-HCV、ALT、AST、AFP 的变化, 在 HCV 感染的诊断和预后判断中有重要临床价值。

目前临床上诊断丙型肝炎多以血清 HCV-RNA 载量为依据, 在临床治疗过程中可以观察到肝硬化、肝癌患者 HCV-RNA 载量相对较低的现象。由表 1 可见, HCV-RNA 载量在疾病进展中有逐渐下降的趋势, 丙型肝炎组患者 HCV-RNA 载量明显高于其他两组, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但肝硬化组与肝癌组患者 HCV-RNA 载量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。以上提示, 随着慢性 HCV 感染性疾病病程延长及病情发展, 病毒复制的能力逐渐减低, 可能是由于机体感染 HCV 后, 机体体液和细胞免疫应答造成肝细胞损伤, 免疫损伤越严重, 肝细胞破坏程度也越严重, 因此造成大量肝细胞坏死, 从而导致依赖于肝细胞的 HCV 复制减少。另外, 本研究中肝癌患者 42 例, HCV-RNA 阳性 30 例, 可能是由于肝癌患者样本量较少造成的偏倚。

由表 2 可见, 随着 HCV-RNA 载量升高, 抗-HCV 阳性率也增加, 呈正相关关系, 与国内其他报道一致^[8-9]。当 HCV-RNA 载量超过 1×10^6 U/mL 时, 抗 HCV 阳性率达 100.0%。本研究 233 例患者抗-HCV 阴性而 HCV-RNA 检测阳性者有 7 例, 主要原因有以下几点。(1) HCV 感染的窗口期: HCV-RNA 在 HCV 感染后 1~3 周即可被检测到, 但抗-HCV 产生较迟, 因此, 窗口期患者血清可出现 HCV-RNA 阳性, 而抗-HCV 阴性。(2) 丙型肝炎患者血清中病毒水平低, 且具有一定的波动性, 在未经干扰素治疗的患者中 HCV-RNA 可呈间歇性阳性。(3) 免疫功能低下: HCV 感染机体后, 病毒抗原刺激机体免疫系统产生抗-HCV, 若患者的免疫功能受抑制或免疫功能低下, 对外来抗原的刺激无应答则抗-HCV 阴性。本研究也出现抗-HCV 阳性和 HCV-RNA 阴性的情况, 分析其可能原因有: (1) 患者经过抗病毒治疗, 病毒复制减弱或停止, HCV-RNA 载量低于检测下线, 而抗-HCV 在体内存在可长达 10 年, 故可出现抗-HCV 阳性及 HCV-RNA 阴性的情况。(2) 感染恢复期患者病毒复制停止, HCV-RNA 消失, 但抗-HCV 持续存在。(3) RNA 易被白细胞中的 RNA 酶降解且易受进食影响, 易与血液中脂质及脂蛋白相结合致血液中 RNA 未被检出。(4) RNA 提取过程复杂, 从 RNA 到 DNA 转录再到 DNA 复制, 任何步骤出问题均影响其检出率。抗-HCV 阳性是感染的证据, 可反映机体的免疫状态, 但不能区分现症感染还是既往感染; HCV-RNA 阳性表示机体内有 HCV 存在, 是 HCV 感染的确切指标。单独检测抗-HCV 和 HCV-RNA 可引起部分患者漏检, 因此, 联合检测抗-HCV 和 HCV-RNA 是临床诊断 HCV 感染的最佳选择。

由表 3 可见, 机体感染 HCV 后, 随着疾病的进展, 机体免疫应答造成肝细胞损伤逐渐增高, 致 ALT、AST、AFP 均逐渐升高。免疫损伤越严重, 肝细胞破坏程度也越严重, 生化指标升高越明显。ALT、AST 由肝细胞产生, 是体现肝细胞损害和

坏死的灵敏度高、特异性强的指标, 可在一定程度上初步反映肝细胞损伤情况。本研究结果显示, HCV-RNA 水平与 ALT、AST 异常率呈正相关, 与国内的其他研究结果一致^[4,10]。由此提示 HCV 复制可能是患者肝细胞损害的根本原因, 但 HCV-RNA 水平与 ALT、AST 检测水平无相关性, 其原因可能是因为肝细胞的损伤并非完全是由病毒直接破坏引起的, 而主要是病毒通过其他机制引起肝细胞损伤所致。这也符合丙型肝炎临床症状轻, 病情进展缓慢, 呈持续长期发展的过程。AFP 检测对原发性肝癌的预测和是否复发的判断很有价值, 本组资料显示, 肝癌患者病毒载量与 AFP 检测水平及异常率均有明显的正相关关系。由此提示 AFP 水平可反映患者感染及疾病状态, 结合其他检测指标可判断患者预后, 值得临床参考应用。

综上所述, HCV-RNA 是 HCV 复制的确切标志, 定期监测患者 HCV-RNA 载量对判断疾病的转归有提示作用; 病毒载量与抗体、AST、ALT、AFP 异常率均呈正相关, 将抗-HCV 和 HCV-RNA 有机结合检测是临床诊断 HCV 感染的最佳选择, 联合检测各项生化免疫指标在正确诊断、预测疾病进展及疗效观察中有重要临床意义。

参考文献

- [1] Soriano V, Vispo E, Fernandez-Montero JV, et al. Update on HIV/HCV coinfection [J]. *Curr HIV/AIDS Rep*, 2013, 10(3): 226-234.
- [2] 钱明, 袁君君, 傅剑钊, 等. HCV-RNA、抗-HCV 和 ALT 联合检测在丙肝中诊断的应用[J]. *中国实用医药*, 2011, 6(14): 5-6.
- [3] Cobb B, Pockros PJ, Vilchez RA, et al. HCV-RNA viral load assessments in the era of direct-acting antivirals[J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(4): 471-475.
- [4] 周文俊, 马韞佳, 袁红萍, 等. 丙肝患者 HCV 病毒载量 HCV 抗体与 ALT、AST 前白蛋白的相关性分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2014, 21(4): 432-434.
- [5] Leone N, Rizzetto M. Natural history of hepatitis C virus infection: from chronic hepatitis to cirrhosis, to hepatocellular carcinoma [J]. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 2005, 51(1): 31-46.
- [6] 丁柳, 周易, 宋兴勃, 等. HCV RNA 载量与肝脏组织损伤的关系[J]. *中国实验诊断学*, 2011, 15(3): 481-483.
- [7] 王志明, 谭复明, 陈伟华, 等. 输血后丙型肝炎病毒感染的血清病毒定量研究[J]. *中华传染病杂志*, 2000, 18(1): 37-38.
- [8] 黄秀琼, 吴英. 110 例丙肝患者 HCV-RNA 载量及抗-HCV 与肝功能指标的相关性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(15): 1809-1810.
- [9] 刘昕阳, 李锐成, 代瑛, 等. HCV-RNA 阳性 236 例临床与实验室特征分析[J]. *陕西医学杂志*, 2013, 42(3): 359-360.
- [10] 张秀英, 顾建文. 丙肝患者在治疗过程中血清与抗定量检测及其生化指标的相关性研究[J]. *现代诊断与治疗*, 2013, 24(4): 28-73.