

肝纤维化指标与 HBV-DNA 联合检测在肝纤维化诊断中的价值

胡恒贵,秦淑国,李林茹(安徽省宿州皖北煤电集团总医院检验科 234000)

【摘要】 目的 探讨血清肝纤维化指标在肝纤维化非创伤性检查中的临床意义,慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 病毒载量与血清肝纤维化指标变化的关系。**方法** 143 例慢性乙型肝炎患者血清中透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、Ⅳ型胶原(CⅣ)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)检测采用放免法;对乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 含量及乙型肝炎病毒标志物(HBV-M)分别采用荧光定量聚合酶链反应及酶联免疫吸附试验检测,并进行比较分析。**结果** 肝纤维化 4 项指标中 HA 和 PCⅢ在慢性肝炎轻、中、重度和肝硬化患者中有依次升高趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$)。同时在乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)阳性、HBV-DNA 阳性组中血清肝纤 4 项指标最低,在 HBeAg 阴性、HBV-DNA 阴性组呈中等偏高,而在 HBeAg 阴性、HBV-DNA 阳性组中最高。**结论** HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者随 HBV-DNA 阳性和年龄增长,肝病持续发展,炎性和纤维化程度加重,肝纤维化 4 项指标与 HBV-DNA 联合检测对临床判断肝纤维化程度、肝硬化早期诊断和指导抗纤维化及抗病毒治疗有重要的价值。

【关键词】 肝纤维化; 透明质酸; 层粘蛋白; Ⅳ型胶原蛋白; Ⅲ型前胶原; HBV-DNA

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.24.017 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)24-3072-02

Clinical application of serum markers of liver fibrosis and copy of HBV-DNA in the diagnosis of hepatic fibrosis HU Heng-gui, QIN Shu-guo, LI Lin-ru (Department of Clinical Laboratory, General Hospital of WanBei Coal-Electric Group, Suzhou, Anhui, 234000, China)

【Abstract】 Objective To study the clinical significance of the serum of liver fibrosis in the liver fibrosis non-traumatic check, and the relationship between changer of blood HBV DNA viral load and serum liver fibrosis markers levels in patients with chronic hepatitis B. **Methods** Serum levels of HA, LN, CⅣ, PCⅢ in 143 cases of chronic hepatitis B were detected by radioimmunoassay(RIA), HBV-DNA were measured by the way of nucleic acid amplification fluorescent quantitation(FQ-PCR), and hepatitis b virus markers(HBVM) were tested by using ELISA. **Results** There was significant difference in quantity of serum HA and PCⅢ of liver fibrosis four index of liver fibrosis in mild or moderate or severe chronic hepatitis and cirrhosis in turn increase trend($P < 0.05$). In the hepatitis b virus markers, serum markers of liver fibrosis of HBeAg positive and HBV-DNA positive group was minimum, serum markers of liver fibrosis of HBeAg negative and HBV-DNA negative group was medium on the high side, and serum markers of liver fibrosis of HBeAg negative and HBV-DNA positive group was the highest. **Conclusion** HBeAg negative chronic hepatitis b patients with HBV-DNA positive and age, liver disease continued to develop, and fibrosis was increasing. The liver fibrosis four index and HBV-DNA united detection have an important value on clinical judgment of liver fibrosis degree and guiding anti fibrosis and antiviral treatment.

【Key words】 liver fibrosis; HA; LN; CⅣ; PCⅢ; HBV-DNA

肝纤维化是慢性肝炎向肝硬化发展的必经阶段。慢性乙型肝炎患者的乙型肝炎病毒持续存在是肝纤维化发生、发展的重要原因^[1]。如能在肝纤维化早期及时诊断处理,阻断其病理进展,则可防止肝硬化的形成发展。为研究乙型肝炎患者肝纤维化的程度与 HBV-DNA 之间的关系,寻找能动态观察肝纤维化及损害程度的指标,本文对 116 例各型病毒性肝炎血清透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、Ⅳ型胶原(CⅣ)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)联合检测,同时与 HBV-M 及 HBV-DNA 含量进行比较分析,以探讨其在肝纤维化的非创伤性诊断中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 143 例慢性乙型肝炎患者,男 94 例,女 49 例,年龄 18~82 岁,平均 47 岁,均为本院 2011 年 9 月至 2012 年 3 月住院患者,其中慢性乙型肝炎轻度 29 例,中度 58 例,重度 29 例,肝硬化 27 例。符合 2011 年中华药学会肝病学

会和感染学会共同制定的“2011 年版慢性乙型肝炎防治指南”标准,部分病例经肝组织穿刺确诊,排除其他内外科疾病及非 HBV 混合或重叠感染及其他肝脏疾病的乙型肝炎患者。

1.2 方法 血清 HA、LN、CⅣ、PCⅢ 的检测采用放免法(RIA)测定,试剂由上海海研医学生物技术中心提供,按说明书操作;HBV-M 采用酶联免疫吸附试验(ELISA),试剂由上海荣盛生物工程公司提供;HBV-DNA 含量检测采用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR),试剂由中山医科大学达安基因诊断中心提供,仪器采用美国 GeneAmpPE5700 型实时荧光定量 PCR 仪。HBV-DNA 含量采用其对数值均值表示。

1.3 统计学处理 多组数据间比较采用 *F* 检验;两组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 肝病者血清 4 项肝纤维化指标结果 见表 1。慢性肝炎轻、中、重度和肝硬化组随肝受损程度的加剧,HA 和 PCⅢ

2 项指标均依此升高,且在慢性肝炎重度组中升高幅度最大,各组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。LN 在各慢性肝炎组中差异无统计学意义($P > 0.05$),但在肝硬化组中,LN 的含量显著高于各肝炎组,差异有统计学意义($P < 0.05$);肝硬化组中 C

IV 的含量显著高于慢性肝炎轻度组,差异有统计学意义($P < 0.05$);慢性肝炎轻度组中的 CIV 含量明显低于其他 3 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而中、重度组中 CIV 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 116 例各型肝炎患者血清肝纤维化 4 项指标结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HA(ng/mL)	LN(ng/mL)	PCⅢ(μg/L)	CIV(μg/L)
慢性肝炎轻度组	29	75.56±47.55 ^c	92.20±29.93 ^c	126.69±62.17 ^c	62.09±14.83 ^c
慢性肝炎中度组	58	345.99±115.68 ^{ac}	103.21±24.28 ^c	183.56±112.79 ^{ac}	108.53±51.57 ^c
慢性肝炎重度组	29	788.05±122.78 ^{bc}	100.47±36.93 ^c	276.35±128.36 ^{bc}	109.44±40.59 ^c
肝硬化组	27	897.22±132.63 ^a	143.32±67.24 ^a	321.17±77.37 ^a	124.21±62.83 ^a

注:与慢性肝炎轻度组比较,^a $P < 0.05$;与慢性肝炎中度组比较,^b $P < 0.05$;与肝硬化组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.2 HBV-DNA 阳性的两组年龄比较 见表 2。在 HBV-DNA 阳性的两组中,乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)阴性 CHB 组年龄较 HBeAg 阳性 CHB 组大,且差异具有统计学意义($P < 0.05$);HBeAg 阴性 CHB 组 HBV-DNA 水平低于 HBeAg 阳性 CHB 组,两组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 HBV-DNA 阳性 CHB 的两组年龄和 HBV-DNA 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	HBV-DNA 含量(对数值)
HBeAg 阴性组	35	50.12±12.71	4.71±1.14
HBeAg 阳性组	31	40.68±14.32 ^a	5.80±1.44 ^a

注:与 HBeAg 阴性组比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 肝病患者血清 4 项肝纤指标升高情况 见表 3。随着肝病变的加重,任意 3 项肝纤维化指标升高的比例随慢性肝炎的严重程度逐渐升高,而且以慢性重型肝炎百分比最高,比例达 60%以上。

2.4 血清 4 项肝纤维化指标与 HBV-M 及 HBV-DNA 含量的

关系 见表 4。肝病患者其血清中的 HBV-DNA 含量和 HBV-M 与 4 项肝纤维化指标有明显相关性。慢性乙型肝炎肝炎患者病毒标志物[HBsAg(+),HBV e 抗体(抗-HBe)(+),HBV 核心抗体(抗-HBc)(+)]为小三阳时,HA 的含量明显高于大三阳[HBsAg(+),HBeAg(+),抗-HBc(+)]组或携带者组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而大三阳组和携带者组相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);在 HBeAg 阴性的患者中,HBV-DNA 阳性组的 PCⅢ 含量明显高于 HBV-DNA 阴性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 肝病患者血清 4 项肝纤维化指标升高情况[n(%)]

组别	n	3 项指标升高	4 项指标升高
慢性肝炎轻度组	29	1(3.4)	22(75.9)
慢性肝炎中度组	58	14(24.1)	0(0.0)
慢性肝炎重度组	29	18(62.1)	0(0.0)
肝硬化组	27	6(22.2)	19(70.0)

表 4 乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 及 HBV-M 与肝纤维化 4 项指标的关系($\bar{x} \pm s$)

HBV 标志物模式	n	HBV-DNA	HA(ng/mL)	LN(ng/mL)	PCⅢ(μg/L)	CIV(μg/L)
1,4,5 或 1,5	35	阳性	454.37±314.41 ^a	96.24±32.58	203.36±110.37 ^b	91.60±36.88
1,3,5	31	阳性	206.74±263.36	97.79±32.89	179.68±127.02	72.38±35.74
1,4,5 或 1,5	50	阴性	278.85±250.44	102.36±26.74	154.07±99.67	89.59±45.54

注:1,4,5 为乙型肝炎小三阳;1,5 为乙型肝炎病毒携带者;1,3,5 为乙型肝炎大三阳。

3 讨 论

肝纤维化是肝硬化前期的一种病理变化。肝细胞外基质成分过多增生和异常沉积,破坏正常肝脏结构,最终发展为肝硬化和肝癌。能否早期诊断肝纤维化是控制肝纤维化形成的关键。目前肝脏穿刺病理组织学检查是判断肝脏纤维化程度的可靠标准,但它具有创伤性,有一定的局限性^[2-3];有研究表明血清肝纤维化指标与 HBV-DNA 联合检测可在一定程度上反映肝纤维化的发生与发展^[4-6]。

HA 是肝细胞外间质中蛋白多糖的一个组成部分。当肝组织受损时,HA 的合成增多、降解减少,致血清中 HA 的水平增高。PCⅢ是Ⅲ型胶原的前体,PCⅢ可反映Ⅲ型胶原代谢及肝组织纤维化的程度,在肝纤维化早期 PCⅢ的合成活跃,与肝纤维化的程度呈正相关。本文研究结果表明,血清肝纤维 4 项

指标中 HA 和 PCⅢ在慢性肝炎轻、中、重和肝硬化依次升高,且肝炎活动越明显,其升高幅度越大。IV-C 是构成基底膜的主要成分,主要从基膜降解而来,反映基质胶原更新率的快慢和肝纤维化程度。本文研究结果表明,肝硬化组 LN 和 CIV 明显高于各肝炎组,而慢性肝炎中、重度组中 CIV 明显高于慢性肝炎轻度组。在肝纤维化 4 项中,有 3 项或以上的指标全部升高对肝纤维化的程度和肝硬化的诊断有重要意义,但 4 项指标全部正常,也要定期复查,防止肝纤维化指标的异常。

通过对 HBV-DNA 阳性慢性乙型肝炎的 HBeAg 阴性组与阳性组对比分析提示,HBeAg 阴性慢性乙型肝炎年龄与 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎比较,大 10 年左右,符合我国 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的特点,即年龄较大、病程长,由 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎发展而来^[7]。HBeAg(下转第 3075 页)

与 AKA 之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但二者与 RF 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 抗 CCP、AKA 和 RF 在各组中的阳性率 [$n(\%)$]

组别	n	抗 CCP	AKA	RF
RA 组	110	72(65.45)	37(33.64)	83(75.45)
非 RA 组	90	3(3.33)	4(4.44)	23(25.56)
健康对照组	48	0(0.00)	1(2.08)	4(8.33)

表 2 抗-CCP、AKA 和 RF 对 RA 诊断的各项评价指标 (%)

检测指标	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
抗 CCP	65.45	97.83	96.00	69.60
AKA	33.64	96.38	90.24	64.56
RF	75.45	78.98	78.30	80.43

3 讨 论

鉴于 RA 的高致畸性, 早期特异地诊断出 RA 一直是临床研究的热点。RF 为诊断 RA 最早使用的血清学指标。RF 因其检测简便、快速、灵敏度高而得到广泛地应用。然而, RF 的特异性相对较低^[2-3]。

AKA 成分主要是 IgG, AKA 对 RA 具有较高的特异性, 既往研究表明, AKA 对 RA 的平均阳性率大于 46%, 特异性接近 98%, 被认为是 RA 最特异的生物学指标, 可作为 RF 检测的特异性指标及辅助实验诊断项目, 以提高诊断的阳性率^[4]。特别是当 RF 检测阴性时, AKA 具有补充诊断的意义。

2000 年 Schellekens 等^[5]将合成含瓜氨酸的环肽 (CCP) 用于检测 RA 患者血清的抗 CCP, 发现该抗体在 RA 诊断中具有

较高的敏感性和特异性, 而且有研究结果表明, CCP 对于预测关节炎发展为早期 RA 以及关节的破坏等有一定的意义^[6]。

本研究结果表明, 抗 CCP、AKA 与 RF 联合诊断 RA 可以弥补 RF 对 RA 诊断特异性低的缺点, 减少假阳性率, 而且在敏感性上也能提高对 RA 的早期诊断, 从而减少漏诊。

参考文献

- [1] Matsuo K, Xiang Y, Nakamura H, et al. Identification of novel citrullinated autoantigens of synovium in rheumatoid arthritis using a proteomic approach [J]. *Arthritis Res Ther*, 2006, 8(6): 1-3.
- [2] Harrison MJ, Paget SA. Anti-CCP antibody testing as a diagnostic and prognostic tool in rheumatoid arthritis [J]. *QJM*, 2007, 100(4): 193-201.
- [3] Gabriel SE. The epidemiology of rheumatoid arthritis [J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 2001, 27(2): 267-281.
- [4] 徐威, 蔡应木, 王彩霞. 糖尿病视网膜病变患者血小板参数与糖化血红蛋白变化及临床意义 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2012, 12(8): 125-126.
- [5] Schellekens GA, Visser H, deJong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing acyclic citrullinated peptide [J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43(1): 155-163.
- [6] 戴渊. 抗环瓜氨酸肽抗体检测在关节病中的临床应用 [J]. *中华内科杂志*, 2005, 44(4): 315-317.

(收稿日期: 2012-07-04)

(上接第 3073 页)

阴性慢性乙型肝炎组 HBV-DNA 水平低于 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎组, 与文献^[8]报道一致。

本研究结果显示, 在乙型肝炎病毒标志物为 HBeAg 阴性且 HBV-DNA 阴性组中, 肝纤维化 4 项指标都处于较低的水平, 可能是由于激活机体的正常免疫反应, 病毒的复制减少甚至终止, 肝脏的损害就会减轻甚至恢复, 肝纤维化进程可能终止甚至逆转。而在乙型肝炎病毒标志物为 HBeAg 阴性但 HBV-DNA 阳性组中, 肝纤维化 4 项指标高于水平远远高于 HBeAg 阳性、HBV-DNA 阳性组。可能是这部分乙型肝炎患者病毒标志物在由 HBeAg 阳性转变成 HBeAg 阴性的过程中病程较长, 一方面激发机体免疫系统对病毒的清除, 同时也引发了机体的免疫病理反应, 导致肝细胞炎症、损伤、破坏, 肝脏组织的修复及纤维化。因此, 在临床工作中针对慢性乙型肝炎患者应该定期检测血清 HBV-DNA 水平、肝纤维化相关指标, 以便早期发现肝纤维化, 并进行有效的抗病毒及抗纤维化治疗, 这对防止肝硬化的发生具有重要的意义。

参考文献

- [1] 柯柳, 温小凤, 蒋忠胜, 等. 慢性肝炎患者乙型肝炎病毒复制与肝纤维化程度的关系 [J]. *广东医学*, 2010, 31(5):

628-629.

- [2] 陈靖, 江家骥. 慢性肝病肝纤维化无创诊断的研究进展 [J]. *医学综述*, 2009, 15(17): 2621-2625.
- [3] 刘晓强, 周海中, 吴靖珍. 肝病患者血清 HA、PC-III、C-IV、LN 测定的临床意义 [J]. *实用临床医药杂志*, 2009, 13(6): 40-41.
- [4] 庄燕, 范婷婷. 肝纤维化血清学指标在各型肝病诊断中的应用 [J]. *检验医学与临床*, 2011, 8(3): 323-324.
- [5] 姜湘宁, 王功遂, 尹建军. 慢性乙型肝炎患者血清 HBeAg 和 HBV-DNA 水平与肝组织病理关系的探讨 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2004, 7(2): 86-88.
- [6] 冯玉奎, 郑长青. 血清肝纤维化检测在诊断肝纤维化中的临床应用 [J]. *肝脏*, 2011, 16(2): 171-172.
- [7] 万谟彬. 重视 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的诊断和治疗 [J]. *中国实用内科杂志*, 2006, 26(9): 657-658.
- [8] 穆义英, 张栩, 丁向春, 等. HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者生化、HBV-DNA 及肝纤维化的对比分析 [J]. *宁夏医学杂志*, 2008, 30(3): 214-216.

(收稿日期: 2012-07-26)