

• 临床检验研究论著 •

慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 水平与肝纤维化相关指标的 检测与相关性分析

韩继明, 杨 玲

(延安大学医学院, 陕西延安 716000)

摘 要:**目的** 探讨慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 水平与肝纤维化血清指标之间的关联。**方法** 用实时荧光定量 PCR 法检测 HBV-DNA 水平、用化学发光法检测肝纤维化指标:透明质酸、Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原、层粘连蛋白。**结果** 110 例乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 水平(对数值)为 5.32 ± 1.37 , 透明质酸水平为 $(197.81 \pm 85.37) \text{ mg/mL}$, Ⅲ型前胶原水平为 $(142.66 \pm 30.28) \mu\text{g/mL}$, Ⅳ型胶原水平为 $(90.34 \pm 20.53) \mu\text{g/mL}$, 层粘连蛋白水平为 $(143.96 \pm 31.79) \mu\text{g/mL}$, 均高于对照组($P < 0.01$)。患者血清 HBV-DNA 水平与肝纤维化 4 项血清指标之间的相关性较弱, 无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 慢性乙型肝炎患者肝纤维化 4 项血清指标上升, 但患者血清 HBV-DNA 水平与肝纤维化血清指标检测值之间没有显著的相关性。

关键词: DNA, 乙型肝炎病毒; 肝纤维化; 慢性乙型肝炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.17.018 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2014)17-2311-02

The tests and correlation analysis of HBV-DNA and hepatic fibrosis indicators in chronic hepatitis B patients

Han Jiming, Yang Ling

(Yan'an University Medical College, Yan'an, Shaanxi 716000, China)

Abstract:**Objective** To explore the correlation between serum HBV-DNA content and hepatic fibrosis indicators in chronic hepatitis B patients. **Methods** Serum HBV-DNA content was determined by using real-time fluorescence quantitative PCR and hepatic fibrosis indicators including hyaluronic acid, laminin, procollagen Ⅲ, and collagen Ⅳ which were determined by using chemiluminescence. **Results** The logarithm value of serum HBV-DNA content of the 110 hepatitis B patients was 5.32 ± 1.37 . Serum hyaluronic acid concentration was $(197.81 \pm 85.37) \text{ mg/mL}$; procollagen Ⅲ concentration was $(142.66 \pm 30.28) \mu\text{g/mL}$. Collagen Ⅳ concentration was $(90.34 \pm 20.53) \mu\text{g/mL}$. Laminin was $(143.96 \pm 31.79) \mu\text{g/mL}$. All these indicators were significantly higher than the control group ($P < 0.01$). But there were no significant linear correlation between serum HBV-DNA content and the four hepatic fibrosis indicators ($P > 0.05$). **Conclusion** The hepatic fibrosis indicators increased significantly in hepatitis B patients but there were no significant correlations between serum HBV-DNA content and the hepatic fibrosis indicators.

Key words: DNA, hepatitis B virus; hepatic fibrosis; chronic hepatitis B

肝纤维化是指肝内纤维结缔组织的过度沉积。慢性乙型肝炎长期不愈或反复发作会导致肝纤维化并发展成肝硬化, 最终有可能演变为肝癌^[1-2], 肝纤维化若能被早期发现并得到及时与合理的治疗, 完全可以被控制并有可能被逆转^[3]。为了探讨慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 水平与肝纤维化之间的相关性, 为慢性乙型肝炎的治疗和预后判断提供依据, 笔者对慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 的水平与与患者肝纤维化程度相关的 4 项血清指标进行了联合检测, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 10 月至 2013 年 12 月在延安大学医学院附属医院感染病科门诊就诊和病房住院的慢性乙型肝炎患者 110 例作为患者组, 男 62 例、女 48 例, 平均 (47.2 ± 13.6) 岁。另外, 选取同期在延安大学医学院附属医院体检门诊做体检的 110 例健康体检者作为对照组。对照组与患者组在性别构成和平均年龄上差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法 所有受试者均于清晨空腹时静脉抽血 5.0 mL, 立即离心分离得到血清, 于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待检。用实时荧光定量

PCR 法检测患者血清 HBV-DNA 水平, 使用的仪器为美国 ABI 公司 7900 高通量实时荧光定量 PCR 仪, 检测试剂由厦门安普利生物工程有限公司提供。用化学发光法测定反映肝纤维化程度的 4 项血清指标: 透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(CⅣ)、层粘连蛋白(LN), 使用的仪器为德国西门子公司生产的全自动化学发光仪 ADVIA Centaur, 化学发光试剂由厦门波生生物技术有限公司提供。所有操作均严格按照仪器和试剂说明书的要求进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 15.0 软件进行统计分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用 t 检验, 多组间比较采用方差分析, 用直线相关作相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组受试者血清 HBV-DNA 水平与肝纤维化相关指标的比较 患者组的血清 HBV-DNA 水平(原始数据取对数值), 肝纤维化 4 项血清指标(HA、PCⅢ、CⅣ、LN)均显著高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 患者组与对照组血清 HBV-DNA 肝纤维化指标的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HBV-DNA	HA(mg/mL)	PCⅢ (μg/mL)	CⅣ (μg/mL)	LN(μg/mL)
患者组	110	5.32 ± 1.37	197.81 ± 85.37	142.66 ± 30.28	90.34 ± 20.53	143.96 ± 31.79
对照组	110	2.16 ± 0.83	62.57 ± 25.04	81.72 ± 23.17	43.21 ± 11.48	90.89 ± 21.33

作者简介: 韩继明, 男, 副教授, 主要从事医学基础检验教学与科研工作及神经生物学研究。

表 2 不同 HBV-DNA 水平的肝纤维化 4 项指标之间的比较(±s)

患者 HBV-DNA 水平(IU/mL)	n	HA(mg/mL)	PCⅢ(μg/mL)	CⅣ(μg/mL)	LN(μg/mL)
<10 ³	30	186.17±84.75	132.61±29.16	76.32±18.01	127.06±32.30
10 ³ ~10 ⁶	52	197.06±85.43	142.05±31.43	89.52±21.36	144.70±31.63
>10 ⁶	28	210.20±85.93	153.32±30.25	105.18±22.22	170.12±31.44

2.2 HBV-DNA 水平不同的患者肝纤维化指标的比较 3 组不同 HBV-DNA 水平范围(<10³ IU/mL、10³~10⁶ IU/mL、>10⁶ IU/mL)的患者,肝纤维化 4 项指标(HA、PCⅢ、CⅣ、LN)比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

2.3 HBV-DNA 水平与肝纤维化指标的相关性分析 HBV-DNA 水平与 4 项肝纤维化指标间的相关性无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 患者组血清 HBV-DNA 不同水平与 4 项肝纤维化指标的相关性

统计值	HBV-DNA 与 HA	HBV-DNA 与 PCⅢ	HBV-DNA 与 CⅣ	HBV-DNA 与 LN
<i>r</i>	0.227	0.246	0.298	0.365
<i>P</i>	0.169	0.155	0.124	0.097

3 讨 论

肝纤维化是肝内纤维结缔组织增生和分解不平衡的结果,表现为肝内细胞外基质的弥漫性过量沉积,是慢性肝病向肝硬化发展的必经阶段,但这个阶段仍具有可逆性^[2-4]。HA、PCⅢ、CⅣ、LN 均为细胞外基质,参与肝纤维化的发展过程,HA 属蛋白多糖,PCⅢ和 CⅣ为胶原纤维成分,LN 是非胶原结构的粘连糖蛋白,肝纤维化时,以上成分的水平均明显增加。

4 项肝纤维化指标(HA、PCⅢ、CⅣ、LN)中以 HA 的诊断价值最高^[5]。肝脏内 HA 主要由纤维母细胞合成,由内皮细胞摄取、降解。如果纤维母细胞对 HA 合成增加或内皮细胞对 HA 摄取降解减少,则可导致血清中 HA 水平升高。有报道指出,HA 诊断慢性肝脏疾病出现肝纤维化的准确度可达 89.19%,特异度可达 93.00%^[6]。肝纤维化相关的 4 项指标水平的动态变化与肝纤维化的活动性密切相关。

本研究组检测了慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 水平和 4 项肝纤维化指标,结果显示 110 例慢性乙型肝炎患者 4 项肝纤维化指标均比对照组升高,但患者血清 HBV-DNA 水平与肝纤维化 4 项指标的水平并无明显关联。关于 HBV-DNA 水平与肝脏组织学改变及肝纤维化之间的关系,文献的报道并不一致^[7-10],不同专家对此持有不同看法。

有文献报道,DNA 水平与肝纤维化指标没有相关性,其原因可能是:慢性乙型肝炎的发病机制非常复杂,HBV 的增殖并不是肝脏损伤的唯一原因,人体的免疫因素、肝功能状态以及乙型肝炎 e 抗原等亦可能与之相关。在慢性乙型肝炎的免疫耐受阶段,肝细胞内 HBV 复制相当活跃,而肝脏组织学却没有明显的异常;随着免疫耐受消失,免疫清除作用开始活跃,此阶段的肝脏损伤主要是免疫病理损伤,免疫反应虽然可以清除病毒,使 HBV 水平降低,但同时也造成肝脏损伤,若长期持续可促进肝纤维化的发生、发展。

患者血清 HBV-DNA 水平与多数慢性乙型肝炎的急性发作有密切关系,HBV 的增殖直接促进人体免疫反应导致的肝细胞损伤,故 HBV 的持续增殖可以是肝纤维化的诱因;但是 HBV-DNA 水平降低时并不一定伴随肝纤维化的减低,肝纤维化仍可持续进行,后者是因为机体免疫系统清除病毒的同时也引发了对肝细胞的免疫病理损伤,随之而来的是肝组织的反复修复与最终出现纤维化^[11-13]。

但另有文献报道,慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 水平与血清肝纤维化指标有一定关联^[14]。研究中的两组患者在治疗开始前血清肝纤维化指标没有显著差异,但经 5 年有效抗病毒治疗后,两组患者的血清肝纤维化指标包括血清 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 均有显著性差异;尤其是,非抗病毒治疗组大部分患者血清 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 均显著高于参考范围。结合长期抗病毒治疗期间血清肝纤维化 4 项指标与患者血清 HBV-DNA 水平的动态变化,作者认为有效进行抗病毒治疗和控制慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 水平,对延缓或控制慢性乙型肝炎患者肝纤维化的进展有重要的意义^[14]。

参考文献

[1] 马德佳,何新发,李燕妮. HA、PC-Ⅲ、Ⅳ-C 及 LN 对肝纤维化的诊断价值[J]. 广西医学,2011,33(3):312-314.

[2] Ramakrishna G,Rastogi A,Trehanpati N,et al. From cirrhosis to hepatocellular carcinoma:new molecular insights on inflammation and cellular senescence[J]. Liver Cancer,2013,2(3/4):367-383.

[3] Tan ZM,Sun BC. Effects of antiviral therapy on preventing liver tumorigenesis and hepatocellular carcinoma recurrence[J]. World J Gastroenterol,2013,19(47):8895-8901.

[4] 陈洪涛,贺春民,赵翠林,等. 血清肝纤维化指标在慢性肝病中的应用研究[J]. 河南医学研究,2003,12(1):28-29.

[5] 金宏慧,李仲平. 乙型肝炎肝硬化血清透明质酸与 HBV DNA 的相关性[J]. 世界华人消化杂志,2012(3):229-232.

[6] 曾小辉,沙卫红,李瑜元,等. 血清肝纤维化指标对慢性肝病的临床价值[J]. 中国临床实用医学,2010,4(2):87-88.

[7] 蔡文品,赵春,吴惠洁,等. 慢性乙型肝炎患者血清 HBV DNA 水平与肝纤维化指标的相关性[J]. 实用医学杂志,2009,25(1):72-73.

[8] 潘红英,谌翠容,张永乐,等. 慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 水平与肝纤维化程度间相关性分析及意义[J]. 医学研究杂志,2007,36(1):38-40.

[9] Ahn SH,Chun JY,Shin SK,et al. Performance evaluation of the HepB Typer-Entecavir kit for detection of entecavir resistance mutations in chronic hepatitis B[J]. Clin Mol Hepatol,2013,19(4):399-408.

[10] Harkisoen S,Arends JE,van Erpecum KJ,et al. Hepatitis B viral load and risk of HBV-related liver disease:from East to West[J]. Ann Hepatol,2012,11(2):164-171.

[11] Knolle PA,Thimme R. Hepatic immune regulation and its involvement in viral hepatitis infection[J]. Gastroenterology,2014,146(5):1193-1207.

[12] Miroux C,Vausselin T,Delhem N. Regulatory T cells in HBV and HCV liver diseases:implication of regulatory T lymphocytes in the control of immune response[J]. Expert Opin Biol Ther,2010,10(11):1563-1572.

[13] McMahon BJ. Chronic hepatitis B virus infection[J]. Med Clin North Am,2014,98(1):39-54.

[14] 王远驰,黄金伟. 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[J]. 放射免疫学杂志,2009,22(3):222-224.