

• 论 著 •

丙型肝炎患者血清 HCV-RNA 拷贝数与甲胎蛋白异质体百分比的相关性分析^{*}

杨自力, 马永能, 彭秀娟, 刘慧玲, 张 洁

(绵阳市第三人民医院检验科, 四川绵阳 621000)

摘要:目的 探讨丙型肝炎病毒(HCV)患者 HCV-RNA 与甲胎蛋白异质体百分比(AFP-L3/AFP)的相关性,分析丙型肝炎引起的肝硬化向肝癌发展的进程中 HCV-RNA 与 AFP-L3/AFP 变化特点。**方法** 收集临床已确诊的单纯 HCV 患者 80 例,其中 44 例为肝硬化患者,36 例为丙型肝炎肝癌组,肝硬化组进行 3、6 个月的随访,随访结果分为转移肝癌组及治疗有效组,选取 60 例健康人群作为对照组,采用病例对照研究。不同组间 HCV-RNA 及 AFP-L3/AFP 比较采用 *t* 检验。**结果** 肝硬化组平均 HCV-RNA、AFP-L3/AFP 为 7.15×10^3 copy/mL、44.3%,与对照组比较(400 copy/mL、1.1%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。肝硬化组平均 HCV-RNA、AFP-L3/AFP 为 8.33×10^9 copy/mL、3.35%、与丙型肝炎肝癌组(5.71×10^7 copy/mL、94.33%)比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。肝硬化患者 3 个月随访有 4 例发展为肝癌,6 个月后有 8 例发展为肝癌。**结论** 对 HCV 引起的肝硬化患者应联合、动态检测 HCV-RNA 与 AFP-L3/AFP,以便早期及时发现肝癌。

关键词:丙型肝炎病毒; 甲胎蛋白异质体百分比; 相关性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)09-1180-02

Hepatitis C patients serum HCV-RNA copy number and AFP-L3 percentage correlation analysis^{*}

Yang Zili, Ma Yongneng, Peng Xiujuan, Liu Huiling, Zhang Jie

(Department of Clinical Laboratory, Mianyang City the third People's Hospital of Sichuan Province, Mianyang, Sichuan 621000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the HCV patients with HCV-RNA and AFP different plasmid percentage (AFP-L3/AFP) correlation, analysis of liver cirrhosis to liver cancer caused by hepatitis c in the process of the development of HCV-RNA and AFP-L3/AFP change characteristics. **Methods** Collected clinical confirmed simple HCV patients 80 cases, including 44 patients with cirrhosis of the liver and 36 cases of HCV liver cancer group and liver cirrhosis group were followed up at 3, 6 months, follow-up results are divided into transfer of liver cancer group and treatment group, in addition to choose 60 cases of healthy people as control group. Using case-control study. Between different groups of HCV-RNA and AFP-L3/AFP compared by *t* test. **Results** The liver cirrhosis group average HCV-RNA, AFP-L3/AFP for 7.15×10^3 copy/mL, 44.3%, compared with the control group 400 copy/mL, 1.1%, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Liver cirrhosis group average HCV-RNA, AFP-L3/AFP for 8.33×10^9 copy/mL, 3.35%, and HCV liver cancer group (5.71×10^7 copy/mL, 94.33%), the difference was statistically significant ($P < 0.05$). 3 months follow-up of patients with liver cirrhosis have 4 cases for the development of liver cancer, 8 cases after 6 months for the development of liver cancer. **Conclusion** The patients with cirrhosis caused by hepatitis c virus (HCV) should be combined, dynamic detection of HCV RNA and AFP -L3/AFP, in order to early discover the liver cancer.

Key words: hepatitis C virus; alpha fetal protein plasmid percentage; correlation

HCV-RNA 是判断病毒复制, 传染性治疗效果的良好指标^[1-2], 甲胎蛋白(AFP)由于其特异度和敏感度低等问题^[3], 2010 版美国肝病研究学会(AASLD)指南已不将 AFP 作为筛查指标^[4]。甲胎蛋白异质体(AFP-L3)2005 年已被美国食品和药物管理局(FDA)批准用于肝癌的临床诊断^[5]。丙型肝炎病毒(HCV)感染与肝硬化及肝癌有着密切的关系^[6], 但 HCV-RNA 与甲胎蛋白异质体百分比(AFP-L3/AFP)比值在肝硬化或肝癌中有无相关性及由肝硬化发展为肝癌的过程中 AFP-L3/AFP 及 HCV-RNA 变化, 目前还未见相关报道。本研究测定 80 例丙型肝炎患者的血清 AFP-L3/AFP 及 HCV-RNA, 同时对 44 例肝硬化患者随访 3、6 个月测定 AFP-L3/AFP 及 HCV-RNA 水平。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 1 月至 2014 年 12 月期间在本院被临床确诊为 HCV 患者 80 例, 其中男 56 例, 女 24 例, 年龄为 15~80 岁。按临床诊断将其分为单纯 HCV 感染者引起的肝硬化患者 44 例(肝硬化组), 单纯 HCV 感染引起的肝癌患

者 36 例(丙型肝炎肝癌组), 将肝硬化组进行 3、6 个月的随访, 随访结果分为转移肝癌组及治疗有效组。80 例丙型肝炎病毒感染者的确诊, 依据是丙型肝炎抗体及 HCV-RNA 同时阳性, 且均排除乙型肝炎、慢性酒精性肝炎、药物性肝炎、自身免疫性肝炎、遗传性肝病等其他肝病引起的肝脏损伤; 临床诊断肝癌的标准符合《原发性肝癌诊疗规范(2011 年版)》。同时选择取 60 例健康体检者的血清作为对照组, 年龄为 18~80 岁。所有的患者都被告知试验目的并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 采集样本及保存 所有研究对象均空腹采集外周血, 分离血清标本后于 -80℃ 保存, 统一检测。

1.2.2 AFP-L3 检测 亲和微量离心柱系统及试剂由北京热景生物技术有限公司提供。总 AFP 与 AFP-L3 由美国雅培公司提供, 仪器为美国雅培 i2000 全自动化学发光仪。AFP-L3/AFP 正常参考值为小于 10%。

1.2.3 HCV-RNA 检测 采用 FQ-PCR 技术, 试剂由中山大学达安基因股份有限公司提供, 仪器为美国 PE 公司生产的

^{*} 基金项目:绵阳市级基金资助项目(201232);绵阳市科技局基金资助项目(14S-ZC-06)。 作者简介:杨自力,女,主管检验技师,主要从事自身免疫、分子生物学研究。

PE 5700 核酸扩增仪,先提取 HCV-RNA 后,在 Light Cycler 荧光 PCR 扩增仪 Roche 公司上进行检测。试剂配制,样本处理和循环扩增条件严格按照试剂盒说明书进行。实验结束后由电脑自动分析计算出定量结果。HCV-RNA 的最低检测下限为 80 copy/mL。

1.3 研究随访 肝硬化组分别进行 3、6 个月的随访,且每隔 1 周检测 HCV-RNA 与 AFP-L3/AFP,同时为随访者检查 B 超和肝功能试验,当怀疑发展为肝癌时,采取计算机断层扫描(CT)和磁共振成像(MRI)作进一步检查,如果通过医学成像技术无法确证时,采用细针穿刺技术确证。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析。不同组间 HCV-RNA 及 AFP-L3/AFP 比较采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 丙型肝炎患者与对照组 HCV-RNA、AFP-L3/AFP 比较 80 例单纯 HCV 患者血清平均 HCV-RNA 及 AFP-L3/AFP 分别为 7.15×10^3 copy/mL、44.3%,与对照组比较(400 copy/mL、1.1%),差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

2.2 相关性比较 80 例单纯 HCV 患者的 HCV-RNA 与 AFP-L3/AFP 呈正相关。HCV-RNA < 10^3 copy/mL 的 4 例,AFP-L3/AFP 平均比值为 2.50%; 10^3 < HCV-RNA < 10^6 copy/mL 的 40 例,AFP-L3/AFP 平均比值为 41.38%; 1.0×10^6 < HCV-RNA < 5.0×10^7 copy/mL 的 28 例,AFP-L3/AFP 平均比值为 43.35%;HCV-RNA > 5.0×10^7 copy/mL 的 8 例,AFP-L3/AFP 平均比值为 72.50%。

2.3 两组 HCV-RNA、AFP-L3/AFP 比较 肝硬化组平均 HCV-RNA、AFP-L3/AFP 分别为 8.33×10^9 copy/mL、3.35%与丙型肝炎肝癌组(5.71×10^7 copy/mL、94.33%)比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

2.4 随访情况 44 例肝硬化患者 3 个月随访有 4 例发展为肝癌,6 个月后有 8 例发展为肝癌。动态监测 HCV-RNA、AFP-L3/AFP 发现,HCV-RNA 降低,AFP-L3/AFP 升高是肝硬化发展为肝癌的警戒点,比影像学早发现 6~12 个月。HCV-RNA 降低,AFP-L3/AFP 比值降低或不变是病情治疗有效的标志。见表 1。

表 1 对肝硬化组随访 3、6 个月 HCV-RNA 及 AFP-L3/AFP 变化分析

项目	肝硬化组	转移肝癌组		治疗有效组	
		随访 3 个月	随访 6 个月	随访 3 个月	随访 6 个月
HCV-RNA(copy/mL)	8.33×10^9	4.75×10^6	4.52×10^4	7.21×10^9	6.25×10^8
AFP-L3/AFP(%)	3.35	96.20	98.10	2.50	3.00

3 讨 论

丙型肝炎是隐匿的疾病,慢性丙型肝炎患者可能发展为肝硬化、肝癌。早发现、早诊断、早治疗是提高丙型肝炎肝癌患者的最佳途径。本研究丙型肝炎患者患肝癌的风险比健康人群高。HCV 患者的 HCV-RNA 与 AFP-L3/AFP 呈正相关。这表明肝细胞癌变与丙型肝炎病毒血症有关。即在一定程度内 HCV-RNA 越高,HCV 复制传染性越强,丙型肝炎患者患肝癌的风险越大。

本研究丙型肝炎肝癌组平均 HCV-RNA 水平(5.71×10^7 copy/mL)低于肝硬化组 HCV-RNA 水平(8.33×10^9 copy/mL),与董西华等^[7]研究报道一致。这一现象的能原因如下:(1)丙型肝炎由肝硬化进展到肝癌,大量肝细胞发生癌变坏死,丙型肝炎病毒复制活性减弱甚至停止复制;(2)在疾病治疗过程中,患者接受抗病毒免疫,HCV 病毒复制受限或患者血清中存在 PCR 抑制剂^[7];(3)在疾病进展过程中,由于药物治疗或 HCV 自身等因素,HCV 发生机构基因的改变。

HCV 引起肝硬化患者不能单一只看 HCV-RNA 变化。即 HCV-RNA 降低不一定提示治疗病情控制,HCV-RNA 升高也不一定是病情的加重。AFP-L3 是原发性肝癌高度特异性及恶性标志物,表达 AFP-L3 的肝癌细胞有早期血管侵袭和肝内转移的倾向^[8],对于肝硬化患者动态联合检测 HCV-RNA、AFP-L3/AFP。肝硬化患者在一段时期内 HCV-RNA 降低,AFP-L3/AFP 比值降低或不变,提示病情治疗有效。相反,HCV-RNA 降低,AFP-L3/AFP 比值升高,则提示患者有向肝癌发展的可能,此时有可能比其他影像技术提早 6~12 个月发现肝癌。

通过对肝硬化患者随访发现,动态监测 HCV-RNA 及 AFP-L3/AFP 能比影像学早发现 6~12 个月的肝癌。与有研究表明 AFP-L3 可比超声、影像早 3~12 个月检出基本一致^[9]。但与 AFP-L3 可比影像学提前 3 年半预警 HCC 发生不一致^[10]。可能与调查人群的个体差异、精神压力、临床用药及随访检测的频率等因素有关。

总之,丙型肝炎患者患肝癌的风险高,临床医生应动态联合检测 HCV-RNA、AFP-L3/AFP。可以比其他影像技术提早 6~12 个月发现肝癌。

参考文献

[1] 杨振. 丙型肝炎病毒基因结构与功能分析[J]. 中国预防医学杂志, 2009, 10(1): 72-75.

[2] 杨国华, 曹燕. 116 例阳性血清中丙型肝炎病毒 RNA 定量检测及其抗体丙氨酸转氨酶结果分析[J]. 实用医技杂志, 2009, 16(8): 468-469.

[3] Marrero JA, Serag HB. Alpha-fetoprotein should be included in the hepatocellular carcinoma surveillance guidelines of the american association for the study of liver diseases[J]. Hepatology, 2011, 53(3): 1060.

[4] 吴孟超, 孙燕, 郑树森, 等. 原发性肝癌诊疗规范[M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2011.

[5] 韩鹏, 褚瑞海, 张彩彩, 等. AFP-L3 在肝细胞癌诊断中的临床价值[J]. 中国现代医药杂志, 2012, 14(2): 26-27.

[6] Kudo M. The 2008 oluda lecture management of hepatocellular carcinoma: from surveillance to molecular targeted therapy[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(1): 439-452.

[7] 董西华, 周霞, 周立平, 等. 丙肝患者血清 HCV RNA 与 TNF-α 之间的关系及其与肝损伤程度相关性的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 11(6): 26-27.

[8] 常彬霞, 辛邵杰. 甲胎蛋白及其临床应用研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 20(6): 576-580.

[9] Shiraki K, Takase K, Tameda Y, et al. A Clinical study of lectin reactive alpha-fetoprotein as an early indicator of hepatocellular carcinoma in the follow up of cirrhotic patients[J]. Hepatology, 1995, 22(1): 802-807.

[10] 纪凤卿, 徐振兴. 甲胎蛋白异质体 L3 在原发性肝癌诊断中的的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(1): 580-583.