

303 例丙型病毒性肝炎患者的生化特征分析

薛 红, 姚 敏, 岳 明, 黄 鹏, 张 云, 邵建国

【摘要】 目的 筛选肝功能相关的生化指标以及比较丙型肝炎病毒(HCV)感染后病毒不同复制状态患者的生理状态,旨在发现最适合反映HCV感染状况的生化指标。**方法** 采用流行病学调查收集303例丙型肝炎患者的相关信息,其中HCV病毒清除者130例(清除组),HCV病毒复制者173例(复制组)。采集每位调查对象10 mL的清晨空腹静脉血,检测患者的血常规、肝肾功能、凝血功能和甲状腺功能。偏相关分析肝功能的相关生化指标以及与HCV病毒感染状态的关系。**结果** 调整年龄、性别后,偏相关分析表明,淋巴细胞计数、单核细胞计数、凝血酶原时间和ALT、AST之间存在正相关关系($P<0.05$)。单因素分析表明,HCV不同感染状态组的血常规、肝功能和凝血功能之间的差异具有显著性。纳入年龄、性别和以上在不同感染状态分布有差异的指标进行多因素逐步回归分析,结果表明HCV不同感染状态组的ALT和腺苷脱氨酶(ADA)水平之间存在显著性差异($P=0.008$ 和 0.032)。**结论** 淋巴细胞计数、单核细胞计数、凝血酶原时间是与肝功能相关的其他生化指标,HCV清除组和HCV复制组的ALT、ADA水平的不同提示感染HCV不同结局者的生理状态。

【关键词】 丙型肝炎病毒;生化指标;病毒载量;感染结局

【中图分类号】 R446.1;R512.62

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-271X(2019)05-0455-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2019.05.002

Analysis of biochemical characteristics in 303 HCV infected patients

XUE Hong¹, YAO Min², YUE Ming³, HUANG Peng⁴, ZHANG Yun⁴, SHAO Jian-guo⁵

(1. Department of Hepatology, the Nantong Third Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China; 2. Department of Immunology, Medical School of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China; 3. Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu, China; 4. Key Laboratory of Infectious Diseases, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, Jiangsu, China; 5. Department of Gastroenterology, the Nantong Third Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective To screen biochemical markers related to liver function and compare the physiological status of patients with different HCV infection status. Besides, to identify biochemical indicators that are most suitable for assessing disease progression and patient prognosis. **Methods** Epidemiological investigations were conducted to collect relative information of 303 HCV patients, including 130 cases of negative HCV RNA (clearance group) and 173 cases of positive HCV RNA (reproduction group). We

collected 10 mL of venous blood of each subject in the morning after a fasting, used appropriate instruments to detect blood routine, liver and kidney function, coagulation function, and thyroid function. Partial correlation analysis was used to find related biochemical indexes of liver function and their relationship with HCV infection status. **Results** Partial correlation analysis after adjusting for age and gender showed that there were positive correlations between lymphocyte count, monocytes, prothrom-

基金项目:国家自然科学基金(81773499)

作者单位:226001 南通,南通大学附属南通市第三人民医院肝病科(薛 红),消化科(邵建国);226001 南通,南通大学医学院免疫学系(姚 敏);210029 南京,南京医科大学第一附属医院感染病科(岳 明);211166 南京,南京医科大学公共卫生学院传染病重点实验室(黄 鹏、张 云)

通信作者:邵建国, E-mail: shaojianguo4144@163.com

bin time and ALT, AST ($P < 0.05$). There were significant differences among the blood routine, liver function and coagulation function of different HCV infection status by univariate analysis. Stepwise regression analysis of age, gender, and above differential biochemical indicators showed that there was a remarkable difference between ALT and ADA in different infection status groups ($P = 0.008, 0.032$).

Conclusion Lymphocyte count, monocytes, and prothrombin time are biochemical markers related to liver function. Different levels of ALT and ADA in the HCV clearance group and the HCV replication group could suggest the physiological status of patients with different outcomes of HCV infection.

[Key words] hepatitis C virus; biochemical markers; viral load; infection outcome

0 引言

感染丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 后可引发丙型病毒性肝炎, 自然状态下, 大约 20% ~ 25% 的患者能自限性清除病毒, 而其余的患者则转为慢性持续性感染状态^[1], 继而可进展为严重肝纤维化、肝硬化甚至肝细胞癌等终末期肝病。HCV 严重危害着公众健康, 而丙型肝炎相关疾病也带来了极大的疾病负担^[2-5]。迄今为止, 尚无有效的预防疫苗问世, 无法高效安全地切断传播途径和保护易感人群。因此, 疾病的早期诊断和早期治疗是控制 HCV 感染和传播的较为有效的方式。

HCV 感染机体后病毒的复制情况、疾病进展过程和疾病感染后的个体差异性结局, 涉及到身体多个系统的不同反应, 其中免疫系统尤为关键。在人体微环境中, 多种细胞及成分组成了对 HCV 的免疫反应体系, 涉及到一系列的免疫细胞 (如 CD4、CD8 T 细胞)^[6]、细胞因子 (如 TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 、IL-1 β)、趋化因子 CXC 和核转录因子 NF- κ B 等^[7-8]。此外, HCV 不仅侵害肝细胞和肝组织, 亦会广泛侵害全身其他众多器官, 众多研究表明, HCV 不仅具有嗜肝性, 也可在外周血细胞、肾和骨髓中复制, 还具有一定的淋巴细胞嗜性^[9]。感染 HCV 后, 患者的白细胞计数、分类、血小板计数以及血液生化指标都会发生相应变化^[10], 从而导致全身的多种系统的广泛的疾病症状和表现, 引起机体的综合生理状态的改变。本研究旨在通过筛选 HCV 患者肝功能相关的生化指标以及比较感染 HCV 后的病毒不同复制状态患者的生化指标, 达到评估患者的生理状况和疾病进展的研究目的。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取南通大学附属南通市第三人民医院 2013 年 1 月年至 2017 年 12 月间首次入院的丙型病毒性肝炎患者 303 例, 其中男 176 例, 女 127

例, 平均年龄为 (51.29 \pm 13.33) 岁。根据 HCV 抗体和 RNA 载量, 以 HCV RNA 载量 $\geq 1.0 \times 10^3$ IU/mL 为 1, $< 1.0 \times 10^3$ IU/mL 为 0, 将不同感染状态的患者分为病毒清除组 130 例和病毒复制组 173 例。本研究纳入的所有研究对象均尚未进行过抗病毒治疗, 并排除合并感染其他病毒性肝炎、免疫性肝脏疾病、酒精性肝病及其他严重免疫相关疾病的患者。

1.2 流行病学调查方法 参照相关的标准和文献^[11], 专门设计本次调查的流行病学调查问卷, 在取得研究对象的知情同意后, 由专业培训后的调查员进行面对面调查访问和问卷填写, 问卷主要内容包括调查对象的一般情况, 常见疾病史 (高血压、糖尿病、脂肪肝、肝硬化、高血脂等)、病毒性肝炎史、既往献血史和输血史。

1.3 实验室检测 采集每位研究对象首次入院时的清晨空腹静脉血 10 mL 于 EDTA 抗凝管中, 并在 24 h 内离心分离血浆 (4000 r/min, 10 min), -20°C 冻存备用。对所有研究对象均进行肝功能 [谷氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)] 和其他血液生化指标检测, 检测时间为首次纳入本研究的基线时间, HCV 抗体检测采用雅培 i2000 化学发光仪以及配套的 HCV 抗体试剂, HCV RNA 载量检测采用荧光定量 PCR 法 (ABI PRISM 7900HT 型荧光定量 PCR 仪), HCV 基因型的检测采用 Simmonds 分型法, 取 5 μL 试剂盒提取的 RNA 进行 PCR 扩增, 经逆转录合成 cDNA, 然后用 5' NCR 1、2、3 和 1b 型等特异性引物对 cDNA 进行扩增, 对获得的产物进一步利用琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 扩增产物, 最后根据电泳结果确定 HCV 基因型。肝肾功能、电解质纤维化 5 项采用日立全自动生化分析仪 7600, 血常规采用希森美康 XT1800i 血液分析仪, 凝血常规采用希森美康 CA600 凝血分析仪, 甲状腺功能采用罗氏 E170 仪器。此外, FIB-4 指数是一种广泛应用的无创性评估慢性肝病患者肝纤维化的方法, $\text{FIB-4} =$

年龄 \times AST/(血小板 \times ALT)^[12],本研究计算了所有研究对象的FIB-4指数。

1.4 统计学分析 应用Epidata 3.02软件进行流行病学调查所得信息和检查指标的双轨录入,应用SPSS 20.0软件进行相关的统计分析。对服从正态分布的定量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,对服从偏态方分布的定量资料则采用中位数(四分位间距)[M(P25,P75)]表示。采用独立样本 t 检验和独立样本秩和检验用于两组间定量资料的比较,ALT、AST与其他生化指标的相关性采用偏相关分析,采用逐步Logistic回归分析法分析比较病毒不同感染状态组的相关生化指标。所有统计学假设检验均为双侧,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般情况 病毒复制组患者的HCV RNA载量为5.75(5.01,6.45)log10 IU/mL。在不同感染组间年龄分布差异有统计意义($P < 0.001$),而性别分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。303例患者中有70例(23.1%)曾有过输血或献血史,但在2组间的分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。已有的基因型分布资料表明,2组之间的基因型差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 丙型病毒性肝炎不同感染状态患者的一般情况比较

变量	清除组 ($n=130$)	复制组 ($n=173$)	P 值
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	48.10 \pm 13.21	53.52 \pm 12.97	<0.001
男/女(n)	76/54	100/73	0.909
有献血、输血史[$n(\%)$]	27(20.77)	43(24.86)	0.404
HCV基因型[$n(\%)$]			0.356
1型	38(70.40)	65(77.40)	
非1型	16(29.60)	19(22.60)	

2.2 肝功能指标与其他生化指标的偏相关分析 调整年龄、性别后的偏相关分析表明,红细胞计数(RBC)、淋巴细胞计数、血红蛋白、单核细胞计数、红细胞压积(HCT)、凝血酶原时间(PT)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)和ALT之间均呈正相关($P < 0.05$),见表2。而淋巴细胞计数、单核细胞计数、PT、HA、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)和AST之间均呈正相关($P < 0.05$),见表3。淋巴细胞计数、单核细胞计数和PT均和ALT、AST之间存在正相关关系。

表2 丙型病毒性肝炎患者ALT与其他生化指标的偏相关分析

变量	偏相关系数	P 值
红细胞计数	0.185	0.026
淋巴细胞计数	0.245	0.003
血红蛋白	0.247	0.003
单核细胞计数	0.180	0.031
红细胞压积	0.216	0.009
凝血酶原时间	0.197	0.018
游离三碘甲状腺原氨酸	0.170	0.041

表3 丙型病毒性肝炎患者AST与其他生化指标的偏相关分析

变量	偏相关系数	P 值
淋巴细胞计数	0.201	0.015
单核细胞计数	0.176	0.034
凝血酶原时间	0.191	0.021
透明质酸	0.284	0.001
Ⅲ型前胶原	0.207	0.012

2.3 HCV不同感染状态患者的生化指标比较 见表4。血常规指标中,复制组的血红蛋白(HGB)水平显著高于清除组($P=0.039$),而血小板(PLT)水平则明显低于清除组($P=0.030$)。肝肾功能指标中,复制组的ALT、AST、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、葡萄糖(GLU)、腺苷脱氨酶(ADA)、谷氨酰氨转移酶(GGT)、碱性磷酸酶(LAP)、AST同功酶(ASTm)水平均显著高于清除组($P < 0.05$);而AST/ALT和视黄醇结合蛋白(RBP)水平均低于清除组($P=0.005$ 、 $P=0.046$)。凝血功能中,复制组的凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)高于清除组($P=0.031$ 、 $P=0.036$),而抗凝血酶Ⅲ(AT3)水平则低于清除组($P=0.013$)。2组的甲状腺功能(TSH、T3、T4、FT3、FT4)差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外,HCV复制组的FIB-4指数显著高于清除组($P=0.008$)。HCV复制组的透明质酸(HA)水平高于清除组($P < 0.001$)。

2.4 HCV不同感染状态患者的差异性生化指标的多因素逐步回归分析 纳入年龄、性别和以上在2组间分布有差异的生化指标进行逐步Logistic回归分析,结果表明HCV不同感染状态患者的ALT和ADA水平存在显著性差异[OR(95%CI):1.010(1.002~1.017), $P=0.008$;OR(95%CI):1.053(1.004~1.104), $P=0.032$]。

表 4 入组丙型肝炎不同感染状态患者的生化指标比较

变量	清除组(<i>n</i> =130)	复制组(<i>n</i> =173)	<i>P</i>
血红蛋白[M(P ₂₅ ,P ₇₅),g/L]	140.00(121.00,150.50)	146.00(105.50,194.00)	0.039
PLT[M(P ₂₅ ,P ₇₅),×10 ⁹ /L]	143.00(105.50,194.00)	136.00(83.50,181.00)	0.030
ALT[M(P ₂₅ ,P ₇₅),U/L]	65.00(21.00,69.50)	80.00(41.00,143.75)	<0.001
AST[M(P ₂₅ ,P ₇₅),U/L]	41.00(27.75,61.00)	66.00(40.97,75.00)	<0.001
AST/ALT[M(P ₂₅ ,P ₇₅)]	0.89(0.72,1.41)	0.84(0.61,1.61)	0.005
清蛋白[M(P ₂₅ ,P ₇₅),g/L]	43.40(40.78,45.50)	42.60(38.73,44.10)	<0.001
葡萄糖[M(P ₂₅ ,P ₇₅),mmol/L]	5.28(4.75,5.58)	5.52(5.04,6.32)	<0.001
腺苷脱氨酶[M(P ₂₅ ,P ₇₅),U/L]	19.00(16.00,27.00)	26.00(18.28,33.75)	<0.001
谷氨酰氨转移酶[M(P ₂₅ ,P ₇₅),U/L]	37.00(22.75,68.00)	61.00(36.00,108.00)	0.008
碱性磷酸酶[M(P ₂₅ ,P ₇₅),U/L]	46.00(36.50,55.15)	51.00(39.10,62.00)	<0.001
AST 同功酶[M(P ₂₅ ,P ₇₅),U/L]	16.00(10.75,23.00)	23.00(14.00,37.50)	<0.001
抗凝血酶Ⅲ [M(P ₂₅ ,P ₇₅),%]	86.90(78.75,93.37)	77.80(61.55,94.55)	0.013
透明质酸[M(P ₂₅ ,P ₇₅),ng/mL]	87.17(55.55,148.56)	108.6(64.59,252.25)	<0.001
总蛋白($\bar{x} \pm s$, g/L)	74.29±6.91	72.52±7.48	0.044
视黄醇结合蛋白($\bar{x} \pm s$, ×10 ¹² /L)	37.93±20.24	33.25±17.70	0.046
凝血酶原时间($\bar{x} \pm s$, s)	11.88±2.04	13.40±8.77	0.031
凝血酶时间($\bar{x} \pm s$, s)	19.54±3.75	20.58±2.61	0.036
FIB-4[M(P ₂₅ ,P ₇₅)]	3.35(1.30,3.64)	4.86(1.76,6.08)	0.008

3 讨 论

HCV 感染机体后可引起广泛的肝脏疾病(包括症状性或无症状急性感染、自限性疾病和慢性活动性肝炎的持续感染)和肝外症状(类风湿性关节炎、肾小球肾炎、混合型冷球蛋白血症、B 细胞淋巴瘤和迟发性皮肤卟啉症等)^[13]。HCV 感染后的结果,即肝脏疾病和肝外症状的表现和程度,是病毒与宿主免疫反应间通过复杂的相互作用后的结果,是一个多因素的过程,受到病毒的组织向性、复制程度、序列变异和感染细胞功能改变的影响^[14]。本研究讨论了 HCV 感染特征,通过评估 HCV 患者肝功能相关的生化指标、对比不同感染状态下的差异性生化指标,对评价 HCV 感染后生理状态以及预后判断具有一定的实践价值。

本研究发现 RBC、淋巴细胞计数、血红蛋白、单核细胞计数、红细胞压积、凝血酶原时间、游离三碘甲状腺原氨酸和 ALT 之间均呈正相关关系。而淋巴细胞计数、单核细胞计数、凝血酶原时间、透明质酸、Ⅲ型前胶原和 AST 之间均呈正相关关系,淋巴细胞计数、单核细胞计数和 PT 均和 ALT、AST 之间存在正相关。ALT 和 AST 能够敏感地反映出肝脏的损伤情况,以往的研究表明血常规指标和肝功能指标之间存在一定的相关性^[15]。淋巴细胞是一类

白细胞的亚型,包括了自然杀伤细胞、T 细胞和 B 细胞,是机体免疫系统的重要组成部分^[16]。单核细胞可分化成巨噬细胞和树突状细胞,发挥着吞噬、抗原提呈和细胞因子产生等作用,HCV 核心蛋白诱导的单核细胞介导的免疫机制,能够降低 IFN-α 在慢性 HCV 感染的浆细胞样树突状细胞损失^[17]。本研究中淋巴细胞、单核细胞和肝功能存在着正相关关系,提示 HCV 感染后肝脏损伤和炎症反应处于同步状态。凝血功能和肝脏相关,而凝血酶原时间主要是反映外源性凝血系统功能,当感染 HCV 肝脏受损时,各种凝血因子减少,因而凝血酶原时间和肝功能的相关性存在生物学的合理性^[18]。

FIB-4 指数是一种无创性指标,能较为准确评估 HCV 肝纤维化程度^[12,16],本研究通过 FIB-4 指数对 2 组之间的肝脏纤维化程度进行了评估,结果显示 HCV 复制组的纤维化程度显著高于清除组,因而在临床实践中可以将 FIB-4 指数作为反应 HCV 疾病严重程度的一种常规性的指标。经过逐步回归分析后,HCV 病毒清除组和复制组之间的 ALT、ADA 存在显著性差异,HCV RNA 载量是 HCV 在体内复制的量化标志,而 ALT 水平则能较为敏感地反映出肝细胞受损程度,表明 HCV 持续复制后导致了肝细胞的损伤,引发 ALT 水平的升高,这与其他研究结果一致^[20-21]。ADA 是嘌呤核苷代谢中重要的酶类,

任何原因造成的肝细胞损伤,均可致血清 ADA 水平升高,因而该酶可以作为反映肝脏损伤的指标之一^[21]。

综上所述,淋巴细胞计数、单核细胞计数和 PT 是与肝功能相关的生化指标,HCV 病毒清除组和复制组之间的 ALT、ADA 水平存在显著性差异。这些生化指标能够反应感染 HCV 不同结局者的生理状态,从侧面表明疾病的严重程度,对于 HCV 的诊断和预后判断具有一定的实用价值。

[参考文献]

- [1] Qin G, Shao JG, Zhu YC, *et al*. Population-representative Incidence of Acute-On-Chronic Liver Failure: A Prospective Cross-Sectional Study[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2016, 50(8): 670-675.
- [2] Thrift AP, El-Serag HB, Kanwal F. Global epidemiology and burden of HCV infection and HCV-related disease[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(2): 122-132.
- [3] Lanini S, Easterbrook PJ, Zumla A, *et al*. Hepatitis C: global epidemiology and strategies for control [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(10): 833-838.
- [4] 林秀蓉,陈巧绘,林海. TaqMan-MGB 探针针对 HCV 基因的检测及分型研究[J]. *东南国防医药*, 2012, 14(1): 20-22.
- [5] 樊圆圆,岳明. 核因子- κ B 信号通路与丙肝病毒感染相关性的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2019, 32(3): 293-297.
- [6] Khan ST, Karges W, Cooper CL, *et al*. Hepatitis C virus core protein reduces CD8+T-cell proliferation, perforin production and degranulation but increases STAT5 activation [J]. *Immunology*, 2017, 154(1): 156-165.
- [7] Park SH, Rehermann B. Immune responses to HCV and other hepatitis viruses[J]. *Immunity*, 2014, 40(1): 13-24.
- [8] Horner SM, Gale M. Regulation of hepatic innate immunity by hepatitis C virus[J]. *Nat Med*, 2013, 19(7): 879-888.
- [9] 张继明. 慢性丙型肝炎的肝外表现及处理[J]. *世界华人消化杂志*, 2004, 12(10): 140-143.
- [10] 魏来. 丙型肝炎的实验室诊断和临床意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2004, 12(10): 111-114.
- [11] 陈新月,任珊. 《丙型肝炎防治指南》(2015 年更新版)解读[J]. *北京医学*, 2015, 37(12): 1186-1188.
- [12] Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, *et al*. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest[J]. *Hepatology*, 2007, 46(1): 32-36.
- [13] Rehermann B. Interaction between the hepatitis C virus and the immune system[J]. *Semin Liver Dis*, 2000, 20(2): 127-141.
- [14] Hajarizadeh B, Grebely J, Dore CJ. Epidemiology and natural history of HCV infection[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10(9): 553-562.
- [15] 汤伟,沈轶瑶,徐芳芹. 病毒性肝炎患者四项血常规参数临床意义的再评价[J]. *热带医学杂志*, 2004, 4(5): 546-548.
- [16] Nichols BA, Bainton DF, Farquhar MG. Differentiation of monocytes. Origin, nature, and fate of their azurophilic granules [J]. *J Cell Biol*, 1971, 50(2): 498-515.
- [17] Dolganiuc A, Chang S, Kodys K, *et al*. Hepatitis C virus (HCV) core protein-induced, monocyte-mediated mechanisms of reduced IFN- α and plasmacytoid dendritic cell loss in chronic HCV infection[J]. *J Immunol*, 2006, 177(10): 6758-6768.
- [18] 魏新素,张平安,吴泽刚. 丙型肝炎病毒感染者血小板参数、凝血功能的分析[J]. *职业与健康*, 2011, 27(19): 2202-2203.
- [19] Vallet-Pichard A, Mallet V, Pol S. FIB-4: a simple, inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV-infected patients [J]. *Hepatology*, 2006, 44(3): 769-770.
- [20] 谷娅楠,朱鸿,程艳杰,等. 丙型肝炎患者血清 HCV-RNA 载量、抗-HCV 及 ALT 的相关性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(4): 487-488.
- [21] 张瑾,张娟,薛晓宁,等. 血清 HCV RNA 载量、HCV 抗体及 ALT 相关性研究[J]. *中国国境卫生检疫杂志*, 2017, 40(2): 83-86.

(收稿日期:2018-10-12; 修回日期:2018-12-26)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:吕镔烽)