

丙型肝炎病毒核心抗原的检测及其临床意义

史璇

辽宁医学院附属第一医院 消化内科一病区, 辽宁锦州 121000

摘要:目的 探讨 HCV 核心抗原在 HCV 感染诊断和治疗中的作用。方法 丙肝核心总抗原检测采用酶联免疫法; 丙型肝炎抗体检测采用第三代酶联免疫法。所有血清标本均进行 HCV-RNA 和肝功能检测。丙肝核酸定量采用 PCR- 荧光探针法; 肝功能检测采用紫外连续检测法。结果 90 例中, HCV-cAg 检测阳性率为 42.22%(38/90)。HCV-cAg 阳性组 HCV-RNA 阳性率 100%(38/38), 显著高于 HCV-cAg 阴性组的 71.15%(37/52)。阳性组丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 异常率 63.16%(24/38), 显著高于 HCV-cAg 阴性组的 40.38%(21/52), 两组间比较 ($P < 0.05$)。HCV-cAg 阴性组中 59.62% (31/52) 的患者 ALT 在正常范围内 ($ALT < 40U/L$), 显著高于 HCV-cAg 阳性组的 36.84%(14/38); 而 HCV-cAg 阳性组中 36.84%(14/38) ALT 值均 $> 100U/L$, 明显高于 HCV-cAg 阴性组的 9.62%(5/52)。两组间比较 ($P < 0.05$)。丙肝核心抗原 HCV-cAg 和 HCV-RNA 有很好的正相关性, HCV-cAg 与 ALT 水平也有一定相关性, 可以反映肝功损害程度。结论 丙肝核心抗原 HCV-cAg 是慢性丙肝感染良好的监测指标。

关键词: 丙型肝炎; 丙型肝炎核心抗原; 丙型肝炎抗体; 检测

中图分类号: R 446.52 文献标识码: A 文章编号: 1005-1139(2012)08-0845-03 DOI: 10.3969/j.issn.1005-1139.2012.08.018

网络出版时间: 2012-02-23 14:52

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20120223.1452.001.html

Detection of HCV core antigen and its clinical significance

SHI Xuan

Department of Gastroenterology, First affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China

The first author: SHI Xuan. Email: shixuan2432@sina.com

Abstract: Objective To study the role of HCV core antigen(HCV-cAg) in diagnosis and treatment of HCV infection. **Methods** Total HCV core antigen and HCV-Ab were detected by ELIA and third generation ELIA, respectively. Plasma HCV-RNA level and liver function were tested by ultraviolet ray assay. Nucleic acid was quantified by RT-PCR. **Results** The HCV-cAg was detected in 38 out of the 90 patients(42.22%). The HCV-RNA was significantly higher in HCV-cAg positive patients than in HCV-cAg negative patients[100%(38/38) vs 71.15%(37/52), $P < 0.05$]. The ALT was significantly higher in ALT positive patients than in ALT negative patients[63.16%(24/38) vs 40.38%(21/52), $P < 0.05$]. The ALT was significantly higher in HCV-cAg negative patients than in HCV-cAg positive patients[59.62%(31/52) vs 36.84%(14/38), $P < 0.05$]. HCV-cAg was correlated with HCV-RNA and ALT in chronic hepatitis C patients and could reflect the damage of liver function. **Conclusion** HCV-cAg is a reliable marker of chronic HCV infection.

Key words: hepatitis C virus; hepatitis C virus core antigen; anti-hepatitis C virus; detection

丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染的实验室检查是丙型肝炎诊断的重要依据, 现行的 HCV 检测技术为 HCV 抗体检测和 HCV-RNA 检测, 二者均存在一定的局限性。丙型肝炎病毒核心抗原 (hepatitis C virus-core antigen, HCV-cAg) 的检测作为一种新的方法, 对 HCV 的感染具有诊断意义。本文就其临床应用价值进行探讨。

对象和方法

1 研究对象 选择 2009 年 12 月 -2011 年 4 月在大连市第六人民医院住院的丙型肝炎患者, 纳入标准: 1) 经临床检查确诊; 2) 实验室检查丙型肝炎病毒抗-HCV 阳性。排除标准: 1) 甲、丁、戊

型肝炎病毒混合感染; 2) 其他疾病引起的肝脏损害。本文入选丙型肝炎患者 90 例, 男 53 例, 女 37 例, 年龄 17-79(42.30 ± 8.45) 岁。并根据检测结果分为 HCV-cAg 阳性组和阴性组。

2 标本采集与保存 收集 90 例入选患者静脉新鲜血液 10ml, 经离心后提取上清, 置于 EP 管中, 并于 -80°C 冰箱保存。

3 HCV-cAg 检测 采用湖南景达基因公司的 HCV-cAg ELISA 检测试剂盒。批号: 20101105, 有效期至 2011 年 5 月 4 日。操作步骤: 预处理板中每孔加预处理液 $50\mu\text{l}$, 加样品血清 $100\mu\text{l}$, 56°C 水浴 30min; 微孔板每孔加入样品稀释液 $100\mu\text{l}$, 预处理后待测样品 $100\mu\text{l}$, 混匀, 37°C 振荡温育 60min; 洗板, 每孔加入酶结合物 $200\mu\text{l}$, 37°C 温育 30min; 洗板, 每孔加入显色剂 A、B 各

100 μ l, 混匀避光显色 10min; 每孔加入 50 μ l 终止液。10min 内用酶标仪 450nm 测定各孔吸光度 (A) 值。

4 丙型肝炎抗体检测 采用上海科华生物技术有限公司提供的 ELISA 检测试剂盒, 批号: 20100523, 有效期至 2011 年 5 月 22 日; 丙型肝炎核酸检测试剂为深圳匹基生物工程有限公司 HCV 核酸扩增荧光定量检测试剂盒, 批号: 20100923, 有效期至 2011 年 9 月 22 日; 丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶和总胆红素测定试剂盒由辽宁泰科医学科学有限公司提供。

5 统计学处理 所有数据经 SPSS13.0 统计软件包分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均数比较用 t 检验, 样本率比较用 χ^2 检验。

结 果

1 HCV-cAg 阳性率 90 例抗 -HCV 阳性患者中, HCV-cAg 阳性 38 例, 阳性率 42.22%(38/90)。见表 1。

2 HCV-cAg 与 HCV-RNA 和 ALT 的相关性 HCV-cAg 阳性组的 HCV-RNA 阳性率 100%(38/38) 显著高于 HCV-cAg 阴性组的 71.15%(37/52)。阳性组 ALT 异常率 63.16%(24/38) 显著高于 HCV-cAg 阴性组的 40.38%(21/52), 两组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。而 HCV-cAg 阳性组和 HCV-cAg 阴性组间天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate amino transferase, AST) 和总胆红素 (total bilirubin, T-Bil) 无统计学差异 ($P > 0.05$)。见表 1。

3 HCV-cAg 反映肝损害程度 HCV-cAg 阴性组中 59.62%(31/52) 的患者 ALT 在正常范围内 ($ALT < 40U/L$), 高于 HCV-cAg 阳性组的 36.84%(14/38); 而 HCV-cAg 阳性组 36.84%(14/38) 的患者 ALT 值均 $> 100U/L$, 明显高于 HCV-cAg 阴性组患者的 9.62%(5/52)。两组间比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 HCV-cAg 阳性与阴性的丙型肝炎患者肝功能及 HCV-RNA 的比较

Tab 1 Liver function and HCV-RNA in HCV-cAg positive and negative patients (n, %, $\bar{x} \pm s$)

Event	ALT ($>40U/L$)	AST ($>40U/L$)	T-Bil ($>17.1 \mu mol/L$)	HCV-RNA (+)	Content of HCV-RNA ($10^4 IU/ml$)
HCV-cAg(+)(n=38)	24(63.16)	19(50)	8(21.05)	38(100)	6.32 \pm 0.15
HCV-cAg(-)(n=52)	21(40.38)	26(50)	18(34.62)	37(71.15)	5.23 \pm 0.17
	$\chi^2=2.12$	$\chi^2=0$	$\chi^2=1.39$	$\chi^2=3.61$	t=0.23
P	0.034	1.000	0.163	0.012	0.214

表 2 ALT 含量与 HCV-cAg 的关系

Tab 2 Correlation between ALT and HCV-cAg (n, %)

ALT(U/L)	HCV-cAg(+)	HCV-cAg(-)	χ^2	P
<40	14(36.84)	31(59.62)	10.14	0.006
40-100	10(26.32)	16(30.76)	10.23	0.006
>101	14(36.84)	5(9.62)	8.64	0.003

讨 论

自 1989 年 HCV 被发现后, 临床上诊断 HCV 感染的手段主要为抗 -HCV 检测, 但国产试剂盒总体符合率较低 (70%), 特异性更低 (65%), 国外报道也显示抗 -HCV 假阳性率为 10%-54.5%, 假阴性率 11%-22.2%^[1]。人感染 HCV 后约 2-6 个月才能在血清中检出抗 -HCV, 而 HCV-RNA 一般出现在感染后的 2-5 周, 所以抗 -HCV 的早期诊断率较低, 同时也不能反映 HCV 的复制情况^[2]。而 HCV-RNA 可视为 HCV 复制的直接指标, 并一直作为检测 HCV 感染后的确诊和评估病毒复制以及抗病毒治疗效果的主要手段, 并且缩短了 HCV 感染的检测窗口^[3]; 但因其价格较贵、操作复杂且容易污染, 难以用于普及和筛查^[4]。

HCV-cAg 为 HCV 的早期感染标志, 几乎与 HCV-RNA 同时出现, 感染后 14-70d 为 HCV-cAg 的检测时段^[5]。采用单克隆抗体制备的 ELISA 试剂盒检测 HCV-cAg, 采用表面活性剂处理血清中病毒, 分解病毒复合物暴露出的 HCV-cAg, 与包被在微孔板的抗 HCV-cAg 单克隆抗体反应, 试剂灵敏度达 2.5-10pg/ml, 操作简便, 整个试验可在 3h 内完成。

本组抗 -HCV 阳性标本中, HCV 核心抗原的阳性率仅 42.22%(38/90)。38 例 HCV 核心抗原阳性组中, HCV-RNA 的检出率为 100%; 而 52 例 HCV 核心抗原阴性组中, HCV-RNA 的检出率为 71.15%(37/52); HCV 核心抗原与 HCV-RNA 的符合率为 51.7%(38/75)。较国外研究有一定差距 (81.6%)^[6]。分析原因: 1) 我们所收集的血清多为 HCV-RNA 阳性患者, 在 HCV-RNA 阳性血清中含有高滴度的 HCV 核心抗体。一旦 HCV 核心抗体出现, 试验

反应性下降或反应为阴性; 2) 影响 PCR 法检测的因素众多, 容易出现假阳性结果; 3) 国产 HCV 核心抗原定性检测的 ELISA 试剂盒灵敏性较国外试剂盒仍有不小差异。

本资料显示, HCV-cAg 与 HCV-RNA 的关系密切, HCV-cAg 阳性患者中 HCV-RNA 的阳性率显著高于 HCV-cAg 阴性的患者 ($P < 0.05$), 但两者病毒含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示 HCV-cAg 仅与丙型肝炎病毒的复制呈正相关, 而与病毒的含量无相关性。HCV-cAg 阳性患者肝功能异常率 63.16%

(下转 866 页)

(上接 846 页)

(24/38) 与阴性患者肝功能异常率 40.38% (21/52) 相比显著增高 ($P < 0.05$), 可能是因 HCV-cAg 容易激活机体的免疫系统, 使机体免疫耐受遭到破坏, 导致肝功能异常 ($ALT > 40U/L$)。因为在实验中发现 HCV-cAg 阳性患者 AST 及总胆红素异常率与阴性患者相比无统计学意义。原因可能为本实验标本多为慢性丙型肝炎患者血清, 而在慢性肝损伤中, ALT 的升高往往大于 AST 的升高, 且一般轻度肝损伤可以不伴有胆红素的升高; 也可能与 ALT 和 AST 的分布有关, ALT 主要分布于肝脏, 而 AST 则主要分布于心肌, 故 AST 的特异性不及 ALT。

有文献报道 ALT 水平与 HCV-RNA 有一定关系^[7], 本组实验资料也证实这一点。当 ALT 正常时, HCV-cAg 阳性患者明显低于 HCV-cAg 阴性患者 ($P < 0.05$), 而当肝细胞严重受损, ALT 值明显升高时 HCV-cAg 阳性患者显著多于 HCV-cAg 阴性患者 ($P < 0.05$)。可能是因 HCV-cAg 阳性患者病毒复制活跃, 机体对病毒感染的免疫反应强烈, 肝细胞受损严重, 导致 ALT 明显升高。

综上所述, 由于 HCV-cAg 与 HCV-RNA 具有显著相关性, HCV-cAg 的检测可在一定程度上降低丙型肝炎诊断的假阳性率, 有利于临床对病情的进一步明确诊断。

参考文献

- 1 Hitzler WE, Runkel S. Routine HCV PCR screening of blood donations to identify early HCV infection in blood donors lacking antibodies to HCV [J]. *Transfusion*, 2001, 41 (3): 333-337.
- 2 Zeisel MB, Turek M, Baumert TF. Getting closer to the patient: upgrade of hepatitis C virus infection in primary human hepatocytes [J]. *J Hepatol*, 2010, 53 (2): 388-389.
- 3 Maynard M, Pradat P, Berthillon P, et al. Clinical relevance of total HCV core antigen testing for hepatitis C monitoring and for predicting patients' response to therapy [J]. *J Viral Hepat*, 2003, 10 (4): 318-323.
- 4 杨东亮. 丙型肝炎的病毒学检测指标及其临床意义 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2004, 12 (2): 104.
- 5 Zeisel MB, Turek M, Baumert TF. Getting closer to the patient: upgrade of hepatitis C virus infection in primary human hepatocytes [J]. *J Hepatol*, 2010, 53 (2): 388-389.
- 6 Apple FS, Wu AH, Mair J, et al. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome [J]. *Clin Chem*, 2005, 51 (5): 810-824.
- 7 周永香. 丙型肝炎病毒血症与临床关系的研究 [J]. *临床荟萃*, 2004, 19 (24): 1408-1409.