

### 3 讨 论

HCV-RNA 是 HCV 的核心成分,系单股正链的 RNA 病毒,由于基因易变,在不同国家和地区已发现不少于 5 种 HCV 基因型<sup>[6-7]</sup>。因此该试剂盒引物选用 HCV 5' 末端变异较少的非编码区。HCV-RNA 荧光定量检测被认为是诊断 HCV 病毒血症的“金标准”<sup>[4-5]</sup>,直接反映病毒的复制程度,不受窗口期的影响。但 HCV-RNA 的核酸扩增方法灵敏度和特异性差别很大<sup>[8]</sup>,在不同实验室之间结果很难进行比较。结果的差异与样品的保存、操作者的技术和移液枪的精确度有关。本实验在同一操作者同一实验室的情况下对 HCV-RNA 进行荧光定量检测,来验证室温的送检时间对检测结果的影响。在本实验中强阳性组和弱阳性组的数据比较差异均无统计学意义( $F=0.898, P=0.466; F=0.359, t=0.837$ ),因此,在 HCV-RNA 荧光定量检测结果的差异性与标本的送检时间无关。此观点与徐皖苏等<sup>[2]</sup>的观点一致。

HCV-RNA 的遗传物质虽为 RNA,从本实验结果可以推测:实验在未对病毒进行裂解的情况下,内源性 RNA 酶并没有对 HCV 的遗传物质进行消化。而各实验室间的 HCV-RNA 检测结果的差异可能与实验者的操作熟练度有关,在病毒进行裂解 RNA 遗传物质暴露后的过程对实验结果尤为关键。

综上所述,室温保存 24 h 以内对 HCV-RNA 的荧光定量检测结果并没有显著的影响,同时在进行定量检测 RNA 这类遗传物质时,实验室需对操作人员进行培训上岗。

#### • 经验交流 •

## 肝硬化患者血清细胞间黏附分子-1 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ 检测的临床意义

武寿荣

(江苏省滨海县人民医院 224500)

**摘 要:**目的 探讨细胞间黏附分子-1 (sICAM-1)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )在肝硬化发病过程中的作用。方法 对于 75 例肝硬化患者,采用 ELISA 法测定其血清 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  水平。结果 肝硬化患者血清 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  水平分别为 (943.4 $\pm$ 99.8)ng/mL 和 (53.4 $\pm$ 12.8)ng/L,均明显高于对照组[分别为 (224.1 $\pm$ 32.7)ng/mL 和 (6.7 $\pm$ 2.3)ng/L]( $P<0.01$ ),都随着肝功能分级增加而升高。血清 sICAM-1 水平与 TNF- $\alpha$  呈显著正相关( $r=0.893 2, P<0.01$ ),与 ALB 呈显著负相关( $r=-0.910 8, P<0.01$ ),与 ALT 呈显著正相关( $r=0.856 6, P<0.01$ )。结论 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  在肝硬化的发生、发展过程中发挥重要作用,其升高程度与肝硬化严重程度密切相关。

**关键词:**肝硬化; 可溶性细胞间黏附分子-1; 肿瘤坏死因子- $\alpha$

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.054

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)04-0489-02

细胞间黏附分子-1 (soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)属于免疫球蛋白超家族成员,广泛分布在广泛分布在血管内皮细胞、中性粒细胞、巨噬细胞上,在正常情况下很少表达或不表达<sup>[1]</sup>,炎症因素刺激后与其配体作用调节着细胞间黏附,可以促进中性粒细胞、单核细胞及 T 淋巴细胞浸入到肝脏实质,参与了炎症反应等许多重要的生理和病理反应;肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor-alpha, TNF- $\alpha$ )是一种典型的炎症介质,亦是肝细胞损伤因子之一,在各种慢性肝病中均有不同程度的表达<sup>[2]</sup>,主要是由单核巨噬细胞分泌,与机体的免疫反应和介症反应密切相关<sup>[3]</sup>。作者研究乙型肝炎后肝硬化患者血清 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  水平的变化,探讨其在肝硬化发病中的作用和临床意义。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 75 例乙型肝炎后肝硬化患者选自 2007 年 5

### 参考文献

- [1] 张秀华. HCV-RNA 在外周血单个核细胞中的复制与丙肝慢性化及复发的关系[J]. 临床肝胆病杂志, 2006, 22(1): 35-36.
- [2] 徐皖苏, 杨公炜, 王丽, 等. 不同保存条件下血清荧光定量检测 HCV-RNA 的研究[J]. 预防医学文献信息, 2004, 10(1): 60-62.
- [3] 陈勇, 周华蓉. 不同保存条件对血清荧光定量 HCV-RNA 检测的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009, 1(2): 245-247.
- [4] 陈作芬, 曹永平. 丙肝患者治疗前后 HCV-RNA 与抗 HCV 及丙氨酸氨基转移酶水平的分析[J]. 临床医学与检验, 2010, 7(12): 1175-1177.
- [5] 钟海军, 唐孝亮, 曾刚毅, 等. 核酸纯化柱提取核酸定量检测丙型肝炎病毒 RNA 的临床应用[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(16): 783-798.
- [6] 陈应玉, 李京培, 王明丽. 逆转录聚合酶链反应检测 HCV-RNA 血标本保存条件分析[J]. 安徽医科大学学报, 2000, 35(3): 202-204.
- [7] Pyne M T, Konnick EQ, Phansalkar A. Evaluation of the Abbott investigational use only real-time hepatitis C virus (HCV) assay and comparison to the Roche TaqMan HCV analyte-specific reagent assay[J]. Clin Microbiol, 2009, 47(19): 2872-2878.
- [8] 王露楠, 吴健民, 李金明. 丙型肝炎病毒核酸检测的国家标准物质的研制[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(4): 354-357.

(收稿日期: 2011-09-11)

月至 2010 年 9 月期间来本院就诊经确诊的肝硬化患者, 全部病例均经临床明确诊断, 并按肝功能 Child-Pugh 分级法分为 A、B、C 级 3 组, 其中 A 级 22 例, B 级 23 例, C 级 30 例。32 例体检健康者列为健康对照组。所有研究对象均排除各种感染、结缔组织病、肿瘤等疾病, 并且近 1 月内未服用抗炎药物。

1.2 试剂与仪器 sICAM-1 试剂盒购自美国 R&D System, 其灵敏度为 0.35 ng/mL。酶标仪为美国 Bio Rad 产品。TNF- $\alpha$  试剂盒由北京晶美生物工程公司提供。ALB 和 ALT 试剂盒均为申能产品, 采用 OLYMPUS AU5431 全自动生化分析仪。

1.3 标本采集 所有肝硬化患者自本院住院后次日清晨抽取空腹静脉血, 对照者抽空腹静脉血 1 次, 2 500 r/min 离心 10 min, 分离血清测肝功后置备-20℃冷藏。

1.4 血清 sICAM-1 检测 采用双抗体夹心 ELISA 法。将试剂置室温下 30 min 后, 将样本 1:50 稀释后取 100  $\mu$ L/孔和各

浓度的校准品及质控品,混匀置室温 1.5 h,加 300  $\mu\text{L}$  经 1:25 稀释后的洗液洗涤 3 次,加入酶结合物 100  $\mu\text{L}$  室温 30 min 后,洗涤 3 次,加入 100  $\mu\text{L}$  显示液避光反应 30 min 后,加入 100  $\mu\text{L}$  终止液后于酶标仪 450 nm 波长处测各孔吸光度,根据标准曲线计算结果。TNF- $\alpha$  检测方法同 sICAM-1。

**1.5 统计学处理** 采用 SAS 统计软件包进行统计学处理,数据资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验。

**2 结 果**

**2.1 肝硬化患者血清 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  水平** 肝硬化患者血清 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  水平均明显高于对照组 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

**表 1 肝硬化患者血清 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  水平 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	<i>n</i>	sICAM-1 (ng/mL)	TNF- $\alpha$ (ng/L)	ALT (U/L)	ALB (g/L)
对照组	32	224.1 $\pm$ 32.7	6.7 $\pm$ 2.3	18.3 $\pm$ 5.3	44.9 $\pm$ 4.6
肝硬化组	75	943.4 $\pm$ 99.8*	53.4 $\pm$ 12.8*	196.7 $\pm$ 69.8	29.2 $\pm$ 3.7

\*:  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

**2.2 肝硬化患者各分级间血清 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  水平变化** 肝硬变血清 sICAM-1 水平随着肝功能分级增加而升高,其中 C 级患者高于 A 级患者 ( $P < 0.01$ ); B 级患者高于 A 级患者 ( $P < 0.05$ ); B 级和 C 级之间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。肝硬化患者血清 TNF- $\alpha$  水平亦随着肝功能 CP 分级的程度而逐渐增高,其中 B 级患者高于 A 级患者 ( $P < 0.01$ ), C 级患者明显高于 B 级患者 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

**表 2 肝硬化患者各分级间血清 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  水平变化**

CP 分级	<i>n</i>	sICAM-1(ng/mL)	TNF- $\alpha$ (ng/L)
A 级	22	654.1 $\pm$ 58.9	21.3 $\pm$ 9.7
B 级	23	921.4 $\pm$ 87.6	52.6 $\pm$ 11.2
C 级	30	1225.6 $\pm$ 132.9	71.3 $\pm$ 22.1

**2.3 血清 sICAM-1 水平与血清 TNF- $\alpha$ 、清蛋白(ALB)及谷丙转氨酶(ALT)的相关性分析** 结果表明,血清 sICAM-1 水平 TNF- $\alpha$  和 ALT 均呈显著正相关 ( $r = 0.8716, P < 0.01$ ;  $r = 0.8435, P < 0.01$ ),与 ALB 呈显著负相关 ( $r = -0.8915, P < 0.01$ )。

**3 讨 论**

ICAM-1 属免疫球蛋白超家族成员,健康人血清中 ICAM-1 主要来自肝窦内皮和血管内皮细胞,肝细胞由于缺乏 ICAM-1 表达,所以血清中 ICAM-1 水平较低。炎症状态下,肝细胞、肝胆管、肝血窦内皮细胞以及肝组织内活化的淋巴细胞等均可产生 sICAM-1<sup>[4]</sup>, Del Pozo 等<sup>[5]</sup>报道在淋巴细胞-内皮细胞相互作用中趋化因子诱导 T 细胞极化,形成胞浆突起; LFA-1 在胞浆突起介导的淋巴细胞募集过程中起重要作用,并促进 T 细胞的跨内皮迁移运动。肝硬化肝血管内皮和肝窦内皮 ICAM-1 mRNA 和 ICAM-1 增强表达有利于淋巴细胞通过上述类似机制向肝组织中浸润,为 CTL 攻击靶细胞创造必要的条件。本研究显示,肝硬化患者血清 sICAM-1 水平均显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ),与 ALT 呈显著正相关 ( $r = 0.8566, P < 0.01$ ),ALB 呈显著负相关 ( $r = -0.9108, P < 0.01$ ),与肝功

能 Child-Pugh 分级密切相关,这一结果提示血清 sICAM-1 与肝脏的炎症过程有关,血清中 sICAM-1 水平能较好反映肝硬化患者肝损害和肝功能状况,与国外报道一致<sup>[6]</sup>,因而 sICAM-1 测定可作为肝细胞坏死和慢性肝炎炎症活动度的标志。

TNF- $\alpha$  主要由单核巨噬细胞分泌,是免疫效应的细胞因子<sup>[7]</sup>,与炎症反应密切相关,特别是在免疫损伤和免疫反应时, TNF- $\alpha$  参与免疫活性细胞间的联系和免疫效应,是具有免疫效应和炎症反应的双重作用细胞因子,作者病例观察表明, TNF- $\alpha$  的升高同血清 ALT 升高一致,说明 TNF- $\alpha$  与肝细胞的损伤关系密切,可能是通过刺激凋亡途径参与了肝细胞的损伤和促进纤维化<sup>[8]</sup>。随着肝硬变分级的增高其血清 TNF- $\alpha$  水平亦随之升高,表明血清 TNF- $\alpha$  水平是反映肝硬变炎症活动性和肝功能损害程度的良好的监测指标,各种慢性肝病、肝硬变患者均发生不同程度的内毒素血症,合并感染时内毒素血症更明显,而内毒素是刺激 TNF- $\alpha$  产生的最强物质,单核巨噬细胞系统和中性粒细胞在介导 TNF- $\alpha$  对肝脏的毒性中起重要作用。

深入研究肝硬化患者 sICAM-1 和 TNF- $\alpha$  的表达规律,动态观察其水平变化,有助于了解患者免疫功能状况及细胞因子的紊乱程度,可对病情作出有价值的评估。对研究肝硬化的发病机制、了解患者病变程度、判断预后<sup>[9]</sup>,具有较高的临床意义。

**参考文献**

- [1] Powell JJ, Siriwardena AK, Fearon KC, et al. Endothelial-derived selectins in the development of organ dysfunction in acute pancreatitis [J]. Crit Care Med, 2001, 29(3): 567-572.
- [2] 马菊芬, 李建忠. 肝病患者血清 C-反应蛋白检测及其临床意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(7): 646.
- [3] Luo QF, Peng XL, Gao XC, et al. Detection of serum concentration of soluble intercellular adhesion molecule-1, tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-8 and their clinical significance in the patients with chronic viral hepatitis B [J]. China Journal of Modern Medicine, 2002, 12(1): 39-40.
- [4] 邹立, 蔡绍先, 陈玮莹. 细胞黏附分子与肝脏疾病 [J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(11): 1010-1012.
- [5] Del Pozo MA, Cabanass C, Montoya MC, et al. ICAMs redistributed by chemokines to oel- lular uropods as a mechanism for recruitment of T lymphocytes [J]. J Cell Bio, 1997, 10(1): 137-139.
- [6] Bruno VM, Sciacca C, Cilio D, et al. Circulating adhesion molecules in patients with virus-related chronic diseases of the liver [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(29): 4566-4569.
- [7] 陈恺杰, 揭育丽, 陈明圣. TGF- $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 在慢性肝病患者中的检测及其临床意义 [J]. 广东医学院学报, 2010, 28(1): 25-26.
- [8] Aslanidis S, Vassiliadis T, Pырpasopoulou A, et al. Inhibition of TNFalpha does not induce viral reactivation in patients with chronic hepatitis C infection: two cases [J]. Clin Rheumatol, 2007, 26(2): 261-264.
- [9] Giron-Gonzalez JA, Martinex-Sierra C, Rodriguez-Ramos C, et al. Adhesion molecules as a prognostic marker of liver cirrhosis [J]. Scand J Gastroenterol, 2005, 40(2): 217-224.

(收稿日期: 2011-09-12)