

• 临床检验研究论著 •

# 肝硬化合并肝癌血氨水平、层粘连蛋白、IV 型胶原变化与 Child-Pugh 分级间的相互关系

叶迎宾, 郭卫刚, 柴广丽, 章 健, 田楠楠, 王晓芳, 黄秀香, 李友生  
(河北邯郸市传染病医院检验科, 河北邯郸 056002)

**摘要:**目的 探讨肝硬化合并肝癌患者血氨水平、层粘连蛋白和 IV 型胶原水平变化与肝功能 Child-Pugh 分级间的关系。  
**方法** 选取 108 例肝硬化合并肝癌患者(肝癌组), 其中男 71 例, 女 37 例; 年龄 37~71 岁, 平均 55.6 岁。按照 Child-Pugh 分级标准, A 级 28 例, B 级 32 例, C 级 48 例。对照组 67 例, 男 41 例, 女 26 例; 年龄 37~62 岁, 平均 46.8 岁。采用化学发光法检测层粘连蛋白(LN)、IV 型胶原(IV-C), 血氨(NH<sub>3</sub>)采用连续监测法。比较肝癌组与对照组、肝癌组 Child-Pugh 分级间的 NH<sub>3</sub> 水平、层粘连蛋白(LN)、IV 型胶原(IV-C)的变化。**结果** 与对照组相比, 肝癌患者 NH<sub>3</sub>、LN、IV-C 均升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。随着 Child-Pugh 等级上升, NH<sub>3</sub>、LN、IV-C 逐渐升高差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。肝癌患者随着肝功能的下降, NH<sub>3</sub> 与 LN 呈显著正相关( $r = 0.556 2, 0.690 0, 0.342 3, P < 0.05$ ), 与 IV-C 无显著相关。**结论** 血氨和层粘连蛋白有显著相关性, 对肝硬化合并肝癌无创伤诊断有一定的临床意义。

**关键词:** 氨; 层粘连蛋白; 胶原; 肝硬化; 肝肿瘤

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.019

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)18-2394-02

## The relationship between the level of plasma ammonia and the changes of serum laminin and type IV collagen in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in reference to Child-Pugh scores

Ye Yingbin, Guo Weigang, Chai Guangli, Zhang Jian, Tian Nannan, Wang Xiaofang, Huang Xiuxiang, Li Yousheng  
(Department of Clinical Laboratory, Handan Infectious Disease Hospital, Handan, Hebei 056002, China)

**Abstract: Objective** To explore the relationship between the level of plasma ammonia and the change of serum laminin and type IV collagen in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma with different degrees of their liver lesions. **Methods** A total of 108 patients with hepatic cirrhosis and liver cancer(liver cancer group) were enrolled, male 71, female 37, age 37-71 years old, mean age 55.6 years old. They were divided into three subgroups(A, B, and C) on the basis of Child-Pugh classification. Among the patients, 28 were classified as Child-Pugh class A, 32 were class B, 48 were class C. 67 healthy individuals served as controls, male 41, female 26, age 37-62 years old, mean age 46.8 years old. Serum laminin(LN), type IV collagen(IV-C) were determined by chemiluminescence and plasma ammonia (NH<sub>3</sub>) was determined by continuous monitoring method. Compared with the results in liver cancer group and control group, Child-Pugh classification the level of NH<sub>3</sub>, LN, IV-C in liver cancer group. **Results** Compared with the control group, NH<sub>3</sub>, LN, and IV-C were increased in patients with cancer of the liver, there were significant difference between the two groups ( $P < 0.05$ ). NH<sub>3</sub>, HA, LN, PC III and IV-C increased, with the increase of the Child-Pugh grades, there were significant difference between the three groups ( $P < 0.05$ ). NH<sub>3</sub> and LN was positively correlated with the decline in liver function ( $r = 0.556 2, 0.690 0, 0.342 3, P < 0.05$ ), NH<sub>3</sub> was no significant correlation with IV-C. **Conclusion** The certain clinical significance of non-invasive diagnosis between the level of NH<sub>3</sub> and LN in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma, because of the positive correlation to them.

**Key words:** ammonia; laminin; collagen; liver cirrhosis; liver neoplasms

肝硬化是一种或几种病因长期或反复作用于肝脏引起的慢性、进行性、弥漫性肝损害, 肝实质受损, 肝细胞广泛变性坏死, 坏死后肝内结缔组织再生, 并形成再生结节和假小叶, 导致正常肝小叶结构的破坏, 肝硬化早期病情常隐匿, 无特异症状和体征。晚期患者症状较重, 常伴有黄疸, 腹腔积液等临床表现和上消化道出血, 肝性脑病等并发症, 预后较差。失代偿性肝硬化预后较差, 且易进展为肝细胞癌(肝癌)。为此, 研究者检测了肝硬化合并肝癌患者血浆氨(NH<sub>3</sub>)的活性、层粘连蛋白(LN)和IV型胶原(IV-C)含量, 并按 Child-Pugh 分级标准进行分组比较, 以评价 NH<sub>3</sub>、LN 和 IV-C 在肝硬化合并肝癌患者病情诊断和预后判断中的应用价值。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2012 年 1~12 月在本院肝病科住院且经影像学证实的肝硬化合并肝癌患者 108 例为肝癌组, 男 71 例, 女 37 例; 年龄 37~71 岁, 平均 55.6 岁。肝硬化合并肝癌患者均符合 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的“病毒性肝炎防治方案”中病毒性肝炎诊断标准。根据 Child-Pugh 分级标准, A 级 28 例, B 级 32 例, C 级 48 例。所有患者排除合并非酒精性脂肪肝、自身免疫性肝病、遗传代谢性肝病等其他病因, 无合并糖尿病、冠心病、肾脏疾病、风湿病、肺纤维化等疾病。对照组 67 例, 男 41 例, 女 26 例; 年龄 37~62 岁, 平均 46.8 岁; 肝功能正常, 各型肝炎病毒

标志物均为阴性。

**1.2 仪器与试剂** OLYMPUS AU640 全自动生化分析仪, 郑州安图绿科生物工程有限公司 Autolumo A2000 全自动化学发光测定仪。LN、IV-C 试剂由郑州安图绿科生物公司提供; NH<sub>3</sub> 试剂由北京利德曼生化股份有限公司提供。

**1.3 标本采集** 肝癌组和对照组均于清晨空腹抽取静脉血 5 mL, 其中 3 mL 置于带有促凝剂的试管中, 以 3 000 r/min 离心 5 min, 吸取血清于 Eppendorf 管中, 置 -20 ℃ 冰箱保存, 以备检测肝纤维化指标。剩余 2 mL 置于柠檬酸盐的抗凝试管中, 立即离心, 检测血氨和质控, 质控在控患者血氨结果有效, 血氨检测应在 2 h 之内完成。

**1.4 检测方法** LN、IV-C 测定采用化学发光法, 参考范围分别为: LN > 130 ng/mL、IV-C > 95 ng/mL; NH<sub>3</sub> 采用连续监测法, 血氨参考范围为 10~47 μmol/L。

**1.5 统计学处理** 应用 SPSS13.0 软件对测量数据进行统计学分析。检测数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间采用 *t* 检验, 分级间比较用单因素方差分析, 相关性检验采用 Pearson 直线相关分析, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 各组指标检测结果比较** 见表 1。

表 1 各组指标检测结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	LN(ng/mL)	IV-C(ng/mL)	NH <sub>3</sub> (μmol/L)
对照组	67	83.53 ± 20.64	68.58 ± 24.82	25.55 ± 20.86
肝癌组	108	189.23 ± 70.15*	148.09 ± 31.75*	69.98 ± 24.28*
A 级	28	117.31 ± 21.50*	115.15 ± 14.14*	45.33 ± 7.48*
B 级	32	152.61 ± 41.06*#	146.37 ± 16.74*#	68.76 ± 10.25*#
C 级	48	255.60 ± 36.54*#	168.46 ± 30.39*#	85.17 ± 25.33*#

\*: *P* < 0.05, 与对照组比较; #: *P* < 0.05, 与肝癌组 A 级比较。

**2.2 不同分级患者 NH<sub>3</sub> 与 LN 和 IV-C 相关性** 见表 2。

表 2 不同分级患者 NH<sub>3</sub> 与 LN 和 IV-C 相关性

C-P 分级	项目	回归方程	<i>t<sub>r</sub></i>	<i>r</i>	<i>P</i>
A 级( <i>n</i> =28)	LN	Y=44.91+1.59X	3.396	0.556 2	<0.05
	IV-C	Y=90.77+0.53X	1.514	0.284 7	>0.05
B 级( <i>n</i> =32)	LN	Y=5.59+2.20X	5.232	0.690 0	<0.05
	IV-C	Y=85.01+0.88X	3.577	0.546 8	<0.05
C 级( <i>n</i> =48)	LN	Y=213.56+0.49X	2.471	0.342 3	<0.05
	IV-C	Y=194.69-0.30X	1.771	-0.252 7	>0.05

## 3 讨 论

肝硬化合并肝癌患者的肝功能衰竭时, 肝合成尿素能力下降, 或因门体侧支循环, 肠道产氨增多直接进入体循环, 不能被肝脏转化, 随血液进入大脑引发脑病的产生<sup>[1]</sup>。因此肠源性的氨中毒是肝性脑病最重要的发病机制之一。贺勇等<sup>[2]</sup>证实了肝硬化患者因门静脉高压, 造成食道静脉曲张破裂出血, 血红蛋白在肠道内分解导致氨生成增加。过多的氨能干扰脑细胞能量代谢, 引起脑组织能量产生不足, 影响神经递质的产生和神经递质间的平衡, 使兴奋性递质减少或抑制性递质增加<sup>[3]</sup>。牛丽林<sup>[4]</sup>报道肝硬化患者的血氨升高与肝功能的分级有关, 肝功能分级越低, 血氨浓度越高。本实验结果表明, 肝癌组患者

的血氨水平平均高于对照组, 差异有统计学意义(*P* < 0.05)。A、B、C 级肝癌患者的 NH<sub>3</sub>、LN、IV-C 与对照组比较, 差异有统计学意义(*P* < 0.05)。A 和 B、A 和 C、B 和 C 级相比, NH<sub>3</sub>、LN、IV-C 含量差异有统计学意义(*P* < 0.05)。由此可见, 血氨动态检测可作为肝硬化合并肝癌患者的主要观察指标, 有助于对病情的评估, 与盛大平等<sup>[5]</sup>报道的几乎一致。

肝癌是在肝硬化后期病变的基础上, 后者易受致癌因素的作用而发生癌变。肝纤维化是诸多慢性肝病发展为肝硬化甚至肝癌的必经病理过程<sup>[6]</sup>。由于 IV-C、LN 都是肝细胞外基质代谢过程中的一部分, 是肝纤维化和基质沉积相关的直接指标。肝纤维化是肝脏弥漫性的、过量的细胞外基质沉积, 它是细胞外基质沉积过多或降解不足的直接后果。IV-C 含量实际反映了基底膜胶原的更替情况<sup>[7]</sup>, 更能敏感的预测慢性肝炎患者的纤维化<sup>[8]</sup>。欧晓娟等<sup>[9]</sup>报道血 IV-C 水平受肝脏炎症程度影响, 肝脏炎症程度重, IV-C 浓度有升高的趋势。LN 水平被认为可反映肝窦毛细血管化、汇管区 ECM 增生、门脉高压及肝功能受损的表现<sup>[10]</sup>。本实验结果表明, 肝癌组患者的血清 IV-C、LN 含量均高于对照组(*P* < 0.05), 且 IV-C、LN 含量还与肝功能 child-pugh 分级有关, 肝功能分级越低, 血清 IV-C、LN 的含量越高, 与对照组相比, 差异有统计学意义(*P* < 0.05)。A 和 B 级、A 和 C 级、B 和 C 级相比, IV-C、LN 的含量差异有统计学意义(*P* < 0.05)。由此可见 IV-C、LN 的检测是反映胶原的生成及肝纤维化程度, 间接了解肝纤维化的进展情况, 是评价肝纤维化程度及无创性诊断肝硬化的重要方法之一。

本文将 NH<sub>3</sub> 与肝功能 Child-Pugh 分级中的 LN、IV-C 之间进行了相关性分析, NH<sub>3</sub> 与 LN 呈直线正相关(*r* = 0.556 2、0.690 0、0.342 3, *P* < 0.05), 与 IV-C 无明显相关, 这一结论仍待于大量实验进一步论证。LN 与 IV-C 一起构成基底膜的主要成分, 影响组织和血液之间营养和代谢物质的转换, 导致肝功能细胞功能障碍, 可能是门静脉高压形成的主要物质基础之一<sup>[11]</sup>。门静脉高压, 造成食道静脉曲张破裂出血, 导致血氨生成增加。另外, 肝细胞数量减少和肝细胞功能减退, 肝脏的鸟氨酸循环能力降低, 肠道吸收的氨不能转化成尿素而导致血氨升高<sup>[2]</sup>。

肝硬化合并肝癌的形成与多种因素作用有关, 机制复杂, 所以单一的指标对病情的诊断和疗效的评定是不全面的。需多种指标联合观察、联合检测, 多项指标全部升高对肝癌的诊断有意义。寻求灵敏度高和特异性强、早期、无创性诊断肝纤维化的诊断指标以及标准仍是今后努力的方向<sup>[12]</sup>。肝脏蛋白质组学鉴定, 是改善肝病患者具体情况的重要一步, 是当前和以后研究的重点领域。

## 参考文献

- [1] 聂鑫, 贺勇, 李贵星, 等. 肝肾综合征与肝性脑病的关系研究[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(3): 475-478.
- [2] 贺勇, 高宝秀, 杨正兵, 等. 肝硬化患者消化道状态与血氨的关系研究[J]. 检验医学, 2012, 27(1): 44-47.
- [3] 李晓光, 于永光, 王丽艳, 等. 血氨检测在临床肝病中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(11): 1340-1342.
- [4] 牛丽林. 根除 HP 对肝硬化患者血氨的影响及与肝功能分级的关系研究[J]. 河南职工医学院学报, 2012, 24(4): 472-473.
- [5] 盛大平, 徐元宏, 李涛, 等. 血氨检测的临床适应(下转第 2397 页)

续表 2 46 例盐水试管法 ABO 血型正、反定型不符的原因分类

正、反定型不符合的原因	n	百分率(%)
B 型抗-A 效价低	1	2.17
O 型抗-A 效价低	1	2.17
A 型抗-B 效价低	1	2.17
A 型无抗-B 抗体	5	10.88
O 型抗-B 效价低	2	4.35
O 型无抗-A 抗体	3	6.52
O 型无抗-A 和抗-B 抗体	1	2.17
AB 型 A 亚型	6	13.04
AB 型 B 亚型	3	6.52
B 亚型	1	2.17
冷凝集素	2	4.35
不规则抗体阳性	4	8.70
冷凝集素+不规则抗体阳性	2	4.35
直抗阳性+不规则抗体阳性	1	2.17

### 3 讨 论

血站、临床检验科和输血科日常工作中会遇到 ABO 血型正、反定型不一致的情况,给血型鉴定和临床输血带来困难。血型血清学方法检测红细胞和血清或血浆方面出现的正、反定型不一致,通过洗涤红细胞做正定型、红细胞直接抗人球蛋白试验、4℃ 冰箱放置增加反定型反应时间、反定型加做 O 型混合红细胞、不规则抗体检测和吸收放散试验等方法进行鉴定及分析,可以发现正、反定型不一致是否因冷凝集素、红细胞血型抗原减弱、血清或血浆中抗体减弱或缺失、红细胞被致敏和不规则抗体等因素引起<sup>[3-5]</sup>。本研究室工作中,83 例疑难 ABO 血型鉴定使用盐水法检测,正、反定型不符合例数为 46 例;37 例标本经盐水介质和 MP 法共同检测,正、反定型结果符合。通过对盐水法正、反定型不一致的 46 例标本进一步检测的结果为,AB 亚型 9 例,其中 6 例为 A 亚型、3 例为 B 亚型;B 亚型 1 例;弱 A 抗原 7 例,其中 AB 型弱 A 抗原 3 例,A 型弱 A 抗原 4 例;弱 B 抗原 4 例,其中 AB 型弱 B 抗原 1 例,B 型弱 B 抗原

3 例;低抗-A 效价 2 例,其中 O 型 1 例,B 型 1 例;低抗-B 效价 3 例,其中 O 型 2 例,A 型 1 例;不规则抗体阳性 7 例,其中 A 型 5 例,B 型 1 例和 O 型 1 例;无抗体 O 型 4 例,其中无抗-A 抗体 3 例,同时无抗-A 和抗-B 抗体 1 例;低抗-B 效价 O 型 2 例;无抗-B 抗体 A 型 5 例。经分析后发现,引起 46 例 ABO 血型正、反定型不一致的原因分别为红细胞抗原减弱 13 例(占 28.26%)、亚型 10 例(占 21.74%)、血清或血浆中抗体效价低 5 例(占 10.87%)和无抗体 9 例(占 19.57%)、冷凝集素和不规则抗体阳性 8 例(占 17.39%)、红细胞直接抗人球蛋白试验和不规则抗体共同阳性 1 例(占 2.17%)。

对于 ABO 疑难血型鉴定,用洗涤红细胞做正定型、红细胞直接抗人球蛋白试验,4℃ 冰箱放置增加反定型反应时间、反定型加做 O 型混合红细胞、聚凝胺(MP)法、吸收试验和放散试验等进行检测,从血型血清学方面能准确、及时鉴定 ABO 疑难血型,对于有条件的实验室可以从分子生物学方法进一步进行检测来明确血型。目前部分医院检验科给患者初查 ABO 血型时,仅用正定型法,由此可能导致结果错误<sup>[6]</sup>。建议临床输血科在每次做交叉配血前一定要复查血型,一定要在 ABO 血型正、反定型相符的前提下再做交叉配血,以确保临床输血安全。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:262-264.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 中国输血技术操作规程(血站部分)[M]. 天津:天津科学技术出版社,1997:71-75.
- [3] 刘达庄. 免疫血液学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002:194-224.
- [4] 范海丽,史恩祥,王苗武,等. ABO 血型正反定型不符 75 例原因分析[J]. 华北国防医药,2009,21(2):38-39.
- [5] 袁志臣. 临床 ABO 血型正反定型不一致原因分析及对策[J]. 中国实用医药,2012,7(34):66-67.
- [6] 马曙轩,刘景汉,王全立,等. 24 例 ABO 血型正反定型不一致受血者的血型血清学分析[J]. 临床输血与检验,2005,7(4):280-282.

(收稿日期:2012-11-08)

(上接第 2395 页)

证及其价值探讨[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(6):565-567.

- [6] 胡兴荣,崔显念,胡启托,等. 血清肝纤维化指标与慢性肝炎肝纤维化程度的相关性[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(14):1501-1503.
- [7] 范公忍,任永强,崔琨,等. 血清透明质酸Ⅲ型前胶原Ⅳ型胶原及脯氨酸胺酶对肝组织纤维化诊断的意义[J]. 临床肝胆病杂志,2007,23(1):19-21.
- [8] 王燕,陆伦根. 评估肝纤维化进展相关的血清标志物研究现状[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(7):877-880.

- [9] 欧晓娟,王晓明,王宝恩,等. 再评价血清学指标诊断慢性乙型肝炎纤维化程度的价值[J]. 临床肝胆病杂志,2007,23(6):413-414.
- [10] 滕惠琴,薛惠明. 肝纤维化的非侵入性诊断技术的研究现状[J]. 临床肝胆病杂志,2008,24(4):316-318.
- [11] 甘泽. 肝纤维化的血清学诊断进展[J]. 医学文选,2003,22(6):931-934.
- [12] 曹玉宁,李森林. 肝纤维化无创诊断的研究进展[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(2):214-217.

(收稿日期:2013-04-08)