

## HCV RNA 载量、FIB-4 指数和 25 羟维生素 D 水平 在丙型肝炎临床应用中的价值\*

周 琰, 吴文浩, 吴 炯, 张春燕, 王蓓丽, 郭 玮, 潘柏申

(复旦大学附属中山医院检验科, 上海 200032)

**摘要:**目的 分析丙型肝炎患者肝纤维化指数(FIB-4 评分)、HCV RNA 载量和血清 25 羟维生素 D(25OH-D)水平之间的关系。方法 收集 255 例丙型肝炎患者和 218 例表面健康人群的血清标本,检测血清 25OH-D 水平、HCV RNA 载量以及 FIB-4 指数评分标准中的 3 项指标[包括丙氨酸氨基转移酶(ALT)、谷氨酸氨基转移酶(AST)和血小板(PLT)]。比较丙型肝炎组与健康对照组之间 25OH-D 浓度的差异;根据 FIB-4 评分标准分组,统计 HCV RNA 载量、25OH-D 浓度和 FIB-4 指数之间的关系。结果 丙型肝炎组 25OH-D 浓度为  $48.16 \pm 1.41$  nmol/L,明显低于对照组( $60.42 \pm 1.34$  nmol/L;  $t=4.682, P<0.01$ )。丙型肝炎组中 25OH-D 缺乏( $<50$  nmol/L)和严重缺乏( $<25$  nmol/L)的比例为 42.35% (108/255)和 14.90% (38/255),明显高于对照组[27.98% (91/218)和 3.67% (8/218);  $t=5.216, P<0.01$ ]。相关性分析表明 HCV RNA 阳性组病毒载量对数值与相应的 25OH-D 水平无相关性( $r^2=0.0188, P=0.412$ )。根据 25OH-D 水平四分位分组,25OH-D 水平浓度随 FIB-4 指数增加而减低,各组中不同纤维化程度的丙型肝炎患者比例差异有统计学意义( $\chi^2=8.190, P=0.042$ );根据 HCV RNA 载量四分位分组,FIB-4 指数分级各组间患者例数分布差异无统计学意义( $\chi^2=1.874, P>0.05$ )。结论 丙型肝炎患者 25OH-D 水平显著低于健康对照组,对此类人群应适当补充维生素 D。丙型肝炎患者 FIB-4 指数和 25OH-D 浓度显著相关,和 HCV RNA 病毒载量不相关。

**关键词:** 25 羟维生素 D; 丙型肝炎; HCV RNA; FIB-4 评分

中图分类号: R512.63; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)01-030-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.01.009

## Clinical Application Value of the Result of the HCV RNA, FIB-4 and Levels of 25-Hydroxy Vitamin D for Patients with Hepatitis C

ZHOU Yan, WU Wen-hao, WU Jiong, ZHANG Chun-yan, WANG Bei-li, GUO Wei, PAN Bai-shen

(Department of Clinical Laboratory Medicine,

Zhongshan Hospital of Fudan University, Shanghai 200032, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the effects of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] on the result of the HCV RNA and the FIB-4 in the patients with hepatitis C. **Methods** 255 serum samples were random collected from the patients with hepatitis C and 218 serum samples were random collected from the healthy people. The 25(OH)D, HCV RNA, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and blood platelet (PLT) were detected. Then, compared the results of the 25(OH)D in the patients with hepatitis C and the healthy group. Analyzed the relevance between the concentration of 25(OH)D and HCV RNA. According to the quartile concentration of the 25(OH)D, the patients with hepatitis C were categorized to four groups. The relationship of FIB-4 between HCV RNA and 25(OH)D was analyzed. **Results** The average concentration of the 25(OH)D in the patients with hepatitis C and healthy people were  $48.16 \pm 1.41$  nmol/L vs  $60.42 \pm 1.34$  nmol/L, with a significant difference ( $t=4.682, P<0.01$ ). There were 38 patients (14.90%) had severe deficiency of 25(OH)D ( $<25$  nmol/L) in 255 patients with hepatitis C. And there were 8 patients (3.67%) had severe deficiency of 25(OH)D ( $<25$  nmol/L) in 218 healthy people, with a significant difference ( $t=5.216, P<0.01$ ). Then found no relevance between the logarithmic of the HCV RNA and the concentration of the 25(OH)D ( $r^2=0.0188, P=0.412$ ) and there was significant difference between the proportion of FIB-4 in the highest quartile concentration of the 25(OH)D and the lowest quartile concentration of the 25(OH)D ( $\chi^2=8.190, P=0.042$ ). **Conclusion** The patients with hepatitis C were easier to have a severe deficiency of 25(OH)D than the healthy people. The hepatitis C patients should be suggested to supply the vitamin D. FIB-4 has a significant difference with 25(OH)D and no great effects on the result of the HCV RNA.

**Keywords:** 25-hydroxyvitamin D; hepatitis C; HCV RNA; FIB-4

\* 基金项目: 上海青年临床医技人才(临床检验专业)培养资助计划(沪医卫基[2016]04号); 复旦大学附属中山医院青年资金(2016ZSQN-34); 国家自然科学基金面上项目(81572064); 上海市卫生计生系统重要薄弱学科建设项目(2015ZB0201)。

作者简介: 周 琰(1981-), 女, 学士, 主管技师, 研究方向: 免疫和分子诊断, Tel: 13817754311。

通讯作者: 潘柏申, E-mail: pan.baishen@zs-hospital.sh.cn。

血清 25 羟基维生素 D $[(25(\text{OH})\text{D})]$  的检测技术的不断优化为研究 VitD 在各种慢性疾病预防和治疗中的潜在价值创造了更好的平台。关于 VitD 在骨代谢中的作用已获得广泛研究,并列入指南推荐特殊人群需要补充足量的 VitD。近年来, VitD 在心血管疾病、恶性肿瘤、肝脏疾病中的作用受到越来越多的关注。有研究和荟萃分析报道,高 VitD 水平可以降低慢性病毒性肝炎疾病进展的风险<sup>[1~3]</sup>。

肝脏在 VitD 代谢和转化中发挥着重要的作用, VitD 必须在肝脏中转换成 25(OH)D 形式才能进一步发挥生理活性。肝细胞和甲状旁腺、肾脏通过表达钙感受受体,在维系机体钙稳态调节中发挥着关键作用<sup>[4~6]</sup>。多项关于丙型肝炎患者体内血清 25(OH)D 水平的研究指出, VitD 缺乏在丙型肝炎患者中很常见,并在细胞系中验证了 25(OH)D 具有抑制病毒复制的作用;补充 25(OH)D 可改善丙型肝炎治疗的持续病毒学应答率<sup>[7~10]</sup>。本文旨在通过回顾性分析探讨 HCV RNA 载量、FIB-4 指数和 25(OH)D 水平在丙型肝炎应用中的临床价值。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 根据 2003 年美国疾病预防控制中心丙型肝炎诊断标准<sup>[11]</sup>,收集 2012 年 4 月~2013 年 1 月,在我院确诊的 255 例丙型肝炎患者(年龄 19~82 岁,男性 132 例,女性 123 例)。根据病毒是否复制,将患者分为 HCV RNA 阳性(161 例)和 HCV RNA 阴性组(94 例)。同时,在体检人群中筛选 218 例丙型肝炎抗体阴性的表面健康人群作为对照组(年龄 27~86 岁,男性 113 例,女性 105 例)。

**1.2 试剂和仪器** 强生 Vitros 3600 增强化学发光全自动免疫分析仪, HCV 抗体检测配套试剂; Roche Cobas E601 电化学发光全自动免疫分析仪,总 25(OH)D 检测配套试剂; Roche LC480 荧光定量 PCR 仪、凯杰生物工程(深圳)有限公司 HCV RNA 核酸扩增试剂盒;日立 7600 全自动生化分析仪,科华 ALT 和 AST 检测试剂;希森美康血细胞分析仪 XN10,配套 PLT 检测试剂。

**1.3 检测方法** 血清标本-20℃保存至检测。血清总 25(OH)D 检出下限 7.5 nmol/L; HCV RNA 检出下限 50 IU/ml;肝纤维化的程度分级通过 Fib-4 指数公式计算值进行评价(见表 1)<sup>[12,13]</sup>,计算公式为:

$$\text{Fib-4} = \frac{\text{年龄(岁)} \times \text{AST(U/L)}}{\text{PLT 计数}(10^9/\text{L}) \times \sqrt{\text{ALT(U/L)}}}$$

表 1 Fib-4 分级标准

FIB-4 指数	分级	肝纤维化程度评价
<1.45	F0~F1	无纤维化
1.45~3.25	F1~F3	轻度纤维化
>3.25	F3~F4	重度肝纤维化

**1.4 统计学分析** 使用 SPSS19.0 软件分析结果。使用 T 检验比较丙型肝炎患者组与表面健康对照组、HCV RNA 阳性组与阴性组的 25(OH)D 浓度水平差异;分析 HCV RNA 病毒载量的高低与 25(OH)D 浓度的相关性;非参数检验分析 25(OH)D 浓度四分位间 FIB-4 指数的差异,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 比较丙型肝炎组与表面健康组血清 25(OH)D 水平及其缺乏程度** 丙型肝炎患者与健康对照组 25(OH)D 水平分别为  $48.16 \pm 1.41$  nmol/L 和  $60.42 \pm 1.34$  nmol/L,丙型肝炎患者的平均 25(OH)D 水平明显低于健康对照组,差异有统计学意义( $t = 4.682, P < 0.01$ )。根据 Vit D 状态评估标准<sup>[14,15]</sup>,见表 2。丙型肝炎组中 25(OH)D 缺乏( $<50$  nmol/L)和严重缺乏( $<25$  nmol/L)的比例明显高于健康对照组,两组间差异有统计学意义( $t = 5.216, P < 0.01$ )。

表 2 丙型肝炎组与健康对照组血清 25(OH)D 浓度分布[n(%)]

25(OH)D(nmol/L)	丙型肝炎组	健康对照组	P 值
>75	38(14.90)	46(21.10)	0.039
50~75	71(27.84)	103(47.25)	<0.01
50~25	107(41.96)	61(27.98)	<0.01
<25	39(15.29)	8(3.67)	<0.01

**2.2 HCV RNA 阳性组与阴性组 25(OH)D 水平比较** 见图 1。HCV RNA 阳性组与阴性组 25(OH)D 水平分别为  $48.16 \pm 26.44$  nmol/L 和  $49.89 \pm 25.27$  nmol/L,差异无统计学意义( $t = 0.532, P > 0.05$ )。

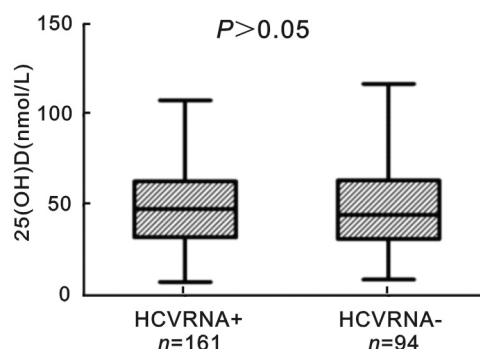


图 1 比较 HCV RNA 阳性组与阴性组 25(OH)D 浓度水平

## 2.3 HCV RNA 病毒载量与 25(OH)D 水平相关

性 在 HCV RNA 阳性组中,比较病毒载量和 25(OH)D 水平之间的相关性,见图 2。病毒载量对数水平与 25(OH)D 水平相关性差异无统计学意义( $r^2=0.0188, P>0.05$ )。

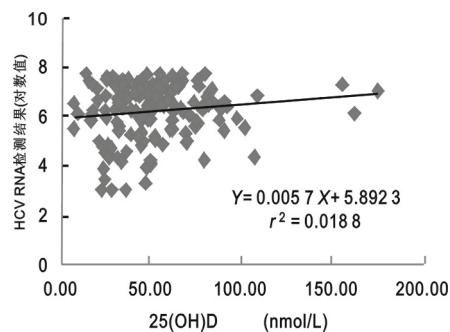


图 2 HCV RNA 阳性组病毒载量和 25(OH)D 水平相关性分析

2.4 FIB-4 指数和 HCV RNA 载量、血清 25(OH)D 水平之间的关系 分析 161 例 HCV RNA 阳性患者中,FIB-4 指数和 HCV RNA 载量、血清 25(OH)D 水平之间的关系,见表 3。以 25(OH)D 水平四分位,比较各组中 FIB-4 指数分布在 F0~F1,F1~F3 和 F3~F4 级患者所占的比例。FIB-4 指数在各级别组间比例分布差异有统计学意义( $\chi^2=8.190, P=0.042$ )。

以 25(OH)D 水平四分位,对 F0~F1 级,F1~F3 级和 F3~F4 级患者所占比例进行组间两两比较。在 25(OH)D 水平 <P25 和 P25~P50 组中,F3~F4 级患者所占例数相比 F0~F1 级、F1~F3 级相应组中患者比例的差异有统计学意义( $P=0.020;0.027$ )。

表 3 25(OH)D 四分位分组比较 FIB-4 指数在各组间的比例差异[ $n(\%)$ ]

25(OH)D 四分位 (nmol/L)	FIB-4 分级			P 值	
	F0~F1( $n=44$ )	F1~F3( $n=38$ )	F3~F4( $n=79$ )	Kruskal-Wallisjy 检验	Mann-Whitney 检验
<33.14( $n=40$ )	8(18.19)	8(21.05)	24(30.38)	$(\chi^2=8.190)$	0.020
33.14~47.64( $n=41$ )	9(20.45)	9(23.68)	23(29.11)		0.027
47.64~61.84( $n=40$ )	13(29.54)	10(26.32)	17(21.52)		>0.05
>61.84( $n=40$ )	14(31.82)	11(28.95)	15(18.99)		>0.05

以 HCV RNA 载量四分位比较各组中 FIB-4 指数 F0~F1,F1~F3 和 F3~F4 级患者所占比例,FIB-4 指数在各组间患者例数分布差异无统计学意义( $\chi^2=1.874, P>0.05$ )。

3 讨论 丙型肝炎是由 HCV 感染引起的一种肝脏疾病,血源性传播是 HCV 病毒传染的主要途径。据流行病学分析,2015 年全球 HCV 的感染率约 2.8%,呈逐年上升趋势<sup>[16]</sup>。由于 HCV 的病毒特性,患者感染病毒病程少见自限性痊愈,多迁延性发展为慢性丙型肝炎,10~20 年之后发展为肝硬化、肝细胞肝癌<sup>[17]</sup>。研究发现 VitD 缺乏在慢性疾病中十分普遍,丙型肝炎患者中也有类似报道。同时,VitD 缺乏的程度和肝脏疾病进展密切相关。在 HCV 敏感的细胞株实验中已经证实 VitD 能够抑制病毒复制<sup>[7,8]</sup>。

本研究中丙型肝炎组的 25(OH)D 平均水平显著低于健康对照组,这可能和肝脏参与维生素 D 活化有关。VitD 在活化过程中,在肝脏细胞色素 P450 系统参与下完成 25 号位的羟化,转化成 25(OH)D,具备生理活性。P450 系统中 CYP2R1 和 CYP27A1 对 VitD 的代谢至关重要。有文献报道,慢性肝功能损伤会影响 CYP2R1 和 CYP27A1 表达,导致 25(OH)D 缺乏。同时,肝功能受损还会影响血清中血清 VitD 结合蛋白(DBP)水平。

DBP 在机体转运、利用和代谢 VitD 的过程中发挥着重要的生物学作用,体内 DBP 含量减低直接影响了 25(OH)D 的水平<sup>[18]</sup>,HCV 感染会引起皮肤中合成维生素 D3 的前体物质 7-脱氢胆固醇分泌减少,影响 VitD 的合成途径,引起 25(OH)D 缺乏<sup>[19,20]</sup>。在一项关于补充 VitD 对提高丙型肝炎干扰素治疗效果的研究中,Abu-Mouch 等<sup>[20]</sup>发现补充 VitD 可以明显提高抗病毒治疗的持续病毒学应答率。

在 HCV RNA 阳性组中,根据 25(OH)D 水平四分位组后,各组间 HCV RNA 病毒载量差异无统计学意义。这可能是由于本研究中检测的是总 25(OH)D 水平,包括了 VitD2 和 VitD3;而真正具备抗病毒能力的是 VitD2<sup>[7]</sup>。因此,总 25(OH)D 检测结果不能替代体内维生素 D2 的准确水平,这会影响结果分析。此外,HCV 病毒复制的特点和基因型别都会引起显著的个体间差异。HCV 病毒复制和疾病进程密切相关。HCV 急性感染期,HCV RNA 病毒载量水平可骤达  $1\times 10^5\sim 1\times 10^7$  IU/ml;进入慢性病程后,病毒载量则相对稳定<sup>[16]</sup>。丙型肝炎患者干扰素治疗效果和 HCV 基因型关系密切相关,I 型患者对于干扰素治疗不敏感<sup>[21]</sup>,HCV 会持续高水平复制。在后续研究中,我们将对患者进一步分组,考虑急性和慢性丙型肝炎患者

的病毒复制差异性;考虑不同 HCV 亚型对肝炎治疗的敏感性,进一步提高统计结果的准确性。

研究普遍报道 VitD 缺乏程度和肝纤维化程度密切相关,随着 VitD 缺乏程度的增加,将加速肝纤维化进程,本研究也获得了相似的结果。这可能是由于 VitD 缺乏会减少成纤维细胞转化生长因子-1(TGF-1)分泌,进而影响成纤维细胞和血管平滑肌细胞的增殖<sup>[22]</sup>。同时,VitD 能够促进基质金属蛋白酶(MMPs)的分泌。MMPs 能分解细胞外基质,减少胶原在肝脏中沉积,避免肝纤维化的作用<sup>[23]</sup>。当机体严重缺乏 VitD 时,MMPs 减少引起胶原沉积,最终导致肝纤维化。

课题设计中的不足之处在于,没有通过肝纤维化诊断和分级的“金标准”-肝组织活检对患者进行准确的评分,准确评价患者纤维化程度。我们选用了数个反映肝功能的血清学指标,通过公式计算 FIB-4 指数替代活检金标准,评价患者肝纤维化程度。根据文献报道,FIB-4 指数在评价肝纤维化程度时,其符合率和纤维化程度密切相关<sup>[24,25]</sup>,随着纤维化程度的加重,符合率由 94.7%(无明显纤维化或 2 级以下程度)下降至 82.1%(3~4 级或以上程度)。由于影响 25(OH)D 的检测因素较多,在后续实验中,我们还将通过累计大标本量和集中病例入组时间等方法减少对 25(OH)D 检测结果的影响。

#### 参考文献:

- [1] George J, Ganesh HK, Acharya SA, et al. Bone mineral density and disorders of mineral metabolism in chronic liver disease[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(28):3516-3522.
- [2] Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2007, 5(4): 513-520.
- [3] Duarte MP, Farias ML, Coelho HS, et al. Calcium-parathyroid hormone-vitamin D axis and metabolic bone disease in chronic viral liver disease[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2001, 16(9):1022-1027.
- [4] Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(9):2624-2628.
- [5] Malham M, Jorgensen SP, Ott P, et al. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(7):922-925.
- [6] Petta S, Camma C, Scazzone C, et al. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C[J]. Hepatology, 2010, 51(4): 1158-1167.
- [7] Yano M, Ikeda M, Abe KI, et al. Comprehensive analysis of the effects of ordinary nutrients on hepatitis C virus RNA replication in cell culture[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007, 51(6): 2016-2027.
- [8] 王旭, 张会英, 吴俊, 等. 血清 25-羟基维生素 D 与甲状旁腺激素及骨标志物关系的相关研究[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(5):36-39, 43.  
Wang X, Zhang HY, Wu J, et al. Relationship among serum 25 hydroxy vitamin D parathyroid hormone and bone markers[J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(5): 36-39, 43.
- [9] Gutierrez JA, Parikh N, Branch AD. Classical and emerging roles of vitamin D in hepatitis C virus infection[J]. Semin Liver Dis, 2011, 31(4):387-398.
- [10] Cholongitas E, Theocharidou E, Goulis J, et al. Review article: the extra-skeletal effects of vitamin D in chronic hepatitis C infection[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2012, 35(6):634-646.
- [11] Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L, et al. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention[J]. MMWR Recomm Rep, 2003, 52(RR-3):1-13, 15.
- [12] Shaheen AA, Wan AF, Myers RP. Fibro test and fibroscan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy[J]. Am J Gastroenterol, 2007, 102(11): 2589-2600.
- [13] Grigorescu M, Rusu M, Neculoiu D, et al. The Fibrotest value in discriminating between insignificant and significant fibrosis in chronic hepatitis C patients[J]. Journal Gastrointest Liver Dis, 2007, 16(1):31-37.
- [14] Holick MF, Binkle NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011, 96(7): 1911-1930.
- [15] Mansour MMHK, Alhadidi KM. Vitamin D deficiency in children living in Jeddah, Saudi Arabia[J]. Indian J Endocrinol Metab, 2012, 16(2):263-269.
- [16] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染学会. 丙型肝炎防治指南(2015 年更新版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(12):1961-1979.  
Chinese Society of Hepatology, CMA, Society of Infectious Diseases, CMA. Guidelines for the prevention and treatment of hepatitis C: 2015 update[J]. Chinese Journal of Clinical Hepatology, 2015, 31(12):1961-1979.

(上接 33 页)

- [17] Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message; the importance of vitamin D status in chronic liver disease[J]. *Journal of Hepatology*, 2012, 57(4): 897-909.
- [18] Clark PJ, Thompson AJ, Vock DM, et al. Hepatitis C virus selectively perturbs the distal cholesterol synthesis pathway in a genotype-specific manner[J]. *Hepatology*, 2012, 56(1): 49-56.
- [19] Masuda S, Okano T, Osawa K, et al. Concentrations of vitamin D-binding protein and vitamin D metabolites in plasma of patients with liver cirrhosis[J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 1989, 35(4): 225-234.
- [20] Nimer A, Mouch A. Vitamin D improves viral response in hepatitis C genotype 2~3 naive patients[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2012, 18(8): 800-805.
- [21] Bitetto D, Fattovich G, Fabris C, et al. Complementary role of vitamin D deficiency and the interleukin-28B rs12979860 C/T polymorphism in predicting antiviral response in chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*, 2011, 53(4): 1118-1126.
- [22] Ramirez AM, Wongtrakool G, Welch T, et al. Vitamin D inhibition of pro-fibrotic effects of transforming growth factor beta1 in lung fibroblasts and epithelial cells[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010, 118(3): 142-150.
- [23] Han YP. Matrix metalloproteinases, the pros and cons, in liver fibrosis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 21(Suppl 3): S88-S91.
- [24] 张宇锋, 时红, 陈禄彪, 等. FIB-4 指数对慢性乙型肝炎患者肝纤维化的诊断价值[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2010, 24(3): 215-217.  
Zhang YF, Shi H, Chen LB, et al. Value of FIB-4 for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis B[J]. *Chinese J Exp Clin Virol*, 2010, 24(3): 215-217.
- [25] Berenguer J, Zamora FX, Aldamiz-Echevarria T, et al. Comparison of the prognostic value of liver biopsy and FIB-4 index in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus[J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 60(6): 950-958.

修稿日期: 2016-07-22

修回日期: 2016-12-16