

肿瘤坏死因子- α 基因启动子区-308G/A 多态性与慢性乙型肝炎的关联性*

李晓阳¹, 胡春卉^{2a}, 唐文娟³, 袁 情⁴, 易显富^{2b} (1. 长沙市泰和医院检验科, 长沙 410000;
2. 湖北医药学院附属太和医院 a. 检验科; b. 急诊科, 湖北十堰 442000;
3. 十堰市妇幼保健院妇女保健科, 湖北十堰 442000;
4. 广州中医药大学第一附属医院检验科, 广州 510405)

摘要:目的 研究肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 基因启动子区-308 位点 G/A 多态性与慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的关联性。**方法** 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测 142 例慢性乙型肝炎患者(CHB 组)和 150 例健康者(HC 组)的 TNF- α 基因启动子区-308 位点基因型, 定量检测 ALT, AST, HBeAg, HBV-DNA, HBV-LP 和 HBV-PreS1, 并研究其与 TNF- α -308G/A 各基因型间的相关性。**结果** CHB 组与 HC 组比较, TNF- α 位点-308 位点各基因型及等位基因分布频率差异无统计学意义($P>0.05$), A 等位基因与 CHB 无统计学关联($OR=1.529$, $OR95\%CI: 0.872\sim2.684$); TNF- α 308G/A 多态性与 AST, ALT, HBV-LP 和 HBV-PreS1 阳性率无相关性($P>0.05$), 但与 HBeAg 和 HBV-DNA 阳性率存在统计学关联($P<0.05$), 且 A 等位基因可增加 HBeAg 和 HBV-DNA 阳性表达风险(HBeA: $OR=3.256$, $OR95\%CI$ 为 $1.105\sim9.594$; HBV-DNA: $OR=2.847$, $OR95\%CI$ 为 $1.059\sim7.655$); A 与 G 等位基因比较, CHB 组病毒载量在 $10^4\sim10^7$ 时差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** TNF- α 308G/A 多态性与 CHB 易感性无关, 但等位基因 A 与 HBV-DNA 病毒载量相关, 可增加 HBV 感染风险。

关键词: 肿瘤坏死因子- α ; -308G/A 多态性; 慢性乙型肝炎; HBV-DNA

中图分类号: R512.62; Q786 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2015)01-058-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.01.016

Correlation between the TNF- α Gene Promoter-308G/A Polymorphism and the Chronic Hepatitis B

LI Xiao-yang¹, HU Chun-hui^{2a}, TANG Wen-juan³, YUAN Qing⁴, YI Xian-fu^{2b}

(1. Department of Clinical Laboratory, Taihe Hospital in Changsha, Changsha 410000, China; 2a. Department of Clinical Laborator; 2b. Emergency Department, Affiliated Taihe Hospital of Hubei Medical University, Hubei Shiyan 442000, China;
3. Department of Women Health Care, Maternal and Child Health Hospital of Shiyan City, Hubei Shiyan 442000, China; 4. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Chinese Medicine University, Guangzhou 510405, China)

Abstract: Objective To investigate the association between the single nucleotide polymorphisms (SNP) in-308 loci of tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene promoter region and chronic hepatitis B (CHB). **Methods** Genotypes of -308 loci of the TNF- α promoter were examined by the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) in 142 patients with chronic hepatitis B (CHB group) and 150 healthy controls (HC group). The indexes for evaluating the curative effect were the ALT, AST, HBeAg, HBV-DNA and the viral load weight, HBV-LP and HBV-PreS1, meanwhile, the correlations between related indexes and SNP in TNF- α 308 loci were explored as well. **Results** There was no statistical significance in frequency distribution difference of the genotypes and alleles of -308 loci between CHC and HC groups ($P>0.05$), the protective factors of TNF- α 308 allele A may be not associated with CHB ($OR=1.529$, $OR95\%CI: 0.872\sim2.684$). There was no association between TNF- α gene promoter -308G/A polymorphism and the positive rates of AST, ALT, HBV-LP and HBV-PreS1 ($P>0.05$), however, TNF- α -308G/A polymorphism associates with the positive rates of HBeAg and HBV-DNA, and A-allele of 308 loci may increase the risk of HBeAg and HBV-DNA positive expression (HBeAg: $OR=3.256$, $OR95\%CI=1.105\sim9.594$; HBV-DNA: $OR=2.847$, $OR95\%CI=1.059\sim7.655$). Furthermore, A-

* 基金项目: 湖北教育厅资助课题(鄂教科 D20122404)。

作者简介: 李晓阳(1978—), 女, 医学硕士, 主管检验技师, 研究方向: 临床免疫与微生物学检验, Tel: 0731-88518888-2038, 18229706665, E-mail: sahalara2010@163.com。

通讯作者: 易显富, E-mail: taihexianhu@163.com。

allele compared with G-allele, statistically significant differences were observed in the certain HBV-DNA viral load range of 104~107 copies/ml ($P<0.05$). **Conclusion** TNF- α gene promoter-308G/A polymorphism would not be associated with CHB, but the TNF- α -308 gene G mutation of A-allele, which was associated with HBV-DNA viral load, may be the susceptible factors of HBV infection.

Keywords: tumor necrosis factor- α ; -308 gene polymorphism; hepatitis B virus; susceptibility

HBV-DNA 进入肝细胞后,可诱导肝组织变性、坏死、炎症等,可致免疫性肝损伤。慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是以免疫反应介导为主、宿主遗传因素和环境综合作用而致的慢性肝细胞损伤^[1,2]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)是机体炎症反应和免疫应答反应的主要调节因子,主要通过非细胞溶解性途径抑制和清除 HBV,其生物活性及基因多态性与 HBV 感染、慢性化及疾病严重程度密切相关^[3,4]。TNF- α 基因具有单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs),包括-1031 (T/C), -863 (C/A), -857 (C/T), -308 (G/A) 和-238 (G/A) 等^[3~5]。有研究表明 TNF- α -308G/A 多态性可影响 TNF- α 转录, A 等位基因的重组体转录水平显著高于含 G 等位基因重组体,且转录因子更易与 A 等位基因结合。亦有研究已证实,当-308 位点是 G 等位基因时,激活蛋白-2(activating protein-2, AP-2)可以识别该序列并与之结合而抑制 TNF- α 启动子的活性,但 TNF- α -238 位点由 G 变为 A 后,可致 AP-2 无法被 TNF- α -238 位点附近的转录因子识别和结合,最终影响 TNF- α 转录和表达^[3,6,7],因此 TNF- α -308G/A 多态性可能影响 TNF- α 的表达,进而对 HBV 感染后的临床转归等发挥作用。但目前国内外就 TNF- α -308G/A 多态性与慢性 HBV 感染相关性的研究至今尚未见报道。因此,本研究选取最具代表性的-308G/A 多态性进行分析,探讨 TNF- α 基因启动子区-308G/A 多态性与慢性乙型肝炎易感的相关性,为 HBV 患者的个性化治疗及预后判断提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 142 例汉族病例组成员均为 2010 年 5 月~2012 年 11 月门诊与住院的 CHB 患者,均符合《2010 年慢性乙型肝炎防治指南》诊断标准。病例入选标准为:①年龄 20~70 岁;②HBsAg 阳性至少 6 个月以上;③血清谷氨酸氨基转移酶(ALT)反复升高;④均接受过肝组织活检且病理学检测均符合 CHB 或根据临床症状、体征、化验及 B 超检查综合分析,亦可作出 CHB 诊断。同时排除下列情况:前 6 个月接受过系统抗病毒药物治疗;失代偿期肝病重叠 HAV, HCV, HEV, HIV 感染;脂肪肝、酒精性肝病、药物性肝病等;并发糖尿病、甲状腺功能亢进、精神病、自身免疫性肝炎、

溶血性贫血;妊娠哺乳妇女或进行过器官移植;酗酒吸毒史,家族有精神病史。另选 150 例体检正常的志愿者(汉族)为健康对照组(HC 组),无肝、肾、血液病、自身免疫性疾病和心脑血管病史,经检测排除甲、乙、丙、丁、戊型肝炎病毒和巨细胞病毒等感染。本研究经医院伦理学委员会批准,患者签署知情同意书。

1.2 实验方法

1.2.1 标本采集:清晨空腹真空采集研究对象肘静脉血 3 管(EDTA-K₂ 抗凝管),每管 2 ml,其中一管在 4℃ 保存,并在室温下 4 h 内完成肝功能检测。第 2 管在 4 h 内离心(3 000 r/min, 5 min),分离并分装血浆冻于-70℃ 低温冰箱,以备检测血浆 HBV-DNA 用;第 3 管用于分离提取外周血淋巴细胞以备提取基因组 DNA。同时由专人用统一调查表记录一般的人口学和流行病学资料。

1.2.2 基因组 DNA 提取:参照已建立的方法^[8]。取 EDTA-K₂ 抗凝血 200 μ l 与浓度 6 mol/L 碘化钠(NaI)按 1:1 混匀,加氯仿/异戊醇(24:1)400 μ l,混匀,在 15 000 r/min 条件下离心 15 min。吸取上清液 400 μ l,加入 240 μ l 纯异丙醇混匀,室温静置 15 min,15 000 r/min 条件下离心 1 min。小心弃上清液,沉淀物用 70 ml/dl 乙醇洗涤 3 次,室温干燥,加 TE (Tris/EDTA) 缓冲液 50 μ l 溶解 DNA, -20℃ 备用。

1.2.3 TNF- α 启动子区-308C/A 基因型检测:①引物设计参照文献^[9],由生工生物工程(上海)有限公司合成。上游引物:5'-GTA GGA GAA TGT CCA GGG C -3';下游引物:5'-TCT TTC ACT CCC TGG GGC -3'。②PCR 扩增及琼脂糖凝胶电泳:包含 1×PCR 缓冲液,200 nmol/L dNTP、上游引物、下游引物各 100 nmol/L, DNA 200 ng, Taq DNA 聚合酶 1 U,用蒸馏水补至 25 μ l。扩增程序:94℃ 预变性 5 min,然后按 94℃ 40 s, 58℃ 40 s, 72℃ 90 s, 共 35 个循环,最后 72℃ 延长至 5 min。PCR 结束后取 10 μ l 进行 2 g/dl 琼脂糖凝胶电泳(含 0.5 μ g/ml EB), 5 V/cm 电泳 40 min,在紫外灯下观察 PCR 扩增效果。③PCR 产物鉴定分型-酶切+琼脂糖凝胶电泳:酶切产物与 3 μ l 10×loading buffer 混匀,于 3 ml/dl 琼脂糖凝胶中电泳鉴定。以 D2000 作为 DNA 标记物,140 V 电泳 30 min,在紫外线下观察并记录。④选取部分标本

的PCR产物送上海英俊生物技术有限公司使用ABI 3730测序仪测序,得到测序图,以验证PCR-FLP的结果。

1.2.4 观察指标及检测方法:肝功能指标:包括丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(T-Bil)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、清蛋白(ALB)定量检测采用日立全自动生化分析仪及其配套试剂检测,具体步骤严格按试剂盒说明书操作。HBeAg检测在美国Abbott公司ARCHITECT i2000SR全自动分析仪上进行。HBV-DNA定量采用ABI 7500基因扩增仪,试剂由上海科华生物技术公司提供。HBV-LP,Pre-S1抗原采用ELISA双抗体夹心法检测。

1.3 统计学分析 采用SPSS 17.0软件包进行统计学分析,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料采用 t 检验,相关分析采用Spearman rank correlation test;计数资料采用 χ^2 检验,以哈迪温伯格(Hardy-Weinberg)遗传平衡定律检验确认研究样本的群体代表性,以OR及其OR95%CI表示患病风险;检验水准 $\alpha=0.05$,双侧, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CHB组与HC组一般人口学特征及肝功能相关指标分析比较 见表1。年龄、性别、家族史、酗酒以及吸烟等组间差异均无统计学意义($P>0.05$),两组均衡可比。CHB组ALT和AST均明显高于HC组,差异有统计学意义($P=0.000$),其

余指标两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

表1 两组人口基本情况及肝功能相关指标基线水平的比较($\bar{x} \pm s$)

项 目	CHB	HC	χ^2 或 t	P值
性别(男/女)	99/43	100/50	0.313	0.576
年龄	41.62 \pm 12.97	38.24 \pm 14.05	0.622	0.535
ALT(U/L)	72.71 \pm 16.64	31.07 \pm 10.25	37.062	0.000
AST(U/L)	65.82 \pm 9.56	29.06 \pm 7.43	54.449	0.000
T-Bil(μ mol/L)	17.16 \pm 3.24	14.97 \pm 2.76	1.091	0.276
GGT(U/L)	31.30 \pm 8.36	32.45 \pm 6.52	0.835	0.404
ALB(μ mol/L)	50.14 \pm 14.73	47.73 \pm 12.26	1.316	0.189
乙肝家族史 有	21	14	2.058	0.151
无	121	136		
酗酒 有	64	73	0.379	0.538
无	78	77		
吸烟 有	93	107	1.153	0.283
无	49	43		

2.2 基因型分布频率比较 见表2。研究对象TNF- α 基因-308G/A(rs1800629)位点基因型频率分布符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P>0.05$),说明具有群体代表性。CHB组TNF- α 基因-308位点基因型GG,GA及AA的频率分别为79.58%,18.31%和2.11%,G和A等位基因频率分别为88.73%,11.27%;HC组中TNF- α 基因-308位点GG,GA及AA基因型的频率分别为85.33%,14.00%和0.67%,等位基因G和A的频率分别为92.33%,7.67%,且差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表2 TNF- α 基因启动子-308G/A基因型频率分布比较[n(%)]

项 目	CHB	HC	χ^2	P	OR(OR95%CI)
基因型 GG	113(79.58)	128(85.33)	—	—	1
GA	26(18.31)	21(14.00)	1.120	0.290	1.402(0.748~2.629)
AA	3(2.11)	1(0.67)	0.375	0.541	3.398(0.349~33.133)
GA+AA	29(20.42)	22(14.67)	1.676	0.195	1.493(0.812~2.746)
等位基因 G	252(88.73)	277(92.33)	2.218	0.136	1.529(0.872~2.684)
A	32(11.27)	23(7.67)			

2.3 -308G/A多态性与AST,ALT,HBeAg检测相关性分析 CHB组ALT与AST的阳性率在各基因型及等位基因间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表3。GA+AA与GG基因型比较,HBeAg阳性率差异具有统计学显著性意义($P<0.05$),且GA+AA,GA基因型与HBeAg阳性率有统计学关联(GA:OR=6.324,OR95%CI为1.420~28.166;GA+AA:OR=4.568,OR95%CI为1.300~16.045)。HBeAg中等位基因G和A的阳性率分别为68.25%和87.5%,差异有统计学意义($P<0.05$),提示A等位基因可能增加

HBeAg阳性表达风险(OR=3.256,OR95%CI为1.105~9.594)。

2.4 -308G/A多态性与HBV-DNA和病毒载量以及HBV-LP,HBV-PreS1相关分析 HBV-DNA阳性组A等位基因、GA基因型和GA&AA基因型分布频率显著高于阴性组($P<0.05$),而-308G/A多态性与HBV-LP和HBV-PreS1阳性率差异均无统计学意义($P>0.05$),见表4,提示A等位基因可能与HBV-DNA阳性表达相关。HBV-DNA病毒载量在 $10^4 \sim 10^7$ 范围内时,等位基因A与G分布频率差异具有统计学意义($P<$

0.05);等位基因 A 与 G 相比,其 OR 值均大于 1, 且 OR95%CI 均不包含 1,见表 5。提示等位基因

表 3 TNF- α 基因启动子-308G/A 多态性与 AST,ALT,HBeAg 检测结果相关性分析

TNF- α 基因	ALT		OR (OR95%CI)	AST		OR (OR95%CI)	HBeAg		OR (OR95%CI)
	+	-		+	-		+	-	
GG	48	65	1	54	59	1	74	39	1
GA	12	14	1.161(0.493~2.733)	14	12	1.275(0.542~2.997)	24	2	6.324(1.420~28.166)
AA	1	2	0.677(0.060~7.685)	1	2	0.546(0.048~6.197)	2	1	1.054(0.093~11.992)
GA+AA	13	16	1.100(0.484~2.502)	15	14	1.171(0.517~2.649)	26	3	4.568(1.300~16.045)
G	108	144	1	122	130	1	172	80	1
A	14	18	1.037(0.494~2.177)	16	16	1.066(0.511~2.224)	28	4	3.256(1.105~9.594)

表 4 TNF- α 基因启动子-308G/A 多态性与 HBV-DNA,HBV-LP,HBV-PreS1 检测结果相关性分析

TNF- α 基因	HBV-DNA		OR (OR95%CI)	HBV-LP		OR (OR95%CI)	HBV-PreS1		OR (OR95%CI)
	+	-		+	-		+	-	
GG	71	42	1	72	41	1	60	53	1
GA	23	3	4.535(1.284~16.023)	20	6	1.898(0.706~5.106)	17	9	1.669(0.686~4.057)
AA	2	1	1.183(0.104~13.447)	2	1	1.139(0.100~12.948)	1	2	0.442(0.039~5.010)
GA+AA	25	4	3.697(1.204~11.358)	22	7	1.790(0.704~4.549)	18	11	1.445(0.626~3.335)
G	165	87	1	164	88	1	137	115	1
A	27	5	2.847(1.059~7.655)	24	8	1.610(0.694~3.733)	19	13	1.227(0.581~2.591)

表 5 TNF- α 基因启动子-308G/A 等位基因与 HBV-DNA 病毒载量相关性分析

病毒载量(copies/ml)	等位基因		HBV-DNA 对数病毒载量 ($\bar{x} \pm s$)	χ^2	P	OR(OR95%CI)
	G	A				
<500	6	0	0	—	—	1
500~10 ³	85	3	2.64 \pm 0.27			
10 ³ ~	50	6	3.35 \pm 0.41	2.314	0.128	3.640(0.873~15.183)
10 ⁴ ~	36	6	4.64 \pm 0.63	4.126	0.042	5.056(1.199~21.309)
10 ⁵ ~	32	8	5.39 \pm 0.56	8.408	0.004	7.583(1.895~30.346)
10 ⁶ ~	26	6	6.51 \pm 0.48	6.525	0.011	7.000(1.637~29.926)
>10 ⁷	17	3	7.83 \pm 0.035	2.548	0.110	5.353(0.996~28.779)

A 可能与 HBV-DNA 病毒载量相关。

3 讨论 TNF- α 基因启动子区 SNPs 可影响 TNF- α 转录调节 TNF- α 的表达,导致 HBV 感染和慢性化呈个体差异性^[10,11]。有相关研究发现 TNF- α 基因启动子区-308 位点 SNP 与 HBV、肝炎和肝硬化有相关性^[3~6],但目前未有相关研究报道-308 位点 SNP 与 CHB 的关联性,本研究结果显示-308G/A 多态性与 CHB 无相关性。ALT 与 AST 主要存在于肝细胞内,可反映肝脏正常功能损害情况。本研究结果显示 CHB 组 ALT 和 AST 含量均显著高于 HC 组,但 CHB 组 TNF- α -308G/A 位点 SNP 与 ALT,AST 阳性率无关联性。血清 HBV-LP 浓度可反映 HBeAg 阴性和低水平 HBV-DNA 乙肝患者体内 HBV 复制水平、肝细胞损伤程度、疾病进程、疗效与预后,对指导临床乙肝的治疗具有较高的应用价值^[12,13]。PreS1 具有较强免疫原性,HBV 的大量复制和繁殖可导致 PreS1 高表达,刺激机体产生较强的免疫应答,可作为 HBV 活动性复制的指标^[14]。HBeAg 可用来判定 HBV 传染性的强弱、复制程度以及慢性乙型肝炎患者的

预后等^[11]。本研究结果显示 TNF- α 基因启动子-308G/A 多态性与 HBV-LP,PreS1 阳性率亦无相关性,但 A 等位基因可能增加 HBeAg 阳性表达的风险。

HBeAg 与 HBV-DNA 均可反映 HBV 基因的复制水平,HBV-DNA 是 HBV 复制存在判断的最可靠指标^[15,16]。本研究结果显示-308G/A 多态性与 HBV-DNA 阳性表达呈相关性,且 A 等位基因与 HBV-DNA 病毒载量亦有关联性。相关研究证实 TNF- α 308 位点 A 等位基因携带者 TNF- α 全血中的表达水平比 G 等位基因纯合子高,适当水平的 TNF- α 可抑制 HBV 复制和清除 HBV 感染,但 TNF- α 水平失调或过量分泌,可导致肝脏炎症持续和加重,且 TNF- α 含量与肝脏炎症程度呈正相关^[3,6]。同时亦相关研究报道 TNF- α 基因启动子区-308 位点 G 被 A 替换后,TNF- α 转录效率可增加 7 倍^[17]。此外研究表明 TNF- α -308 位点一段长 10bp 的 DNA 片段是激活 AP-2 的识别序列,当-308 位点是 A 等位基因时,AP-2 无法识别该序列并与之结合,TNF- α 启动子的活性未被抑制,可

致 TNF- α 表达异常而诱导过强的免疫应答及炎症反应^[3,6],不能启动有效的免疫应答清除病原体,使肝细胞发生免疫病理,引起炎症、坏死和纤维化病变,甚至可进一步发展为肝硬化、重型肝炎和肝癌。

综上所述,TNF- α 基因启动子区-308G/A 多态性可能与 CHB 易感性不相关,但-308 位点的 A 等位基因可能是 HBV 感染的易感因素,但人体抗 HBV 效应涉及免疫反应过程中的诸多细胞因子,且本研究对环境因素和感染因素(如 EB 病毒、巨细胞病毒及微小 DNA 病毒感染等)的评价分析不全面,难以对基因-环境-感染交互作用作出准确判断,也无法评估基因-基因交互作用,因此还需多中心、大样本的观察性临床研究进一步验证其可靠性。

参考文献:

- [1] 李智彬,刘永明,苏何玲,等.免疫学应答与慢性乙型肝炎血清学转换的关系[J].中华临床医师杂志(电子版),2013,7(23):10990-10992.
Li ZB, Liu YM, Su HL, et al. The relationship between immune response and chronic hepatitis B sero-conversion[J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition), 2013, 7(23): 10990-10992.
- [2] 陈继梅,吕亮,丁雪芳.慢性乙型肝炎患者血清 HBVDNA 载量与肝功能指标关系研究[J].中华全科医学,2012,10(4):618-619.
Chen JM, Lu L, Ding XF. Association study of serum HBV DNA level and indicators of liver function in patients with chronic Hepatitis B[J]. Chinese Journal of General Practice, 2012, 10(4): 618-619.
- [3] 黎环,潘晨.肿瘤坏死因子 α 基因-308 位点多态性与乙型肝炎病毒慢性感染的关系[J].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2010,4(1):4-6.
Li H, Pan C. Association of polymorphism of tumor necrosis factor alpha gene promoter region-308 with outcomes of chronic hepatitis B virus infection[J]. Chin J Eep Clin Infect Dis(Electronic Edition), 2010, 4(1): 4-6.
- [4] 陈立,陈治新,潘晨,等.肿瘤坏死因子 α 基因多态性与慢性乙型肝炎病毒感染的相关性[J].中华肝脏病杂志,2006,14(8):630-631.
Chen L, Chen ZX, Pan C, et al. The relationship between tumor necrosis factor alpha gene polymorphism and chronic hepatitis B virus infection[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2006, 14(8): 630-631.
- [5] Zhang TC, Zhao YQ, Hu GL, et al. The relationship between tumour necrosis factor-alpha gene polymorphism and susceptibility and clearance of the persistent hepatitis B virus infection in a Chinese population: a meta-analysis[J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(3): 227-234.
- [6] 高海兵,潘晨,林明华,等.HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者肿瘤坏死因子 α 基因启动子区-238 和-308 位点基因多态性分析[J].实用肝脏病杂志,2010,13(4):258-259,268.
Gao HB, Pan C, Lin MH, et al. Polymorphisms of promoter at-238 and -308 of necrosis factor- α gene in patients with HBeAg positive chronic hepatitis B[J]. Journal of Clinical Hepatology, 2010, 13(4): 258-259, 268.
- [7] 石志平,吴同玉,刘瑶,等.乙型肝炎肝硬化湿热证与肿瘤坏死因子 α 基因多态性相关性研究[J].中华中医药杂志,2014,29(6):2004-2006.
Shi ZP, Wu TY, Liu Y, et al. Research on the association between hepatitis B liver cirrhosis of dampness-heat syndrome and tumor necrosis factor a gene polymorphism[J]. Chin J Trad Chin Med Phar, 2014, 29(6): 2004-2006.
- [8] 胡春卉,陈晋,杨锐,等.MxA 基因启动子区-88G/T,-123C/A 单核苷酸多态性与 HCV 易感性和 IFN- α 疗效评价研究[J].细胞与分子免疫学杂志,2012,28(12):1307-1310.
Hu CH, Chen J, Yang R, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in -88 and -123 loci of MxA gene promoter region and HCV susceptibility and IFN- α efficacy[J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2012, 28(12): 1307-1310.
- [9] Kao PC, Wu JF, Ni YH, et al. Tumour necrosis factor-alpha promoter region polymorphisms affect the course of spontaneous HBsAg clearance[J]. Liver Int, 2010, 30(10): 1448-1453.
- [10] 高海兵,潘晨.肿瘤坏死因子 α 与乙型肝炎病毒感染相关性的研究进展[J].中国肝脏病杂志(电子版),2010,2(3):45-50.
Gao HB, Pan C. Chinese Journal of liver Diseases(Electronic Version), 2010, 2(3): 45-50.
- [11] 宗禹希,陈萱,吕楠,等.TNF- α 与乙型病毒性肝炎宫内感染的相关性研究[J].中国优生与遗传杂志,2012,20(12):4-6.
- [12] 施前锋,王叶萍.HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者血清乙型肝炎病毒外膜大蛋白检测分析[J].中华实验和临床病毒学杂志,2009,23(2):135-137.
Shi QF, Wang YP. Detecting significance of HBV-LP in the HBeAg negative patients with chronic hepatitis B[J]. Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology, 2009, 23(2): 135-137.
- [13] 张砾.前 S1 抗原与乙型肝炎血清标志物检测的相关性及临床意义[J].中国医药指南,2012,10(12):528-529.
Zhang S. Guide of China Medicine, 2012, 10(12): 528-529.
- [14] Schieck A, Schulze A, Gahler C, et al. Hepatitis B virus hepatotropism is mediated by specific receptor recognition in the liver and not restricted to susceptible hosts[J]. Hepatology, 2013, 58(1): 43-53.
- [15] 王琰,徐春军,江涛.慢性病毒性肝炎肝功能指标辅助判断中医辨证分型浅析[J].中华中医药杂志,2013,28(4):970-972.
Wang Z, Xu CJ, Jiang T. A brief analysis of chronic viral hepatitis liver function inde guiding TCM syndrome differentiation[J]. China Journal of Traditional Chinese and Pharmacy, 2013, 28(4): 970-972.
- [16] Forbi JC, Ben-Ayed Y, Xia GL, et al. Disparate dis-

tribution of hepatitis B virus genotypes in four sub-Saharan African countries[J]. J Clin Virol, 2013, 58 (1): 59-66.

- [17] Gonzalez S, Rodrigo L, Martinez-Borra J, et al. TNF-alpha -308A promoter polymorphism is associated

with enhanced TNF-alpha production and inflammatory activity in Crohn's patients with fistulizing disease[J]. Am J Gastroenterol, 2003, 98 (5): 1101-1106.

收稿日期: 2014-09-29

修回日期: 2015-01-03

(上接 57 页)

3 讨论 临床检验的主要任务是对检测标本赋值, 所赋值的准确性和可靠性直接影响到疾病的诊断、治疗方案的确立以及疗效的观察^[3]。为保证对每个样本赋值的准确, 必须建立有效的实验室质量保证体系。室内质量控制和室间质量评价作为实验室质量保证体系的重要组分, 对于实验室的质量管理和持续改进有着重要意义^[4]。TE 和不确定度将这两个组分有效地结合起来, 用统一的标准进行分析, 方便了实验室工作人员和管理者对检测结果的质量进行把控。TE 作为一项经典的指标, 已经被国内检验界所广泛认可; 测量不确定度提供了在一定概率下真值所在的区间, 是对测量结果质量和水平的定量表征^[5], 对于不确定度是否应该用于医学实验室, 尽管 CNAS 建议确定检验结果的不确定度, 但世界学者对此却一直存有争论。

本研究比较了 9 个体液免疫项目的 TE 和测量不确定度, 发现各个项目的 TE 最高结果和测量不确定度结果差别不大, 具有较好的一致性; 仅从这一点考虑, 二者是可以互相取代的。进一步分析汇总结果, 发现 C4, CRP 和 IgE 的不确定度主要受不精密度影响, 导致不精密度较大的原因可能是: 校准品及试剂的瓶间差/批间差、仪器状态变化、人员操作变化等, 甚至实验室内环境温度、湿度等变化^[6]。ASO, RF 的不确定度主要受偏倚影响, 最好能重新定标或进行仪器的校准, 也可能由于试剂或校准品将过期等因素引起。而 IgG, IgA, IgM 和 C3 受不精密度和偏倚的影响相当, 应全面分析各个要素的影响。综上, 不确定度在实验室管理过程中, 便于分析各因素对不确定度的贡献量, 帮助找出影响检测结果的原因, 给使用者带来更多参考作用, 而且①当相同患者的多次检测结果有波动时可以通过不确定度评估检测值的变化幅度及是否存在本质差异; ②检测结果在医学决定水平附近, 通过不确定度有助于进一步了解其临床意义^[7~9]。

本研究在进行不确定度的评估和计算时仅引入了偏倚和不精密度两个变量, 但在实际操作过程中, 由于实验室内部不可控因素较多, 医学检验行业的不确定度受到多种因素的制约。如偏倚和不精密度都不能反应分析前因素对检测结果的影响,

所以本方法尚存在一定的缺陷。

参考文献:

- [1] ISO. Guide to the expression of uncertainty in measurement[S]. Geneva: International Organization for Standardization Corrected and Reprinted, 1995.
- [2] Magnusson B, Naykki T, Hovind H, et al. Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories(edition 2)[R]. Finland: Nordtest, 2004.
- [3] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 412-432.
Wang ZG. Clinical examination quality control[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 412-432.
- [4] 刘文彬, 居 漪. 常规化学项目总误差和不确定度比较研究[J]. 检验医学, 2012, 27(12): 1002-1006.
Liu WB, Ju Y. Comparison research between total error and uncertainty in routine clinical chemistry items[J]. Laboratory Medicine, 2012, 27(12): 1002-1006.
- [5] 吴 斌, 李一松, 贺 勇, 等. 25 项临床生物化学指标测量不确定度的评估[J]. 临床检验杂志, 2012, 30 (5): 378-379.
Wu B, Li YS, He Y, et al. Assessment of the measurement uncertainty in 25 clinical biochemistry items[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2012, 30(5): 378-379.
- [6] 梁敏文, 郑有为, 邸玉玮, 等. 临床化学定量项目测量的不确定度评估分量的分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(11): 2678-2681.
Liang MW, Zheng YW, Di YW, et al. Uncertainty evaluation of quantitative clinical biochemistry analysis[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2012, 22(11): 2678-2681.
- [7] 张 莹, 周铁成, 岳乔红, 等. 探讨测量不确定度在临床生化检验中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(5): 92-94.
Zhang Y, Zhou TC, Yue QH, et al. Study on the application on measurement uncertainty of clinical biochemistry[J]. J Mod Lab Med, 2012, 27(5): 92-94.
- [8] 朱红梅, 吴美辉, 罗 丹, 等. 临床生化检验测量不确定度的评估[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(8): 922-923.
Zhu HM, Wu MH, Luo D, et al. Evaluation of measurement uncertainty in clinical biochemical detection[J]. Lab Med Clin, 2012, 9(8): 922-923.
- [9] National Pathology Accreditation Advisory Council (NPAAC). Requirements for the estimation of measurement uncertainty[S]. Canberra: Commonwealth of Australia, Australian Government Department, 2007.

收稿日期: 2014-08-03

修回日期: 2014-09-15