

# 肝组织炎症与纤维化预测抗HBV疗效比较与探讨

廖雪姣<sup>1,2</sup>, 何清<sup>2</sup>, 杨大国<sup>2</sup>, 唐情容<sup>2</sup>, 敖飞健<sup>2</sup>, 赖长祥<sup>2</sup>, 李知玉<sup>2</sup>, 唐奇远<sup>2</sup> (1.湖北中医药大学 中医临床学院, 武汉 416000; 2.深圳市第三人民医院 肝病科, 广东 深圳 518112)

**摘要:** 目的 评估并比较CHB患者肝组织炎症及纤维化等级, 预测抗病毒疗效的能力。方法 将ALT  $\geq$  4倍正常上限 (ULN) 和 (或) HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml设定为具备预测抗HBV有效的能力指标, 纳入365例资料完整的CHB患者, 根据患者肝组织炎症及纤维化程度不同分为四组, I组 (炎症 $<$  G<sub>2</sub>, 纤维化 $<$  S<sub>2</sub>), II组 (炎症 $\geq$  G<sub>2</sub>, 纤维化 $<$  S<sub>2</sub>), III组 (炎症 $<$  G<sub>2</sub>, 纤维化 $\geq$  S<sub>2</sub>), IV组 (炎症 $\geq$  G<sub>2</sub>, 纤维化 $\geq$  S<sub>2</sub>), 统计各组与ALT、HBV DNA两个指标的相关性。**结果** 365例患者根据不同肝组织炎症及纤维化程度分为I组 (167例)、II组 (48例)、III组 (107例)、IV组 (43例), 4组ALT  $\geq$  4 ULN例数分别为18、7、11、17例; 4组HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml例数分别为38、8、54、17例; 4组满足ALT  $\geq$  4 ULN和 (或) HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml的比例分别为31.7%、22.9%、57.0%、65.1%。经 $\chi^2$ 检验, I组与II组、III组与IV组差异均无统计学意义, 其余各组间差异均有统计学意义 ( $P$ 均 $<$  0.001)。**结论** CHB肝组织显著纤维化指标比肝组织炎症指标具备更突出的预测抗病毒疗效能力。

**关键词:** 肝炎, 乙型, 慢性; 免疫; 病理学

## Study of different pathological changes of liver tissue to predict the efficacy of anti-hepatitis B virus

LIAO Xue-jiao<sup>1,2</sup>, HE Qing<sup>2</sup>, YANG Da-guo<sup>2</sup>, TANG Qing-rong<sup>2</sup>, AO Fei-jian<sup>2</sup>, LAI Chang-xiang<sup>2</sup>, LI Zhi-yu<sup>2</sup>, TANG Qi-yuan<sup>2</sup> (1.Traditional Chinese Medicine, School of Hubei University of Traditional Chinese Medicine, WuHan 416000, China; 2.The Third People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518112, China)

**Abstract: Objective** To evaluate and compare the level of liver inflammation and fibrosis in patients with chronic hepatitis B (CHB), and its ability of predicting antiviral efficacy. **Methods** We select ALT  $\geq$  4 ULN and HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub> copies/ml as the indicators to predict effective anti-hepatitis B virus. There are 365 patients were recruited in the study, according to different damage of liver inflammation and fibrosis, patients were divided into four groups: group I (the grade of inflammation  $<$  G<sub>2</sub> and the stage of fibrosis  $<$  S<sub>2</sub>), group II (the grade of inflammation  $\geq$  G<sub>2</sub> and the stage of fibrosis  $<$  S<sub>2</sub>), group III (the grade of inflammation  $<$  G<sub>2</sub> and the stage of fibrosis  $\geq$  S<sub>2</sub>), group IV (the grade of inflammation  $\geq$  G<sub>2</sub> and the stage of fibrosis  $\geq$  S<sub>2</sub>), statistics the correlation of each group with the two ability index (ALT  $\geq$  4 ULN and HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub> copies/ml). **Results** There were 365 patients divided into group I (167 cases), group II (107 cases), group III (48 cases) and groups IV (43 cases). The group I have 18 cases with ALT  $\geq$  4 ULN, group II of 7 patients, group III of 11 patients, and 17 patients were included in group IV. There were 38 patients with HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub> copies/ml in group I, group II of 8 patients, group III of 54 patients, and 17 patients were included in group IV. The percentage of comply ALT  $\geq$  4 ULN and/or HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub> copies/ml in four groups were 31.7%, 22.9%, 57.0% and 65.1%. There were no statistical difference in group I and group II, group III and group IV by chi-square test, significant differences were observed among any remainder two groups (all  $P <$  0.001). **Conclusions** The predictive ability of significant liver

fibrosis is relatively more prominent than active liver inflammation.

**Key words:** Hepatitis B; Chronic; Immune; Pathology

慢性HBV感染免疫清除期常伴随肝组织不同程度的炎性反应及纤维化进展<sup>[1,2]</sup>，《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[3]</sup>建议肝组织炎症 $\geq G_2$ 或纤维化 $\geq S_2$ 作为抗病毒治疗干预时机，而干预效果与肝组织病变程度密切相关。由于相关前瞻性研究较难实施等原因，目前鲜有文献系统评估肝组织病变程度与抗病毒疗效相关性研究，也缺乏有关肝组织炎症与纤维化预测抗病毒能力的比较。本文根据前期研究结论以及《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[3]</sup>有关原则设定血清学基线ALT  $\geq 4$ 倍正常上限(upper limit of normal, ULN)和(或)HBV DNA  $\leq 6.55 \log_{10}$ 拷贝/ml为抗病毒治疗可能有效的能力参数，通过365例慢性HBV感染免疫清除期患者的资料的统计，分析不同的肝组织炎症与纤维化分级与血清学有关能力参数指标的相关性，评估各种肝组织病理组合预测抗HBV的能力，现报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择2000年1月至2013年1月广东医学院附属深圳市第三人民医院确诊为慢性乙型病毒性肝炎并行肝组织活检的患者365例，记录患者的临床和肝组织病理资料，诊断依据《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[3]</sup>所描述的免疫清除期的血清学标准，统计和分析患者肝组织炎症与纤维化变化特点。

**1.2 剔除标准** ①重叠其他嗜肝病毒感染(如甲型、丙型、丁型、戊型、己型、庚型病毒)和(或)HIV感染；②合并其他慢性肝病病史(如肝豆状核变性、药物性肝炎、酒精性肝病、脂肪肝等)；③HCC；④临床资料不全；⑤1年内服用抗病毒药物超过3个月，肝组织活检前半年内有服用降酶药物；⑥合并肝外纤维化相关的疾病。

**1.3 血清学检查方法及标准** 肝组织活检前1~2周内检测血清ALT、HBV-M及HBV DNA定量等指标。血清ALT检测采用速率法，仪器使用Beckman 生化自动分析仪，ALT正常值为 $\leq 40$  U/L；乙型肝炎免疫学标志的检测采用爱康全自动酶免仪ae-150

或雅培AxSYM免疫分析仪；HBV DNA的定量检测采用ABI7500 荧光定量PCR仪，试剂盒由深圳匹基(PG)公司提供，HBV DNA最低检测限为 $< 500$ 拷贝/ml。

**1.4 病理资料获取方法和评估** 所有患者肝组织活检前检查血常规和凝血四项，合格者在彩色多普勒超声下定位，用18G一次性穿刺活检枪进行1秒钟肝穿刺，穿刺出的肝组织长度至少为12~15 mm，包含6个以上完整汇管区肝组织。

**1.5 病理检查方法及标准** 肝组织活检获得的肝组织立即用10%中性甲醛溶液固定，石蜡包埋切片，常规苏木精-伊红染色及嗜银染色。根据2000年中华医学会病毒性肝炎防治方案组织病理学诊断标准<sup>[4]</sup>将肝组织炎症活动度分为 $G_0 \sim G_4$ ，纤维化程度分为 $S_0 \sim S_4$ 。

所有肝组织标本都由独立的两位病理科医生单独阅片得出结论。如果两位医生得出的结论不同时，则两位医生再次阅片，经讨论得出一致的结论，或由第三位病理科医生帮助作出最终判断。

**1.6 预测抗病毒有效的能力参数以及判断标准的设定**

**1.6.1 选择基线血清学预测抗病毒有效的指标** 根据《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[3]</sup>有关原则及众多临床研究<sup>[4-6]</sup>结果，规定治疗基线时高血清ALT水平及低HBV DNA载量是预测抗病毒治疗有效的标准，但各报道<sup>[7,8]</sup>中两者具体数值差异有统计学意义，因此本研究选择的标准是根据课题组前期研究结论<sup>[9]</sup>设定：A为ALT  $\geq 4$  ULN、B为HBV DNA  $\leq 6.55 \log_{10}$ 拷贝/ml作为预测有效的能力参数。

**1.6.2 预测抗病毒疗效能力参数** 同时满足上述两项(A和B)为强效，仅满足1项(A或B)为有效，1项均未满足(NA和NB)为疗效不佳。

**1.6.3 预测抗病毒能力强弱判断** 将统计学结果显示有差异组别按照符合率大小比较排序，以此判断各组预测抗病毒能力的强弱。

**1.7 统计学处理** 应用SPSS 17.0软件进行统计学分析，计数资料采用例数(百分比)表示，样本率和构成比

的比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 患者一般资料情况 365例入组患者包括男性285例(78.1%), 女性80例(21.9%), 年龄17~65岁。365例患者中, ALT  $\leq$  4 ULN患者312例, ALT  $\geq$  4 ULN患者53例; HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml患者117例, HBV DNA  $\geq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml患者248例。根据肝组织纤维化程度分组: 纤维化 < S<sub>2</sub>患者215例, 纤维化  $\geq$  S<sub>2</sub>患者150例; 肝组织炎症 < G<sub>2</sub>患者274例,  $\geq$  G<sub>2</sub>患者91例, 见表1。

表 1 365例患者的基本资料

基本资料	例数	构成比 (%)
性别		
男	285	78.1
女	80	21.9
年龄		
$\leq$ 30岁	163	44.7
31~39岁	131	35.9
$\geq$ 40岁	71	19.5
ALT		
< 4 ULN	312	85.5
$\geq$ 4 ULN	53	14.5
HBV DNA		
< 6.55 log <sub>10</sub> 拷贝/ml	117	32.1
$\geq$ 6.55 log <sub>10</sub> 拷贝/ml	248	67.9
肝组织炎症		
< G <sub>2</sub>	274	75.1
$\geq$ G <sub>2</sub>	91	24.9
肝组织纤维化		
< S <sub>2</sub>	215	58.9
$\geq$ S <sub>2</sub>	150	41.1
不同组合		
I组(炎症 < G <sub>2</sub> 且纤维化 < S <sub>2</sub> )	167	45.8
II组(炎症 $\geq$ G <sub>2</sub> 且纤维化 < S <sub>2</sub> )	107	29.3
III组(炎症 < G <sub>2</sub> 且纤维化 $\geq$ S <sub>2</sub> )	48	13.2
IV组(炎症 $\geq$ G <sub>2</sub> 且纤维化 $\geq$ S <sub>2</sub> )	43	11.9

2.2 各组患者肝组织炎症及纤维化与ALT  $\geq$  4 ULN和(或)HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml相关性 根据不同炎症及纤维化程度分为I组(炎症 < G<sub>2</sub>且纤维化 < S<sub>2</sub>)167例, II组(炎症  $\geq$  G<sub>2</sub>且纤维化 < S<sub>2</sub>)107例, III组(炎症 < G<sub>2</sub>且纤维化  $\geq$  S<sub>2</sub>)48例, IV组(炎症  $\geq$  G<sub>2</sub>且纤维化  $\geq$  S<sub>2</sub>)43例。两个基线参数分别为A(ALT  $\geq$  4 ULN)和B(HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml)。I、II、III、IV组中, 符

合A参数的分别为18、7、11、17例, 符合B参数例数分别为38、8、54、17例, 同时符合A、B参数的例数分别为3、4、4、6例, 见表2。

表 2 不同程度肝组织炎症及纤维化与ALT  $\geq$  4 ULN及HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml相关性[例 (%) ]

	A	B	A和B
I组	18 (10.8)	38 (22.8)	3 (1.8)
II组	7 (14.6)	8 (16.7)	4 (8.3)
III组	11 (10.3)	54 (50.5)	4 (3.7)
IV组	17 (39.5)	17 (39.5)	6 (14.0)

注: A为ALT  $\geq$  4 ULN; B为HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml

2.3 各组患者肝组织炎症及纤维化与抗HBV病毒的预测能力 各组患者的基线条件符合参数A或B中任意一项, 可以定义为具备预测抗病毒有效的能力, 根据符合率及统计结果对各组预测能力进行排序。肝组织炎症及纤维化预测抗HBV能力排序: IV组(炎症  $\geq$  G<sub>2</sub>且纤维化  $\geq$  S<sub>2</sub>) = III组(炎症 < G<sub>2</sub>且纤维化  $\geq$  S<sub>2</sub>) > II组(炎症  $\geq$  G<sub>2</sub>且纤维化 < S<sub>2</sub>) = I组(炎症 < G<sub>2</sub>且纤维化 < S<sub>2</sub>), 见表3。

表 3 免疫清除期不同程度肝组织炎症及纤维化评估抗病毒能力

	A或B[例 (%) ]	NA和NB[例 (%) ]	预测能力
I组	53 (31.7) <sup>abc</sup>	114 (68.3)	弱
II组	11 (22.9) <sup>de</sup>	37 (77.1)	弱
III组	61 (57.0) <sup>f</sup>	49 (43.0)	强
IV组	28 (65.1)	15 (34.9)	强

注: A或B: 符合ALT  $\geq$  4 ULN或HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml; NA和NB: 既不符合ALT  $\geq$  4 ULN也不符合HBV DNA  $\leq$  6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml。<sup>a</sup>与II组比较,  $P = 0.239$ 。与III组比较,  $\chi^2 = 17.145$ ,  $^bP < 0.001$ ;  $^d\chi^2 = 15.064$ ,  $^dP < 0.001$ ;  $^e\chi^2 = 16.493$ ,  $^eP < 0.001$ 。与IV组比较,  $^f\chi^2 = 16.080$ ;  $^fP = 0.330$

## 3 讨论

《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[3]</sup>建议肝组织炎症坏死  $\geq$  G<sub>2</sub>或纤维化  $\geq$  S<sub>2</sub>的患者应积极给予抗病毒治疗<sup>[3]</sup>。研究表明, CHB肝脏病理状况与抗病毒干预效果密切相关, 如胡瑞敏等<sup>[10]</sup>发现肝脏病理与机体抗病毒免疫应答和清除HBV能力有关。同样, 唐奇远等<sup>[11]</sup>提出42例干扰素治疗的患者发现肝组织炎症  $\geq$  G<sub>2</sub>以及纤维化  $\geq$  S<sub>2</sub>的疗效较佳。然而, 肝脏病理存在较为复杂的组织炎症以及纤维化状态。本研究结果显示, 365例免疫清除期患者存在不同程度的肝组织病理损害, 炎症 < G<sub>2</sub>且纤

纤维化 $< S_2$ 组占45.8%，炎症 $\geq G_2$ 且纤维化 $< S_2$ 组占29.3%，炎症 $< G_2$ 且纤维化 $\geq S_2$ 组占13.2%，炎症 $\geq G_2$ 且纤维化 $\geq S_2$ 组占11.9%。不同肝组织病理状态预测抗病毒效果的结果需要通过开展大样本的前瞻性研究获取，这往往由于肝组织活检术在临床上实施困难等因素有关，导致迄今尚鲜有评估单个或多个肝组织病变指标预测抗病毒疗效的系列报道。

血清学指标特别是ALT水平及HBV DNA载量预测抗病毒疗效的巨大进展使其作为评估指标成为可能，基线值为高ALT水平及低HBV DNA载量可较好预测抗病毒疗效<sup>[12,13]</sup>，这在临床上已经得到广泛应用，并被业界公认为有效的预测疗效参数。本课题组艾书玲等<sup>[9]</sup>通过对CHB免疫清除期分期研究发现其中期可能为抗病毒理想介入时机，而此期的ALT与HBV DNA分别为160 U/L、6.55 log<sub>10</sub>拷贝/ml。因此，本研究设定满足ALT  $\geq 4$  ULN或HBV DNA  $\leq 6.55$  log<sub>10</sub>拷贝/ml作为高ALT水平及低HBV DNA载量的临界值，并以此作为抗病毒疗效可能有效的预测参数。

通过对不同损害程度的炎症及纤维化组合进行分析，本研究发现肝组织病变最重的炎症 $\geq G_2$ 且纤维化 $\geq S_2$ 组符合ALT  $\geq 4$  ULN和（或）HBV DNA  $\leq 6.55$  log<sub>10</sub>拷贝/ml的比例最高，其符合率高达65.1%，提示肝组织显著纤维化及活跃的炎症组可能具备较好的预测抗病毒疗效能力，这与胡瑞敏等<sup>[10]</sup>、曹艳雪等<sup>[14]</sup>研究结论一致。然而，单纯纤维化 $\geq S_2$ （炎症 $< G_2$ ）患者符合ALT  $\geq 4$  ULN和（或）HBV DNA  $\leq 6.55$  log<sub>10</sub>拷贝/ml的比例也高达57%，与炎症 $\geq G_2$ 且纤维化 $\geq S_2$ 组相比，差异无统计学意义，提示有显著肝纤维化的患者，无论肝组织炎症活跃程度轻重，即可预测获得较好的抗病毒应答可能。这与某些学者的观点有所差异，如龙辉等<sup>[15]</sup>认为应更加重视肝组织炎症在预测抗病毒疗效中的价值。同时，本研究将单纯炎症坏死 $\geq G_2$ （纤维化 $< S_2$ ）与单纯纤维化 $\geq S_2$ （炎症 $< G_2$ ）的患者进行比较的结果显示，前者符合ALT  $\geq 4$  ULN和（或）HBV DNA  $\leq 6.55$  log<sub>10</sub>拷贝/ml的患者比例仅

为22.9%，后者符合率高达57.0%，差异有统计学意义（ $P < 0.001$ ），进一步阐释了肝纤维化在预测抗病毒疗效的优势。

综上所述，CHB患者肝组织存在不同的病理学改变，其病变程度与预测抗病毒能力密切相关，显著肝纤维化与活跃的肝组织炎症相比较在预测抗病毒疗效能力方面更为突出，应更加重视并进一步开展肝纤维化在CHB诊断以及治疗方面临床价值的研究。

#### 参考文献

- [1] Iloeje UH, Yang HI, Chen CJ. Natural history of chronic hepatitis B: what exactly has REVEAL revealed[J]. Liver Int, 2012, 32: 1333-1341.
- [2] Szpakowski JL, Tucker LY. Causes of death in patients with hepatitis B: a natural history cohort study in the United States[J]. Hepatology, 2013, 58: 21-30.
- [3] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2011, 3: 40-56.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8: 324-329.
- [5] 阮炳威, 陈荣策, 曾广忠, 等. 基线病毒载量对阿德福韦酯治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎疗效的影响[J]. 实用肝脏病杂志, 2013, 16: 235-237.
- [6] 徐严, 王江滨. 不同抗病毒方案与慢性乙肝疾病转归的关系及影响因素分析[D]. 博士学位论文, 2007, 6.
- [7] 陈新月, 于岩岩, 张文瑾, 等. 慢性乙型肝炎抗病毒治疗疗效及因素研究[N]. 首都医科大学学报, 2006, 27: 166-170.
- [8] 李振华, 解宝江, 张艳丽, 等. 高病毒载量HBV感染妇女孕晚期应用替比夫定抗病毒治疗疗效及安全性[J]. 中华实验与临床感染病杂志(电子版), 2012, 6: 558-561.
- [9] 艾书玲, 何清. 慢性HBV感染免疫清除期演变规律及其抗病毒治疗最佳时机的研究[D]. 硕士学位论文, 2014, 6.
- [10] 胡瑞敏, 彭霞, 黄艳, 等. 慢性HBV携带者肝组织病理和免疫组化与抗病毒疗效相关性研究[J]. 河北医药, 2007, 29: 316-317.
- [11] 唐奇远, 何清, 艾书玲, 等. 干扰素 $\alpha$ 治疗丙氨酸氨基转移酶轻度升高的HBeAg阳性慢性乙型肝炎的回顾性研究[J]. 中国病毒病杂志, 2013, 5: 213-218.
- [12] 刘永萍, 陈祖涛, 吴建成, 等. 高病毒载量的HBeAg阳性慢性乙型肝炎的抗病毒治疗[J]. 江苏医药, 2014, 40: 523-525.
- [13] 万里晖, 贾克东, 刘南田. 阿德福韦酯和拉米夫定治疗慢性乙型肝炎学应答的预测因素的研究[J]. 实用临床医学, 2008, 9: 27-28.
- [14] 曹艳雪, 吕丹, 卞丽, 等. 慢性乙肝的病理诊断与干扰素抗病毒疗效的关系初探[C]. 中华医学会第十二次全国病毒性肝炎及肝病学术会议论文汇编, 2005: 172.
- [15] 龙辉, 赖春颜, 梁敏锋, 等. 肝组织病理及肝内抗原表达与聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a抗乙肝病毒疗效关系的研究[J]. 热带医学杂志, 2011, 11: 1261-1263.

收稿日期: 2014-09-29