

慢性乙型肝炎患者HBV DNA载量与肝组织炎症及纤维化程度的相关性分析

汤磊, 郇玉峰, 叶珺, 邹桂舟 (安徽医科大学第二附属医院 肝病科, 合肥 230601)

摘要: 目的 研究慢性乙型肝炎(CHB)患者血清HBV DNA载量与肝组织炎症及纤维化程度间的相关性。方法 将169例CHB患者根据血清HBeAg分为HBeAg阳性组(110例)和HBeAg阴性组(59例), 回顾性分析血清HBV DNA载量与肝组织病理炎症分级、纤维化分期之间关系。结果 HBeAg阳性组与HBeAg阴性组血清HBV DNA载量分别为 $(6.9 \pm 1.3) \log_{10}$ 拷贝/ml和 $(4.7 \pm 1.8) \log_{10}$ 拷贝/ml, 两组比较差异有统计学意义($P = 0.024$)。HBeAg阳性组患者肝组织炎症活动度G₁组为9例、G₂组为80例、G₃₋₄组为21例, 其血清HBV DNA载量分别为 $(5.7 \pm 1.4) \log_{10}$ 拷贝/ml、 $(6.4 \pm 1.8) \log_{10}$ 拷贝/ml、 $(7.2 \pm 1.1) \log_{10}$ 拷贝/ml, 3组患者血清HBV DNA载量比较, 差异无统计学意义($P = 0.069$)。肝组织纤维化程度S₁组为28例、S₂组为50例、S₃₋₄组为32例, 其血清HBV DNA载量分别为 $(6.9 \pm 1.1) \log_{10}$ 拷贝/ml、 $(6.9 \pm 1.4) \log_{10}$ 拷贝/ml、 $(6.8 \pm 4.2) \log_{10}$ 拷贝/ml, 3组患者血清HBV DNA载量比较, 差异无统计学意义($P = 0.079$)。HBeAg阴性组患者肝组织炎症活动度G₁组为6例、G₂组为19例、G₃₋₄组为34例, 其血清HBV DNA载量分别为 $(2.2 \pm 1.9) \log_{10}$ 拷贝/ml、 $(4.9 \pm 1.5) \log_{10}$ 拷贝/ml、 $(5.4 \pm 1.8) \log_{10}$ 拷贝/ml, 3组患者血清HBV DNA载量比较, 差异有统计学意义($P = 0.014$)。肝组织纤维化程度S₁组为12例、S₂组为30例、S₃₋₄组为17例, 其血清HBV DNA载量分别为 $(2.6 \pm 4.1) \log_{10}$ 拷贝/ml、 $(5.3 \pm 1.3) \log_{10}$ 拷贝/ml、 $(5.6 \pm 1.7) \log_{10}$ 拷贝/ml, 3组血清HBV DNA载量比较, 差异有统计学意义($P = 0.026$)。结论 HBeAg阳性CHB患者血清HBV DNA载量与肝组织炎症及纤维化程度无显著相关。HBeAg阴性CHB患者血清HBV DNA载量较高者, 其肝组织炎症及纤维化程度较高。

关键词: 肝硬化; 肝炎, 乙型, 慢性; 肝炎e抗原, 乙型

Analysis on correlation between serum HBV DNA level and liver inflammation and fibrosis degrees in patients with chronic hepatitis B

TANG Lei, GAO Yu-feng, YE Jun, ZOU Gui-zhou (Department of Hepatopathy, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between serum HBV DNA level and liver tissue inflammation and fibrosis degrees in the patients with chronic hepatitis B (CHB). **Methods** The relationship between HBV DNA loads, liver histological inflammation grades and fibrosis stages of 169 cases was analyzed. **Results** The serum HBV DNA loads in HBeAg-positive group with inflammation grade G₁ group (9 cases), G₂ group (80 cases) and G₃₋₄ group (21 cases) were $(5.7 \pm 1.4) \log_{10}$ copies/ml, $(6.4 \pm 1.8) \log_{10}$ copies/ml and $(7.2 \pm 1.1) \log_{10}$ copies/ml, respectively. There was no significant differences among patients of three inflammation grades ($P = 0.069$). The serum HBV DNA loads in HBeAg-positive group with liver tissues fibrosis stages of S₁ group (28 cases), S₂ group (50 cases), S₃₋₄ group (32 cases) were $(6.9 \pm 1.1) \log_{10}$ copies/ml, $(6.8 \pm 4.2) \log_{10}$ copies/ml, $(6.9 \pm 1.4) \log_{10}$ copies/ml, respectively, with no significant differences ($P = 0.079$). The serum HBV DNA loads in HBeAg-negative group with inflammation grades G₁ group (6 cases), G₂ group (19

cases) and G_{3-4} group (34 cases) were $(2.2 \pm 1.9) \log_{10}$ copies/ml, $(4.9 \pm 1.5) \log_{10}$ copies/ml, $(5.4 \pm 1.8) \log_{10}$ copies/ml, respectively. There was significant differences among the three groups ($P = 0.014$). The serum HBV DNA loads in HBeAg-negative group with liver tissues fibrosis stages of S_1 group (12 cases), S_2 group (30 cases), S_{3-4} group (17 cases) were $(2.6 \pm 4.1) \log_{10}$ copies/ml, $(5.3 \pm 1.3) \log_{10}$ copies/ml, $(5.6 \pm 1.7) \log_{10}$ copies/ml, respectively, with no significant difference ($P = 0.026$). **Conclusions** The serum HBV DNA level was not significantly correlated with the inflammation grades and fibrosis stages of liver tissues in HBeAg-positive patients which display a positive correlation in HBeAg-negative patients.

Key words: Liver cirrhosis; Hepatitis B, chronic; Hepatitis B e antigen

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染后的一种常见临床类型。CHB患者病情进展以及预后与HBV DNA载量密切相关,而HBeAg、HBV DNA载量是病毒复制活动的最直接标志。为进一步探讨HBeAg、HBV DNA复制水平对CHB患者肝脏组织病理改变的影响,本研究随机选取CHB患者169例,分为HBeAg阴性和HBeAg阳性两组,分别从HBeAg水平、病毒载量和病理学指标进行研究,探讨其相互间内在联系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选择2011年1月至2012年10月本院肝病科住院行肝组织活检的CHB患者169例,依据《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》诊断标准^[1]分为HBeAg阳性组110例和HBeAg阴性组59例,同时排除合并甲型、丙型、戊型肝炎及长期嗜酒、特殊用药者。HBeAg阳性组包括男性75例,女性35例,年龄21~58岁,平均年龄(31.21 ± 11.41)岁,HBeAg阴性组包括慢性男性41例,女性18例,年龄28~47岁,平均年龄(29.10 ± 10.25)岁。所有患者均无抗病毒治疗史。收集患者住院期间血清HBV DNA载量、HBeAg表达水平与肝组织病理炎症纤维化诊断结果。

1.2 病理组织检查 肝组织活检采用1秒钟快速穿刺活检术,肝组织长度一般在1.5~2 cm。标本用4%甲醛溶液固定,酒精脱水,石蜡包埋,常规组织切片,苏木精-伊红(HE)及网状纤维染色,光学显微镜多视野观察,依据《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》诊断标准^[1]进行病理分级。

1.3 检测仪器及试剂 HBV DNA载量采用全自动荧光定量PCR检测仪测定,仪器为美国ABI公司

ABI5700型荧光定量PCR仪,试剂盒为广州达安基因股份有限公司荧光定量PCR试剂。HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe和抗-HBc检测应用上海科华生物HBV标志物检测试剂盒。标本的采集、运送、保存、操作过程及结果判定按照试剂的说明书进行。

1.4 统计学处理 采用SPSS 13.0 统计软件进行数据处理,正态分布资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。HBV DNA载量为指数资料,取对数后进行比较分析。通过One-Way ANOVA比较分析血清HBV DNA载量、HBeAg表达与肝组织病理炎症分级、纤维化分期之间的关系。

2 结果

2.1 CHB患者肝组织活检结果 169例CHB患者肝组织活检结果如下:根据炎症活动度分为 G_1 组15例、 G_2 组99例、 G_{3-4} 组55例;根据肝纤维化程度分为 S_1 组40例、 S_2 组80例、 S_{3-4} 组49例。

2.2 HBeAg表达水平与HBV DNA载量的关系 HBeAg阳性组CHB患者HBV DNA载量为 $(6.9 \pm 1.3) \log_{10}$ 拷贝/ml, HBeAg 阴性组CHB患者HBV DNA载量为 $(4.7 \pm 1.8) \log_{10}$ 拷贝/ml, HBeAg阳性组HBV DNA载量明显高于HBeAg阴性组,差异有统计学意义($P = 0.024$)。

2.3 HBeAg阳性CHB患者肝组织炎症分级、纤维化分期与HBV DNA载量的关系 HBeAg阳性组CHB患者根据肝组织炎症活动度分为 G_1 组9例、 G_2 组80例、 G_{3-4} 组21例,3组血清HBV DNA载量比较,差异无统计学意义($P = 0.069$);根据肝组织纤维化程度分为 S_1 组28例、 S_2 组50例、 S_{3-4} 组32例,3组血清HBV DNA载量比较,差异无统计学意义($P = 0.079$),见表1。

2.4 HBeAg阴性CHB患者肝组织炎症分级、纤维化

表1 110例HBeAg阳性CHB患者肝组织炎症分级、纤维化分期与HBV DNA载量的关系

	HBV DNA ($\bar{x} \pm s$, log ₁₀ 拷贝/ml)	<i>P</i>
肝组织炎症分级		
G ₁ 组 (n = 9)	5.7 ± 1.4	0.069
G ₂ 组 (n = 80)	6.4 ± 1.8	
G ₃₋₄ 组 (n = 21)	7.2 ± 1.1	
肝组织纤维化分级		
S ₁ 组 (n = 28)	6.9 ± 1.1	0.079
S ₂ 组 (n = 50)	6.9 ± 1.4	
S ₃₋₄ 组 (n = 32)	6.8 ± 4.2	

分期与HBV DNA载量的关系 HBeAg阴性组CHB患者根据肝组织炎症活动度分为G₁组6例、G₂组19例、G₃₋₄组34例, 3组血清HBV DNA载量比较, 差异有统计学意义 ($P = 0.014$); 根据肝组织纤维化程度分为S₁组12例、S₂组30例、S₃₋₄组17例, 3组血清HBV DNA载量比较, 差异有统计学意义 ($P = 0.026$), 见表2。

表2 59例HBeAg阴性CHB患者肝组织炎症分级、纤维化分期与HBV DNA载量的关系

	HBV DNA ($\bar{x} \pm s$, log ₁₀ 拷贝/ml)	P
肝组织炎症分级		
G ₁ 组 (n=6)	2.2 ± 1.9	0.014
G ₂ 组 (n=19)	4.9 ± 1.5	
G ₃₋₄ 组 (n=34)	5.4 ± 1.8	
肝组织纤维化分级		
S ₁ 组 (n=12)	2.6 ± 4.1	0.026
S ₂ 组 (n=30)	5.3 ± 1.3	
S ₃₋₄ 组 (n=17)	5.6 ± 1.7	

3 讨论

目前一致认为, 反映HBV复制最敏感的检测指标为HBeAg阳性和HBV DNA升高^[2,3]。当机体感染HBV后激发细胞免疫功能, 一般认为发生血清学HBeAg转换后, 炎症转为慢性, HBV复制相对下降, 其传染性也随之降低。本研究显示HBeAg阳性组HBV DNA载量显著高于HBeAg阴性组, 差异有统计学意义 ($P = 0.024$), 提示CHB患者血清HBeAg表达水平和病毒复制之间存在密切关系。有研究^[4]表明, HBeAg高水平表达可以在一定程度上反映病毒的活动复制, 与血清HBV DNA载量变化具有一致性。HBeAg是由HBV核心基因(前-C

区)编码的可溶性蛋白, 是反映病毒复制、传染、病情不稳定的重要指标。CHB患者发生HBeAg血清学转换是由HBV前-C区或核心区启动子变异不能产生HBeAg的HBV病毒株所致。常见的变异包括前-C区第1896位核苷酸G被A替换而出现终止密码子TAG, 导致蛋白翻译停止, HBeAg不能合成; HBV核心区启动子区域(BCP)在1762位和1764位的A-T和G-A突变, 影响前-C区mRNA转录, 减少HBeAg合成而表现为HBeAg阴性^[5-7]。故在乙型肝炎患者即使HBeAg水平很低, 并不代表HBV被清除或复制水平大大减低。正好相反, 正是由于HBV变异株的存在, 才会使得肝脏炎症仍持续、活跃的慢性发展。研究也表明^[8], HBeAg阴性乙型肝炎患者的临床特点、自然史、治疗及预后有别于HBeAg阳性乙型肝炎。

目前国内外对CHB患者血清HBV DNA水平与肝脏炎症及纤维化程度之间关系研究较多, 但尚未达成一致^[9,10]。不考虑HBeAg表达水平的高低, 简单的得出HBV DNA载量与肝脏损害的相关性均不科学。HBV血清标志物中, HBsAg为HBV的外膜蛋白, 由HBsAg、前-S1、前-S2 3个部分组成。HBV是一种嗜肝细胞病毒, 其感染肝细胞后首先侵入肝细胞, 在肝细胞内复制繁殖^[11]; CHB是一种免疫介导性疾病, 具体机制不详, 但已证实其并非直接损伤肝细胞, 主要通过肝细胞表面抗原引起宿主免疫应答, 进一步损害肝脏^[12]。作为一种免疫耐受因子的HBeAg在一定程度上能够阻断或降低细胞毒性T淋巴细胞的细胞毒作用, 导致机体处于一种免疫耐受状态, 即可解释HBV感染者体内HBeAg滴度很高, 其血清HBV DNA水平与肝脏损害程度并无相关性。本研究结果亦显示, HBeAg阳性患者肝脏病理分级与HBV DNA载量间无显著相关性, 进一步证实HBeAg阳性CHB患者肝脏损伤并非因病毒的直接复制, 而是患者在HBV感染后, 其机体产生一系列复杂免疫反应的结果。对于HBeAg阳性的CHB患者, 多考虑其为机体感染了HBV突变株能够逃避机体的免疫清除, 从而使感染持续存在, HBV一直持续高水平, 导致肝脏损害进行性加重。然而近

年来, HBeAg阴性CHB患者构成比有逐步上升的趋势, 其病毒载量虽不高, 但因水平不稳定, 最终导致病情逐渐加重且预后较差, 易进展为肝硬化甚至肝细胞癌^[13]。陈萍等^[14]通过对269例行肝组织活检的CHB患者研究结果也证实了这一点。

本研究发现, HBeAg阴性CHB患者肝脏炎症及纤维化程度与血清HBV DNA载量显著相关。林华等^[14]对83例CHB患者的研究结果亦提示, 在HBeAg阴性患者血清HBV DNA载量与肝脏病理分级也呈正相关, 即血清HBV DNA水平愈高, 肝组织损害程度愈重, 而HBeAg阳性CHB患者HBV DNA水平与肝组织损害无显著相关, 这一结果与本研究一致, 提示HBsAg较低的HBeAg阴性CHB患者有可能打破机体的免疫耐受, HBV仍可以复制, 导致肝硬化甚至癌变的发生, 故在临床中对于HBeAg阴性CHB患者, 只要其HBV DNA $> 10^4 \log_{10}$ 拷贝/ml均建议积极给予抗病毒治疗以减缓肝脏病变进展, 一定程度上能够降低肝硬化以及癌变的发生率。在临床工作中, 对于尚未达到抗病毒治疗指征的HBV感染者伴有肝功能轻度异常, 患者本身依从性较好、配合检查且医疗单位有成熟的肝组织活检技术的应积极开展肝组织活检, 了解肝脏病理情况, 因患者个人经济因素或就诊医院不具备肝组织活检技术的应密切监测其血清HBV DNA载量及肝功能, 综合患者病史, 制定合理治疗方案, 避免病情进一步发展。

参考文献

- [1] 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.

- [2] Kao JH. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2008, 2: 553-562.
- [3] Post A, Nagendran S. Reactivation of hepatitis B: pathogenesis and clinical implications[J]. Curr Infect Dis Rep, 2009, 11: 113-119.
- [4] 盛仪翠. 乙型肝炎患者血清前S1抗原与e抗原及HBV-DNA载量相关性的探讨[J]. 安徽医药, 2009, 13: 630-631.
- [5] Frelin L, Wahlstrom T, Tucher AE, et al. A mechanism to explain the selection of the hepatitis e-antigen-negative mutant during chronic hepatitis B virus infection[J]. J Virol, 2009, 83: 1379-1392.
- [6] Kramvis A, Arakawa K, Yu MC, et al. Relationship of serological subtype, basic core promoter and precore mutations to genotypes/subgenotypes of hepatitis B virus[J]. J Med Virol, 2008, 80: 27-46.
- [7] Harrison A, Lemey P, Hurler M, et al. Genomic analysis of hepatitis B virus reveals antigen state and genotype as sources of evolutionary rate variation[J]. Viruses, 2011, 3: 83-101.
- [8] Yuen MF, Ng IO, Fan ST, et al. Significance of HBV DNA levels in liver histology of HBeAg and anti-HBe positive patients with chronic hepatitis B[J]. Am J Gastroenterol, 2004, 99: 2032-2037.
- [9] Feld JJ, Wong DK, Heathcote EJ. Endpoints of therapy in chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2009, 49(5 Suppl): 96-102.
- [10] 洗永超, 徐茹, 杨景毅, 等. 慢性乙型肝炎患者血清HBV-DNA载量与肝组织病理的关系[J]. 中国临床医学, 2007, 14: 337-338.
- [11] 马艳春. 乙型肝炎患者前-S抗原与HBV DNA和HBV标志物的相关性探讨[J]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2012, 2: 27-29.
- [12] 严颖, 麦丽, 郑玉宝, 等. 慢性乙型肝炎患者血清HBV-DNA载量与肝组织病理改变的分析[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2012, 33: 487-489.
- [13] Ahmad N, Alam S, Mustafa G, et al. e-antigen-negative Chronic hepatitis B in Bangladesh[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2008, 7: 379-382.
- [14] 陈萍, 李旭, 苏菲, 等. HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者血清HBV DNA含量与ALT的关系[J]. 安徽医药, 2012, 16: 618-620.
- [15] 林华, 王珠凤, 雷军, 等. 慢性乙型肝炎血清HBV-DNA载量与肝组织病理的关系[J]. 福建医药杂志, 2012, 34: 76-78.

收稿日期: 2013-04-12

· 消息 ·

与本刊编辑部互动方式

尊敬的作者、尊敬的读者, 有关投稿、稿件查询、杂志订阅、地坛国际感染病学术会议消息、肝脏病和感染病诊疗指南等有关咨询或学术疑难问题, 您可以登陆本刊网站<http://www.j-ditan.com>、发送邮件至Email: editordt@163.com; 或拨打电话010-84322058/84322059与编辑部联系。

本刊编辑部