

# 637例慢性HBV感染者自然史 各期肝组织纤维化演变规律研究

廖雪姣<sup>1,2</sup>, 何清<sup>2</sup>, 杨大国<sup>2</sup>, 艾书玲<sup>2</sup>, 唐奇远<sup>2</sup>, 敖飞健<sup>2</sup>, 白冰<sup>2</sup>, 李知玉<sup>2</sup>, 赵连三<sup>3</sup> (1.湖北中医药大学2012级中医临床学院, 武汉 416000; 2.深圳市第三人民医院 肝病科, 广东 深圳 518112; 3.四川大学华西医院 感染科, 成都 610041)

**摘要:** 目的 研究慢性HBV感染者自然史各期中肝组织纤维化演变规律。方法 按照《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》描述的CHB自然史分期的血清学特征作为纳入标准, 将慢性HBV感染者分为免疫耐受期、免疫清除期、非活动或低(非)复制期以及再活动期, 统计和分析各组患者的性别、年龄、ALT水平、血清HBV DNA、肝组织炎症(G)的变化特点, 以及各组肝组织纤维化(S)的演变规律。结果 共637例患者, 其中男性501例(78.6%), 女性136例(21.4%)。免疫耐受期患者101例, 免疫清除期患者248例, 低(非)复制期患者119例, 再活动期患者169例。各期患者的相应肝组织炎症分级比较均有统计学意义, 其中免疫清除期和再活动期肝组织炎症较为活跃( $\chi^2 = 150.424$ ,  $P < 0.0001$ )。各期患者肝纤维化分期亦有统计学差异, 其纤维化程度呈渐次加重的趋势( $\chi^2 = 141.682$ ,  $P < 0.0001$ )。结论 慢性HBV感染者自然史表现为肝组织炎症反复活跃、肝组织纤维化程度进行性加重的过程。

**关键词:** 肝炎, 乙型, 慢性; 自然史; 肝纤维化; 演变规律

## Study on evolution rules of hepatic fibrosis in the natural history in 637 patients with chronic HBV infection

LIAO Xue-jiao<sup>1,2</sup>, HE Qing<sup>2</sup>, YANG Da-guo<sup>2</sup>, AI Shu-ling<sup>2</sup>, TANG Qi-yuan<sup>2</sup>, AO Fei-jian<sup>2</sup>, BAI Bing<sup>2</sup>, LI Zhi-yu<sup>2</sup>, ZHAO Lian-san<sup>3</sup> (1.Traditional Chinese Medicine Grade 2012, School of Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, 416000, China; 2.The Third People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518112, China; 3.Huaxi Affiliated Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**Abstract: Objective** To study the evolution rules of hepatic fibrosis in the different stages of the natural history of chronic HBV infection. **Methods** We collected patients of chronic HBV infection and divided them into four phases (the immune tolerant phase, the immune clearance phase, the low or non-replicative phase, the reactivation phase) by the standard of the Guidelines for Chronic Hepatitis B in China, version 2010. The evolution rules of ages, ALT levels, HBV DNA loads, liver tissue inflammation and hepatic fibrosis were analyzed. **Results** Total of 637 patients (501 males and 136 females) with chronic HBV infection in the natural history were recruited in this study. The 101 patients in immune tolerant phase, and 248 patients of the immune clearance phase were analyzed, 119 patients of the low or non-replicative phase were detected, 169 patients of the reactivation phase were included. The significant difference was determined in the liver tissue inflammation, especially the immune clearance phase and the reactivation phase were much active ( $\chi^2 = 150.424$ ,  $P < 0.0001$ ). The fibrosis stage among the four stages in the natural history of the HBV infection also had significant difference, and gradually increased ( $\chi^2 = 141.682$ ,  $P < 0.0001$ ). **Conclusions** The natural history of the chronic HBV infectious was a process that the liver fibrosis was progressive exacerbation, that the liver tissue inflammation was repeatedly active.

**Key words:** Hepatitis B, chronic; Natural history; Hepatic fibrosis; Evolution rules

我国《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[1]</sup>将慢性HBV感染的自然史分为4个期,即免疫耐受期、免疫清除期、非活动或低(非)复制期、再活动期,然而其对各个阶段病理学描述以及相应的循证依据尚需进一步完善。本研究通过637例慢性HBV感染者进行统计分析,探讨了慢性HBV感染的不同时期的肝纤维化演变过程,现将报告如下。

## 1 资料和方法

1.1 一般资料 收集广东医学院附属深圳市第三人民医院2000年1月至2011年1月确诊为慢性乙型病毒性肝炎并行肝组织活检患者的临床及病理资料,根据《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[1]</sup>所描述的自然史分期的血清学标准将上述患者分为免疫耐受期、免疫清除期、非活动或低(非)复制期、再活动期4期。统计并分析各期患者肝组织炎症、HBV DNA水平与纤维化变化特点。

### 1.2 入选标准

1.2.1 免疫耐受期入选标准 ①血清HBsAg阳性超过半年, HBeAg阳性; ②HBV DNA载量 $> 10^7$ 拷贝/ml; ③1年内至少3次血清ALT $\leq 40$  U/L。

1.2.2 免疫清除期入选标准: ①血清HBsAg阳性 $\geq 6$ 个月, 且HBeAg阳性; ②血清HBV DNA载量 $> 10^4$ 拷贝/ml; ③ALT $> 40$  U/L。

1.2.3 非活动或低(非)复制期入选标准 ①血清HBsAg阳性 $\geq 6$ 个月; ②HBeAg阴性, 抗-HBe阳性; ③HBV DNA $< 10^4$ 拷贝/ml; ④1年内至少3次血清ALT $\leq 40$  U/L。

1.2.4 再活动期入选标准 ①血清HBsAg阳性 $\geq 6$ 个月, HBeAg阴性, 抗-HBe阳性; ②HBV DNA载量 $> 500$ 拷贝/ml; ③ALT $> 40$  U/L。

1.3 排除标准 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(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 $> 3$ 个月, 行肝组织活检前6个月服用降酶药物。

1.4 血清学检查方法、标准及仪器 在肝组织活检前1~2周检测血清ALT、乙型肝炎病毒标志物及HBV

DNA载量。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ALT $\leq 40$  U/L; 乙型肝炎病毒标志物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检测下限为500拷贝/ml。

1.5 病理资料获取方法及评估 入组患者肝组织活检前检测血常规及血凝四项, 均无肝穿刺术禁忌。在彩色多普勒超声下定位, 用18G一次性穿刺活检枪进行1秒钟肝组织活检, 穿刺出的肝组织长度 $\geq 12$  mm且包含6个以上完整汇管区肝组织。

1.6 病理检查的方法和标准 上述方法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《病毒性肝炎防治方案(试行)》诊断标准<sup>[2]</sup>将肝组织炎症活动度分为G<sub>0</sub>~G<sub>4</sub>, 纤维化程度分为S<sub>0</sub>~S<sub>4</sub>。

肝组织标本均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。

1.7 统计学处理 应用SPSS 17.0软件进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 或中位数(范围)表示, 计数资料以人数(百分比)表示。正态性分布资料, 单因素组间均数比较采用方差分析。非正态性分布资料, 单因素组间均数比较采用Kruskal-Wallis法秩和检验, 其后任意两组间均数比较采用Mann-Whitney秩和检验。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

2.1 637例患者的一般资料 共有637例患者符合入选标准, 其中男性501例(78.6%), 女性136例(21.4%)。637例患者包括免疫耐受期患者101例、免疫清除期患者248例、低(非)复制期患者119例、再活动期患者169例。免疫耐受期患者年龄15~43岁, 平均年龄(30.1 $\pm$ 5.3)岁, 其中 $\geq 40$ 岁患者9例(8.9%), 平均ALT为(24.76 $\pm$ 8.3) U/L, 平均HBV DNA为(7.8 $\pm$ 0.44) log<sub>10</sub>拷贝/ml。免疫清

除期患者年龄17~62岁,平均年龄(31.7 ± 7.5)岁,其中≥ 40岁患者39例(15.7%),平均ALT为(121.04 ± 155.00) U/L,平均HBV DNA为(7.07 ± 1.04) log<sub>10</sub>拷贝/ml。低(非)复制期患者年龄21~63岁,平均年龄(35.7 ± 8.6)岁,其中≥ 40岁患者34例(28.6%),平均ALT为(26.39 ± 7.97) U/L,平均HBV DNA为(3.45 ± 0.31) 拷贝/ml。再活动期患者年龄21~64岁,平均年龄(37.0 ± 8.2)岁,其中≥ 40岁患者58例(34.3%),平均ALT为(117.36 ± 160.05) U/L,平均HBV DNA为(5.38 ± 1.37) log<sub>10</sub>拷贝/ml,见表1。

2.2 不同分期肝组织炎症程度的比较 将自然史不同分期的患者按肝组织炎症水平G分为4组,见表2,经 $\chi^2$ 检验,4组间总的肝组织炎症程度差异有统计学意义( $\chi^2=150.424$ ,  $P=0.000$ )。

对不同自然史分期的患者的肝组织炎症程度进行 $\chi^2$ 分割法(即Bonferroni法)比较,检验水准 $\alpha$ 调整为0.05/6(即0.008),免疫耐受期与免疫清除期、免疫耐受期与再活动期、免疫清除期与低(非)复制期、低(非)复制期与再活动期之间肝组织炎症程度不同( $\chi^2=74.221$ 、74.594、48.784、65.739,  $P$ 均= 0.000)。免疫耐受期与低(非)复制期、免疫清除期与再活动期之间肝组织炎症程度差异均无统计学意义( $P=0.01$ 、0.054)。

2.3 不同分期肝组织纤维化分期的比较 将自然史不同分期的患者按肝组织纤维化分期S分为4组,见表3,经 $\chi^2$ 检验,4组间总的肝组织纤维化分期差异有统计学意义( $\chi^2=141.682$ ,  $P=0.000$ )。

对不同自然史分期的患者的肝组织纤维化分期进行 $\chi^2$ 分割法(即Bonferroni法)比较,检验水准 $\alpha$ 调整为0.05/6(即0.008),免疫耐受期与免疫清除期、免疫耐受期与低(非)复制期、免疫耐受期与再活动期、免疫清除期与低(非)复制期、免疫清除期与再活动期之间的肝组织纤维化分期差异均有统计学意义( $\chi^2=47.859$ 、59.677、82.361、27.532、35.848,  $P$ 均= 0.000)。低(非)复制期与再活动期之间肝组织纤维化分期差异无统计学意义( $P=0.444$ )。

### 3 讨论

慢性HBV感染的自然过程可持续30~50年,根据病毒活动状态及宿主免疫状态的变化,慢性HBV感染分为免疫耐受期、免疫清除期、非活动或低(非)复制期和再活动期<sup>[3]</sup>,该4期是以血清学指标变化而划分,其中免疫清除期和再活动期的ALT及HBV DNA有着反复波动的特点,本研究的637例数据也证实了各期相对应的肝组织炎症程度呈现反复活跃的状态,见图1。

《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[1]</sup>认

表 1 637例不同年龄组患者的一般资料

分期	性别[例(%)]		年龄[例(%)]			ALT (U/L, $\bar{x} \pm s$ )	HBV DNA (log <sub>10</sub> 拷贝/ml, $\bar{x} \pm s$ )
	男	女	≤ 30岁	> 30岁且< 40岁	≥ 40岁		
免疫耐受期(n=101)	55 (54.5)	46 (45.5)	60 (59.4)	32 (31.7)	9 (8.9)	24.8 ± 8.3	7.8 ± 0.4
免疫清除期(n=248)	187 (75.4)	61 (25.6)	130 (52.4)	79 (31.9)	39 (15.7)	121.0 ± 155.0	7.1 ± 1.0
低(非)复制期(n=119)	102 (85.7)	17 (14.3)	38 (31.9)	47 (39.5)	34 (28.6)	26.4 ± 8.0	3.5 ± 0.3
再活动期(n=169)	157 (92.9)	12 (7.1)	40 (23.7)	71 (42.0)	58 (34.3)	117.4 ± 160.1	5.4 ± 1.4

表 2 自然史各阶段间肝组织炎症程度的比较[例(%)]

自然史分期	肝组织炎症分级			
	G <sub>0</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub> ~G <sub>4</sub>
免疫耐受期 <sup>abc</sup> (n=101)	29 (28.7)	66 (65.3)	4 (4.0)	2 (2.0)
免疫清除期 <sup>de</sup> (n=248)	5 (2.0)	160 (64.5)	70 (28.2)	13 (5.2)
低(非)复制期 <sup>f</sup> (n=119)	16 (13.4)	97 (81.5)	6 (5.0)	0 (0.0)
再活动期(n=169)	3 (1.8)	87 (51.5)	66 (39.1)	13 (7.7)

注: <sup>a</sup>与免疫清除期比较,  $\chi^2=74.221$ ,  $P<0.001$ 。与再活动期比较,  $\chi^2=74.594$ ,  $P<0.001$ ;  $\chi^2=65.739$ ,  $P<0.001$ ;  $P=0.054$ 。与低(非)复制期比较,  $P=0.01$ ;  $\chi^2=48.784$ ,  $P<0.001$ 。

表 3 自然史各阶段间肝组织纤维化分期的比较 [例（%）]

自然史分期	肝组织纤维化分期			
	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub> ~S <sub>4</sub>
免疫耐受期 <sup>abc</sup> (n = 101)	32 (31.7)	55 (54.5)	8 (7.9)	6 (5.9)
免疫清除期 <sup>de</sup> (n = 248)	15 (6.0)	141 (56.9)	54 (21.8)	38 (15.3)
低（非）复制期 <sup>f</sup> (n = 119)	7 (5.9)	38 (31.9)	30 (25.2)	44 (37.0)
再活动期 (n = 169)	6 (3.6)	51 (30.2)	56 (33.1)	56 (33.1)

注：<sup>a</sup>与免疫清除期比较， $\chi^2 = 47.859$ ， $P = 0.000$ 。与低（非）复制期比较， $\chi^2 = 59.677$ ， $P = 0.000$ ；<sup>d</sup> $\chi^2 = 27.532$ ， $P = 0.000$ 。与再活动期比较， $\chi^2 = 82.361$ ， $P = 0.000$ ；<sup>e</sup> $\chi^2 = 35.848$ ， $P = 0.000$ ；<sup>f</sup> $P = 0.444$

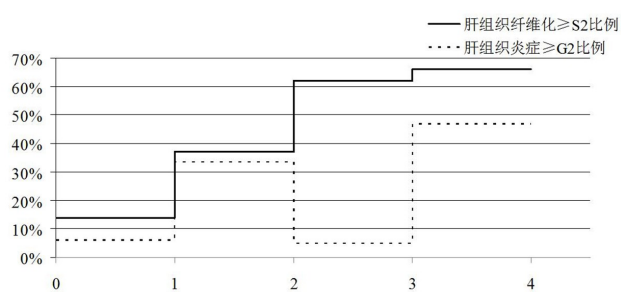


图 1 HBV感染自然史各阶段肝组织炎症及纤维化程度的演变  
注：1：免疫耐受期；2：免疫清除期；3：非活动或低（非）复制期；4：再活动期

为免疫耐受期肝组织学无明显异常并且可以维持数年甚至数十年，或轻度炎症、坏死、也无或缓慢肝纤维化进展。本文观察到处于该期的101例患者肝组织炎症较轻，G<sub>0</sub>~G<sub>1</sub>的患者达94%，同时处于该期患者的肝组织纤维化程度普遍较轻，其中S<sub>0</sub>~S<sub>1</sub>占86.2%（S<sub>0</sub>为31.7%，S<sub>1</sub>为54.5%，见表3），这与指南<sup>[1]</sup>观点一致。但需要引起重视的是，仍有少数处于免疫耐受期患者纤维化程度较重（≥ S<sub>2</sub>占13.8%），见表3、图1。这样的研究结论国内Wang等<sup>[4]</sup>、李嘉等<sup>[5]</sup>、黄珊等<sup>[6]</sup>均有有类似的报道。因此，尽管处于HBV感染的耐受期，其实已有约10%的患者出现了中-重度肝纤维化，对于此部分人群，通过肝组织活检来了解其肝纤维化病变程度显得尤为重要。

国内关于免疫清除期肝组织的特点文献报道较少。《慢性乙型肝炎防治指南（2010年版）》<sup>[1]</sup>指出本期患者“肝纤维化可快速进展，部分可发展为肝硬化或肝衰竭”，但尚缺乏相应的循证医学数据。本文纳入的248例免疫清除期患者数据显示肝组织纤维化分期超过S<sub>2</sub>者已占37.1%，见图1，其中S<sub>3</sub>~S<sub>4</sub>者占15.3%，与免疫耐受期相比已呈现明显

肝纤维化进展的趋势。艾书玲等<sup>[7]</sup>对本期患者按不同年龄（≤ 30岁、31~39岁、≥ 40岁）分层分析后得出：随着年龄增大，肝纤维化程度逐渐加重。因此，这个阶段是临床积极干预治疗的最佳时期，尤其是年龄≥ 40岁的患者，大多数的肝组织已发生中-重度纤维化，需要临床医生特别的关注。

低（非）复制期处于HBV感染自然史的中后期，《慢性乙型肝炎防治指南（2010年版）》<sup>[1]</sup>中有提到该期患者“肝组织学无炎症或仅有轻度炎症”，肝纤维化无相应的描述。国外一项研究<sup>[8]</sup>对335例该期患者肝组织进行系统回顾分析，其中来自欧洲国家的3项研究<sup>[9-11]</sup>认为显著的病理改变罕见并提倡无需肝活检及治疗。然而本文研究数据表明低（非）复制期中患者肝纤维化程度较重（≥ S<sub>2</sub>者占62.2%），见表3、图1，与国外研究结果明显不符。综合分析，可能血HBV的传播方式不同是这样差异的重要原因。国外HBV感染者多为青少年以及成年期感染，属于水平传播，病毒感染后很快进入免疫清除期，因HBV载量相对较低，病毒容易实现免疫清除，故肝组织纤维化程度相对较轻。而我国慢性HBV传播的重要模式特点是母婴传播，随着感染时间的推移，HBV与机体免疫状态的相互消长，反复的免疫清除引起肝组织病变持续进展，所导致的肝组织纤维化程度往往较重。因此《慢性乙型肝炎防治指南（2010年版）》<sup>[1]</sup>指出该期患者HBV感染虽已“获得免疫控制，仍有部分患者可能出现1次或数次的肝炎发作”的HBV再活跃期状态。但由于我国患者肝纤维化程度重，极易发生肝硬化或肝衰竭。

再活跃期发生于经过免疫活动期后的HBeAg



到抗-HBe血清转换后,为CHB的晚期阶段。国外有研究<sup>[12-14]</sup>称部分HBeAg阴性、ALT持续正常、血清HBV DNA低水平患者会发展为免疫激活状态,表现为持续或短暂的ALT升高以及高HBV DNA水平,即再活跃状态,但尚未提及肝纤维化的变化。

《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[1]</sup>中关于该期患者肝纤维化的描述中仅提到部分处于非活动期患者可能出现肝炎发作,从而进展为肝纤维化、肝硬化。本文表明处于再活跃期的肝组织纤维化 $\geq S_2$ 的为66.2%,较低(非)复制期有增长,提示再活跃期肝组织病变持续进展,这与国内外报道的数据相仿。Papatheodoridis等<sup>[15]</sup>研究数据表明本期50%的患者已有中至重度的炎症坏死和纤维化形成,25%~40%的患者已发展为肝硬化。

综上所述,随着机体免疫与HBV相互作用的延续,慢性HBV感染者表现为由免疫耐受期→免疫清除期→低(非)复制期→再活动期的自然演变过程。在这个过程中,肝组织炎症反复活跃,肝组织纤维化程度逐渐加重。然而,在免疫耐受期仍有约10%的患者存在中-重度肝纤维化;尤其是在免疫清除期,特别是年龄 $\geq 40$ 岁的患者,大多数肝组织已发生中-重度纤维化;在低(非)复制期,虽然HBV感染已获得免疫控制,其中肝脏组织已呈现明显肝纤维化的特点,仍需要密切监测肝功能、HBV DNA定量并动态观察病情变化;再活动期的患者肝组织纤维化程度最重,亟待有效的干预以阻止疾病进展。

#### 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] 病毒性肝炎病理组织学诊断标准——摘自《病毒性肝炎防治方案(试行)》[J].中华病理学杂志,1996,25:122-123.
- [3] LoK AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH. Management of hepatitis B: 2000-summary of a workshop[J]. Gastroenterology,2001,120:1828-1853.
- [4] Wang C, Deubner H, Shuhart M, et al. High prevalence of significant fibrosis in patients with immunotolerance to chronic hepatitis B infection[J]. Hepatology,2005,42(Suppl1):573A.
- [5] 李嘉,赵桂鸣,朱理珉,等.免疫耐受期和非活动复制期乙型肝炎病毒感染者的肝脏病理与临床特征[J].中华肝脏病杂志,2007,15:326-329.
- [6] 黄珊,何清,唐奇远,等.112例慢性HBV感染免疫耐受期患者肝组织病理学特点[J].中国肝脏病杂志(电子版),2011,3:16-21.
- [7] 艾书玲,何清,唐奇远,等.248例慢性乙型病毒性肝炎病毒感染免疫清除期演变规律的研究[J].中国病毒病杂志,2013,3:382-386.
- [8] Papatheodoridis GV, Manolakopoulos S, Liaw YF, et al. Follow-up and indications for liver biopsy in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection with persistently normal ALT: A systematic review[J]. J Hepatol,2012,57:196-202.
- [9] Hsu YS, Chien RN, Yeh CT, et al. Long-term outcome after spontaneous HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B[J]. J Hepatol,2002,35:1522-1527.
- [10] Martiot-Peignoux M, Boyer N, Colombat M, et al. Serum hepatitis B virus DNA levels and liver histology in inactive HBsAg carriers[J]. J Hepatol,2002,36:543-546.
- [11] Zacharakis G, Koskinas J, Kotsiou S, et al. The role of serial measurement of serum HBV DNA levels in patients with chronic HBeAg (—) hepatitis B infection: association with liver disease progression. A prospective cohort study[J]. J Hepatol,2008,49:884-891.
- [12] Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B-natural history and treatment[J]. Semin Liver Dis,2006,26:130-141.
- [13] Fattovich G. Natural history and prognosis of hepatitis B[J]. Semin Liver Dis,2003,23:47-58.
- [14] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B[J]. J Hepatol,2009,50:227-242.
- [15] Papatheodoridis GV, Dimou E, Dimakopoulos K, et al. Outcome of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B on long-term nucleos(t)ide analog therapy starting with lamivudine[J]. Hepatology, 2005,42:121-129.

收稿日期:2013-10-22