

147例ALT小于2倍正常上限的慢性乙型肝炎患者肝脏病理改变及相关因素分析

万和荷¹, 张国梁², 刘丽丽², 侯勇², 刘永华², 杨小军², 李艳², 王金萍³, 窦红漫⁴, 张子侠¹ (1.安徽中医药大学 2012级硕士研究生, 合肥 230038; 2.安徽中医药大学第一附属医院 感染科, 合肥 230031; 3.安徽中医药大学第一附属医院 超声科, 合肥 230031; 4.安徽中医药大学第一附属医院 病理科, 合肥 230031)

摘要: 目的 了解ALT小于2倍正常值(ULN) CHB患者的肝脏病理特点, 分析其与性别、年龄、病程、血清HBeAg状态、肝组织HBsAg和HBcAg的表达、ALT及HBV DNA水平的关系。方法 采用回顾性分析方法, 收集147例ALT < 2 ULN的CHB患者的临床及病理资料, 患者均行肝组织活检及免疫组织化学法检测肝组织中HBsAg和HBcAg表达。结果 本研究纳入147例ALT < 2 ULN的CHB患者中, 肝组织中重度炎症以上($\geq G_2$)者115例(78.2%), 肝组织中重度纤维化以上($\geq S_2$)者80例(54.4%), 其中S₄者3例(2.1%)。不同性别、血清HBeAg状态、肝组织HBsAg和HBcAg表达患者之间肝脏炎症及纤维化程度无显著差异(P 均> 0.05)。经Spearman等级相关分析显示, 肝脏炎症分级与纤维化程度和年龄呈正相关($r_s = 0.566, 0.185, P$ 均< 0.05), 与病程、ALT及HBV DNA水平差异均无统计学意义(P 均> 0.05); 肝脏纤维化分期与年龄、ALT水平呈正相关($r_s = 0.317, 0.227, P$ 均< 0.05), 与病程、HBV DNA水平差异均无统计学意义(P 均> 0.05)。结论 患者均有不同程度的组织学改变, 对于ALT < 2 ULN, 尤其年龄较大的患者, 应尽早行肝组织病理学检查, 对研究判断病情、指导抗病毒治疗具有十分重要的作用。

关键词: 肝炎, 乙型, 慢性; 丙氨酸氨基转移酶; 病理学; 年龄因素

Analysis on liver pathological changes and pathology correlated factors in 147 patients of chronic hepatitis B with ALT less than two-fold up limit of normal

WAN He-he¹, ZHANG Guo-liang², LIU Li-li², HOU Yong², LIU Yong-hua², YANG Xiao-jun², LI Yan², WANG Jin-ping³, DOU Hong-man⁴, ZHANG Zi-xia¹ (1.The Graduate Division of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China; 2.Department of Infections Diseases, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 3.Department of Ultrasound, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 4.Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

Abstract: Objective To study the liver pathological changes in 147 patients of chronic hepatitis B with ALT less than two-fold up limit of normal and its correlation to sex, age, course of disease, HBeAg stage, the expression of HBsAg and HBcAg in liver tissue, the level of ALT and HBV DNA. **Methods** Retrospective analysis was used for 147 patients of chronic hepatitis B with ALT less than two-fold up limit of normal who accepted liver biopsy were included in this study. Immunohistochemistry was applied to detect the expression of HBsAg and HBcAg in liver tissues. **Results** Total of 147 patients of liver tissue inflammation with two or more account for 78.2%, and patients of liver tissue fibrosis with two or more account for 54.4%, including 2.1% of patients with S₄. There were no statistical difference among different sex, HBeAg stage, the expression of HBsAg and HBcAg in liver tissue (all $P > 0.05$). The grade of liver inflammation was positively correlated with the stage of liver fibrosis and the age, with correlation coefficient as 0.566 and 0.185 (both $P < 0.05$), respectively. There were no correlation

with the degrees of liver inflammation and the course of disease and the level of ALT and HBV DNA (all $P > 0.05$). The stage of liver fibrosis was positively correlated with the age and the level of ALT, with correlation coefficient as 0.317 and 0.227 (both $P < 0.05$), respectively. There were no correlation with the degrees of liver inflammation and the course of disease and the level of HBV DNA (both $P > 0.05$). **Conclusions** All of 147 patients included in this study have different degrees of liver histological damage. The biopsy of liver is useful to judge the disease process and guide the remedy for the ALT < 2 ULN especially in elder patients with CHB.

Key words: Hepatitis B, chronic; Alanine transaminase; Pathology; Age factors

我国是HBV感染的高发区,2006年全国流行病学调查结果显示,我国1~59岁人群中HBsAg携带率达7.18%,按此推算HBV感染者约9300万人,其中CHB患者约2000万人,慢性HBV感染长期炎症病变可进展为肝硬化、原发性肝癌^[1,2]。临床上ALT是反映肝脏炎症程度最直接、敏感的指标,血清HBeAg及HBV DNA水平是反映病毒复制的指标,但ALT水平正常或轻度升高并不代表肝组织无炎症或损伤轻微。根据《慢性乙型肝炎防治指南(2010版)》^[3]规定,对于ALT超过正常值(ULN)2倍且病毒复制活跃者应行抗病毒治疗,而对于ALT < 2 ULN的CHB患者如肝组织学检查示在中度及以上($\geq G_2$)炎症坏死和(或)中度以上($\geq S_2$)纤维化病变应需要抗病毒治疗。本研究针对147例ALT < 2 ULN的CHB患者进行肝组织活检,了解患者肝脏病理改变情况,并结合临床治疗分析其肝脏病理特点及与患者性别、年龄、病程、血清HBeAg状态、肝组织病毒学标志、ALT及HBV DNA水平的相关性,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2011年12月至2014年3月安徽省中医院感染科收治ALT < 2 ULN的CHB患者147例,均经肝组织活检确诊且病例资料完整,其中男性95例,女性52例,年龄13~70岁,平均年龄(37.0 ± 12.4)岁。疾病诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南(2010版)》^[3]标准。入组患者排除HAV、HCV、HDV、HEV和HIV等其他病毒感染、酒精性肝病、自身免疫性肝病、药物性肝损害、遗传代谢性肝病等其他肝脏疾病;HBsAg阳性均在6个月以上,肝组织活检前6个月未行抗病毒治疗。

1.2 方法

1.2.1 血清学检查 血清HBV标志物(包括HBsAg、

HBsAb、HBeAg、HBeAb和HBcAb)检测采用ELISA法;HBV DNA检测采用实时荧光定量PCR法,检测下限为1000拷贝/ml;ALT检测采用日立7600全自动生化检测仪,正常值为0~35 U/L;以上检查均为本院检验室常规检测,严格按照试剂盒说明书操作。

1.2.2 肝组织学检查 入组患者均常规检查血常规及凝血酶原时间,排除肝组织活检禁忌证。合格者在ACUSONS2000型彩超指引下用16G巴德一次性穿刺针经皮行快速肝组织活检,获取肝组织长度在1.5~2.0 cm之间,包含5个以上完整汇管区。病理标本应用4%甲醛溶液固定,酒精脱水,石蜡包埋,标本连续切片,行常规HE、Masson及网状纤维染色,由固定病理科医生盲法读片。病理诊断参照《病毒性肝炎防治方案》^[4]标准,将肝组织炎症活动度分为G₀~G₄级,纤维化程度分为S₀~S₄期。

1.2.3 免疫组织化学法 一抗:鼠单抗HBsAg(批号14198A03),鼠单抗HBcAg(批号14384305);二抗:酶标单抗小鼠IgG聚合物(批号K142714C);柠檬酸盐缓冲液、H₂O₂、PBS液、浓缩型DAB试剂盒等均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。对所有标本行免疫组织化学法检测肝组织中HBsAg及HBcAg表达,用PBS液替换一抗孵育已知阳性肝组织切片做阴性对照,操作严格按照说明书进行。显微镜下观察肝组织中HBsAg及HBcAg表达情况。

1.3 统计学处理 采用SPSS 17.0统计软件进行分析,等级资料比较采用秩和检验,两变量间相关性分析采用Spearman等级相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 入组患者肝脏病理情况 147例ALT < 2 ULN的CHB患者中,肝组织轻度炎症(G₁)32例(21.8%),中

重度炎症($\geq G_2$) 115例(78.2%); 肝组织无或轻度纤维化(S_{0-1}) 67例(45.6%), 中重度纤维化($\geq S_2$) 80例(54.4%), 其中 S_4 者3例(2.1%)。经Spearman等级相关分析显示, 肝组织纤维化程度与炎症程度呈正相关($r_s = 0.566, P = 0.000$), 即随着肝脏炎症程度加重, 纤维化呈加重的趋势, 见表1。

2.2 不同性别患者肝脏炎症及纤维化程度的比较 147例患者中, 应用Mann-Whitney U方法检验, 男女两组患者不同肝脏炎症及纤维化程度方面比较, 差异均无统计学意义($Z_G = -1.320, P_G = 0.187; Z_S = -0.349, P_S = 0.727$), 见表2、3。

2.3 不同血清HBeAg状态患者肝脏炎症及纤维化程度的比较 147例患者中HBeAg阳性74例, HBeAg阴性73例, 应用Mann-Whitney U方法检验, 两组患者不同肝脏炎症及纤维化程度方面比较, 差异均无统计学意义($Z_G = -0.116, P_G = 0.908; Z_S = -0.866, P_S = 0.387$), 见表4、5。

2.4 不同肝组织病毒学标志患者肝脏炎症及纤维化程度的比较 将147例患者根据肝组织免疫组织化学表达情况分为HBsAg⁺HBcAg⁺组、HBsAg⁺HBcAg⁻组、HBsAg⁻HBcAg⁺组、HBsAg⁻HBcAg⁻组, 经

Kruskal-Wallis H检验, 4组在不同肝脏炎症及纤维化程度方面分别比较, 差异均无统计学意义($\chi_G^2 = 4.540, P_G = 0.209; \chi_S^2 = 0.385, P_S = 0.943$), 见表6、7。

2.5 147例患者肝脏炎症及纤维化级别与临床相关指标等级相关分析 经Spearman等级相关分析可以看出, 肝脏炎症程度与年龄呈正相关($r_s = 0.185, P < 0.05$), 而与病程、ALT及HBV DNA水平差异无统计学意义(P 均 > 0.05); 肝脏纤维化程度与年龄、ALT水平呈正相关($r_s = 0.317、0.227, P$ 均 < 0.05), 而与病程、HBV DNA水平差异无统计学意义(P 均 > 0.05), 见表8。

表8 患者肝脏炎症及纤维化级别与临床相关指标的等级相关分析 ($n = 147$)

	炎症活动度 (G)		纤维化程度 (S)	
	r_s	P	r_s	P
年龄	0.185	0.025	0.317	0.000
病程	-0.003	0.969	0.086	0.301
ALT	0.108	0.191	0.227	0.006
HBV DNA	0.147	0.078	-0.012	0.000

3 讨论

国内外诸多研究^[5-8]均有报道, 在ALT正常或轻度异常的慢性HBV感染者中, 仍有一部分存在显著

表1 ALT < 2 ULN的CHB患者肝脏病理情况 ($n = 147$)

炎症分级	纤维化分期 (例)					合计[例 (%)]
	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4	
G_1	2	25	4	1	0	32 (21.8)
G_2	1	39	54	5	1	100 (68.0)
G_3	0	0	4	9	2	15 (10.2)
合计[例 (%)]	3 (2.1)	64 (43.5)	62 (42.2)	15 (10.2)	3 (2.1)	147 (100.0)

表2 不同性别患者肝脏炎症分级的比较[例 (%)]

	炎症分级			合计
	G_1	G_2	G_3	
男	25 (26.3)	60 (63.2)	10 (10.5)	95 (64.6)
女	7 (13.5)	40 (76.9)	5 (9.6)	52 (35.4)
合计	32 (21.8)	100 (68.0)	15 (10.2)	147 (100.0)

注: 男女患者的肝脏炎症程度分布比较, $Z = -1.320, P = 0.187$

表3 不同性别患者肝脏纤维化分期的比较[例 (%)]

	纤维化分期					合计
	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4	
男	2 (2.1)	41 (43.3)	39 (41.0)	10 (10.5)	3 (3.1)	95 (64.6)
女	1 (1.9)	23 (44.2)	23 (44.2)	5 (9.7)	0 (0.0)	52 (35.4)
合计	3 (2.0)	64 (43.5)	62 (42.3)	15 (10.2)	3 (2.0)	147 (100.0)

注: 男女患者的肝脏纤维化程度分布比较, $Z = -0.349, P = 0.727$

表 4 不同血清HBeAg状态患者肝脏炎症分级的比较[例（%）]

	炎症分级			合计
	G ₁	G ₂	G ₃	
HBeAg阳性	16 (21.6)	51 (69.0)	7 (9.4)	74 (50.3)
HBeAg阴性	16 (21.9)	49 (67.2)	8 (10.9)	73 (49.7)
合计	32 (21.8)	100 (68.0)	15 (10.2)	147 (100.0)

注：HBeAg阳性与HBeAg阴性患者肝脏炎症程度分布比较， $Z = -0.116$ ， $P = 0.908$

表5 不同血清HBeAg状态患者肝脏纤维化分期的比较[例（%）]

	纤维化分期					合计
	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	
HBeAg阳性	2 (2.7)	34 (46.0)	30 (40.5)	7 (9.5)	1 (1.3)	74 (50.3)
HBeAg阴性	1 (1.3)	30 (41.1)	32 (43.8)	8 (11.1)	2 (2.7)	73 (49.7)
合计	3 (2.0)	64 (43.5)	62 (42.3)	15 (10.2)	3 (2.0)	147 (100.0)

注：HBeAg阳性与HBeAg阴性患者肝脏纤维化程度分布比较， $Z = -0.866$ ， $P = 0.387$

表 6 不同肝组织病毒学标志患者肝脏炎症分级的比较[例（%）]

	炎症分级			合计
	G ₁	G ₂	G ₃	
HBsAg ⁺ HBcAg ⁺ 组	14 (17.3)	58 (71.6)	9 (11.1)	81 (55.1)
HBsAg ⁺ HBcAg ⁻ 组	15 (26.8)	38 (67.9)	3 (5.3)	56 (38.1)
HBsAg ⁻ HBcAg ⁺ 组	2 (66.7)	0 (0.0)	1 (33.3)	3 (2.0)
HBsAg ⁻ HBcAg ⁻ 组	1 (14.3)	4 (57.1)	2 (28.7)	7 (4.8)
合计	32 (21.8)	100 (68.0)	15 (10.2)	147 (100.0)

注：4组患者肝脏炎症程度分布比较， $\chi^2 = 4.540$ ， $P = 0.209$

表 7 不同肝组织病毒学标志患者肝脏纤维化分期的比较[例（%）]

	纤维化分期					合计
	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	
HBsAg ⁺ HBcAg ⁺ 组	2 (2.5)	35 (43.2)	32 (39.5)	10 (12.3)	2 (2.5)	81 (55.1)
HBsAg ⁺ HBcAg ⁻ 组	1 (1.8)	25 (44.6)	25 (44.6)	4 (7.1)	1 (1.9)	56 (38.1)
HBsAg ⁻ HBcAg ⁺ 组	0 (0.0)	2 (66.4)	0 (0.0)	1 (33.3)	0 (0.0)	3 (2.0)
HBsAg ⁻ HBcAg ⁻ 组	0 (0.0)	2 (28.6)	5 (71.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (4.8)
合计	3 (2.0)	64 (43.5)	62 (42.3)	15 (10.2)	3 (2.0)	147 (100.0)

注：4组患者肝脏纤维化程度分布比较， $\chi^2 = 0.385$ ， $P = 0.943$

的炎症及纤维化改变。本研究选择的147例ALT < 2 ULN的患者均有不同程度的肝脏损害，其中肝组织炎症分级中重度以上（ $\geq G_2$ ）者占78.2%，肝组织纤维化分期中重度以上（ $\geq S_2$ ）者占54.4%，其中S₃以上者占12.24%，因此，ALT正常或轻度升高并不代表肝脏无损害或损害轻微。对于ALT水平未达到抗病毒标准的患者中，仍有相当部分患者存在不同程度的肝脏损害，若按ALT水平决定是否抗病毒治疗，将使部分已有明显肝脏损害的患者错失抗病毒治疗时机而致病情加重。本研究发现不同性别患者与肝脏炎症及纤维化程度无差异性，这与Wang等^[9]的研究结果一致。

HBV感染引起肝脏病变的机制是多方面的，血清HBeAg的表达是说明HBV复制程度的，反映某一

时期患者体内HBV复制情况，与肝脏损伤的程度是无关的^[6]。本研究统计结果显示血清HBeAg阳性与否与肝脏病理变化无明显相关性。也有学者提出，HBeAg阴性患者较HBeAg阳性患者纤维化程度更严重^[10]。本研究中，通过免疫组织化学法检测肝组织中HBsAg和HBcAg表达，显示HBsAg⁺HBcAg⁺组（81例）、HBsAg⁺HBcAg⁻组（56例）病例均多于HBsAg⁻HBcAg⁺组（3例）及HBsAg⁻HBcAg⁻组（7例），但各组不同炎症及纤维化程度分布比较，差异均无统计学意义，说明肝组织HBsAg和HBcAg表达分布与肝组织炎症及纤维化程度并无相关性，与以往报道^[6,11]结果一致。本研究中，HBsAg⁻HBcAg⁻组为7例（4.8%），可能是因为HBV感染后肝组织免疫病理的表达过程较长（数月或数年），病

变呈活动与稳定交替出现,故在不同时期进行肝组织活检,其表达的阳性率亦不尽相同,而HBcAg常和抗-HBc在肝细胞形成免疫复合物,使HBcAg被封闭而不易检出^[12,13],故肝组织活检判定病毒是否复制时还应结合血清标志物来综合分析。

耿晓霞等^[14]通过对60例ALT < 2 ULN的HBeAg阴性CHB患者进行分析,显示随着肝脏炎症、纤维化程度的加重,其年龄、ALT及HBV DNA水平都明显增加。本研究的病例多为中年人,平均年龄(37.0 ± 12.4)岁,相关性分析结果表明,随着年龄的增长,其肝脏炎症及纤维化程度也逐渐加重,说明年龄大是肝组织纤维化发生的危险因素,进一步提示了年龄可作为抗病毒治疗选择中的一个重要参考因素,但这与魏倪等^[15]、桂红莲等^[16]的研究结果存在差异。进一步分析肝脏炎症及纤维化程度与病程的关系,发现肝脏炎症及纤维化程度与病程长短并无相关性。

本研究表明,ALT水平与肝脏炎症活动度之间并无相关性,而与肝脏纤维化程度有一定的相关性,说明ALT水平高低与肝脏的炎症程度并不呈正相关,这与桂红莲等^[16]的研究结果一致,而唐奇远等^[7]报道肝脏纤维化与ALT水平无相关性。血清HBV DNA存在反映病毒复制活跃,常作为抗病毒治疗的参考指标,但HBV DNA水平与肝脏病理改变程度之间的关系各家报道并不一致,大多数观点^[17,18]认为两者并无相关性,本研究结果亦显示HBV DNA水平与肝脏炎症及纤维化程度之间无明显相关性,这可能是因明显HBV感染患者由普通肝炎进展到肝硬化、肝癌等严重疾病是一个慢性反复的过程,某一时期内HBV DNA水平较高可能是由于机体的免疫力下降或病毒变异所致,而进入CHB后期,经过漫长的免疫清除期,肝脏病理改变明显,病毒复制呈低水平状态,故病毒复制水平的高低与肝脏炎症纤维化程度并不一致。

因此,临床上仅从血清ALT及HBV DNA水平判断肝脏病情程度及抗病毒治疗时机,可能会使部分患者错过最佳治疗时机,应结合年龄、HBeAg状态等指标进行综合评价。肝组织活检是直接反映肝脏

炎症及纤维化程度的金标准,对确定诊断、指导治疗和预后评估具有重要意义,故对于ALT < 2 ULN的患者在临床上应密切随访,必要时行肝组织病理学检查,争取及早抗病毒治疗以免延误病情。

参考文献

- [1] Liang X, Bi S, Yang W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China-declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination[J]. *Vaccine*, 2009, 27: 6550-6557.
- [2] Lu FM, Zhang H. Management of hepatitis B in China[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2009, 122: 3-4.
- [3] 中华医学会肝病学会, 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, 中华医学会肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *肝脏*, 2000, 5: 257-263.
- [5] 马丽娜, 何智敏, 曹振环, 等. 乙型肝炎病毒携带者的肝脏病理学与临床特征[J]. *中华肝脏病杂志*, 2010, 18: 433-436.
- [6] 刘大风, 王林, 刘亚玲, 等. 慢性乙型肝炎病毒携带者肝脏病理与病毒学指标的相关性分析[J]. *华西医学*, 2009, 24: 1159-1163.
- [7] 唐奇远, 何清, 黄珊, 等. ALT正常e抗原阳性慢性HBV感染者肝组织纤维化的影响因素研究[J]. *中国病毒学杂志*, 2012, 2: 216-220.
- [8] Moriyama M, Hayashida JN, Toyoshima T, et al. Cytokine/chemokine profiles contribute to understanding the pathogenesis and diagnosis of primary Sjögren's syndrome[J]. *Clin Exp Immunol*, 2012, 169: 17-26.
- [9] Wang CC, Lim LY, Deubner H, et al. Factors predictive of significant hepatic fibrosis in adults with chronic hepatitis B and normal serum ALT[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2008, 42: 820-826.
- [10] 白浪, 陈立宇, 马元吉, 等. 丙氨酸氨基转移酶持续正常的慢性乙型肝炎感染者肝脏病理与临床相关性研究[J]. *四川医学*, 2012, 33: 603-606.
- [11] 黄珊, 何清, 唐奇远, 等. 91例非活动性HBsAg携带者肝组织病理特点的研究[J]. *中国病毒学杂志*, 2012, 2: 58-61.
- [12] 傅茂英, 李海, 邓志勇, 等. HBsAg、HBeAg及actin蛋白在乙型肝炎病毒携带者肝穿组织中的表达及意义[J]. *临床和实验医学杂志*, 2009, 8: 65-66.
- [13] 曹天高, 李朝霞, 厉景南, 等. 132例慢性HBV携带者肝组织病理分析[J]. *浙江实用医学*, 2010, 15: 16-18.
- [14] 耿晓霞, 林健梅, 杨兴祥, 等. ALT小于2倍正常上限的HBeAg阴性慢性HBV感染者肝脏病理改变及相关因素分析[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2014, 23: 223-226.
- [15] 魏倪, 杨栋, 杨方, 等. 慢性乙型肝炎病毒携带者肝组织学特点与临床特征的关系[J]. *中华肝脏病杂志*, 2007, 15: 330-333.
- [16] 桂红莲, 谢青, 王晖, 等. 丙氨酸氨基转移酶持续正常的慢性乙型肝炎病毒感染者的肝组织学改变[J]. *中华肝脏病杂志*, 2007, 15: 881-885.
- [17] 吴丽萍, 张建军, 杜瑞清, 等. 肝功能正常的慢性乙型肝炎病毒感染者血清HBeAg及HBV DNA与肝组织病理改变的关系[J]. *肝脏*, 2009, 14: 269-271.
- [18] 周文虹, 陈书裕, 费逸文. 慢性乙肝患者HBV-DNA定量与肝脏病理及血清ALT关系的探讨[J]. *实验与检验医学*, 2011, 29: 369-372.

收稿日期: 2014-06-16