

468例CHB患者肝纤维化进展与血清病毒学指标演变关联性探讨

唐情容¹, 何清¹, 廖雪姣¹, 赖长祥¹, 敖飞健¹, 唐奇远¹, 白冰¹, 吕德良² (1. 广东医学院附属深圳市第三人民医院, 广东 深圳 518112; 2. 深圳市慢性病医院, 广东 深圳 518020)

摘要: 目的 探讨慢性乙型病毒性肝炎(CHB)患者肝纤维化进展与血清病毒学指标的演变关系。方法 选择468例CHB患者, 根据其不同的肝纤维化程度由轻及重(S0-1, S2, S3-4)分为三组, 分别统计三组患者肝纤维化分级与HBeAg状态及HBV DNA载量的关系。结果 随着肝纤维化进展(S0-S1→S2→S3-S4), HBeAg阳性者的比例逐渐下降(60.00% > 23.25% > 16.75%), HBeAg阴性的比例逐渐升高(23.53% < 33.82% < 42.65%), 其差异有统计学意义($\chi^2 = 35.756$, $P < 0.001$); 不同血清HBV DNA载量的患者, 肝纤维化水平不同($\chi^2 = 58.790$, $P < 0.001$), 随着肝纤维化的进展, 血清HBV DNA呈逐渐下降趋势($r = -0.343$)。HBeAg阳性CHB患者中, 其肝纤维化进展与HBV DNA载量的差异同样具有统计学意义($\chi^2 = 38.011$, $P < 0.001$), 肝纤维化水平与HBV DNA载量亦呈负相关($r = -0.290$)。结论 慢性乙型病毒性肝炎患者随着肝纤维化进展(S0-S1→S2→S3-S4), 其血清HBeAg阳性的比例与HBV DNA载量均呈逐渐下降的趋势, 其中HBeAg持续阳性患者的HBV DNA载量随肝纤维化进展表现出相似的特点。

关键词: 肝炎, 乙型, 慢性; 乙型肝炎e抗原; DNA病毒; 肝脏病理

Study of the correlation between the progress of liver fibrosis and evolution of serum virology indicators in 468 patients with chronic hepatitis B

TANG Qing-rong¹, HE Qing¹, LIAO Xue-jiao¹, LAI Chang-xiang¹, AO Fei-jian¹, TANG Qi-yuan¹, BAI Bing¹, LV De-liang² (1. The Third People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518112, China; 2. The Chronic Disease Hospital of Shenzhen; Shenzhen 518020, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the progress of liver fibrosis and evolution of serum virology indicators. **Methods** Total of 468 patients with chronic hepatitis B were included in our study. Three groups (S0-1, S2, S3-4) were divided according to the liver fibrosis stages and the relationship between liver fibrosis stages and expression levels of HBeAg as well as HBV DNA levels were analyzed respectively. **Results** With the progress of liver fibrosis (S0-S1→S2→S3-S4), the positive proportion of HBeAg was gradually decreased (60.00% > 23.25% > 16.75%). Contrarily, the negative percentage of HBeAg presented with an increased trend (23.53% < 33.82% < 42.65%) and the differences were of statistical significant ($\chi^2 = 35.756$, $P < 0.001$). HBV DNA levels were different among patients with different stages of liver fibrosis ($\chi^2 = 58.790$, $P < 0.001$). With the progress of liver fibrosis, HBV DNA levels showed a declined trend ($r = -0.343$). Differences between liver fibrosis stages and HBV DNA copies in CHB patients with positive expression of HBeAg were also of statistical significant ($\chi^2 = 38.011$, $P < 0.001$). In addition, HBV DNA levels and liver fibrosis stages were also presented with a negative correlation ($r = -0.290$). **Conclusions** With the progress of liver fibrosis (S0-S1→S2→S3-S4), positive proportions of HBeAg and HBV DNA levels both manifested a gradually declined trend. Similarly characteristics were detected in CHB patients with persistently positive expression of HBeAg.

Key words: Hepatitis B; Chronic; HBeAg; DNA virus; Liver pathology

乙型肝炎病毒(HBV)活跃复制是导致肝组织纤维化持续进展的主要原因,在疾病进展过程中,患者的血清病毒标志物(包括HBeAg以及HBV DNA)呈现规律性变化,但有关报道结论不一。为此我们收集了468例具备肝穿刺活检资料的CHB患者进行分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2004年1月至2014年4月广东医学院附属医院深圳市第三人民医院临床诊断为CHB患者468例,入选对象符合我国《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》的标准,所有患者半年内未应用过抗病毒或护肝降酶药物,无肝脏穿刺活检术禁忌证;ALT > 45 U/L;HBV DNA > 500 拷贝/ml。

1.2 排除标准 合并丙型、丁型及戊型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒等其他病毒感染者;酒精性肝病、遗传代谢性肝病、自身免疫性肝病、胆汁淤积性肝病、晚期肝硬化有失代偿表现及肝脏肿瘤者;合并风湿病、系统性红斑狼疮、糖尿病、慢性阻塞性肺病、肾功能衰竭、肿瘤等疾病。

1.3 肝组织学检查 所有患者均进行肝穿刺活检术,肝组织标本长大于1.0 cm,常规石蜡包埋切片进行嗜银及HE染色,由两位资深病理科医师进行独立阅片。按照2000年中华医学会病毒性肝炎防治方案^[1]组织病理学标准将肝纤维化程度分为S0~S4期:S0为无纤维化;S1为汇管区纤维化扩大并伴局限窦周及小叶内纤维化;S2为汇管区周围纤维化,纤维间隔形成,但小叶结构保留;S3为纤维间隔伴小叶结

构紊乱,但无肝硬化;S4为早期肝硬化。

1.4 病毒血清学检查 在肝活检前1~2周内检测HBV血清标志物及HBV DNA定量;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A Xsym免疫分析仪;HBV DNA的定量检测采用AB17500荧光定量PCR仪,试剂盒由深圳匹基(PG)公司提供。

1.5 统计学处理 用SPSS软件17.0进行统计学分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)或中位数(范围)表示。计数资料以例数(百分比)表示。两独立样本的比较非正态性分布资料,采用Mann-Whitney秩和检验;相关性分析,正态性分布资料,采用Pearson相关分析,非正态性分布资料,使用Spearman等级相关分析。样本率和构成比的比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本资料 共有468例符合入选标准,其中男性362例,女性106例;平均年龄(33.8 ± 8.45)岁,小于40岁的为373例,占79.7%;ALT平均值为(99.65 ± 123.70) U/L,AST平均值为(58.76 ± 60.94) U/L;HBV DAN载量> 10^7 拷贝/ml有248例,占52.9%;HBeAg(+)有400例,占85.5%;肝组织病理分期S0期19例,S1期237例,S2期116例,≥ S3期96例,见表1。

2.2 肝纤维化分级与HBeAg状态 468例患者中HBeAg阳性400例,HBeAg阴性68例,随着肝纤维化进展(S0-S1→S2→S3-S4)HBeAg阳性患者比例逐渐下降($60.00\% > 23.25\% > 16.75\%$),HBeAg阴性比例逐渐升高($23.53\% < 33.82\% < 42.65\%$)。经卡方检验($\chi^2 = 35.756, P < 0.001$),不同肝纤维化分级与HBeAg状态之间有统计学差异。见表2。

2.3 肝组织纤维化分级与HBV DNA载量 将468例患者分层,血清HBV DNA载量< 10^5 拷贝/ml者55例、 $10^5 \sim 10^7$ 拷贝/ml者164例、> 10^7 拷贝/ml者249例,随着肝纤维化进展(S0-S1→S2→S3-S4)与HBV DNA载量的变化有统计学差异($\chi^2 = 58.790, P < 0.001$)。经过 χ^2 分割法(即Bonferroni法)比较,检验水准调整为0.05/3(即0.017),≤ S1组与S2组、≤ S1组与≥ S3组、S2组与≥ S3组之间的HBV DNA水平差异均有统计学意义(χ^2 分别为17.975、56.104、11.650, P 值分别为

表1 468例患者的一般资料

基本资料	例数	构成比(%)
性别		
男性	362	77.35
女性	106	22.65
年龄(岁)		
≤ 40	373	79.70
> 40	95	20.30
ALT(U/L)		
≤ 40	42	8.97
40 < ALT ≤ 80	252	53.85
80 < ALT ≤ 120	91	19.44
120 < ALT ≤ 160	27	5.77
ALT > 160	56	11.97
HBeAg		
阳性	400	85.47
阴性	68	14.53
HBV DNA(拷贝/ml)		
< 10^5	55	11.75
$10^5 \leq$ HBV DNA < 10^7	165	35.26
HBV DNA > 10^7	248	52.99
肝组织纤维化分期		
≤ S1	256	54.70
S2	116	24.80
≥ S3	96	20.50

< 0.001 、 < 0.001 、 0.003)。经Spearman等级相关分析得 P 值为 0.000 ， r 值为 -0.343 ，即随着肝纤维化的进展HBV DNA呈现逐渐下降的趋势，见表3。

2.4 HBeAg阳性患者肝纤维化分级与血清HBV DNA载量 将400例HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者单列分层，其中HBV DNA $< 10^5$ 拷贝/ml者25例、 $10^5 \sim 10^7$ 拷贝/ml者129例、 $> 10^7$ 拷贝/ml者246例，随着肝纤维化进展(S0-S1→S2→S3-S4)，与HBV DNA载量之间的差异有统计学意义($\chi^2 = 38.011$ ， < 0.001)。经过 χ^2 分割法(即Bonferroni法)比较，检验水准调整为 $0.05/3$ (即 0.017)， $\leq S1$ 组与S2组、 $\leq S1$ 组与 $\geq S3$ 组、S2组与 $\geq S3$ 组之间的HBV DNA水平差异均有统计学意义(χ^2 分别为 34.429 、 11.002 、 9.426 ， P 值分别为 0.000 、 0.004 、 0.004 均 < 0.017)。经Spearman等级相关分析得($P < 0.001$ ， $r = -0.290$)，HBV DNA载量与肝纤维化水平亦成负相关，见表4。

3 讨论

《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》^[2]将慢性乙型肝炎自然病程分为4个时期：免疫耐受期、免疫清除期、非活动或低(非)复制期和再活动期，其感染可迁延数十年，部分感染者可以依靠较为健全的免疫功能，将病毒完全清除而获得痊愈；但大多数感染者将历经免疫耐受及免疫清除功能的激活不足和波动阶段，形成肝组织炎症反应的反活跃和纤维增生，最终导致肝纤维化、

肝硬化^[3]。随着纤维化的进展HBeAg的状态及HBV DNA载量也存在一定的变化，目前国内外关于此方面的研究颇多，但对于血清病毒学与肝组织纤维化分级间的关系一直存在争议^[4-7]。

血清HBeAg是HBV复制活动的可靠指标，也是反映抗乙型肝炎病毒治疗和判断预后的重要指标。该研究显示随着肝纤维化的进展(S0-S1→S2→S3-S4)HBeAg阳性患者的比例逐渐下降($60.00\% > 23.25\% > 16.75\%$)，而HBeAg阴性的比例逐渐升高($23.53\% < 33.82\% < 42.65\%$)；同时发现HBeAg阴性所占比例S3-S4组 $> S2$ 组 $> S0-S1$ 组，即随着纤维化进展，HBeAg消失率亦逐渐增高，李知玉等^[8]、廖雪姣等^[9]研究亦发现HBeAg阴性组纤维化分级明显重于HBeAg阳性组，支持该观点。

近年来，血清HBV DNA载量与慢性乙型肝炎肝纤维化的关系越来越受到关注，但结论不一^[10,11]。唐奇远等^[12]认为HBV DNA载量与肝纤维化的严重程度密切相关，HBV DNA载量 $< 10^5$ 拷贝/ml的患者肝组织纤维化程度最为严重，黄珊等^[13]报道了相似的结果。但厉新妍等^[14]则认为血清HBV DNA水平与肝脏纤维化分期无相关性，汤磊等^[15]也持一致的观点。本研究发现血清HBV DNA载量随着肝纤维化的进展呈现逐渐下降的趋势，这与艾书玲等^[16]报道的结果类似。原因之一可能是机体免疫系统启动后体内HBV逐渐清除，而肝组织炎症反活跃后肝

表2 468例肝纤维化分级与HBeAg状态[例(%)]

肝纤维化分级	HBeAg状态		合计
	HBeAg (+)	HBeAg (-)	
$\leq S1$	240 (60.00)	16 (23.53)	256 (54.70)
S2	93 (23.25)	23 (33.82)	116 (24.78)
$\geq S3$	67 (16.75)	29 (42.65)	96 (20.52)
合计	400	68	468
χ^2	35.756		
P	< 0.001		

表3 468例肝纤维化分级与HBV DNA载量[例(%)]

肝组织纤维化程度	HBV DNA (拷贝/ml)			合计
	HBV DNA $< 10^5$	$10^5 \leq$ HBV DNA $< 10^7$	HBV DNA $\geq 10^7$	
$\leq S1$	15 (27.27)	69 (42.07)	172 (69.08)	256 (54.70)
S2	19 (34.55)	43 (26.22)	54 (21.69)	116 (24.78)
$\geq S3$	21 (38.18)	52 (31.71)	23 (9.23)	96 (20.52)
总计	55	164	249	468
χ^2	58.790			
P	< 0.001			

表4 400例HBeAg阳性肝纤维化分级与HBV DNA载量[例(%)]

肝组织纤维化程度	HBV DNA (拷贝/ml)			合计
	HBV DNA $< 10^5$	$10^5 \leq$ HBV DNA $< 10^7$	HBV DNA $\geq 10^7$	
$\leq S1$	8 (32.00)	60 (46.51)	172 (69.92)	243 (54.70)
S2	10 (40.00)	31 (24.03)	52 (21.14)	93 (24.78)
$\geq S3$	7 (28.00)	38 (29.46)	22 (8.94)	67 (20.52)
总计	25	129	246	400
χ^2	38.011			
P	< 0.001			

纤维化亦逐渐加重;另外也可能与李学俊等^[17]报道的不同肝纤维化分期其肝细胞总数不同,HBV复制的程度不一样,随着肝纤维化的进展肝细胞受到损害的程度加重,正常肝细胞逐渐减少,导致肝细胞释放到血清中的HBV DNA总量下降。

按慢性乙型肝炎自然史发展过程,ALT异常的HBeAg持续阳性患者一般处于免疫清除期,随着肝纤维化的进展其血清HBV DNA变化特点亦有不同的观点,有学者对HBeAg阳性的CHB患者进行研究后发现随着肝组织纤维化程度的进展,HBV DNA水平呈下降趋势^[18]。但也有文献报道,HBV DNA水平并不能作为判断纤维化程度的指标^[19]。本研究纳入400例HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者经统计后发现,随着肝纤维化进展,其HBV DNA亦呈现逐渐下降的趋势。既往各种研究结果不一的重要原因,可能是纳入研究的样本量过少所致。

综上所述,本文将CHB肝纤维化分为 $\leq S1$ 、 $S2$ 、 $\geq S3$ 三组。经过统计发现随着肝纤维化进展的加重($S0-S1 \rightarrow S2 \rightarrow S3-S4$),血清HBeAg阳性的比例与HBV DNA载量均呈逐渐下降的趋势,其中HBeAg持续阳性患者的HBV DNA载量随肝纤维化由轻及重表现为相似的特点。

参考文献

- [1] 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(2000年版)[J]. 中华肝脏病杂志,2000,8:324-329.
- [2] 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]. 中国病毒病杂志,2011,1:9-23.
- [3] Chu CM. Natural history of chronic hepatitis B virus infection in adults with emphasis on the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol Hepatol,2000,15:E25-E30.
- [4] 张绍全,赖菁,谢仕斌,等. HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者相同肝实质细胞体积分摊的血清HBV DNA载量与肝组织炎症分级的关系[J]. 中华临床感染病杂志,2010,3:31-34.
- [5] 陆传统,周文红,胡爱荣. HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者血清病毒载量与肝组织学改变的关系[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2010,24:184-186.
- [6] Feld JJ, Wong DK, Heathcote EJ. Endpoints of therapy in chronic hepatitis B[J]. Hepatology,2009,49:S96-S102.
- [7] 钮志林,高胜利,俞净,等. 慢性乙型肝炎患者肝组织病理学分析[J]. 实用肝脏病杂志,2010,13:26-28.
- [8] 李知玉,周大桥,杨大国,等. 慢性HBV感染者血清HBeAg及HBVDNA与肝组织病理分级、分期的关系[J]. 中国医药导报,2010,7:15-20.
- [9] 廖雪姣,何清,杨大国,等. 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[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2014,6:1-5.
- [10] Croagh CM, Bell SJ, Slavin J, et al. Increasing hepatitis B viral load is associated with risk of significant liver fibrosis in HBeAg - negative but not HBeAg - positive chronic hepatitis B[J]. Liver Int,2010,30:1115-1122.
- [11] Praneenarat S, Chamroonkul N, Sripongpun P, et al. HBV DNA level to predict liver fibrosis in HBeAg negative chronic hepatitis B patients with biopsy indication[J]. BMC gastroenterology,2014,14:218.
- [12] 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]. 中国病毒病杂志,2012,2:210-220.
- [13] 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/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2011,3:16-21.
- [14] 厉新妍,雷瑞祥. 248例慢性乙型病毒性肝炎患者血清HBVDNA水平与肝组织HBsAg/HBeAg表达的相关性研究[J]. 实用肝脏病杂志,2009,12:98-100.
- [15] 汤磊,邵玉峰,叶珺,等. 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[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2013,5:1-4.
- [16] 艾书玲,何清,唐奇远,等. 248例慢性乙型肝炎病毒感染者免疫清除期演变规律的研究[J]. 中国病毒病杂志,2013,5:382-386.
- [17] 李学俊,谢仕斌,张晓红,等. 免疫清除期相同肝实质细胞体积分摊的血清HBVDNA载量与肝组织炎症分级的关系[J]. 中华肝脏病杂志,2009,17:740-744.
- [18] 张雯,周文红,丁世雄. HBeAg阳性/阴性慢性乙型肝炎的临床病理特征对比分析[J]. 中华临床感染病杂志,2010,4:227-230.
- [19] Shao J, Wei L, Wang H, et al. Relationships between hepatitis B virus DNA levels and liver histology in patients with chronic hepatitis B[J]. World J Gastroenterol,2007,13:2104-2107.

收稿日期: 2014-11-24