

肝纤维化进展预测熊去氧胆酸治疗的原发性胆汁性肝硬化患者的长期预后

王芳, 袁东红, 薛顺和 (延安大学附属医院 消化内科, 陕西 延安 716000)

摘要: 目的 探讨肝纤维化进展预测熊去氧胆酸(UDCA)治疗的原发性胆汁性肝硬化患者(PBC)长期预后的效果。方法 回顾性分析1992年至2013年于延安大学附属医院接受UDCA规范化治疗[13~15 mg/(kg·d)]的108例PBC患者的临床资料。根据 γ -谷氨酰转酐酶(GGT)减少率ROC截断值将PBC患者分为UDCA应答组和UDCA不应答组。运用Kaplan-Meier曲线比较两组患者累积生存率的差异, Logistic回归分析PBC患者UDCA不应答的危险因素, 比较不同纤维化Scheuer和Nakanuma病理分期PBC患者的生存率。结果 GGT减少率的ROC截断值为69%, UDCA应答组54例(GGT减少率 \geq 69%), UDCA不应答组54例(GGT减少率 $<$ 69%)。UDCA应答组累积生存率显著高于不应答组($\chi^2 = 9.783$, $P = 0.002$)。Scheuer分期和Nakanuma分期是UDCA不应答的独立危险因素。Scheuer 1期和2期PBC患者的预后显著优于3期和4期(P 均 < 0.05)。Nakanuma 1期和2期PBC患者的预后显著优于4期(χ^2 值分别为3.998、14.78, P 值分别为0.046、0.001)。结论 Scheuer 3期和Nakanuma 4期可预测经UDCA治疗的PBC患者的长期预后。

关键词: 肝硬化, 胆汁性, 原发性; 熊去氧胆酸应答; Scheuer分期; Nakanuma分期

Effects of liver fibrosis progress on prediction of long-term prognosis of patients with primary biliary cirrhosis who were treated with ursodeoxycholic acid

WANG Fang, YUAN Dong-hong, XUE Shun-he (Department of Digestive Medicine, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, Shanxi Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of liver fibrosis progress on prediction of long-term prognosis in patients with primary biliary cirrhosis who were treated with ursodeoxycholic acid (UDCA). **Methods** Clinical data of 108 patients with primary biliary cirrhosis (PBC) who received UDCA standardized treatment [13~15 mg/(kg·d)] from 1992 to 2013 in the Affiliated Hospital of Yan'an University were retrospectively analyzed. The patients were divided into UDCA response group and UDCA non-response group according to ROC cut-off value of γ -glutamyl transpeptidase (GGT) reduction rate. The cumulative survival rate was compared by Kaplan-Meier curve. The risk factors of UDCA non-response were analyzed by the Logistic regression. The cumulative survival rates of PBC patients with different pathological stage of Scheuer and Nakanuma system were compared. **Results** The ROC cut-off value of GGT reduction rate was 69%. There were 54 cases in UDCA response group (GGT reduction rate \geq 69%) and 54 cases in UDCA non-response group (GGT reduction rate $<$ 69%). The cumulative survival rate of patients in UDCA response group were higher than that of UDCA non-response group ($\chi^2 = 9.783$, $P = 0.002$). Scheuer stage and Nakanuma stage were the independent risk factors of UDCA non-response. The survival prognosis of patients in Scheuer stage 1 and 2 were better than those in stage 3 and 4 ($P < 0.05$). The survival prognosis of patients in Nakanuma stage 1 and 2 were better than those in stage 4 ($\chi^2 = 3.998$, 14.78; $P = 0.046$, 0.001). **Conclusion** Long-term prognosis of patients with PBC who were treated with UDCA therapy could be predicted by Scheuer stage 3 and Nakanuma stage 4.

Key words: Liver cirrhosis, biliary, primary; Ursodeoxycholic acid response; Scheuer stage; Nakanuma stage

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种组织学上以小叶间胆管缺失和肝纤维化为特征的慢性肝内胆汁淤积性疾病。熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)是目前公认的治疗PBC的药物,但仍有40%的PBC患者对UDCA不应答或部分应答。UDCA不应答者预后不良^[1]。UDCA治疗1~2年后,患者的生物化学应答能预测PBC的预后^[2],但观察周期较长,因此寻找新的可靠的标志物评估经UDCA治疗的PBC患者的长期预后十分必要。经肝组织活检观察患者病理组织学改变可诊断PBC。PBC病理组织分级与分期标准有常用的Scheuer分期^[3]和近年新提出的Nakanuma分期^[4],两者各有优缺点。本研究利用PBC生物化学标志物[碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和 γ -谷氨酰转酐酶(g-glutamyl transpeptidase, GGT)]评估经UDCA治疗的PBC患者的预后,分析UDCA不应答的相关危险因素,运用Scheuer分期和Nakanuma分期预测UDCA治疗PBC患者的生存期。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究共纳入1992年2月至2013年12月于本院就诊的PBC患者108例,其中男性12例,女性96例,年龄48~69岁,平均年龄(58.6 ± 8.8)岁。入选标准:所有患者均符合2009年美国肝病学会及欧洲肝病学会诊疗指南中PBC诊断的相关标准^[5,6],即:①ALP升高等胆汁淤积的生物化学证据、超声影像学检查排除外胆道梗阻;②血清抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)和(或)AMA-M2亚型阳性;③肝组织活检示非化脓性胆管炎及小或中等胆管破坏的组织病理学证据;满足以上3项中的两项或以上时可诊断为PBC。排除标准:随访不足1年;合并自身免疫性肝炎、病毒性肝炎及酒精性肝炎等其他肝病者;就诊前6个月内使用皮质类固醇激素或免疫抑制剂等的患者。所有患者入院前均未经治疗。本研究获得本院伦理委员会批准,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 研究方法 本研究采用回顾性分析,记录患者入院时的一般临床资料,包括性别、年龄、临床症状及体征、血生物化学指标(ALP、GGT、ALT、AST、清蛋白及总胆红素等)、免疫学指标及自身抗体系列、血常规、凝血功能和肝功能等。所有患者均接受UDCA规范化治疗(德国Falk药厂,批号:H20050181),治疗剂量为 $13 \sim 15 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,平均随访时间(10.2 ± 10.1)年,记录患者疾病进展和病死情况。以随访期间GGT减少率或ALP减少率的截断值将108例PBC患者分为UDCA应答组和UDCA不应答组,比较两组患者累积生存率的差异,并

对UDCA不应答的相关危险因素进行Logistic回归分析。

1.3 肝脏病理组织学分期标准 ①Scheuer分期^[2]:1期:旺炽性胆管炎;2期:胆管增生;3期:纤维化或疤痕形成;4期:肝硬化。本研究中Scheuer 1期和2期定义为Scheuer早期,3期和4期定义为Scheuer晚期。②Nakanuma分期^[3]:包括纤维化评分和胆管缺失评分两部分。纤维化评分:0分:无门管区纤维化或纤维组织局限于门管区;1分:门管区周围纤维化或不完全纤维间隔形成;2分:桥接纤维化伴小叶结构紊乱;3分:肝硬化伴再生结节。胆管缺失评分:0分:无胆管缺失;1分: $< 1/3$ 门管区出现胆管缺失;2分: $1/3 \sim 2/3$ 门管区出现胆管缺失;3分: $> 2/3$ 门管区出现胆管缺失。Nakanuma分期:1期:纤维化评分和胆管缺失评分总分0分;2期:两者总分1~2分;3期:两者总分3~4分;4期:两者总分5~6分。本研究中Nakanuma 1期和2期定义为Nakanuma早期,3期和4期定义为Nakanuma晚期。由两名经验丰富的病理医师共同判定肝组织活检的病理组织学分期。

1.4 UDCA治疗PBC的生物化学应答标准 ①巴塞罗那标准^[7]:标准治疗1年后,患者ALP降低 $> 40\%$ 或降至正常。②巴黎 I 标准^[8]:标准治疗1年后,ALP ≤ 3 倍正常值上限(upper limits of normal, ULN),AST $\leq 2 \times \text{ULN}$,胆红素降至正常。

1.5 统计学处理 采用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析,采用graphpad prim 5.0进行绘图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用 t 检验进行比较。采用受试者特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC曲线)对UDCA的应答情况进行分组;采用Kaplan-Meier绘制生存曲线;采用单因素和多因素Logistic回归分析UDCA不应答的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PBC患者的临床特征 本研究纳入的108例PBC患者平均年龄(58.6 ± 8.8)岁;男性12例,女性96例;Scheuer分期早期82例,晚期26;Nakanuma分期早期64例,晚期44例。随访期间17例患者死亡,其中10例因肝脏疾病死亡(肝衰竭6例,肝癌4例),7例因非肝脏疾病死亡(2例肺炎,5例非肝脏癌症)。

2.2 UDCA治疗的ROC分析 患者经UDCA治疗1年后,GGT减少率预测UDCA疗效最好,见表1。以GGT减少率截断值69%为临界值,将108例PBC患者分为UDCA应答组(GGT减少率 $\geq 69\%$, 54例)和UDCA不应答组(GGT减少率 $< 69\%$, 54例)。

2.3 UDCA应答组和不应答组患者的临床特征及累积生存率 UDCA应答组和不应答组患者的临床特征见表2。两组PBC疾病结局和Scheuer分期的差异具有统计学意义 (χ^2 值分别为11.020、5.066, P 值分别为0.001、0.042)。UDCA应答组的累积生存率为100.0%, 不应答组的累积生存率为74.1%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.783$, $P = 0.002$), 见图1。

根据巴塞罗那标准, 将108例PBC患者分为UDCA应答组(68例)和UDCA不应答组(40例), 应答组累积生存率为92.5%, 不应答组累积生存率为69.2%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 2.245$, $P = 0.024$)。根据巴黎 I 标准, 将108例PBC患者分为UDCA应答组(58例)和UDCA不应答组(50例), 应答组累积生存率为100.0%, 不应答组累积生存率为71.2%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 10.285$, $P = 0.001$)。本研究分组方法与已知UDCA生物化学应答标准(巴塞罗那标准和巴黎 I 标准)较一致。

2.4 UDCA不应答相关危险因素的Logistic回归分析 运用单因素和多因素Logistic回归分析UDCA不应答

相关危险因素后发现Scheuer分期和Nakanuma分期是UDCA不应答的独立危险因素, 见表3。

2.5 PBC患者Scheuer分期和Nakanuma分期的生存分析 本研究中108例PBC患者Scheuer分期1~4期(分别表示为S1、S2、S3、S4)分别有36例、46例、22例和4例, Nakanuma分期1~4期(分别表示为N1、N2、N3、N4)分别有10例、53例、36例和9例。在Scheuer分期下, Nakanuma分期分布见图2。Scheuer分期1~4

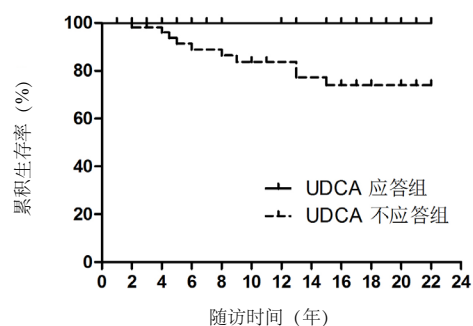


图1 UDCA 应答组和不应答组累积生存率 kaplan-Meier 曲线

表1 GGT 和 ALP 减少率预测 UDCA 疗效的 ROC 分析

参数	AUC	P值	95%CI	截断值	敏感性 (%)	特异性 (%)
GGT减少率						
UDCA治疗1年	0.81	0.001	0.74 ~ 0.91	0.69	90.7	78.9
UDCA治疗2年	0.76	0.001	0.67 ~ 0.86	0.61	81.6	75.1
ALP减少率						
UDCA治疗1年	0.75	0.175	0.48 ~ 0.68	0.58	68.2	58.4
UDCA治疗2年	0.56	0.358	0.47 ~ 0.66	0.54	54.7	32.6

表2 UDCA 应答组和 UDCA 不应答组患者临床特征比较

组别	例数	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别 (男/女, 例)	PBC疾病结局 (生存/死亡, 例)	Scheuer分期 (早期/晚期, 例)
UDCA应答组	54	57.0 \pm 9.9	4/50	54/0	46/8
UDCA不应答组	54	59.6 \pm 10.7	8/46	44/10	36/18
统计量值	-	$t = -0.110$	$\chi^2 = 1.500$	$\chi^2 = 11.020$	$\chi^2 = 5.066$
P值	-	0.892	0.221	0.001	0.042
组别	Nakanuma分期 (早期/晚期, 例)	血小板计数 ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^4$ /ml)	清蛋白 ($\bar{x} \pm s$, g/dl)	AST ($\bar{x} \pm s$, U/L)	ALT ($\bar{x} \pm s$, U/L)
UDCA应答组	37/17	23.6 \pm 8.2	4.2 \pm 1.2	93.5 \pm 135.8	93.5 \pm 115.0
UDCA不应答组	27/27	21.2 \pm 7.9	4.4 \pm 0.4	72.5 \pm 75.3	62.9 \pm 68.9
统计量值	$\chi^2 = 3.835$	$t = 0.124$	$t = -0.132$	$t = 0.244$	$t = 0.547$
P值	0.050	0.524	0.635	0.085	0.062
组别	ALP ($\bar{x} \pm s$, U/L)	GGT ($\bar{x} \pm s$, U/L)	总胆固醇 ($\bar{x} \pm s$, mg/dl)	IgM ($\bar{x} \pm s$, mg/dl)	抗线粒体抗体 (阳性/阴性, 例)
UDCA应答组	584.8 \pm 285.2	282.3 \pm 183.5	0.81 \pm 0.31	357.6 \pm 211.8	49/5
UDCA不应答组	662.6 \pm 386.5	253.5 \pm 235.6	1.1 \pm 0.98	402.3 \pm 244.8	47/7
统计量值	$t = -0.123$	$t = 0.214$	$t = -0.141$	$t = -0.213$	$\chi^2 = 0.375$
P值	0.125	0.147	0.124	0.098	0.540

注: “-”为无相关数据

期的累积生存率差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 27.35$, $P = 0.001$), 见图3。其中S1和S2分别与S3和S4比较, 差异均有统计学意义 (S1 vs S3: $\chi^2 = 7.518$, $P = 0.006$; S1 vs S4: $\chi^2 = 18.98$, $P = 0.001$; S2 vs S3: $\chi^2 = 6.381$, $P = 0.012$; S2 vs S4: $\chi^2 = 16.71$, $P = 0.001$)。Nakanuma分期分期1~4期的累积生存率差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 17.48$, $P = 0.001$), 见图4。其中N1期和N2分别与N4比较, 差异有统计学意义 (N1 vs N4: $\chi^2 = 3.998$, $P = 0.046$; N2 vs N4: $\chi^2 = 14.78$, $P = 0.001$)。

3 讨论

PBC是一种由自身免疫反应介导的以AMA阳性和肝内胆管非化脓性破坏为主要特征的慢性肝内胆胆汁淤积性肝脏疾病^[9]。通过实验室检查特异性血清学标志物ALP升高和AMA阳性可确诊^[10], 因此PBC易早期诊断。UDCA是目前唯一被证实可用于PBC治疗的有效药物, 其能显著改善患者的肝功能, 延缓早期PBC进展, 降低肝移植率, 改善患者的生存^[11]。

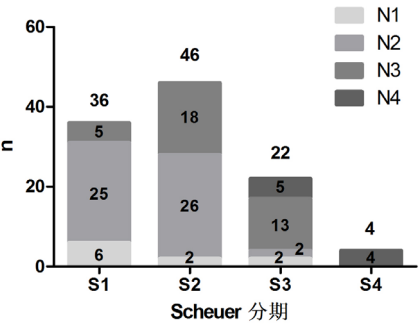


图2 PBC患者Nakanuma分期在Scheuer分期中的分布

注: S1: Scheuer 1期, S2: Scheuer 2期, S3: Scheuer 3期, S4: Scheuer 4期; N1: Nakanuma 1期, N2: Nakanuma 2期, N3: Nakanuma 3期, N4: Nakanuma 4期

但临床研究发现, 40%患者经UDCA治疗后不应答或部分应答^[1]。因此, 尽早评估UDCA疗效并及时调整治疗方案对PBC患者的临床诊治至关重要。

目前, 国际上有很多UDCA治疗应答的生物化学评价标准, 如巴塞罗那标准、巴黎 I 标准、巴黎 II 标准、鹿特丹标准和多伦多标准^[12,13]。这些标准仅纳入生物化学指标, 不能全面反映PBC疾病进展及UDCA治疗应答情况。近年Carbone等^[14]和Lammers

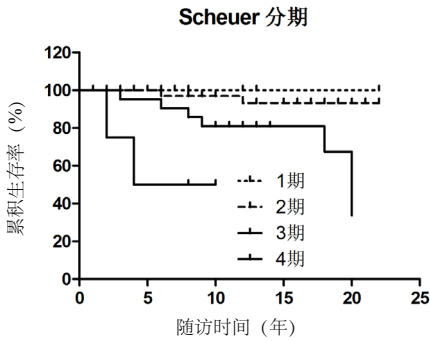


图3 PBC患者Scheuer分期累积生存率kaplan-Meier曲线

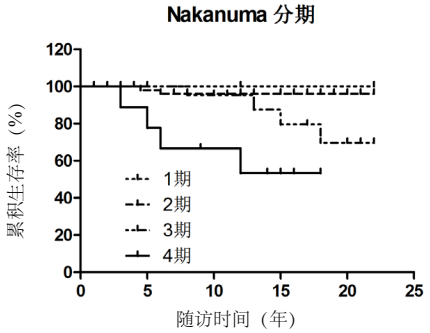


图4 PBC患者Nakanuma分期累积生存率kaplan-Meier曲线

表3 UDCA 不应答相关危险因素的单因素和多因素 Logistic 回归分析

临床参数	例数	单因素分析			多因素分析		
		回归系数	OR值 (95%CI)	P值	回归系数	OR值 (95%CI)	P值
年龄							
< 65岁	80	0.52	0.81 (0.32, 2.27)	0.048	-	-	-
≥ 65岁	28						
性别							
男性	12	0.62	2.95 (0.75, 12.87)	0.049	-	-	-
女性	96						
Scheuer分期							
早期	82	0.87	0.32 (0.12, 0.87)	0.020	0.98	0.35 (0.12, 0.98)	0.043
晚期	26						
Nakanuma分期							
早期	64	0.71	0.38 (0.11, 0.92)	0.030	0.66	0.39 (0.11, 0.95)	0.049
晚期	44						

注: “-” 为无相关数据

等^[15]分别提出了GLOBE评分标准和UK-PBC评分标准。这两个标准将肝脏疾病分期纳入UDCA治疗应答评分系统中,能更准确地评价UDCA治疗应答。这也说明现有的UDCA治疗应答的评价标准不够完善,需要纳入更详尽的指标。本研究表明UDCA治疗1年后,GGT减少率可作为反映UDCA应答的生物化学指标,为UDCA治疗应答评价标准提供了新的指标。由于胆汁淤积,肝合成GGT增加并泄漏入血,导致PBC患者血清GGT增加^[16]。血清GGT既可反映炎症持续活动的程度,也可反映肝纤维化程度。PBC患者经UDCA治疗后,GGT虽可降低,但往往无法达到正常水平^[17]。因此,用GGT减少率评价UDCA治疗应答情况具有可行性。此外,本研究用GGT减少率评价UDCA应答分组的生存率与巴塞罗那标准和巴黎I标准分组的生存率相近,进一步说明应用GGT减少率评价UDCA应答效应是可行的。

PBC是炎症细胞浸润肝内胆管分支引起的进行性损害,主要累及小叶间胆管,以慢性非化脓性破坏性胆管炎、胆管缺失及慢性胆汁淤积造成的肝硬化为显著的特征改变。年龄、性别和Scheuer分期是UDCA不应答的独立危险因素^[18-20]。本研究表明Scheuer分期和Nakanuma分期是UDCA不应答的独立危险因素。此外,肝纤维化是肝脏疾病终末期的特征,PBC预后与肝纤维化程度密切相关。本研究发现Scheuer 3期和Nakanuma 4期可预测经UDCA治疗的PBC患者的长期预后。Scheuer分期在PBC病理分期中应用广泛,但仍有一定局限性,如:①由于PBC患者肝内炎症及纤维化分布不均,易产生误差。②不能体现肝脏炎症情况和胆管缺失这两个与预后密切相关的指标。Nakanuma评分系统则包括胆管炎活动度、肝炎活动度、纤维化、胆管缺失和慢性胆汁淤积等指标可反映肝细胞和胆管细胞的损伤程度,与临床生物化学指标的相关性较好,也可预测PBC的预后。

本研究的不足之处:①缺乏PBC患者的临床病理和预后数据,不能完全反映各指标间的关联性;②样本量较小,影响统计分析的精确性;③不能排除其他药物导致的GGT变化。

总之,本研究用单一生物化学指标GGT(GGT减少率 $\geq 69\%$)鉴别UDCA应答和不应答PBC患者与其他已知的生物化学应答判定标准差异较小。组织病理学指标Scheuer 3期和Nakanuma 4期均可预测经UDCA治疗的PBC患者长期预后。Scheuer和Nakanuma可作为预测PBC患者长期预后的指标应用于临床实践。

参考文献

- [1] Lammert C, Juran BD, Schlicht E, et al. Biochemical response to ursodeoxycholic acid predicts survival in a North American cohort of primary biliary cirrhosis patients[J]. *J Gastroenterol*,2014,49(10):1414-1420.
- [2] Ali AH, Carey EJ, Lindor KD. Diagnosis and management of primary biliary cirrhosis[J]. *Expert Rev Clin Immunol*,2014,10(12):1667-1678.
- [3] Corpechot C. Primary biliary cirrhosis and bile acids[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*,2012,36(Suppl1):S13-S20.
- [4] Nakanuma Y, Zen Y, Harada K, et al. Application of a new histological staging and grading system for primary biliary cirrhosis to liver biopsy specimens: Interobserver agreement[J]. *Pathol Int*,2010,60(3):167-174.
- [5] Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, et al. Primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*,2009,50(1):291-308.
- [6] European Association for the Study of the L. EASL clinical practice guidelines: management of cholestatic liver diseases[J]. *Hepatology*,2009,51(2):237-267.
- [7] Pares A, Caballeria L, Rodes J. Excellent long-term survival in patients with primary biliary cirrhosis and biochemical response to ursodeoxycholic acid[J]. *Gastroenterology*,2006,130(3):715-720.
- [8] Matter J. Impact of microbes on the pathogenesis of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis [J]. *Int J Mol Sci*,2016,17(11):e1864.
- [9] 王玮,田勇,李玉芬,等. 安络化纤丸联合熊去氧胆酸胶囊治疗原发性胆汁性肝硬化疗效观察[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2015,7(3):100-103.
- [10] 张福奎. 原发性胆汁性肝硬化研究进展[J/CD]. *中国医学前沿杂志(电子版)*,2012,4(7):122-123.
- [11] 张金颖,张永萍,张玲. 扶正化瘀胶囊联合熊去氧胆酸胶囊治疗原发性胆汁性肝硬化临床研究[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2014,6(1):63-67.
- [12] van Buuren HR, Lammers WJ, Harms MH, et al. Surrogate endpoints for optimal therapeutic response to UDCA in primary biliary cholangitis[J]. *Dig Dis*,2015,33:118-124.
- [13] 杨梦玲,尤红. 熊去氧胆酸治疗原发性胆汁性肝硬化生化应答标准及治疗研究进展[J]. *实用肝脏病杂志*,2013,16(2):169-171.
- [14] Carbone M, Sharp SJ, Flack S, et al. The UK-PBC risk scores: Derivation and validation of a scoring system for long-term prediction of end-stage liver disease in primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*,2016,63(3):930-950.
- [15] YANG J, YU YL, JIN Y, et al. Clinical characteristics of drug-induced liver injury and primary biliary cirrhosis[J]. *World J Gastroenterol*,2016,22(33):7579-7586.
- [16] Lammers WJ, Hirschfield GM, Corpechot C, et al. Development and validation of a scoring system to predict outcomes of patients with primary biliary cirrhosis receiving ursodeoxycholic acid therapy[J]. *Gastroenterology*,2015,149(7):1804-12e1804.
- [17] 张奉春. 熊去氧胆酸治疗原发性胆汁性肝硬化的早期生化应答及长期预后的研究[J]. *中华内科杂志*,2014,53(2):141-141.
- [18] Carbone M, Mells GF, Pells G, et al. Sex and age are determinants of the clinical phenotype of primary biliary cirrhosis and response to ursodeoxycholic acid[J]. *Gastroenterology*,2013,144(3):560-569.
- [19] Namisaki T, Moriya K, Kitade M, et al. Clinical significance of Scheuer histological staging system for primary biliary cholangitis in Japanese patients[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*,2017,29(1):23-30.
- [20] Lammers WJ, Leeman M, Ponsioen CI, et al. How the concept of biochemical response influenced the management of primary biliary cholangitis over time[J]. *Neth J Med*,2016,74(6):240-246.

收稿日期: 2016-12-08