慢性乙型病毒性肝炎血清学检测与肝活检的对比研究

陈惠军 黎英贤

(广东省中医院肝病科 广州 510006)

摘要:目的:研究慢性乙型病毒性肝炎患者血清学指标、免疫指标与肝组织活检炎症活动度和纤维化程度的相关性。方法:对 90 例慢性乙型病毒性肝炎患者进行肝穿刺活检,评估肝组织炎症活动度分级和纤维化分期,并定量检测血清中的 ALT 及 HBV DNA 对数级,同时测定 ANA 抗体及 IgG 含量。结果:肝组织纤维化程度同炎症活动度呈显著正相关($r=0.589, P<0.01$);血清 HBV DNA 水平与 ANA 抗体呈正相关($r=0.302, P<0.01$),与血清 IgG 值呈正相关($r=0.404, P<0.01$),与纤维化程度以及炎症活动度、肝功异常与否无显著性相关($P>0.05$);血清 ANA 抗体与血清 IgG 值($r=0.4221, P<0.01$)及肝功能受损($r=0.662, P<0.01$)呈正相关;血清 IgG 值与肝功异常两者呈显著正相关($r=0.518, P<0.01$)。结论:随着 HBV DNA 对数级的增加,ANA 抗体阳性出现可能性更大,IgG 水平亦更高;血清 IgG 值越高,肝功能受损或抗核抗体阳性几率会增大;本研究未发现合适的血清学指标可作为慢性乙型病毒性肝炎组织病变程度的预测指标,肝穿刺活检依旧为临床准确判断肝组织病理改变程度的金标准。

关键词:慢性乙型病毒性肝炎;肝组织病理学;HBV DNA;ANA 抗体;IgG

Comparative Study on Liver Biopsy and Serological Testing of Patients with Chronic Hepatitis B

CHEN Hui-jun, LI Ying-xian

(Department of Hepatopathy, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006)

Abstract: Objective: To explore the correlations among serological indicators, immune parameters, inflammatory activity level of hepatic tissue biopsy and fibrosis level in patients with chronic hepatitis B. Methods: Ninety patients with chronic hepatitis B were given liver biopsies, the inflammatory activity level and fibrosis level of their liver tissues were observed and assessed. Later, quantitative determination of ALT in serum as well as logarithmical degree of HBV DNA were analyzed and recorded; meanwhile, ANA and IgG level were also tested. Results: The fibrosis level and inflammatory activity level in the patients' hepatic tissues showed significant positive correlation ($r=0.589, P<0.01$). Serum HBV DNA level showed positive correlation with ANA ($r=0.302, P<0.01$) and IgG ($r=0.404, P<0.01$). They showed no obvious correlation with fibrosis level, inflammatory activity level or defected liver function ($P>0.05$). ANA showed positive correlation with IgG level ($r=0.4221, P<0.01$) and liver damage ($r=0.662, P<0.01$). IgG level and defected liver function showed significant positive correlation ($r=0.518, P<0.01$). Conclusion: As the logarithmical degree of HBV DNA increases, ANA is more likely to be positive. Higher IgG level often leads to higher serum IgG, which follows an increase of liver damages and positive ANA rates. The study did not prove that any serological index can be used as a reliable predictive index to identify the severity of chronic hepatitis B. So far, liver biopsy is still the golden metrics to detect and diagnose pathological changes in liver tissues.

Key words: Hepatitis B; Liver pathology; HBV DNA; ANA; IgG

中图分类号: R512.62

文献标识码: B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2014.08.002

对于慢性乙型病毒性肝炎患者,抗病毒治疗的起始时机一直为临床肝病专科医师所关注。无论是无创的影像学超声学检查,还是血清学检测,抑或是难以作为普查首选的肝组织病理活检,诊断的手段日趋增多,无疑是为了准确评估患者肝组织损伤程度。但各种手段都有无可避免的局限性,或敏感性特异性不高,或患者依从性不佳,或有创性或可能潜在不良反应事件。即便是作为金标准的穿刺活检,亦可因医生穿刺取样标本经验不足,读片者偏倚而造成最后评估结论的偏差。笔者通过分析 90 例慢性乙型病毒性肝炎患者肝组织学同血清学指标数据,探讨病理活检与血清学检测的相关性,探索肝活检在临床慢性乙型病毒性肝炎分期分级诊断的重要性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择我院肝病科 2012~2013 年住院行肝组织病理学检查的慢性乙型病毒性肝炎患者 90 例,其中男 62 例,女 28 例;年龄 12~63 岁,平均

年龄(37.53 ± 11.03)岁;要求血清 HBsAg(+),HBV DNA 阳性病程大于 6 个月。所有病例符合《慢性乙型肝炎防治指南》(2010 年修订)^[1]中关于 HBV 感染的诊断标准,排除合并 HAV、HCV、HDV、HEV 感染患者,排除脂肪肝、酒精性肝病、代谢性肝病、药物性肝损害、自身免疫性肝病以及半年内接受过抗病毒和免疫抑制剂治疗的患者;要求上述病例中 ALT 持续正常的慢性 HBV 感染患者半年内未服用过降酶护肝等药物。

1.2 方法

1.2.1 生化免疫检测 血清 ALT、AST 用美国 Beckman 公司自动生物化学仪 LX20 检测,其正常上限(ULN)分别是 40 IU/L、40 IU/L,ALT > 100 IU/L 或 AST > 80 IU/L 其中之一或两者均是视为肝功能异常。血清乙肝标记物,包括 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb IgM 和 HBcAb IgG,用美国 Abbott 试剂盒检测;HBV DNA 用实时 PCR 荧光定量检测法测定,其检测低限是 5.0×10^2 IU/mL;ANA

用德国 Euroimmun 公司试剂盒采用间接免疫荧光法检测。

1.2.2 病理活检 所有患者均在 B 超指引下经皮肝穿刺活检术,运用一次性穿刺针(18G 巴德氏)行快速肝穿刺 2 次,获取长度约 1.5 cm 的肝组织标本,后使用 10%甲醛溶液固定,石蜡包埋,切片作苏木精-伊红染色,再由我院 2 名病理科医生于高倍光学显微镜下观察,盲法读片。病理诊断按慢性肝炎活动度分级、纤维化分期标准,炎症分级为 G₀~G₄,纤维化分期为 S₀~S₄[2]。

1.3 统计学方法 采用 SPSS16.0 进行统计学分析。对连续变量采用单因素方差分析,对分类变量采用卡方检验,应用 Spearman 检验进行相关性分析,P<0.05 为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 肝组织检查情况 在本组 90 例慢性 HBV 感染患者中,肝组织检查示 G₁S₀ 者 4 例,G₁S₁ 患者 28 例,G₁S₂ 者 8 例,G₁S₃ 者 3 例,G₁S₄ 者 1 例,G₂S₁ 者 10 例,G₂S₂ 者 17 例,G₂S₃ 者 5 例,G₂S₄ 者 3 例,G₃S₂ 者 1 例,G₃S₃ 者 7 例,G₃S₄ 者 3 例。

2.2 肝组织不同炎症活动度分级患者血清 HBV DNA 水平、IgG 值比较 见表 1。G₁、G₂ 和 G₃ 组患者血清 HBV DNA 定量比较差异无统计学意义(P=1.00>0.05);三组患者血 IgG 值比较差异无统计学意义(P=0.166>0.05)。

表 1 不同炎症分级患者 HBV DNA 指标、IgG 值比较 (X̄±S) 例

分级	n	年龄(岁)	男	女	HBV DNA (IU/mL)*	IgG (mg/mL)#
G ₁	44	37.43±10.28	27	17	4.53×10e7±1.52×10e8	13.38±2.52
G ₂	35	37.83±12.81	28	7	5.72×10e7±1.81×10e8	13.09±2.60
G ₃	11	37.00±8.39	7	4	1.54×10e7±4.57×10e7	15.68±3.45

注:HBV DNA 及 IgG 值经过数据转换满足正态分布及方差齐性。*P=1.000>0.05;#P=0.166>0.05。

2.3 肝组织不同纤维化分期与患者血清 HBV DNA 水平、IgG 值比较 见表 2。在 S₀、S₁、S₂、S₃ 以及 S₄ 患者血清 HBV DNA 定量比较差异无统计学意义(P=0.750>0.05);五组患者血 IgG 值比较差异无统计学意义(P=1.000>0.05)。

表 2 不同纤维化分期患者 HBV DNA 指标、IgG 值比较 (X̄±S)

分级	n	年龄(岁)	男	女	HBV DNA (IU/mL)*	IgG (mg/mL)#
S ₀	4	30.75±4.35	3	1	4.83×10e7±5.87×10e7	12.16±1.54
S ₁	38	38.00±11.03	23	15	8.31×10e7±2.29×10e8	13.51±2.57
S ₂	26	36.31±10.27	21	5	2.11×10e7±5.25×10e7	13.53±2.70
S ₃	15	37.73±11.92	10	5	1.73×10e7±4.17×10e7	14.44±3.49
S ₄	7	43.00±14.22	5	2	1.28×10e6±1.71×10e6	12.69±2.88

注:HBV DNA 及 IgG 值经过数据转换满足正态分布及方差齐性。*P=0.750>0.05;#P=1.000>0.05。

2.4 不同病理分级同肝功及 ANA 抗体相关性比较 见表 3。对各病理分级分期中肝功异常者及 ANA 抗体阳性者行关联性检验,病理分级分期与肝功状况及 ANA 阳性检出率无关联,差异不具有统计学意

义,P>0.05。

表 3 不同病理分级分期同肝功及 ANA 抗体相关性 例

分级分期	n	肝功正常	肝功异常*	ANA 阴性	ANA 阳性#
G ₁	44	24	20	26	18
G ₂	35	16	19	23	12
G ₃	11	4	7	4	7
S ₀	4	4	0	3	1
S ₁	38	17	21	21	17
S ₂	26	13	13	15	11
S ₃	15	7	8	10	5
S ₄	7	3	4	4	3

注:*χ²_{Gr-S}=1.395,P=0.498>0.05;χ²_{S₀₋₄}=4.588,P=0.332>0.05;#χ²_{Gr-S}=2.980,P=0.225>0.05;χ²_{S₀₋₄}=1.034,P=0.905>0.05。

2.5 病理分期分级及各血清学指标两两间相关性 见表 4。随肝组织纤维化程度的加重,炎症活动度亦逐渐加重,两者呈显著正相关(r=0.589,P=0.000);血清 HBV DNA 水平与 ANA 抗体呈正相关(r=0.302,P=0.004),与血清 IgG 值呈正相关(r=0.404,P=0.000),与纤维化程度以及炎症活动度无显著性相关(P>0.05);血清 ANA 抗体与血清 IgG 值(r=0.4221,P=0.000)及肝功能受损(r=0.662,P=0.000)呈正相关;血清 IgG 值越高,肝功能受损可能性越大,两者呈显著正相关(r=0.518,P=0.000);肝功能受损与肝组织炎症活动度或纤维化程度均无显著性相关(r=0.123,P=0.250 和 r=0.071,P=0.509)。

表 4 病理分期分级及各血清学指标两两间相关性

Spearman's rho	纤维化分期	炎症分级	HBV DNA	ANA	IgG	肝功异常
r	1.000	0.589*	-0.078	-0.066	0.047	0.071
sig.	/	0.000	0.466	0.537	0.660	0.509
r	0.589*	1.000	0.110	0.020	0.132	0.123
sig.	0.000	/	0.302	0.850	0.215	0.250
r	-0.078	0.110	1.000	0.302#	0.169	0.404 [▲]
sig.	0.466	0.302	/	0.004	0.111	0.000
r	-0.066	0.020	0.302#	1.000	0.421 [△]	0.662 [▽]
sig.	0.537	0.850	0.004	/	0.000	0.000
r	0.047	0.132	0.169	0.421 [△]	1.000	0.518 [▽]
sig.	0.660	0.215	0.111	0.000	/	0.000
r	0.071	0.123	0.404 [▲]	0.662 [▽]	0.518 [▽]	1.000
sig.	0.509	0.250	0.000	0.000	0.000	/

注:*P=0.000<0.01;#P=0.004<0.01;▲P=0.000<0.01;△P=0.000<0.01;▽P=0.000<0.01;P=0.000<0.01。

3 讨论

慢性乙型病毒性肝炎患者由乙型肝炎病毒引起,因机体对病毒的免疫应答而介导肝组织炎症损伤与肝纤维化进程的一组疾病,免疫反应的持续作用,将使肝组织不可逆转地向肝硬化、肝癌方向发展。由于高水平层面的 HBV 复制可激活机体免疫系统,伴随而来的是肝细胞不断受损及肝脏自我修复启动,在损伤和修复的循环往复中,肝组织炎症活动及纤维化进程相辅相成、互相促进,直至发展为肝硬化乃至肝癌。因此,肝炎症活动度分级同纤维化分期具有中度正相关性(P<0.01),随着炎症活动度的加强,纤维化分期也在加重,同多篇报道结论一致。

根据 2010 慢性乙型病毒性肝炎治疗指南,启用抗病毒治疗的标准离不开病毒载量及血清 ALT 水平,本研究纳入了上述两项血清学指标。然而统计结果提示,无论是肝组织炎症活动度分级还是纤维化分期,都与血清 HBV DNA 对数级、ALT 阳性与否无相关性 ($P>0.05$)。大量国内外研究证实^[3-4],慢性乙型病毒性肝炎患者血清中 HBV DNA 水平与肝脏组织病理学改变无相关性,HBV DNA 对数级代表的是病毒载量及体内病毒复制情况,大量病毒复制激活免疫导致肝组织受损及纤维化进程,并非病毒直接对肝细胞的作用。因此,单纯的 HBV DNA 无法预测肝组织病理的进程,不能单纯凭血清 HBV DNA 高低作为评估肝脏病理学变化的依据,更不能仅以此作为抗病毒治疗的根据。至于 ALT 水平,潘爱萍^[5]研究指出,血清 ALT 水平是判断肝内炎症活动度的可靠指标,随着血清 ALT 水平的升高,肝内炎症活动度亦是加重的。可上述结论与本研究相悖,与艾香英的研究^[6]相符合,笔者考虑有以下两方面原因:其一为 ALT 代谢过程,血清 ALT 测定肝细胞损害的灵敏度很高,肝细胞炎性水肿等原因所致的细胞膜通透性增加或者肝细胞破裂坏死均能导致血清中 ALT 迅速升高;但不少病理活检结果告诉我们,并非所有炎症活动度重的患者血清 ALT 均明显升高^[7],甚至有一部分已达 G₃ 分级的患者^[8]其血清 ALT 从未升高大于 2 倍上限,ALT 未达抗病毒标准却存在肝脏隐匿进展表现,活检的重要性在此突显。笔者认为,ALT 虽敏感性高且特异性强,但半衰期仅为 17 h,短暂的半衰期会让 ALT 下降幅度及速度都明显快于肝组织实际情况,抽血化验的结果具有相当一部份是假阴性的。其二,本研究未进行 ALT 数值的详细记录,仅仅是人为将其划分为“有肝功异常、无肝功异常”两类,连续性数值变量按有序分类处理后将会损失信息,也许是信息损失导致的统计学结论偏差。但无论是何种因素所致,都不应该单纯以 ALT 水平判断是否开始抗病毒治疗。已有不少研究提示,大于 40 岁以上病程较长的男性患者,无论 ALT 水平如何,都建议行肝活检^[9]。

本研究引入了新的血清学指标包括抗核抗体 ANA 及血清 IgG 水平,目的是想观察上述两个指标对肝脏纤维化进程有无预示作用。实验结果令人失望,无论是抗核抗体还是 IgG 都与肝组织病理改变

无关,无法提示肝组织活检的病理分期。但这四个血清学检测指标却存在一些内在相关性,如 ANA 抗体及血清 IgG 均与 HBV DNA 水平均呈正相关 ($P<0.01$),随着 HBV DNA 对数级的增加,ANA 抗体阳性出现可能性更大,IgG 水平亦更高,这个结论同周海舟等^[10]研究结果一致。HBV 感染可引发自身免疫性反应,导致抗核抗体产生,这种自身免疫性反应与感染者病毒的复制水平有关;同时,血清 ANA 抗体与血清 IgG 值 ($P<0.01$) 及肝功能受损 ($P<0.01$) 呈正相关;血清 IgG 值越高,肝功能受损或抗核抗体阳性几率会增大,两者呈显著正相关 ($P<0.01$);但在同等病理改变下,在同一纤维化分期或同一炎症活动度分级的患者里比较,肝功能受损与不同抗核抗体阳性率无统计学差异。

综上所述,本研究所选取的血清学指标同肝脏病理活检无明显相关性,无法用 HBV DNA 水平、IgG 水平、抗核抗体及肝功能受损与否推测肝脏组织病理改变。随着 HBV DNA 对数级的增加,ANA 抗体阳性出现可能性更大,IgG 水平亦更高;血清 IgG 值越高,肝功能受损或抗核抗体阳性几率会增大;肝组织活检依旧是准确判断肝组织病理改变程度的金标准,其地位不可动摇。未来还需要更多的病例及数据说话,寻找更有意义的检测指标,让慢性乙型病毒性肝炎的患者得到及时、有效的诊治。

参考文献

- [1]中华医学会肝病学会和感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010 版)[J].实用肝脏病杂志,2011,14(2):81-89
- [2]中华医学会传染病与寄生虫病学分会,肝病学会.病毒性肝炎防治方案[J].中华肝脏病杂志,2000,8(6):324-329
- [3]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(1):26-28
- [4]柯柳,温小凤,蒋忠胜,等.慢性肝炎患者乙型肝炎病毒复制与肝纤维化程度的关系[J].广东医学,2010,31(5):628-629
- [5]潘爱萍.慢性乙型肝炎患者肝功能、血清 HBVDNA 水平与肝脏病理相关性研究[J].医学临床研究,2007,24(10):1 659-1 661
- [6]艾香英,符林春,范慧敏,等.35 例 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理学分析[J].实用肝脏病杂志,2013,16(2):122-124
- [7]Kumar M,Sarin SK,Hissar S,et al.Virologic and histologic features of chronic hepatitis B virus-infected asymptomatic patients with persistently normal ALT [J].Gastroenterology,2008,134 (5):1 376-1 384
- [8]农村立,龙腾河,郭玺.ALT 正常的慢性乙型肝炎肝组织学特点与临床分析[J].山东医药,2012,52(7):51-53
- [9]陆忠华,陈卫,王娟华,等.220 例慢性乙型肝炎病毒携带者病理特点及 5 年随访[J].南京医科大学学报,2009,29(4):530-533
- [10]周海舟,张娜,宋丽婷,等.乙型肝炎患者血清抗核抗体的研究[J].哈尔滨医科大学学报,2011,45(3):255-257

(收稿日期:2013-05-30)

欢迎广告惠顾!

欢迎投稿!

欢迎订阅!