

临床研究

DOI: 10.11699/cyx20130830

不同基因类型 HBV 感染早期肝硬化患者 肝脏病理与临床的关系

王继业, 胡金华, 程书权, 唐振祥, 张 磊

(桂林市第三人民医院肝病科, 桂林 541002)

【摘要】目的:探讨慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者中早期肝硬化与非肝硬化患者在 HBV 基因型及临床常用的各项非创伤性指标方面的差异。**方法:**随机选择 CHB 患者 178 例进行肝穿活检病理检查, 进行分级分期诊断, 将其分为非肝硬化组($S_0 \sim S_3$ 期)及早期肝硬化组(S_4 期); 采用实时荧光定量 PCR 方法对其中 90 例患者行 HBV 基因分型。**结果:**178 例 CHB 患者非肝硬化组 134 例, 占 75.3%; 肝硬化组 44 例, 占 24.7%。2 组在性别、年龄及 HBeAg 的表达上有差异(表 1); 肝硬化组中 C 基因型所占的比例(55.6%)明显高于非肝硬化组(22.2%), 差异有统计学意义($\chi^2=7.788, P=0.005$); HBV DNA 在肝硬化及非肝硬化组中的数值变化无统计学意义; 2 组在总胆红素、碱性磷酸酶、 γ -谷氨酰转肽酶、谷草转氨酶、白蛋白、球蛋白、前白蛋白、胆碱酯酶、血小板、脾脏肋间厚度上的差异有统计学意义(表 4)。**结论:**临床诊断为 CHB 的患者中, 通过肝活检发现 24.7% 存在有早期肝硬化, 提示仅依据临床资料可能使近 1/4 的 CHB 患者病情被低估。C 基因型 CHB 患者肝组织病理改变明显重于 B 基因型, B、C 基因型分型检测结合肝穿活检病理检查有助于判断疾病轻重及预后, 有助于指导治疗及评估预后。

【关键词】肝炎病毒, 乙型; 早期肝硬化; 基因型; 临床

【中国图书分类法分类号】R512.62

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-05-01

Hepatic pathological and clinical relationship in early cirrhosis patients infected with different HBV genotypes

WANG Jiye, HU Jinhua, CHENG Shuquan, TANG Zhenxiang, ZHANG Lei

(Department of Hepatitis, the Third People's Hospital of Guilin)

【Abstract】Objective: To discuss differences in HBV genotypes and nontraumatic indexes commonly used in clinics between chronic hepatitis B (CHB) patients with early cirrhosis and CHB patients without cirrhosis. **Methods:** Totally 178 patients with CHB were selected randomly for liver biopsy pathological examination and underwent hierarchical diagnosis. All patients were divided into non cirrhosis group ($S_0 \sim S_3$ stage) and early cirrhosis group (S_4 stage). Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR) was used to do HBV genotype. **Results:** There were 134 cases in non cirrhosis group, accounting for 75.3%; 44 cases in cirrhosis group, accounting for 24.7%. There were differences in gender, age and HBeAg expression between two groups. Proportion of C genotype was much higher in cirrhosis group (55.6%) than in non cirrhosis group (22.2%), with statistical differences. There was no statistical difference in numerical change of HBV DNA between cirrhosis group and non cirrhosis group. There were statistical differences in total bilirubin, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltranspeptidase, aspartate aminotransferase, albumin, globulin, prealbumin, cholinesterase, platelet, spleen intercostal thickness between two groups. **Conclusions:** Among all clinically diagnosed CHB patients, 24.7% have early cirrhosis based on the results of liver biopsy, indicating 1/4 patients' condition may be underestimated. Pathological changes of liver tissue are significantly heavier in CHB patients with C genotype than those with B genotype. B, C genotype classification combined with liver biopsy helps to determine the severity and prognosis of disease, conducive to the treatment and assessment. **【Key words】** hepatitis virus, B type; early cirrhosis; genotype; clinics

作者介绍: 王继业, Email: sy2551305@163.com,

研究方向: 消化道疾病的诊断与治疗。

通信作者: 程书权, Email: csq126@sina.com。

目前,HBV 至少已有 A~J 10 种基因类型^[1-3],其中 A、B、C、D、F、H 6 种基因型还存在有不同的亚型^[2],国外一些地区还发现某些基因的重组体^[1]。不同基因型的 HBV 感染不仅有明显的地理分布,且对判别急、慢性感染和机体自发性 HBeAg 血清转换速率,评估疾病进展风险^[3-4],遴选最佳的抗病毒治疗药物等均具有重要的指导价值^[4-5]。Hassan 等^[6]认为,相对于 A、C 基因型 HBV 感染,B 基因型易于加速肝纤维化向肝硬化(liver cirrhosis,LC)和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)的发展进程。但亦有研究^[7]认为基因类型与患者的HBeAg 表达,LC、肝癌和慢性肝功能衰竭的发生无关。为进一步了解不同基因型 LC 患者肝脏病理与临床的关联,本文对 178 例做过肝活检的慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B,CHB)资料加以总结。

1 资料与方法

1.1 病例选择

本组纳入研究的病例均为 2007 年 1 月~2011 年 12 月在本院肝病科住院并做肝活检 CHB 患者,共 178 例。临床诊断符合 2000 年 9 月中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》中慢性乙型肝炎的诊断标准^[8]。所有患者入院时均检查血常规、凝血 4 项、肝功能、HBV 血清标记物(HBV-M)、HBV-DNA、肝纤维化 4 项、腹部 B 超等。其中 90 例患者做 HBV 基因型检查。所选病例均无其它嗜肝病毒(甲、丙、丁、戊、CMV、EBV 等)重叠或合并感染,无合并肝吸虫感染及结核杆菌感染,无酒精性肝病,未进行过抗 HBV 治疗。

1.2 检查设备与方法

1.2.1 实验室检查 HBV-M 定量检测采用时间分辨荧光检测系统,试剂购自上海新波生物技术有限公司,配有美国产 Bio Red 自动洗板机;HBV-DNA 和 HBV 基因型诊断仪器为中山达安 DA-7600 型荧光定量 PCR 仪及其配套设备,HBV-DNA 试剂盒由广州达安基因公司提供,严格按照说明书要求进行规范操作。基因型检测按广州达安基因公司基因型(B、C、D)试剂盒说明书操作每人份按 23 μ l B、C、D 反应液分别加入 1 U Taq 酶和 2 μ l 模板来配制反应体系。荧光 PCR 反应体系反应条件:94 $^{\circ}$ C 1 min;94 $^{\circ}$ C 5 s;60 $^{\circ}$ C 30 s,40 个循环。荧光素设定为 FAM。样本在哪一型反应液中有扩增即为该型。

1.2.2 病理检查 肝活检在 B 超定位下,用美国产 Bard MAGNUM 型穿刺枪,16 G 穿刺针实施 1 s 负压法于呼气末快速肝组织穿刺活检,获取肝组织 10~20 mm,包含 4 个以上可供评价的汇管区,即刻固定于 4%甲醛溶液中,由高年资病理医师在未知患者疾病状态的情况下进行炎症活动、纤维化

程度进行分级和分期诊断^[9]。其标准严格参照 2000 年《病毒性肝炎防治方案》中的慢性肝炎分级、分期标准^[8],每份病理标本均经 2 位医师复核,以减少诊断误差。

1.3 统计分析

应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析。正态分布数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析检验或 t 检验,方差不齐时,采用两样本比较的秩和检验(Mann-Whitney U 检验),两样本率的比较采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 肝脏组织病理改变

178 例 CHB 患者肝组织炎症活动度、纤维化程度情况见表 1。全组依据肝活检的纤维化分期结果显示:非 LC 组($S_0 \sim S_3$)134 例,占 75.3%;早期 LC 组(S_4 ,以下简称 LC 组)44 例,占 24.7%。

表 1 178 例 CHB 患者肝组织炎症活动度与纤维化程度情况(n)

纤维化程度	炎症活动度					合计
	G_0	G_1	G_2	G_3	G_4	
S_0	0	1	0	0	0	1
S_1	0	24	38	0	0	62
S_2	0	4	15	21	0	40
S_3	0	0	3	21	7	31
S_4	0	0	1	14	29	44
合计	0	29	57	56	36	178

2.2 非 LC 组和 LC 组比较

2.2.1 非 LC 组和 LC 组 HBV 基因类型的分布 本组 178 例临床诊断为 CHB 的患者随机选取 90 例进行 HBV 基因分型(表 2),其中 B 基因型 64 例,C 基因型 26 例,未发现其他基因型。由表 2 可知,2 组中 B、C 基因型所占的比例不同,差异有统计学意义,其中 LC 组中 C 基因型所占的比例较高,而非 LC 组中则以 B 基因型为优。

表 2 B、C 基因型在 2 组中的分布($n, \%$)

组别	B 基因型	C 基因型
非 LC 组	56 (77.8)	16 (22.2)
LC 组	8 (44.4)	10 (55.6)
χ^2 值	7.788	
P 值	0.005	

2.2.2 非 LC 组和 LC 组在性别、e 抗原的分布差异比较 表 3 显示,非 LC 组与肝硬化组在年龄、性别及 HBeAg 的表达方面不同,差异有统计学意义。即 CHB 患者中非 B 超及 CT 所见的早期 LC 更易于发生在年龄较大、HBeAg 阴性的男性患者,但两组在 HBeAb 的表达方面差异无统计学意义。

表 3 2 组在性别、e 抗原和 e 抗体中的分布比较 (n, %)

Tab.3 Comparison on distribution of sex, e antigen and e antibody between two groups (n, %)

组别	年龄 (岁)	性别		e 抗原		e 抗体	
		男	女	阳性	阴性	阳性	阴性
非 LC 组	30.93 ± 8.85	99 (73.9)	35 (26.1)	75 (56.0)	59 (44.0)	48 (35.8)	86 (64.2)
LC 组	37.98 ± 9.79	40 (90.9)	4 (9.1)	16 (36.4)	28 (63.6)	21 (47.7)	23 (52.3)
χ^2 值/ ν 值	-4.465	5.614		5.096		1.978	
P 值	0.000	0.018		0.024		0.160	

2.2.3 非 LC 组和 LC 组各项非创伤性指标比较 由表 4 可见,在非 LC 组及 LC 组中谷草转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)、总胆红素(total bilirubin,TB)、白蛋白(albumin,ALB)、球蛋白(globulin,GLB)、胆碱酯酶(cholinesterase,CHE)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)、 γ -谷氨酸转肽酶(gamma-glutamyltranspeptidase,GGT)、前白蛋白(prealbumin,PA)、血小板(platelet,PLT)及脾脏厚度的水平明显不同,肝硬化组中 AST、TB、GLB、ALP、GGT 及脾脏厚度均高于非肝硬化组,ALB、CHE、PA 及 PLT 的水平低于非肝硬化组;两组中 ALT、WBC 及 HBV-DNA 的表达水平差异无统计学意义。

表 4 2 组各项非创伤性指标比较

Tab.4 Comparison on various nontraumatic index between two groups

组别	非 LC 组	LC 组	F 值/ Z 值	P 值
ALT(U/L)	193.57 ± 306.88	268.02 ± 264.00	2.020	0.151
AST(U/L)	109.34 ± 167.59	174.61 ± 186.47	4.749	0.031
TB(秩均值)	80.50	116.80	4.050	0.000
ALB(g/L)	41.79 ± 5.53	35.66 ± 5.39	41.265	0.000
GLB(秩均值)	83.30	108.30	2.800	0.005
CHE (U/L)	7 340.15 ± 2 298.30	5 248.64 ± 1 948.76	29.454	0.000
ALP(秩均值)	77.30	126.80	5.530	0.000
GGT(U/L)	64.93 ± 83.37	132.48 ± 98.88	19.783	0.000
PA(mg/L)	202.87 ± 53.05	154.30 ± 39.45	31.177	0.000
WBC(10^9 个/L)	6.06 ± 2.08	5.44 ± 1.70	3.225	0.074
PLT(10^9 个/L)	174.88 ± 51.02	120.36 ± 41.69	41.169	0.000
脾脏厚度 (mm)	49.85 ± 5.97	56.45 ± 8.91	31.180	0.000
HBV-DNA (log)	5.49 ± 1.52	5.61 ± 1.66	0.202	0.654

3 讨论

迄今为止,慢性 HBV 感染仍为 LC 和 HCC 的主要病因。如全球 55%~60% 的 HCC 罹发于 HBV 感染,CHB 患者的 LC 和 HCC 年发病率分别为 2%~10% 和 1%~3%^[1,10]。LC 作为一种常见的临床综合征,是许多肝脏疾病发生发展过程中的严重阶段或

终末期改变,在我国大多由 CHB 发展而来。由于其临床经过缓慢而潜隐,早期不易被临床发现。本组 178 例 CHB 入院时均行血清生化学和影像学检查,排除了 LC,肝穿刺活检却发现其中 24.7% 达到早期 LC 水平。提示肝活检可作为“金标准”更好地反映肝脏病变的性质与程度,为肝脏病的诊断提供客观准确的依据^[3,9]。

本研究将肝组织病理学与 HBV 基因型及临床常用的各项血清学指标结合,探讨基因型与 LC 的关系及早期 LC 患者各项指标的改变。结果显示,性别、年龄及 HBeAg 的表达在 LC 及非 LC 组中的差异有统计学意义。LC 组中男性的比例及平均年龄均高于非 LC 组,提示高龄、男性是 CHB 发生 LC 的高危因素,这与 Yin 等^[11]结果一致。HBeAg 阳性的 CHB 患者存在 LC 的比率比 HBeAg 阴性者少,显示 HBeAg 阴性的患者存在 LC 的可能性比 HBeAg 阳性者大。从生化指标看,TB、ALP、GGT 在 2 组间均有统计学意义,提示 CHB 演变至 LC 可能存在毛细胆管的慢性炎症或胆红素代谢异常。AST、ALB、GLB、PA、CHE、PLT、脾脏厚度在 2 组间差异有统计学意义,提示这些指标对临床判断 CHB 是否存在 LC 具有一定的参考价值。

我国已发现的 HBV 基因型主要为 B、C 和 D 型 3 种,偶见 A 型。其中以 B、C 型为主,北方以 C 型居多,南方 B 型居多^[12]。本研究对 178 例 CHB 中的 90 例进行了 HBV 基因型检测,LC 组中 B 基因型占 44.4%,C 基因型占 55.6%,而非 LC 组中 B 基因型的比例明显高于 C 型,LC 组中 C 基因型的比例明显高于非 LC 组。说明不同的 HBV 基因型可能是造成不同的肝组织学改变的原因之一,C 基因型较 B 基因型更容易导致 CHB 患者肝纤维化或 LC 的发生与发展^[5,12]。Molina-Pérez 等^[13]在西班牙对 89 例不同基因型 CHB 患者临床资料进行分析发现,D 基因型患者肝组织学损害程度相对于 A、B 与 C 基因型感染者最轻;B 基因型相对于 C 基因型则较早出现

HBsAg 血清转换,肝纤维化进展较慢,肝癌发生率较低。

HBV DNA 水平虽然为肝炎病毒复制的直接标志,但本研究结果发现,HBV DNA 载量与肝组织纤维化程度无关,提示 HBV 复制程度与 CHB 患者的肝细胞损害程度无明显关系。这与以往对 CHB 患者血清 HBV DNA 载量与其病情严重程度与肝组织炎症分级和纤维化分期的相关性研究^[4,12,14]和国内有关报道^[15]一致。

综上所述,依据临床表现诊断为 CHB 的患者中,24.7% 的 LC 可被漏诊,需肝活检加以甄别。这部分 LC 虽处于早期代偿阶段,但病变程度和临床处理及预后已经与普通 CHB 有很大不同。提示临床的各种非创伤性指标作为病情判断局限性颇大,尽管有了 FibroScan 这类新的评价肝纤维化的影像学设施问世^[16],但肝活检对肝脏病变程度的判断及抗 HBV 疗效的评估价值仍不可替代^[9,17]。此外,本研究也说明 HBV 基因类型的差异可能是造成不同的肝组织学改变的原因之一,C 基因型较 B 基因型可带来相对严重的肝组织学改变。HBV 基因分型结合肝穿刺活检查对临床的指导价值更为显著。

参 考 文 献

- [1] Lin C L, Kao J H. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: recent advances[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(s1): 123-130.
- [2] Santos A O, Alvarado-Mora M V, Botelho L, et al. Characterization of hepatitis B virus (HBV) genotypes in patients from Rondônia, Brazil [J]. *Virol J*, 2010, 12(7): 315-325.
- [3] Pezzano S C, Torres C, Fainboim H A, et al. Hepatitis B virus in Buenos Aires, Argentina: genotypes, virological characteristics and clinical outcomes[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2011, 17(2): 223-231.
- [4] 程书权, 胡金华, 倪 辉, 等. 不同基因型慢性乙型肝炎患者对 α 干扰素联合甘露聚糖肽治疗的临床研究[J]. *临床荟萃*, 2010, 25(20): 1749-1754.
- Cheng S Q, Hu J H, Ni H, et al. Clinical analysis of α -interferon combined with mannan peptide treatment of chronic hepatitis B in different genotypes[J]. *Clinical Focus*, 2010, 25(20): 1749-1754.
- [5] Chen C H, Lee C M, Hung C H, et al. Hepatitis B virus genotype B results in better immediate, late and sustained responses to peginterferon- α in hepatitis-B-e-antigen-positive patients[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(3): 461-468.
- [6] Hassan Z K, Hafez M M, Mansor T M, et al. Occult HBV infection among Egyptian hepatocellular carcinoma patients[J]. *Virol J*, 2011, 8: 90.
- [7] Yan T, Li K, Li F, et al. T1846 and A/G1913 are associated with acute on chronic liver failure in patients infected with hepatitis B virus genotypes B and C[J]. *J Med Virol*, 2011, 83(6): 996-1004.
- [8] 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[J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8(6): 324-329.
- Society of Epidemiology and Parasites, Society of Hepatology, Chinese Medical Association. Viral hepatitis prevention and treatment plan[J]. *Chinese Journal of Hepatology*, 2000, 8(6): 324-329.
- [9] 伍林柏, 唐振祥, 程书权. 300 例快速肝穿刺活检术并发症临床分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2011, 27(10): 1081-1083.
- Wu L B, Tang Z X, Cheng S Q. Clinical analysis with rapid liver biopsy complications at 300 patients[J]. *Journal of Clinical Hepatology*, 2011, 27(10): 1081-1083.
- [10] Lok A S. Hepatitis B: liver fibrosis and hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterol Clin Biol*, 2009, 33(10-11): 911-915.
- [11] Yin J H, Zhao J, Zhang H W, et al. HBV genotype C is independently associated with cirrhosis in community-based population[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(3): 379-383.
- [12] 胡金华, 程书权. HBV 的基因分型研究与应用进展[J]. *国际病毒学杂志*, 2010, 17(4): 102-105.
- Hu J H, Cheng S Q. Research and application progress of HBV genotypes[J]. *International Journal of Virology*, 2010, 17(4): 102-105.
- [13] Molina-Pérez E, Castroagudín J F, Aguilera-Guirao A, et al. Viral and host factors related with histopathologic activity in patients with chronic hepatitis B and moderate or intermittently elevated alanine aminotransferase levels[J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2010, 102(9): 519-525.
- [14] 胡金华, 程书权, 唐振祥, 等. 不同基因型 HBV 感染的慢性乙型肝炎患者的临床和病理改变研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2012, 37(4): 355-359.
- Hu J H, Cheng S Q, Tang Z X, et al. Research clinical and pathological changes of chronic hepatitis B patients infected different HBV genotypes[J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2012, 37(4): 355-359.
- [15] 吴剑华, 阮清发, 林 立, 等. 慢性乙肝患者血清病毒载量、肝组织病毒抗原表达及炎症分级的关系[J]. *临床肝胆病杂志*, 2006, 22(1): 33-34.
- Wu J H, Ruan Q F, Lin L, et al. Relationship of serum viral load, liver virus antigen expression and levels of inflammation in chronic hepatitis B patients[J]. *Journal of Clinical Hepatology*, 2006, 22(1): 33-34.
- [16] Zhu X, Wang L C, Chen E Q, et al. Prospective evaluation of FibroScan for the diagnosis of hepatic fibrosis compared with liver biopsy/AST platelet ratio index and FIB-4 in patients with chronic HBV infection[J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(9): 2742-2749.
- [17] Rockey D C, Caldwell S H, Goodman Z D, et al. Liver biopsy[J]. *Hepatology*, 2009, 49(3): 1017-1044.

(责任编辑: 冉明会)