

· 临床论著 ·

乙型肝炎患者抗病毒前后肝组织病理检查的变化与意义

陈育霞 李东良 杨环文 丁红兵 曾龙 刘小龙

【摘要】目的 通过对慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗前后肝组织病理检查的差异性比较,初步探讨干扰素与核苷(酸)类似物抗病毒治疗效果。**方法** 对29例单独应用干扰素或核苷(酸)类似物治疗的慢性乙型肝炎患者,于治疗前和治疗后48周进行肝组织活检,用半定量系统计分方案对治疗前后肝组织学进行评分,比较治疗前后变化并分析其意义。**结果** 治疗前后相比,HBV DNA完全应答组获得显著的组织学改善。抗病毒治疗48周干扰素与核苷(酸)类似物两种抗病毒方式相比较无差异。**结论** 无论是干扰素或是核苷(酸)类似物抗病毒,获得病毒学完全应答均可明显改善肝脏炎症、纤维化程度,不同机制的抗病毒药物治疗在48周时肝脏组织学变化无明显差异。

【关键词】 肝炎, 乙型, 慢性; 组织学; 干扰素; 核苷(酸)类似物

Changes and significance of liver histology before and after antiviral therapy in patients with chronic hepatitis B CHEN Yuxia*, LI Dongliang, YANG Huanwen, DING Hongbing, ZENG Long, LIU Xiaolong. *Clinical Liver Diseases Research Center, Nanjing Military Command, 180th Hospital of PLA, Quanzhou 362000, China

Corresponding author: CHEN Yuxia, Email: cv007@21cn.com

【Abstract】Objective To investigate the change of liver histology and evaluate the efficacy of two kinds of different mechanisms antiviral therapy on patients with chronic hepatitis B (CHB). **Methods** Liver biopsy tissues were done in 29 CHB patients who adopt interferon therapy or nucleos(t)ide analogues therapy before therapy and 48 weeks later. Histological scores were evaluated according to the semi-quantitative rating system. **Results** Compared with the liver inflammation and fibrosis, HBV DNA completely response group get the histologic improvement significantly. The effect of interferon and nucleos(t)ide analogues therapy are indiscriminate at 48 weeks. **Conclusions** Whether interferon therapy or nucleos(t)ide analogues therapy which could get virological completely response, get the obvious degree of improvement, and at 48 weeks the two kinds of different mechanisms antiviral therapy efficacy are indiscriminate.

【Key words】 Chronic hepatitis B; Histology; Interferon; Nucleos(t)ide analogues

慢性乙型肝炎治疗的最终目的是最大限度地长期抑制乙型肝炎病毒(HBV)复制,减轻肝细胞炎症、纤维化程度,延缓病情进展为肝功能衰竭、肝硬化和肝细胞癌。慢性乙型肝炎治疗过程中抗病毒治疗是关键,包括干扰素与核苷(酸)类似物两种不同机理的抗病毒药物。本研究发现,治疗前后病理组织炎症损伤、纤维化严重程度与抗病毒的应答效果具有相关性。

资料与方法

一、病例选择

入组病例均符合2010年中华医学会肝病分会及中华医学会传染病分会修订的《慢性乙型肝炎防治指南》的临床及病理诊断标准^[1]。病例来自2005年8月至2012年10月于本院门诊或住院患者。其中男性26例,女性3例,年龄18~59岁。均有抗病毒适应证。符合:①HBsAg阳性者,HBV DNA $\geq 10^5$ 拷贝/ml; HBsAg阴性者,HBV DNA $\geq 10^4$ 拷贝/ml; ②ALT $\geq 2 \times$ ULN; ③ALT $< 2 \times$ ULN,但肝组织学显示Knodell HAI ≥ 4 ,或炎症坏死 \geq G2,或纤

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.03.016

作者单位: 362000 泉州市,中国人民解放军180医院肝病中心(陈育霞、杨环文、丁红兵、曾龙、刘小龙); 中国人民解放军南京军区福州总院(李东良)

通讯作者: 陈育霞, Email: cv007@21cn.com

维化 \geq S2。在开始治疗前应排除由药物、酒精或其他因素所致的ALT升高,也应排除应用降酶药物后ALT暂时性正常。所有受试者均签署了自愿参加试验的知情同意书。

二、治疗方法

入组病例分为干扰素组和核苷(酸)类似物组,共29例。其中干扰素组患者18例,均给予干扰素 α -1b 5 MU,隔日1次皮下注射,使用48周;核苷(酸)类似物组患者11例,均给予核苷(酸)类似物,1次/d口服,服用48周。治疗过程中定期动态检测肝功、HBV标志物、HBV DNA,治疗前、后每例患者均行经皮肝组织活检病理检查。

三、实验室检查

肝功能检测采用美国贝克曼CX-10全自动生化分析仪,试剂盒由贝克曼公司提供;HBV标志物检测采用瑞士罗氏公司的Cobas e601型电化学发光仪,试剂盒由罗氏公司提供;HBV DNA检测采用美国安捷伦MX3000P实时荧光定量PCR仪,试剂由上海申友生物公司提供,最低检测水平为 5×10^2 拷贝/ml。

四、病理组织学检测

巴德一次性活检穿刺针(16 G),标本长度在1.5 cm以上(1.5~2.0 cm)。镜下至少包括6

个以上汇管区。肝组织穿刺标本作连续切片,常规作苏木精-伊红、网状纤维染色及HBsAg、HBcAg免疫组织化学染色,并由两名病理科医师读片后定病理诊断结果。病理诊断标准划分按2000年西安全国肝病会议标准,将肝炎病变依炎症活动度和纤维化程度分别分为G1~4级和S1~4期。

五、疗效评价

1. HBV DNA应答:完全应答:HBV DNA低于检测下限,部分应答:HBV DNA阳性但定量下降 $\geq 10^2$ 拷贝/ml;无应答:HBV DNA定量下降 $< 10^2$ 拷贝/ml。

2. 非创伤性指标的疗效评估:可按临床、生化、影像3大部分参数改变考核治疗的显效、有效和无效^[2]。显效:临床症状和体征、肝功能、凝血功能、血清肝纤维化指标、AFP及影像学指标(门静脉主干内径、脾厚度)恢复正常,且停药后维持稳定。有效:在疗程结束及其以后随访中,临床症状和体征明显减轻并稳定;肝功能、凝血功能、在疗程结束后应有明显改善,各项指标趋于正常,且停药后维持稳定;血清肝纤维化指标在疗程结束后4项,测定值较治疗前下降 $\geq 40\%$,且停药后维持稳定;至少门静脉主干内径和脾厚度有明显缩小。无效者未达到上述指标。

表1 炎症活动度计分标准

计分	汇管区炎症(P)	小叶内炎症(L)	碎屑坏死(PN)	桥接坏死(BN,包括多小叶坏死)
0	无	无	无	无
1	部分汇管区少量炎细胞浸润	无	局限PN	偶见BN主为P-P
3	多数汇管区较多炎细胞浸润	多数坏死灶	多数汇管区PN达周长50%	少数BN出现C-P
4	汇管区扩大炎细胞集聚淋巴滤泡形成	坏死灶融合成片	PN广泛>周长50%深达小叶中带	BN范围广小叶结果失常或多小叶坏死

注:计分:P+L+2(PN+BN)

表2 纤维化程度计分标准

计分	中央静脉周/窦周	汇管区(P)	数量(N)	纤维间隔(S) 宽度(W) ^a
0	无	无	无	—
1	局限、少数	扩大无间隔	<6 cm	细
2	弥漫、多数	扩大有间隔	>6 cm	疏松、宽
3	—	肝硬化	肝硬化	致密、宽
4	—	—	—	$\geq 2/3$ 活检面积

注:计分:L+P+2(N+W);^a:标本内仅一细纤维间隔,W计分0.5。“—”:表示不存在

表3 抗病毒治疗 HBV DNA 不同应答状态治疗前后组织学比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	例数	炎症程度	纤维化程度
完全应答组	14		
治疗前		17.50 \pm 2.01	14.71 \pm 1.54
治疗后		4.79 \pm 1.22	9.14 \pm 1.59
t		6.5640	4.9840
P		0.0001	0.0001
部分应答组	12		
治疗前		16.83 \pm 2.50	15.17 \pm 1.58
治疗后		6.83 \pm 1.56	12.17 \pm 1.95
t		3.051	1.945
P		0.011	0.078
无应答组	3		
治疗前		16.33 \pm 7.66	13.00 \pm 6.00
治疗后		10.33	10.33 \pm 5.20
t		1.078	1.000
P		0.394	0.423

3. 组织病理学疗效评估: 半定量计分系统(semiquantitative scoring system, SSS)^[2]: 炎症活动度半定量计分系统和纤维化半定量计分系统(见表1~2)^[3]。

六、统计学处理

应用SPSS 19.0统计学软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料以数值表示, 等级资料采用Wilcoxon秩和检验; 在分析前不同治疗方案的差别均做正态检验及方差齐性检验。两组均数的比较采用独立样本 t 检验, 治疗前、后比较使用配对 t 检验, 以 $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

结 果

一、所有抗病毒组治疗前后组织学比较

1. HBV DNA不同应答状态与抗病毒治疗前后组织学比较: 完全应答组治疗后较治疗前炎症、纤维化程度均显著下降, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 部分应答组治疗后较治疗前炎症、纤维化程度均下降, 炎症程度对比, 差异具有统计学意义, 但纤维化程度对比, 两组差异均无统计学意义; 无应答组患者治疗后较治疗前炎症、纤维化程度均下降, 但炎症程度、纤维化程度差异均无统计学意义(P 均 > 0.05), 见表3。

2. 非创伤性指标的疗效与抗病毒治疗前后组织学比较。显效组与有效组治疗后炎症、纤维化程度较治疗前下降, 炎症程度、纤维化程度差异均具有统计学意义; 无效组治疗后较治疗前炎症、纤维化程度均下降, 但炎症程度、纤维化程度差异均无统计学意义(P 均 > 0.05), 见表4。

二、干扰素抗病毒组治疗前后组织学比较

1. HBV DNA不同应答状态与抗病毒治疗前后组织学比较: 完全应答组治疗后较治疗前炎症、纤维化程度均显著下降, 且有统计学意义($P < 0.05$); 部分应答组与无应答组治疗后较治疗前炎症、纤维化程度均下降, 但两组差异均无统计学意义

(P 均 > 0.05), 见表5。

2. 非创伤性指标的疗效与抗病毒治疗前后组织学比较: 显效组治疗后炎症、纤维化程度较治疗前下降, 纤维化程度对比, 差异具有统计学意义, 但炎症程度差异无统计学意义($P > 0.05$), 考虑与应答例数少有关; 有效组治疗后炎症、纤维化程度较治疗前下降, 炎症程度对比, 具有统计学意义($P < 0.05$), 而纤维化程度两组差异无统计学意义; 无效组治疗后炎症、纤维化程度较治疗前下降, 但差异无统计学意义(P 均 > 0.05), 见表6。

三、核苷(酸)类似物抗病毒组治疗前后组织学比较

1. HBV DNA不同应答状态与抗病毒治疗前后组织学比较: 完全应答组治疗后较治疗前炎症、纤维化程度均显著下降, 且有统计学意义($P < 0.05$); 部分应答组治疗后较治疗前炎症、纤维化程度均下降, 但两组差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表7; 无效组因例数少, 未统计。

2. 非创伤性指标的疗效与抗病毒治疗前后组织学比较: 显效组与有效组治疗后炎症、纤维化程度较治疗前下降, 炎症程度、纤维化程度差异均具有统计学意义($P < 0.05$), 见表8; 无效组因例数少, 未统计。

四、干扰素与核苷(酸)类似物不同抗病毒组的组织学比较

干扰素组与核苷(酸)类似物组炎症程度改变差异无统计学意义($t = -1.603$, $\lambda = 27$, $P = 0.121$); 两组纤维化程度改变差异亦无统计学意义($t = -1.608$, $\lambda = 27$, $P = 0.12$)。恩替卡韦和干扰素抗病毒治疗1年前后肝脏病理见图1~2。

讨 论

近年研究表明, 慢性乙型肝炎患者体内HBV DNA水平与肝脏炎症活动度、肝硬化/原发性肝癌的发生率具有显著相关性, 活动性HBV复制造成肝

表4 抗病毒治疗总体不同疗效治疗前后组织学比较($\bar{x} \pm s$)

项目	例数	炎症程度	纤维化程度
显效组	10		
治疗前		18.20 \pm 2.50	16.70 \pm 1.31
治疗后		5.30 \pm 1.59	10.30 \pm 2.00
t		5.4140	4.679
P		0.0001	0.001
有效组	16		
治疗前		16.56 \pm 2.02	13.81 \pm 1.52
治疗后		6.00 \pm 1.27	10.69 \pm 1.66
t		4.086	2.589
P		0.001	0.021
无效组	3		
治疗前		16.33 \pm 7.66	13.00 \pm 6.00
治疗后		10.33	10.33 \pm 5.20
t		1.078	1.000
P		0.394	0.423

表5 干扰素治疗 HBV DNA 不同应答状态治疗前后组织学比较($\bar{x} \pm s$)

项目	例数	炎症程度	纤维化程度
完全应答组	6		
治疗前		14.67 \pm 3.48	13.67 \pm 3.09
治疗后		4.50 \pm 2.20	9.83 \pm 2.72
t		3.448	3.136
P		0.018	0.026
部分应答组	10		
治疗前		15.60 \pm 2.86	14.70 \pm 1.86
治疗后		7.50 \pm 1.74	12.20 \pm 2.24
t		2.229	1.431
P		0.053	0.186
无应答组	2		
治疗前		12.50 \pm 11.5	10.00 \pm 9.00
治疗后		4.50 \pm 2.50	6.00 \pm 5.00
t		0.889	1
P		0.537	0.5

表6 抗病毒治疗总体不同疗效治疗前后组织学比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	例数	炎症程度	纤维化程度
显效组	4		
治疗前		16.75 ± 4.75	18.00 ± 1.00
治疗后		4.50 ± 3.17	12.75 ± 1.30
t		2.951	4.200
P		0.06	0.025
有效组	12		
治疗前		14.75 ± 2.49	13.08 ± 1.98
治疗后		7.00 ± 1.53	10.83 ± 2.12
t		2.572	1.544
P		0.026	0.151
无效组	2		
治疗前		12.50 ± 11.5	10.00 ± 9.00
治疗后		4.50 ± 2.5	6.00 ± 5.00
t		0.889	1.0
P		0.537	0.5

脏损伤和疾病进展。因此,2010版《指南》强调抗病毒治疗是关键,将乙型肝炎抗病毒治疗的总目标描述为最大限度地长期抑制HBV,减轻肝细胞炎症坏死及肝纤维化,延缓和减少肝脏失代偿、肝硬化、HCC及其并发症的发生,从而改善患者的生活质量^[5]。而不同的抗病毒治疗方案的选择是否影响治疗效果,也是临床医生与患者所关心的。通过肝脏病理这一客观的指标及炎症、纤维化半定量计分系统,可以更加准确地得出相关结论。

评价抗病毒治疗最常用的是 Knodell 等^[6]的 HAI (histological activity index) 评分系统,在炎症活动度分值划分较细致,而在纤维化分值偏低,过于简单。此后相继由 Scheuer^[7] (1991年)、Ludwig^[8] (1993年)、Desmet^[9] (1994年) 和

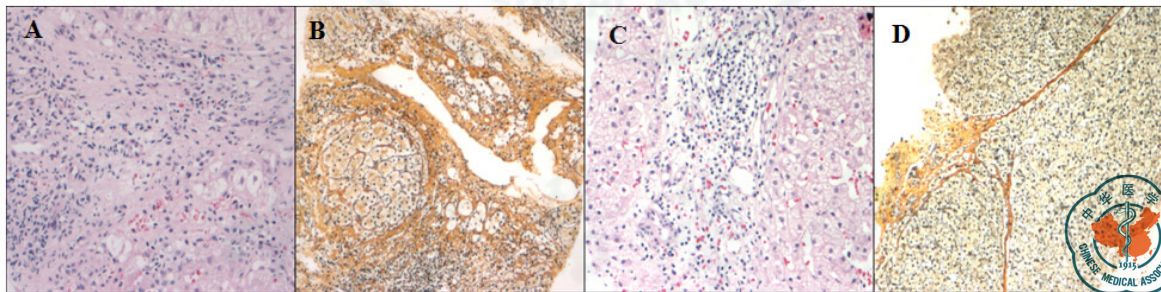
表7 核苷(酸)类药物药物治疗 HBV DNA 不同应答状态治疗前后组织学比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	例数	炎症程度	纤维化程度
完全应答组	8		
治疗前		19.63 ± 2.26	15.50 ± 1.55
治疗后		5.00 ± 1.50	8.63 ± 2.32
t		5.818	4.188
P		0.001	0.004
部分应答组	2		
治疗前		23.00 ± 1.00	17.50 ± 1.50
治疗后		3.50 ± 3.50	12.00 ± 5.00
t		7.8	1.571
P		0.081	0.361

表8 核苷(酸)类药物药物治疗总体不同疗效治疗前后组织学比较 ($\bar{x} \pm s$)

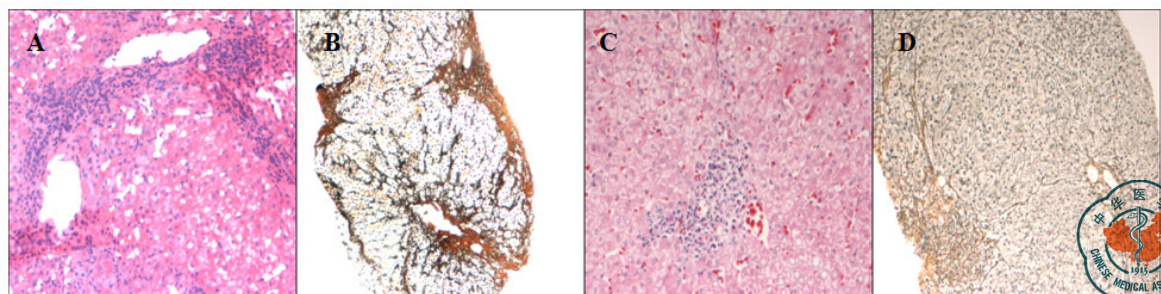
项目	例数	炎症程度	纤维化程度
显效组	6		
治疗前		19.17 ± 3.0	15.83 ± 2.10
治疗后		5.83 ± 1.86	8.67 ± 3.15
t		4.207	3.308
P		0.008	0.021
有效组	4		
治疗前		15.83 ± 2.10	16.00 ± 1.08
治疗后		3.00 ± 1.58	10.25 ± 2.35
t		12.908	3.481
P		0.001	0.040

Ishak 等^[10] (1995年) 等提出了修改方案。1994年 Chevallier 等^[11] 提出了纤维化的形态结构与间隔数量相结合的半定量评分系统较为合理。以往国内研究资料表明,抗病毒治疗可以改善肝组织的炎症程度,却无法改善纤维化程度或改善不明显^[12-13]。这是由于采用的是 Knodell 的 HAI 计分系统或者我国的慢性肝炎分级分期标准产生的局限性造成,此项



注: A 为抗病毒治疗前 HE 染色 ($\times 200$), 半定量系统计分为 24 分; B: 抗病毒治疗前嗜银染色 ($\times 100$), 半定量系统计分为 19 分。C: 抗病毒治疗后 HE 染色 ($\times 200$), 半定量系统计分为 5 分; D: 抗病毒治疗后嗜银染色 ($\times 100$), 半定量系统计分为 7 分

图1 恩替卡韦抗病毒治疗 1 年前后肝脏病理



注: A: 为抗病毒治疗前 HE 染色, 半定量系统计分为 19 分; B: 抗病毒治疗前嗜银染色, 半定量系统计分为 14 分。C: 抗病毒治疗后 HE 染色, 半定量系统计分为 4 分; D: 抗病毒治疗后嗜银染色, 半定量系统计分为 7 分

图2 干扰素抗病毒治疗 1 年前后肝脏病理

研究通过半定量计分系统,可以看出,抗病毒治疗可使肝组织炎症、纤维化程度减轻,且无论是干扰素还是核苷(酸)类似物,治疗后 HBV DNA 获得完全应答组均能明显改善肝组织炎症、纤维化程度;临床观察通过无创伤性指标如按临床、生化、影像三大部分参数,应用核苷(酸)类似物抗病毒治疗达到显效或有效者,亦可达到明显改善组织学,而应用干扰素抗病毒显效、有效者,可部分减轻组织学,不排除抗病毒治疗疗程短的因素。同时,从该项研究也可以看出,一定时期内,获得病毒学完全应答是达到治疗目的的必要、首要条件,可作为优化路线图参考,但干扰素或核苷(酸)类似物两者抗病毒治疗方式对肝组织的改善差异无统计学意义,可能受疗程等因素影响,本研究将继续追踪、观察病例,做进一步相关的统计学分析。总之,肝组织学改善与抗病毒治疗效果显著相关。无论如何,抗病毒治疗是关键,只要有适应证,且条件允许,就应进行规范的抗病毒治疗^[1]。

参考文献

- 1 中华医学会肝病学分会,传染病分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010

陈育霞,李东良,杨环文,等.乙型肝炎患者抗病毒前后肝组织病理检查的变化与意义[J/CD].中华实验和临床感染病杂志:电子版,2014,8(3):368-372.

- 年版[J].实用肝脏病杂志,2011,14(2):83-84.
- 2 曾德民,王泰龄,王宝恩.肝纤维化诊断与疗效评估共识[J].诊断性理论与实践,2002,1(3):191-192.
- 3 王泰龄,刘霞,周元平.慢性肝炎炎症活动度及纤维化程度计分方案[J].中华肝病杂志,1998,12(6):195-196.
- 4 王玉华,韩忠厚,王贵强.慢性乙型肝炎患者干扰素 α 治疗前后肝组织病理变化与抗病毒效果的关系[J].中华内科学杂志,2005,44(6):464-465.
- 5 张燕,王全楚.慢性乙型肝炎抗病毒治疗进展[J].胃肠病学和肝病学杂志,2012,21(10):897-900.
- 6 Knodell RG, Ishak GK, Black WC, et al. Formulation and application of an numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis[J]. Hepatology, 1981, 1(5):431-435.
- 7 Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment[J]. J Hepatol, 1991, 13(3):372-374.
- 8 Ludwig J. The nomenclature of chronic active hepatitis: an obituary[J]. Gastroenterology, 1993, 105(1):274-278.
- 9 Desmet VJ. East-West pathology agreement on precancerous liver lesions and early hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2009, 49(2):355-357.
- 10 Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis[J]. J Hepatol, 1995, 22(1): 696-699.
- 11 Chevallier M, Guerret S, Chossegros P, et al. A histological semiquantitative scoring system for evaluation of hepatic fibrosis in needle liver biopsy specimens: comparison with morphometric studies[J]. Hepatology, 1994, 20(2):349-355.
- 12 刘伟,罗婵.慢性乙型肝炎拉米夫定治疗前后组织学变化的病理研究[J].临床消化病杂志,2001,13(1):19-20.
- 13 张迁,万谟彬,李成忠.长效干扰素和拉米夫定治疗慢性乙型肝炎的病理观察[J].第二军医大学学报,2005,26(9):1043-1045.

(收稿日期:2013-10-20)

(本文编辑:孙荣华)