文章编号:1000-5404(2012)17-1783-03

论著

HBV-DNA低复制慢性乙肝患者血清HA、LN、PcⅢ、CⅣ水平与肝纤维化病理分期相关性分析

张立婷,赵荣荣,陈 红,李俊峰 (730000 兰州,兰州大学第一医院感染科)

[摘要] **目的** 研究HBV-DNA低复制、肝功能基本正常或轻微异常的慢性乙肝患者(chronic hepatitis B,CHB)肝纤维化血清指标与肝组织纤维化程度之间的关系。**方法** 选择84例HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者,采用双抗体夹心酶联免疫法检测血清透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、Ⅲ型胶原(PcⅢ)、Ⅳ型胶原(CⅣ)水平,并与其肝组织病理分期进行对比研究。**结果** 不同年龄段的HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者其HA、LN、PcⅢ、CⅣ水平均具有显著性差异($P<0.01$),血清HA、PcⅢ和CⅣ水平随着肝内纤维化程度的加重而递增,并与肝纤维化程度呈正相关,而LN水平在肝纤维化各期无明显差异,与肝纤维化程度无明显相关性($P>0.05$)。**结论** 对于不同年龄段的HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者,血清肝纤维化指标可作为反映此类患者肝纤维化程度的参考指标,并对该类患者治疗时期的选择具有一定的指导意义。

[关键词] 慢性乙肝;HBV-DNA低复制;肝纤维化;血清肝纤维化指标
[中图法分类号] R512.62; R446.112; R446.8 [文献标志码] A

Correlation between serum levels of hyaluronic acid, laminin, procollagen Ⅲ and collagen Ⅳ and pathological stage of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B patients with low duplication of HBV-DNA

Zhang Liting, Zhao Rongrong, Chen Hong, Li Junfeng (Department of Infectious Diseases, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu Province, 730000, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the correlation between the serum markers and the pathological stage of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B patients with low duplication of HBV-DNA and normal or mildly abnormal hepatic function. **Methods** Eighty-four hepatitis B patients with low duplication of HBV-DNA and normal or mildly abnormal hepatic function were enrolled and divided into a young group (age <45 years, $n=58$) and an old group (age≥45 years, $n=26$). The serum levels of hyaluronic acid (HA), laminin (LN), procollagen III (Pc III) and collagen IV (C IV) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay, and meanwhile liver biopsy was performed to examine the pathological stage (S_0-S_4) of hepatic fibrosis. **Results** The serum levels of HA, LN, Pc III and C IV were significantly higher in the old group than in the young group ($P<0.01$). The serum levels of HA, Pc III and C IV increased along with the aggravation of hepatic fibrosis, and they were positively correlated with the pathological stage of hepatic fibrosis ($r=0.618$, 0.575 and 0.492, respectively; $P<0.01$). The serum level of LN was not correlated with the degree of hepatic fibrosis ($P>0.05$). **Conclusion** In hepatitis B patients with low duplication of HBV-DNA and normal or mildly subnormal hepatic function, the serum levels of HA, Pc III and C IV can be used as markers for predicting the pathological stage of hepatic fibrosis.

[**Key words**] chronic hepatitis B; low duplication of HBV-DNA; liver fibrosis; serum markers of liver fibrosis

Supported by the Major Project of "Eleventh Five-year Plan" of Science and Technology Program for Prevention and Treatment of Infectious Diseases (2008ZX10002-005). Corresponding author: Zhang Liting, Tel: 86-931-8625200, E-mail: lcheneye@163.com

[基金项目] 国家"十一五"传染病防治科技重大专项资助(2008ZX10002-005)
[通信作者] 张立婷,电话:(0931)8625200,E-mail:lcheneye@163.com

目前,国内外慢性乙肝(chronic hepatitis B,CHB)防治指南中均提出,对于HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常患者,需动态观察,建议定期行肝穿刺组织病理检查,根据患者肝脏纤维化分期及炎症分级,明确是否需要抗病毒、抗纤维化等治疗[1-4]。但因肝穿刺的创伤性使其在临床应用中受到限制,故这类患者何时需要治疗,在临床上经常会困扰医师做出准确判断。而血清肝纤维化标志物测定是无创伤性的,并可间接地反映肝脏纤维化及炎症程度,尤其对于HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的患者,肝纤维化指标与肝脏病理诊断的临床相关性研究异常突出[5]。因此,我们检测了84例HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者的透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、Ⅲ型胶原(PcⅢ)、Ⅳ型胶原(CⅣ)4种肝纤维化血清学指标,结合导致肝硬化发展的不同危险因素并与其肝组织病理学进行对比分析,探讨这4种指标在肝纤维化诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 病例选择

2006年8月至2010年3月在兰州大学第一医院感染科门诊就诊及住院的慢性乙肝(chronic hepatitis B,CHB)患者84例,均已签署知情同意书。纳入标准:诊断明确的CHB患者,患者HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常(HBV-DNA $\leq 10^4$拷贝/ml、ALT $<2\times$ULN)。排除标准:HCV等其他嗜肝病毒重叠感染,自身免疫性疾病,甲状腺功能异常,近期嗜酒或药瘾者,曾接受干扰素或其他中西药治疗。由于年龄对肝纤维化病情的影响,根据年龄分为<45岁、≥45岁组:<45岁组58例,包括男性49例,女性9例,平均42.3岁;≥45岁组26例,包括男性23例,女性3例,平均51.4岁。

1.2 肝脏组织学检查

活检肝组织采用10%甲醛固定,石蜡包埋,常规苏木精-伊红染色,由1名病理医师在双盲条件下读片,根据2000年全国第10次病毒性肝炎及肝病学术会议修订的《病毒性肝炎防治方案》对肝组织进行炎症、坏死及纤维化程度分级分期。

1.3 血清肝纤维化指标检测

在肝组织活检前1周内分别留取患者晨空腹静脉血5 ml,室温静置1 h,3 000 r/min离心10 min吸取2~3 ml血清冰箱保存。HA、LN、PcⅢ、CⅣ均采用双抗体夹心酶联免疫法检测。

1.4 统计学处理

采用SPSS 11.0统计软件,计量资料用$\bar{x}\pm s$表示,各实验组经方差齐性检验,方差齐采用单因素方差分析,方差不齐采用Wilcoxon秩和检验,相关性采用Spearman等级相关分析。

2 结果

2.1 不同年龄组与血清肝纤维化指标的关系

>45岁年龄组与<45岁年龄组的CHB患者血清中HA、HA、LN、PCⅢ、CⅣ相比,均具有统计学差异($P<0.01$,表1)。

表1 不同年龄组与血清肝纤维化指标的关系($\bar{x}\pm s$)

组别	n	HA(ng/ml)	LN(μg/L)	PcⅢ(μg/L)	CⅥ(μg/ml)
<45岁组	58	123.5±67.3	143.6±70.8	157.4±111.9	89.4±23.3
>45岁组	26	178.9±78.4[a]	201.5±124.8[a]	207.0±81.6[a]	157.8±75.4[a]

a:$P<0.01$,与<45岁组比较

2.2 肝活检组织病理纤维化分期与血清肝纤维化指标的关系

对HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者进行肝组织和血清肝纤维化指标的检测发现,HA在S_2、S_3、S_4期时,与S_0期具有明显的统计学差异($P<0.01$);S_2与S_1期、S_3与S_4期差异有统计学意义($P<0.01$)。S_3、S_4期的LN与S_0期相比差异有统计学意义($P<0.01$),S_3、S_4之间差异同样具有统计学意义($P<0.01$)。PcⅢ在S_1、S_2、S_3、S_4期与S_0期有明显差异($P<0.01$),在S_2与S_3、S_3与S_4期之间有统计学差异($P<0.01$)。CⅥ在S_2、S_3、S_4期与S_0期之间有统计学差异($P<0.01$),S_2与S_3、S_3与S_4期之间也有统计学差异($P<0.01$)。见表2。

表2 肝组织病理分期与血清肝纤维化指标的关系($\bar{x}\pm s$)

分期	n	HA(ng/ml)	LN(μg/L)	PcⅢ(μg/L)	CⅥ(μg/ml)
S_0	32	87.5±16.7	108.9±51.4	98.7±42.3	56.8±14.9
S_1	20	106.3±23.5	122.3±34.1	125.6±72.7[a]	78.6±56.3
S_2	18	145.8±56.9[ab]	136.5±67.4	167.5±51.7[a]	108.5±38.7[a]
S_3	6	179.6±46.9[a]	161.8±43.2[a]	198.9±114.3[ac]	157.7±109.5[ac]
S_4	8	238.6±157.2[ad]	235.1±123.8[ad]	256.4±87.6[ad]	199.5±72.6[ad]

a:$P<0.01$,与S_0期比较;b:$P<0.01$,与S_1比较;c:$P<0.01$,与S_2比较;d:$P<0.01$,与S_3比较

2.3 血清肝纤维化指标与肝活检组织病理纤维化分期的相关性

相关性分析发现,HA与肝纤维化程度具有一定的相关性,相关系数为0.618($P<0.01$),PcⅢ、CⅣ与肝组织纤维化程度相关系数分别为0.575、0.492,二者与肝纤维化具有相关性($P<0.01$),但是LN指标和肝纤维化无相关性。

3 讨论

肝纤维化早期诊断主要靠组织病理学、影像学及血清学指标检查等,其中以肝穿刺病理活检最为准确,但因其具有创伤性,且难以进行动态观察,作为常规检查并不现实。而各种常用的肝纤维化影像学检查手段对早期肝纤维化不够敏感,以及对于其诊断难以定量化,在临床应用中具有一定局限性[6-7]。既往研究表明肝纤维化早期是可以逆转的[8-9],如果能早期诊断肝纤维化,则有可能减少或延缓肝硬化及其并发症,以

及原发性肝癌的发生率及病死率。肝纤维化从本质上来说,是机体对各种原因引起的肝损伤的修复反应,是肝星状细胞激活后产生大量细胞外基质(extracellular matrix,ECM)在肝脏异常沉积造成的,也是各种慢性肝病进展至肝硬化的共同病理学基础[10]。因此,血清ECM的成分及其降解物以及参与代谢的酶和细胞调控因子等可作为诊断肝纤维化的标志物,特别是对HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者,用无创性指标来反映肝脏纤维化及炎症程度在临床上显得尤为重要。本研究选择了HA、LN、PcⅢ、CⅣ4种指标并结合导致肝硬化发展的不同危险因素和肝穿刺病理活检进行相关性分析。

对于长期体内HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者,在30~40年可无明显临床表现,但在45岁左右可进展为肝硬化[11],之后10年约25%发生并发症。本研究结果显示以45岁为界的2组患者血清HA、LN、PcⅢ、CⅣ的差异均具有显著的统计学意义($P<0.01$)。说明血清HA、LN、PcⅢ、CⅣ水平与HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者的年龄有关,年龄是肝纤维化病情进展的高危因素。同时感染年龄对CHB自然史以及并发症的发生亦有重要影响[12-13],在此基础上,我们进一步对此类患者血清肝纤维化指标与肝组织病理分期的关系及二者之间的相关性进行分析。结果显示血清HA、PcⅢ、CⅣ水平在不同肝纤维化分期中具有明显差异,且与肝纤维化程度呈正相关($P<0.01$),与纤维化分期相关性依次为HA>PcⅢ>CⅣ,提示这3项指标可以作为指导HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者肝纤维化分期的参考指标。而血清LN在不同肝纤维化分期中差异无明显统计学意义,与肝纤维化分期无相关性。这可能是由于LN作为细胞外间质中的非胶原性结构糖蛋白,在正常肝组织中含量很少。在肝纤维化进展过程中,它可以与其他ECM成分交联,形成真正的基底膜样结构,即肝窦毛细血管化,而肝窦毛细血管化是肝硬化的特征性病理改变,因此,LN在纤维化后期升高尤为显著,其血清水平被认为与肝窦毛细血管化、门脉高压及肝功受损程度有关,是反映肝纤维化晚期的良好指标[14]。考虑本研究选取的均为HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的患者,且大多处于肝纤维化早期,故LN可能不足以反映这类患者肝纤维化的过程。

综上所述,不同年龄段的HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者,其血清肝纤维化指标水平的差异具有统计学意义,且血清HA、PcⅢ、CⅣ3项指标联合应用在判断这类患者肝纤维化分期中具有一定的参考价值。因此,血清肝纤维化指标在一定程度上可以指导临床医师根据HBV-DNA低复制、肝功基本正常或轻微异常的CHB患者的年龄段等具体情况,决定是否尽早行抗肝纤维化治疗,以延缓病变发展,提高此类患者的生存质量。

参考文献:

[1] European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines. Management of chronic hepatitis B[J]. Gastroenterol Clin Biol, 2009, 33(6/7): 539-554.

[2] Lok A S, McMahon B J. Chronic hepatitis B: update 2009[J]. Hepatology, 2009, 50(3): 661-662.

[3] 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]. 中华临床感染病杂志, 2011, 4(1): 1-13.

[4] 杨华, 罗亚文, 刘华庆, 等. 慢性乙型肝炎患者肝组织CXCR3及其配体IP 10表达与肝脏炎症程度、纤维化的相关性研究[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(3): 250-253.

[5] Baranova A, Lal P, Birerdinc A, *et al*. Non-invasive markers for hepatic fibrosis[J]. BMC Gastroenterol, 2011, 11: 91.

[6] Martinez S M, Crespo G, Navasa M, *et al*. Noninvasive assessment of liver fibrosis[J]. Hepatology, 2011, 53(1): 325-335.

[7] Parkes J, Roderick P, Harris S, *et al*. Enhanced liver fibrosis test can predict clinical outcomes in patients with chronic liver disease[J]. Gut, 2010, 59(9): 1245-1251.

[8] Friedman S L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis[J]. Gastroenterology, 2008, 134(6): 1655-1669.

[9] Friedman S L. Evolving challenges in hepatic fibrosis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010, 7(8): 425-436.

[10] 李宜辉, 郭萍, 达四平, 等. 血清Ⅲ型前胶原在肝纤维化诊断中的意义[J]. 第三军医大学学报, 1998, 20(5): 432,435.

[11] McMahon B J. The natural history of chronic hepatitis B virus infection[J]. Hepatology, 2009, 49(5 Suppl): S45-S55.

[12] Wright T L. Introduction to chronic hepatitis B infection[J]. Am J Gastroenterol, 2006, 101 Suppl 1: S1-S6.

[13] Aspinall E J, Hawkins G, Fraser A, *et al*. Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review[J]. Occup Med (Lond), 2011, 61(8): 531-540.

[14] 程明亮, 杨长清. 肝纤维化的基础研究及临床[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 236-249.

(**收稿**:2012-03-12;**修回**:2012-04-30)

(编辑 王 红)