维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2004)01－0034－04

拉米夫定治疗慢性乙型肝炎的肝组织病理学研究

杨 春[1], 肖永红[2], 管小琴[3]

(1.重庆医科大学临床学院感染科;2.北京大学临床药理研究所;3.重庆医科大学病理学研究室,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察拉米夫定治疗前后,慢性乙肝病人肝组织学及肝组织内 HBV 标志物的改变。方法:35 例病人予拉米夫定 100mg/d,连用 1 年。行治疗前后肝穿刺活检,切片 HE 染色,Knodell 评分,用免疫组化法检测肝细胞内 HBsAg、HBcAg、α－平滑肌肌动蛋白(α－SMA)。结果:治疗后肝活检示 41.18%患者肝组织学活动指数得以改善,汇管区坏死、门静脉炎症及纤维化明显改善。免疫组化检测示血清 HBeAg 转换组肝组织内 HBcAg、α－SMA 的表达明显减少,HBsAg 的表达无显著性改变。结论:拉米夫定 100mg/天治疗 1 年可减轻肝脏炎症坏死和肝纤维化程度,延缓肝纤维化的进展。一旦有 HBeAg 血清学转换,肝组织 HBcAg、α－SMA 表达减少。

【关键词】慢性乙型肝炎;拉米夫定;组织学;免疫组织化学

【中国图书分类法分类号】R512.620.5 【文献标识码】A 【收稿日期】2003－04－10

A study on the pathological efficacy of lamivudine in the treatment of chronic hepatitis B

YANG Chun, et al

(*Department of Infectious Diseases, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate hepatic pathohistological changes(including pathology, HBV markers in liver tissue) in patients with chronic hepatitis B treated with lamivudine. *Methods*: 35 patients of chronic hepatitis B were randomly selected and administered with 100mg lamivudine orally daily for 1 year. The needle biopsy of liver were performed before and after treatment. The routine HE stained liver tissue sections were evaluated and Knodell pathological score were done. HBsAg, HBcAg, α－SMA in liver tissue were examined by immunohistochemisty method. *Results*: After 1 year histological assessment revealed that activity index of hepatic histology in 41.18% patients had a significant decrease, while necrosis in portal area, portal vein phlebitis and fibrosis were oboviously alleviated. The liver immunohistochemistry examination showed that HBcAg and α－SMA in liver decreased significantly in the patients with HBeAg seroconversion, but HBsAg had no obvious alteration. *Conclusion*: These results suggest that lamivudine(100mg/d) alleviate the inflammation degree, slow down the development of liver fibrosis after 1 year therapy. Once HBeAg seroconversion appears, HBcAg and α－SMA in liver decreased.

【Key words】Chronic Hepatitis B; Lamivudine; Histology; immunohistochemistry

应用肝组织病理学评分和免疫组化技术,结合临床及血清学资料,研究拉米夫定治疗 1 年后,肝组织学改变及肝组织内 HBV 标志物的变化,了解拉米夫定抗病毒治疗的病理学疗效。

1 材料和方法

1.1 病例

研究的肝活检标本来自拉米夫定四期临床研究,入选者有 6 个月以上的 HBsAg 阳性史,子拉米夫定(由葛兰素威康苏州制药有限公司提供)100mg/d,共 52 周。35 例病人完成治疗前及治疗结束时两次经皮肝穿刺活检,其中男 25 例,女 10 例,年龄 15～42 岁,平均 26.94±6.59 岁,其中 28 例为 HBeAg＋,ALT 异常,5 例为 HBeAg＋,ALT 正常,2 例为 HBeAg－,ALT 异常。肝穿刺活检组织均行常规石蜡包埋,5μm 连续切片,分别行 HE 染色,HBsAg、HBcAg 及 α－SMA 染色(超敏 S－P 法)。

1.2 试剂与方法

1.2.1 肝组织学观察及评分标准

肝活检采用一秒钟穿刺法,肝穿刺活检组织均行常规石蜡包埋,5μm 连续切片,常规 HE 染色,由同一位病理专家采

作者介绍:杨 春(1974－),女,硕士,
主要研究方向:慢性乙型肝炎和感染性疾病。

维普资讯 http://www.cqvip.com

用 Knodell 计分法(HAI)[1]对肝组织学进行盲法比较和评分。以治疗前后肝组织学改变评估疗效,分改善(HAI 下降 2),未改善(HAI 变化为 +1～-1)和恶化(HAI 上升 2)。

1.2.2 免疫组织化学检测肝组织中 HBsAg、HBcAg、α-SMA

用免疫组织化学(超敏 S-P 法)检测肝组织中 HBsAg、HBcAg、α-平滑肌肌动蛋白(α-Smooth Muscle Actin,α-SMA)免疫组化染色。单克隆抗-HBsAg、多克隆抗-HBcAg 购自福建迈兴公司,单克隆抗 α-SMA 购自中山生物技术公司。即用型免疫组织化学超敏链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶(Streptavidin-Peroxidase,S-P)试剂盒为 KIT-9710,购自福建迈兴公司,按说明书操作。

1.3 统计学分析

显著性检验采用配对设计资料的 t 及 χ^2 检验,显著性水平 α 取 0.05,应用 SPSS 软件进行统计学处理。

2 结 果

2.1 肝组织学病理学变化

35 例慢性乙型肝炎患者行经皮肝穿刺活检,1 例因为穿刺肝组织较少,未行病理学评分,34 例病人行拉米夫定治疗前后肝穿切片比较,14 例慢性乙型肝炎患者在治疗后改善(其中包括 10 例 HBeAg+,ALT 异常;2 例 HBeAg+,ALT 正常;2 例 HBeAg-,ALT 异常),18 例未改善,2 例恶化,总改善率为 41.18%(14/34)。34 例患者治疗前后肝组织病理学评分,镜下大部分患者有不同程度的好转,肝组织活检提示治疗后汇管区坏死、门静脉炎症及纤维化明显改善,而肝小叶内炎症有一定程度的改善,但无统计学差异(图 1～4)。组织学 HAI 计分结果见表 1。

表 1 拉米夫定治疗前后组织学 HAI 计分变化(Knodell 法)($\bar{x} \pm s$)

分类	Knodell 法评分		
	治疗前	治疗	P 值
汇管区坏死	0.853±1.259	0.242±0.614	0.015
小叶内炎症	1.324±0.806	1.091±0.525	0.167
门静脉炎症	1.206±0.687	0.909±0.522	0.050
纤维化	1.412±0.821	0.970±0.770	0.026
总评分	4.794±2.626	3.182±1.704	0.004

2.2 免疫组织化学结果

2.2.1 肝组织内 HBsAg、HBcAg、α-SMA 的形态分布

HBsAg 阳性表达见于肝细胞的胞浆和胞膜,胞浆型多呈弥漫散在分布,膜型多聚集成片,治疗后 2



图 1 患者 A,拉米夫定治疗前,肝组织碎片状坏死伴较多炎症细胞浸润。HE×100



图 2 患者 A,拉米夫定治疗后,肝细胞炎症减轻,部分肝细胞肿胀,见个别点状坏死,未找到碎片状坏死。HE×100



图 3 患者 B,拉米夫定治疗前,肝细胞肿胀伴气球样变性,纤维增生形成条索并呈包绕肝细胞结节的趋势。HE×100

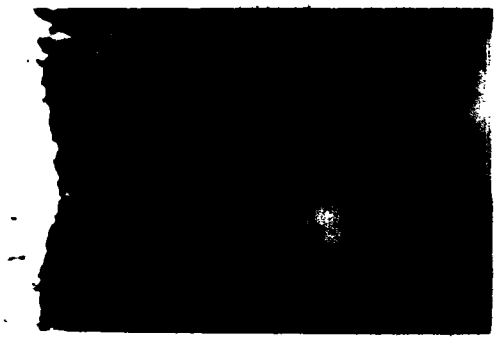


图 4 患者 B,拉米夫定治疗后,肝细胞变性及纤维化程度减轻。HE×100

维普资讯 http://www.cqvip.com



图 5 患者 C,拉米夫定治疗前,HBsAg 主要在肝细胞胞浆、胞膜上表达。超敏 SP 法 ×100



图 6 患者 C,拉米夫定治疗后,HBsAg 表达减弱,仅在局部区域肝细胞膜上有阳性反应。超敏 SP 法 ×400

例 HBsAg 由弥漫性胞浆型表达转变为散在灶性肝细胞胞浆表达。HBcAg 见于肝细胞核(核型)、胞浆和膜。以浆膜型 HBcAg 为主表达的肝细胞,多伴有核型 HBcAg。抗 α-SMA 主要分布于血窦边缘及汇管区周边部位(图 5、6)。

2.2.2 治疗前后肝组织内 HBsAg、HBcAg、α-SMA 的表达

治疗后 HBsAg 阳性例数由 18 例降至 16 例,HBcAg 由 19 例降至 18 例,肝星状细胞增生或活化状况评估采用半定量分析,判断标准如下:仅汇管区静脉及胆管肌层 α-SMA 阳性为"-",治疗前 8 例,治疗后 17 例;阳性着色的 α-SMA 局限于汇管区周边部位为"+",治疗前 21 例,治疗后 17 例;增殖的 α-SMA$\leqslant\frac{1}{2}$个肝小叶范围为"++",治疗前 6 例,治疗后 1 例;增殖的 α-SMA>1/2 个肝小叶范围为"+++",治疗前后均为 0 例。经配对 χ^2 检验,在治疗前、治疗后肝组织内 HBsAg、HBcAg 及 α-SMA 的表达其 P 值均大于 0.05,故治疗后肝组织中 HBsAg、HBcAg 及 α-SMA 的表达虽有一定程度的减少,但较治疗前并无统计学差异。治疗前后肝组织内 HBsAg、HBcAg、α-SMA 的表达见表 2。

2.2.3 拉米夫定治疗后肝内 HBsAg、HBcAg、α-SMA 与血清 HBeAg 转换的关系

治疗后行回顾性研究发现血清 HBeAg 转换组肝组织内 HBcAg、α-SMA 的表达明显减少,HBsAg 的表达无显著性改变;而血清 HBeAg 未转换组肝细胞内 HBsAg、HBcAg 和 α-SMA 的表达无明显减少(表 3)。

2.3 血清 HBV 标志

35 例患者经拉米夫定治疗后血清 HBV-DNA 阴转率为 32/35(91.43%),6 例出现 HBeAg 血清学转换,HBeAg 血清学转换率为 6/33(18.18%)。

2.4 肝功能变化

本组病例治疗前有 30 例 ALT 异常,治疗后 22 例降至正常,血清 ALT 正常化率为 22/30(73.33%)。35 例患者治疗前 ALT 均数为 100.31±78.27U/L,治疗后 ALT 均数为 45.06±73.66U/L,P 值<0.01,有显著性差异。

3 讨 论

肝穿刺病理检查为评估肝损伤的程度、预后及判断临床疗效提供了重要的依据。肝组织内 HBV 基因产物的检测不仅完善了血清 HBV 标志物的检测,并且可直接说明 HBV 在机体内的存在情况。结合肝穿刺病理改变和肝组织内 HBV 基因产物的检测结果,有助于更深入阐明拉米夫定对临床抗病毒治疗的疗效。

表 2 治疗前后肝组织内 HBsAg、HBcAg 及 α-SMA 的表达

	治疗前(例)				治疗 1 年后(例)			
	-	+	++	阳性率(%)	-	+	++	阳性率(%)
HBsAg	17	11	7	51.43	19	13	3	45.71
HBcAg	16	17	2	59.29	17	12	6	51.43
α-SMA	8	21	6	77.14	17	17	1	51.43

(经配对 x^2 检验,肝组织内 HBsAg、HBcAg 及 α-SMA 的表达在用药前、用药后 P 值均大于 0.05)

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 3 肝组织内 HBsAg、HBcAg 及 α-SMA 与血清 HBeAg 转换的关系

阳性例数	血清(HBeAg 转换组($n=6$)			血清 HBeAg 未转换组($n=27$)		
	前	后	P_1	前	后	P_2
HBsAg	5	2	>0.05	12	13	>0.05
HBcAg	5	1	<0.05	14	17	>0.05
α-SMA	5	0	<0.05	20	17	>0.05

我们研究发现拉米夫定治疗明显地减轻肝脏炎症活动度,尤其是门静脉和汇管区的炎症和坏死,已有文献报道[2],碎片状坏死及其程度是预测肝炎预后(特别是肝硬化)的重要组织学指标。28 例 $HBeAg^+$,ALT 异常的病人在治疗后有 10 例肝组织学改善,改善率为 10/28(35.71%)。5 例 $HBeAg^+$,ALT 正常的病人在治疗后有 2 例肝组织学改善,改善率为 2/5(40%)。2 例 $HBeAg^-$,ALT 异常的病人在治疗后肝组织学均得以改善,改善率为 2/2(100%)。治疗后发生血清学转换的均为 $HBeAg^+$,ALT 异常的病人,故即使未出现血清学转换,部分病人肝脏的炎症和纤维化同样得以明显改善,从而减少了慢性乙型肝炎相关并发症的发生。所以拉米夫定有比干扰素更为广泛的患者使用,如前 C 区变异的患者,慢性乙肝病毒携带者。

一项国内的研究显示[3],肝组织 HBcAg 与血清 HBeAg 关系密切,肝组织 HBcAg 的表达可作为反映 HBV 活动性复制的可靠标志。6 例发生 HBeAg 血清学转换的病人中行回顾性研究发现,拉米夫定治疗后出现血清 HBeAg 转换的病人肝内 HBcAg、α-SMA 的表达明显减少,故拉米夫定治疗后使 HBV 复制趋于静止。目前认为 HBcAg 阳性肝细胞是细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)攻击的主要靶细胞[4];HBsAg 是否作为 CTL 攻击的靶抗原的研究结果不一[5~6]。故拉米夫定抑制病毒复制的同时,随着 HBVDNA 阴转和血清 HBeAg 转换,肝细胞内的 HBcAg 表达明显减少,血清 ALT 水平恢复正常,肝脏的汇管区及门静脉炎症坏死有显著性改善。

α-SMA 染色阳性提示乙肝组织中有肝星状细胞(HSC)的活化,活化的肝星状细胞所表达的 α-平滑肌动蛋白(α-SMA)是纤维形成的早期标志物,有研究表明[7],纤维化与 α-SMA 的表达存在着相关性。故拉米夫定治疗一年后,随着部分病人 HBeAg 阴转及病毒复制减少,减少了 CTL 攻击的靶抗原,减轻肝脏的炎症,从而去除肝纤维形成的刺激因素,减少了活化的肝星状细胞,故减轻肝纤维化的程度,延缓肝纤维化的进程,这与文献报道相一致[8]。但随着治疗时间的延长,乙肝病毒 YMDD(酪氨酸,蛋氨酸,天门冬氨酸,天门冬氨酸)变异株的出现及其所致的耐药性,有可能会影响拉米夫定对肝脏炎症和纤维化的改善,需要更深入的研究和探讨。

参 考 文 献

[1] Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of α numerical scoring for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis[J]. Hepatology, 1981;1(5):431-435.

[2] Chang TT, Lai CL, Liaw YF, et al. Incremental increases in HBeAg seroconversion and continued ALT normalization in Asian chronic HBV patients treated with lamivudine for four years(abstra)[J]. Antiviral therapy, 2000;5(suppl 1):44.

[3] Liaw Y-F, Leung NWY, Chang TT, et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patiems with chronic hepatitis B[J]. Gastroenterology, 2000;119(1):172-180.

[4] Leung NWY, Lai CL, Chang TT, et al. Three year lamivudine therapy in chronic HBV(abstr)[J]. J Hepatol, 1999;30(supple 1):59.

[5] Chien R-N, Liaw Y-F, Atkins M for the Asian lamivudine trial group. Pretherapy alanine transaminase level as α determinant for hepatitis B e Antigen seroconveraion during lamivudine therapy in patients with chronic hepatients B J]. Hepatology, 1999;30(3):770-774.

[6] Lau DTY, Khokhar MF, Doo E, et al. Long-Term therapy of chronic hepatitis B with lamivudine[J]. Hepatology, 2000;32(4 Pt 1):828-834.

[7] Mutimer D, Naoumov N, Honkoop P, et al. Combination of alpha-interferon and lamivudine therapy for alpha-imerferon-resistant chronic hepatitis B infection: result of α pilot study [J]. J Hepatol, 1998;28(6):923-929.

[8] Liaw YF, Lai CL, Leung NWY, et al. Two years Lamivudine therapy in chronic hepatitis B infection: results of αplacebo-controlled multicenter study in Asia[J]. Gastroenterology, 1998;114:A1289.