

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.21.010

ALT 小于 2 倍正常上限的 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者 肝纤维化的影响因素分析*

刘娜¹, 东冰¹, 周路路¹, 任丹丹¹, 张瑞芹¹, 吴殿磊¹, 谭娟², 郭何¹, 徐光华¹, 李春霞^{1△}

延安大学附属医院:1. 感染病科;2. 中医科, 陕西延安 716000

摘要:目的 探讨丙氨酸氨基转移酶(ALT) <2 倍正常上限($2 \times \text{ULN}$)的 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染者的肝组织学病理特点,研究影响肝纤维化进展的相关因素。方法 采用回顾性研究,选择 2013 年 10 月至 2018 年 8 月在延安大学附属医院感染病科住院行肝穿刺活检的 ALT $<2 \times \text{ULN}$ 的 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者 290 例,根据病理结果分为轻微肝纤维化组($F_0 \sim F_1$)和明显肝纤维化组($F_2 \sim F_4$)。采用单因素及多因素 Logistic 回归分析筛选可协助诊断明显肝纤维化的无创临床指标。结果 纳入患者 290 例,其中轻微肝纤维化组 219 例,明显肝纤维化组 71 例。多因素 Logistic 回归分析结果显示,低 HBsAg、高天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和肝脏硬度值(LSM)是明显肝纤维化的独立危险因素。结论 HBsAg、AST 和 LSM 对 ALT $<2 \times \text{ULN}$ 的 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者肝纤维化具有较好的预测价值,可为患者是否启动抗病毒治疗提供参考。

关键词:丙氨酸氨基转移酶; HBeAg; 肝脏硬度值; 肝穿刺活检; 危险因素

中图分类号:R512.6+2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)21-3110-04

Analysis of influencing factors of liver fibrosis in HBeAg-positive chronic HBV infection patients with ALT less than 2 times the upper limit of normal*

LIU Na¹, DONG Bing¹, ZHOU Lulu¹, REN Dandan¹, ZHANG Ruiqin¹,WU Dianlei¹, TAN Juan², GUO He¹, XU Guanghua¹, LI Chunxia^{1△}

1. Department of Infectious Diseases; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China

Abstract: Objective To investigate the liver histopathological characteristics of HBeAg-positive chronic hepatitis B virus (HBV) infected patients with alanine aminotransferase (ALT) <2 times the upper limit of normal ($2 \times \text{ULN}$), and to study the correlations affecting the liver fibrosis staging factor. **Methods** Used a retrospective study, 290 patients with HBeAg-positive chronic HBV infection with ALT $<2 \times \text{ULN}$ who underwent liver biopsy in the Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Yan'an University from October 2013 to August 2018 were selected. According to the pathological results, they were divided into two groups: mild liver fibrosis group ($F_0 - F_1$) and obvious liver fibrosis group ($F_2 - F_4$). Univariate and multivariate Logistic regression analysis were used to screen non-invasive clinical indicators that could assist in the diagnosis of liver fibrosis. **Results** Totally 290 patients were enrolled, including 219 cases in the mild liver fibrosis group and 71 cases in the obvious liver fibrosis group. Multivariate Logistic regression analysis showed that low HBsAg, high aspartate aminotransferase (AST) and liver stiffness value (LSM) were independent risk factors for obvious liver fibrosis. **Conclusion** HBsAg, AST and LSM have good predictive value for liver fibrosis in HBeAg-positive chronic HBV infected patients with ALT $<2 \times \text{ULN}$, and can provide references for patients to start antiviral therapy.

Key words: alanine aminotransferase; HBeAg; liver stiffness value; liver biopsy; risk factors

全球约 20 亿人曾感染乙型肝炎病毒(HBV),其中 2.4 亿人为慢性 HBV 感染者^[1],每年约有 65 万人死于 HBV 感染所致的肝功能衰竭、肝硬化和肝癌^[2]。目前,国内外指南推荐的一般抗病毒治疗指征要求丙氨酸氨基转移酶(ALT)持续升高 ≥ 2 倍正常上

限($2 \times \text{ULN}$)^[3-5],及早发现肝纤维化是治疗的关键。本研究对 ALT $<2 \times \text{ULN}$ 的 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者进行研究,筛选影响其肝纤维化进展的相关因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用回顾性研究,选取 2013 年 10 月

* 基金项目:陕西省延安市惠民计划项目(HM2009-04)。

作者简介:刘娜,女,副主任医师,主要从事感染及传染病学研究。△ 通信作者,E-mail:660451684@qq.com。

至 2018 年 8 月在延安大学附属医院感染病科住院的 290 例 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者为研究对象,其中男 180 例,女 110 例;年龄 14~61 岁,平均(33.3±10.62)岁。纳入标准:(1)诊断符合 2015 年我国修订的《慢性乙型肝炎防治指南》^[3]; (2)所有患者均行肝穿刺活检术。排除标准:(1)患者为经治抗病毒者;(2)合并其他病毒性肝炎(甲型、丙型、丁型、戊型);(3)失代偿期肝硬化;(4)原发性肝癌;(5)其他类型肝病,如遗传性、代谢性、自身免疫性、酒精及非酒精性肝病等;(6)患者临床资料不完整。本研究经本院伦理委员会审核通过,患者与家属知情并愿意配合此研究。

1.2 方法

1.2.1 肝穿刺活检 穿刺部位局部浸润麻醉,在超声引导下采用 1 s 经皮肝穿刺法。应用美国 BARD 公司生产的 MAGNUM 活组织穿刺枪,16 G 穿刺活检针。肝组织置塑料包埋盒中,进行中性甲醛固定,石蜡包埋切片,HE 染色和网状纤维染色。肝组织病理学诊断采用 Metavir 评分系统^[6],由 2 名有经验的病理医师独立完成。纤维化分期包括 F₀~F₄ 期,根据病理结果分为轻微肝纤维化组(F₀~F₁)和明显肝纤维化组(F₂~F₄)。

1.2.2 肝脏硬度值(LSM)检测 采用法国 Echosens 的 FibroScan 502 触摸系统测量 LSM,结果以 kPa 表达。患者取平卧位,选择右侧腋前线至腋中线第 7、8 或 8、9 肋间,探头涂耦合剂后,紧贴肋间隙中间部位进行≥10 次瞬态弹性成像,取中位数值(M)为最终检测结果。结果成功率≤60%或四分位数间距(Q)/M,即 Q/M>30%则被排除^[7]。

1.2.3 肝功能及 HBV 血清标志物检测 ALT、天

门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TB)和清蛋白(ALB)采用德国西门子 SIEMENS ADVIA 2400 全自动生化分析仪及其配套试剂,血清 ALT 正常值上限为 40 U/L。HBV 血清标志物检测采用美国雅培公司提供的全自动化学发光微粒子免疫分析仪及配套试剂盒。

1.2.4 HBV DNA 及基因分型检测 2015 年 9 月前 HBV DNA 检测使用美国 ABI 公司 7500 型荧光 PCR 检测仪,试剂盒由中山大学达安基因有限公司提供;2015 年 9 月及之后使用美国雅培公司 Abbott m2000 实时全自动高精度核酸检测仪,试剂盒为雅培配套试剂盒。HBV 基因分型检测采用美国 ABI 公司的 7500 PCR 仪,2015 年 9 月前试剂盒由中山大学达安基因有限公司提供,2015 年 9 月及之后试剂盒由厦门泰普生物科技(中国)有限公司提供。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行统计分析。计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。计量资料满足正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验;不满足正态分布以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。采用单因素和多因素 Logistic 回归分析筛选肝组织发生明显纤维化的独立危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者一般资料比较 290 例患者中,轻微肝纤维化组 219 例,占 75.5%;明显肝纤维化组 71 例,占 24.5%。2 组患者年龄、性别、乙型肝炎家族史、TB 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。2 组 HBV DNA、HBsAg、HBeAg、HBcAb、ALT、AST、ALB 和 LSM 比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同肝纤维化分期患者的一般资料比较

项目	轻微肝纤维化组(<i>n</i> =219)	明显肝纤维化组(<i>n</i> =71)	<i>t</i> / χ^2 / <i>Z</i>	<i>P</i>
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	33.11±10.52	35.65±10.89	-1.754	0.080
男性[<i>n</i> (%)]	137(62.6)	43(60.6)	0.091	0.764
乙型肝炎家族史[<i>n</i> (%)]	142(64.8)	51(71.8)	1.177	0.278
HBV DNA [$M(P_{25} \sim P_{75})$, log ₁₀ IU/mL]	7.87(7.32~8.57)	7.71(6.14~8.44)	-2.239	0.025
HBsAg [$M(P_{25} \sim P_{75})$, log ₁₀ IU/mL]	4.59(4.19~4.83)	3.85(3.36~4.31)	-6.504	<0.001
HBeAg [$M(P_{25} \sim P_{75})$, log ₁₀ S/CO]	3.12(3.04~3.19)	2.74(1.75~3.12)	-5.533	<0.001
HBcAb($\bar{x} \pm s$, S/CO)	8.79±2.52	9.63±2.27	-2.493	0.013
ALT[$M(P_{25} \sim P_{75})$, U/L]	30(23~43)	45(31~64)	-4.328	<0.001
AST[$M(P_{25} \sim P_{75})$, U/L]	26(20~33)	32(25~52)	-5.123	<0.001
TB($\bar{x} \pm s$, μ mol/L)	12.12±5.28	13.18±6.27	-1.405	0.161
ALB($\bar{x} \pm s$, g/L)	42.24±4.43	40.95±4.86	2.082	0.038
LSM [$M(P_{25} \sim P_{75})$, kPa]	5.0(4.3~6.0)	6.8(5.1~9.6)	-6.161	<0.001

2.2 单因素和多因素 Logistic 回归分析 将单因素分析中有意义的自变量纳入多因素 Logistic 回归分

析,采用向前似然比法,引入变量标准为 $\alpha_a = 0.05$,剔除标准为 $\alpha_{出} = 0.10$ 。以是否存在明显纤维化(轻微

肝纤维化=0, 明显肝纤维化=1) 为因变量, 结果显示, 低 HBsAg、高 AST 和 LSM 水平为患者肝组织存在明显纤维化的独立危险因素(均 $P < 0.05$)。见表 2、3。

表 2 肝组织发生明显纤维化的单因素分析

项目	HR(95%CI)	B	SE	P
年龄	1.002(0.997~1.048)	0.022	0.013	0.082
男性	0.919(0.531~1.592)	-0.004	0.280	0.764
乙型肝炎家族史	1.383(0.769~2.486)	0.324	0.299	0.279
HBV DNA	0.747(0.614~0.909)	-0.292	0.100	0.004
HBsAg	0.248(0.158~0.389)	-1.396	0.230	<0.001
HBeAg	0.381(0.263~0.551)	-0.965	0.188	<0.001
HbCAb	1.172(1.032~1.331)	0.158	0.065	0.015
ALT	1.033(1.018~1.048)	0.032	0.008	<0.001
AST	1.064(1.041~1.088)	0.062	0.011	<0.001
TB	1.033(0.987~1.082)	0.033	0.024	0.163
ALB	0.940(0.886~0.997)	-0.062	0.030	0.040
LSM	1.604(1.376~1.870)	0.473	0.078	<0.001

表 3 肝组织发生明显纤维化的多因素 Logistic 回归分析

项目	HR(95%CI)	B	SE	P
HBsAg	0.415(0.252~0.683)	-0.879	0.254	0.001
AST	1.037(1.011~1.064)	0.037	0.013	0.005
LSM	1.391(1.188~1.628)	0.330	0.080	<0.001

3 讨 论

目前, 肝组织穿刺活检仍是诊断肝纤维化程度的“金标准”^[8]。但由于其存在较多局限性, 如取样误差(1/50 000 的肝脏)、潜在风险(疼痛、出血、感染等并发症)、病理诊断的主观性、费用高等^[9], 限制了该项技术的广泛应用。对尚达不到抗病毒指征的 ALT < 2×ULN 的 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者, 精准掌握其肝纤维化程度极其重要。所以, 本研究以肝组织病理学诊断为基础, 探索能够准确预测明显肝纤维化的无创临床指标。

本研究发现, 入组患者中明显肝纤维化的比例为 24.5%, 与 LI 等^[10] 报道的 28.2% 接近, 提示 ALT < 2×ULN 的 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者存在一定程度的纤维化, 值得临床关注。轻微肝纤维化组、明显肝纤维化组患者 HBV DNA、HBsAg、HBeAg、HbCAb、ALT、AST、ALB 和 LSM 水平比较有明显差异, 提示随着病情从稳定阶段($F_0 \sim F_1$)到活跃阶段($F_2 \sim F_4$), HBV 被清除, 故代表病毒复制水平的 HBV DNA、HBsAg、HBeAg 水平逐渐下降, 但会伴随着对肝细胞的损害, 即 HbCAb、ALT、AST、LSM 水平升高, ALB 水平下降。

通过单因素和多因素 Logistic 回归分析发现, HBsAg 是明显肝纤维化的独立预测因素。MARTI-

NOT-PEIGNOUX 等^[11] 研究发现, 在 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎明显肝纤维化患者血清中 HBsAg 水平明显低于轻微肝纤维化患者, 提示 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者肝纤维化程度与 HBsAg 水平呈负相关, 其机制目前尚不清楚。可能是由于 HBsAg 并没有分泌在循环血液内, 而是滞留在肝细胞内; 也可能是由于随着纤维化的进展, 机体抗病毒能力不断减弱而引起的^[11]。AST 和 LSM 也是肝组织学明显肝纤维化的独立预测因素。氨基转移酶是评价肝脏炎症坏死程度的较敏感指标, 与肝脏疾病程度有着一定的关系^[12]。AST 主要存在于线粒体中, 在肝脏病变轻时, 其表达较低, 当肝细胞出现严重坏死时, 其可从线粒体中大量释放出来。故目前应用 ALT/AST 比值间接评估肝内纤维化的程度^[13]。LSM 是利用弹性剪切波在肝脏中的传播速度来判断肝脏的硬度, 与组织学检查具有较高的一致性, 尤其在筛查和诊断乙型肝炎患者中重度肝脏炎症及纤维化方面具有很好的应用价值^[9]。耿晓霞等^[14] 研究也发现, FibroScan 检查对于 ALT < 2×ULN 的慢性 HBV 感染者肝纤维化的诊断具有较好的适用性。

综上所述, 对于 ALT < 2×ULN 的 HBeAg 阳性慢性 HBV 感染者, 要高度重视 HBsAg、AST 和 LSM 的变化, 一旦发现 HBsAg 水平下降, AST、LSM 水平升高时, 应及时完善影像学及胃镜检查, 必要时积极行肝穿刺病理学检查, 评估患者肝纤维程度, 对治疗方案的制订有重要的意义。

参考文献

- [1] OTT J J, STEVENS G A, GROEGER J, et al. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity [J]. Vaccine, 2012, 30: 2212-2219.
- [2] LOZANO R, NAGHAVI M, FOREMAN K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010 [J]. Lancet, 2012, 380 (9859): 2095-2128.
- [3] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(11): 888-905.
- [4] SARIN S K, KUMAR M, LAU G K, et al. Asian-pacific clinical practice guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update [J]. Hepatol Int, 2016, 10(1): 1-98.
- [5] TERRAULT N A, LOK A S F, MCMAHON B J, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance [J]. Hepatology, 2018, 67(4): 1560-1599.
- [6] BEDOSSA P, POYNARD T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR cooperative study group [J]. Hepatology, 1996, 24(2): 289-293.

RIF 技术相比,检测的耐药范围更广。这 2 种分子生物学技术缩短了获取一线抗结核药物药敏结果的时间,对指导患者尤其是新疆维吾尔自治区耐多药患者的治疗有重大意义。

本研究中也有一些不足:由于成本问题,本研究入选标本数量相对不足,在耐药性评价中存在一定局限性;2 种分子生物学技术所检测耐药基因位点有所不同,基因芯片技术覆盖面相对较广且清晰,而 Gene-Xpert MTB/RIF 技术仅能定性检测是否为利福平耐药,无法对基因芯片相关的基因突变型进行验证;本研究未评价 3 种耐药检测方法的效益与成本。

参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2015[R]. Geneva: World Health Organization, 2015.
- [2] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京: 中国教育文化出版社, 2006.
- [3] LIKUAN X, FANRONG K, YINGZHOU Y, et al. Use of PCR and reverse line blot hybridization macroarray based on 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer sequences for rapid identification of 34 Mycobacterium species[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(10): 3544-3550.
- [4] World Health Organization. WHO endorses new rapid tuberculosis test[R]. Geneva: World Health Organization, 2010.
- [5] 刘荣梅, 高孟秋, 吴晓光, 等. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术与 γ -干扰素释放试验在关节结核辅助诊断中的价值[J]. 中国医刊, 2016, 51(6): 70-72.
- [6] TABRIZ N S, SKAK K, KASSAYEVA L T, et al. Efficacy of the Xpert MTB/RIF assay in multidrug-resistant Tuberculosis[J]. Microb Drug Resist, 2020, 268(8): 997-1004.
- [7] DESHMUKH S, ATRE S, CHAVAN A, et al. Assessment of the Xpert assay among adult pulmonary tuberculosis suspects with and without diabetes mellitus[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2020, 24(1): 113-117.

- [8] 吴国兰, 陈晓红, 陈力舟, 等. 基因芯片技术检测结核分枝杆菌耐药位点对耐药结核的早期诊断价值[J]. 中国医刊, 2018, 53(7): 812-814.
- [9] 杨建林, 罗一钧. DNA 微阵列芯片法快速检测结核分枝杆菌 KatG、异烟肼 A 和 rpoB 基因突变及其与利福平、异烟肼耐药的关系研究[J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(33): 145-146.
- [10] ASLAN G, TEZCAN S, EMEKDAS G. Evaluation of the genotype MTBDR assay for rapid detection of rifampin and isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates[J]. Mikrobiyol Bul, 2009, 43(2): 217-226.
- [11] 韦红玉, 隆昕颖, 凌俊, 等. 广西百色地区结核分枝杆菌利福平和异烟肼耐药基因特征[J]. 实用医学杂志, 2015, 44(7): 731-734.
- [12] 高会霞, 冯爱东, 柳晓金, 等. 基因芯片技术诊断耐多药结核病的临床应用研究[J]. 天津医药, 2016, 44(9): 1155-1159.
- [13] 张文海. 扬州市结核分枝杆菌分子分型及耐药性监测[D]. 扬州: 扬州大学, 2016.
- [14] DOMÍNGUEZ J, BOETTGER E C, CIRILLO D, et al. Clinical implications of molecular drug resistance testing for Mycobacterium tuberculosis: a TBNET/RESIST-TB consensus statement[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2016, 20(1): 24-42.
- [15] 欧维正, 骆科文, 陈峥宏, 等. 贵州地区结核分枝杆菌利福平耐药相关基因 rpoB 突变特征分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(10): 833-835.
- [16] 杨津明, 杰恩斯·斯马胡勒, 邵新蓉, 等. 新疆维吾尔自治区 2010—2011 年结核病流行病学抽样调查结果分析[J]. 中国防痨杂志, 2013, 35(12): 960-964.
- [17] HSIANG E, LITTLE K M, HAGUMA P, et al. Higher cost of implementing Xpert® MTB/RIF in ugandan peripheral settings: implications for cost-effectiveness[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2016, 20(9): 1212-1218.

(收稿日期: 2020-03-10 修回日期: 2020-07-13)

(上接第 3112 页)

- [7] CASTERA L, FORNS X, ALBERTI A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography[J]. J Hepatol, 2008, 48(5): 835-847.
- [8] BRAVO A A, SHETH S G, CHOPRA S. Liver biopsy[J]. N Engl J Med, 2001, 344(7): 495-500.
- [9] TAPPER E B, LOK A S F. Use of liver imaging and biopsy in clinical practice[J]. N Engl J Med, 2017, 377(23): 2296-2297.
- [10] LI Q, LI W, LU C, et al. Serum hepatitis B surface antigen levels predict insignificant fibrosis and non-cirrhosis in hepatitis B e antigen positive patients with normal or mildly elevated alanine transaminase levels[J]. Oncotarget, 2017, 8(49): 86463-86470.
- [11] MARTINOT-PEIGNOUX M, CARVALHO-FILHO R,

- LAPALUS M, et al. Hepatitis B surface antigen serum level is associated with fibrosis severity in treatment-naive, e antigen-positive patients[J]. J Hepatol, 2013, 58(6): 1089-1095.
- [12] 窦晓光. 丙氨酸转氨酶正常的慢性乙型肝炎病毒感染人群抗病毒治疗策略[J]. 中国实用内科杂志, 2013, 33(6): 454-456.
- [13] 杨湛, 何凯茵. 血清 A/G 及 ALT/AST 比值、门静脉直径和脾厚径与肝纤维化程度的关系[J]. 广东医学, 2001, 22(6): 494-495.
- [14] 耿晓霞, 林健梅, 杨兴祥, 等. 肝脏瞬时弹性超声诊断 ALT 小于 2 倍正常上限慢性 HBV 感染者肝纤维化的影响因素分析[J]. 实用医院临床杂志, 2015, 12(2): 34-36.

(收稿日期: 2020-02-26 修回日期: 2020-06-19)