

病理学检查在慢性丙型肝炎诊断治疗中的重要地位

郎振为

郎振为, 北京佑安医院病理科 北京市 100054
项目负责人: 郎振为, 100054, 北京市丰台区右安门外西头条8号, 北京佑安医院病理科. langzw@21n.com
电话: 010-63055864 传真: 010-63293371
收稿日期: 2004-09-20 接受日期: 2004-10-08

郎振为. 病理学检查在慢性丙型肝炎诊断治疗中的重要地位. 世界华人消化杂志. 2004;12(10):2377-2379

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2377.asp>

病理组织学检查对于慢性丙型肝炎的诊断、衡量炎症活动度、纤维化程度、评估药物疗效以及预后判断方面非常重要。通常情况下, 临床发现与肝功能检查结果密切相关, 然而二者与肝活检时的炎症坏死以及纤维化程度的相关性很差。有些患者血清转氨酶高达 500-600 IU/L, 肝活检病理仅查见轻度炎症改变; 而另一些患者血清转氨酶正常或稍高, 肝组织已有明显的肝纤维化甚至肝硬化。肝组织学异常而临床表现很轻或无症状的病例并不少见, 大约 50% 左右的 HCV 感染者(抗-HCV 和 PCR HCV RNA 阳性), 尽管肝功能检测值在正常范围内, 肝组织检查可观察到不同程度的炎症损伤及纤维化改变。Puoti *et al* 报道 691 例 ALT 持续正常的患者中, 17% 的患者肝组织正常, 34% 为轻微的慢性肝炎, 44% 为轻度肝炎, 4% 为中、重度肝炎, 1% 为肝硬化。另有一些学者的研究资料表明: 11-57% 的慢性活动性肝炎和肝硬化患者其 ALT 正常。Sookoian *et al* 对肝组织病变与转氨酶的相关关系进行了探讨, 28 例抗-HCV 阳性、转氨酶持续正常的患者中, 12 例肝组织正常 (42.9%), 16 例 (57.1%) 为慢性肝炎。肝组织正常的患者中, ALT 的均值为 16.3 IU/L, 与慢性肝炎 (25.6 IU/L) 相比, 有显著性差别 ($P=0.000\ 089$)。认为肝组织正常者的 ALT 较慢性肝炎者低, 若以 18 IU/L 为新的上限, 有可能区别正常和慢性肝炎^[1-2]。研究资料同样表明, 反映肝组织损伤程度的组织学活动指数 (HAI) 与 HCV RNA 负荷量无相关性, 对于评估慢性丙型肝炎病变的严重程度, 肝活检是必须的。

HCV 感染后慢性化可达 50-80%, 并可进展到肝硬化。与慢性乙型肝炎的肝硬化的发生率 (10-20%) 相比, 慢性丙型肝炎患者发生肝硬化为 8-46%。对于慢性丙型肝炎至关重要的问题是须区分出患者是慢性肝炎还是已经进展到肝硬化。特别是在慢性丙型肝炎时, 往往肝小叶炎症坏死相对较轻, 而纤维化程度较重; Jarmay *et al* 采用 Desmet 的评估系统对 106 例慢性丙型肝炎肝活检组织进行了病理检查, 慢性肝炎轻微病变占 13.2%,

慢性肝炎轻度占 65.1%, 慢性肝炎中度为 21.7%; 纤维化 1-4 期分别占 41.5%、13.2%、34.9% 及 10.4% (肝硬化)。在预测肝纤维化方面, 肝脏的酶学检测没有价值。血清细胞外基质检测虽然有可能检测出一些肝硬化的病例, 但与慢性肝炎的组织学纤维化分期不相一致^[3]。Urbanek *et al* 对 139 例丙型肝炎的研究资料认为, 根据病史、体征和实验室检查的肝硬化区别计分, 只有 31% 的患者能准确的诊断出是肝硬化或慢性肝炎, 即使综合分析, 仍有 69% 的患者难以区分^[4]。

对于非肝硬化性患者个体来讲, 一次肝活检组织学难以预测肝病的进展速度, 然而, 如果有纤维组织的进行性沉积, 每隔 2-3 a 做一次肝活检对于纤维化的进展和预后是有裨益的。

此外, 只有肝活检才能提供铁颗粒、脂肪变的分布以及同时存在并能加速慢性丙型肝炎进展至肝硬化的酒精性肝病的信息。研究资料显示, 脂肪变的肝组织中 TNF- α mRNA 表达量较无脂肪变的肝组织相比增加了 50% ($P=0.03$), CYP 2E1 增加了 37% ($P=0.04$)。肝组织中脂肪变的出现加速了肝脏病理损伤及纤维化的进程^[5]。HCV 感染与肝细胞癌发生较 HBV 更为密切, 慢性 HCV 感染合并酒精性肝硬化则更具有发展成肝细胞癌的危险性, 一项研究认为, 3 a、5 a 和 10 a 肝癌的累积发生率分别为 7.3%、23.1% 和 56.6%。

同其他慢性肝炎相比, 尽管慢性丙型肝炎肝组织学没有特异性改变, 慢性丙型肝炎肝组织中可观察到一些相对的特征性病理改变, 这些较为特征性的组织学表现对于慢性丙型肝炎的诊断有一定的参考价值, 特别是原因不明性肝炎时的病原学探讨。

汇管区淋巴细胞聚集: 指汇管区有较密集的淋巴细胞浸润, 甚至淋巴滤泡形成。国内周侃 *et al* 报道出现率为 43% (21/49)^[6]。Lefkowitz *et al* 比较了慢性丙型肝炎与慢性乙型肝炎的淋巴细胞集聚或 / 和淋巴滤泡形成, 其比值为 49.4%:27.2%, 有显著性差别。Scheuer *et al* 按半定量方法, 将汇管区的淋巴细胞集聚程度分为 4 级: 0 级, 无明显浸润; 1 级, 少量浸润; 2 级, 明显集聚但尚无生发中心形成; 3 级, 明显集聚伴生发中心形成。结果显示: 45 例慢性丙型肝炎患者的 54 份肝活检组织中, 42 份 (78%) 有汇管区淋巴细胞浸润, 其中多数为 2-3 级; 而对照观察的 27 例慢性乙型肝炎肝组织, 14 例 (52%) 中绝大多数为 1 级, 无 1 例为 3 级。

小胆管损伤: 组织学主要表现为小胆管上皮细胞肿胀, 空泡化, 嗜酸性变, 核不规则或失去极化, 凋亡、淋巴细胞浸润, 称之为肝炎性胆管损害, 小胆管的毁损消失极少见。慢性丙型肝炎肝组织中小胆管的损伤检出率为 12.3-53.7%, 个别文献报道高达 91%。若按损伤程度定为 0 (无病变)、I (轻度)、II (中度)、III (重度) 级, 慢性丙型肝炎病例中 \geq II 级占 65.1% (28/43), 而对照的慢性乙型肝炎占 18.9% (17/90), $P<0.01$ ^[7]。鉴于小胆管的损伤多见及病变明显, 可以被视为组织学诊

断的一项重要参考指标。

肝细胞脂肪变:近年来的一些研究表明,在慢性丙型肝炎患者出现的肝脏脂肪变是肝脏病理学中的一个重要的特征。国外的文献报道检出率可为54-68.9%,国内302医院报道检出率可达82.4%(131/159),其中轻度占29.5%,中度60.7%,重度9.8%;小泡型为47.3%,大泡型为3.8%,混合型占48.9%^[8]。脂变的肝细胞多呈片灶状,分布于肝小叶内。

肝窦细胞活化:表现为肝窦内T淋巴细胞, Kupffer细胞数量明显增多,集聚或呈串珠样排列于肝窦内,可见于34-78.4%的病例。

尽管文献认为慢性丙型肝炎多具有以上4项相对的特征,但这些“特征”也可见于慢性乙型肝炎。其次,上述4项病变的检出率各文献有时相差较大,可能与个体因素、HCV病毒亚型、病毒复制、机体免疫状态不同以及其他因素有关。如文献中胆管病变的发生率自12.3-91%不等,其中经输血途径传播的丙型肝炎胆管损伤较经静脉吸毒引起的胆管损伤要高;如明显或重度的肝细胞脂肪变性多见于基因3型患者。此外,当慢性丙型肝炎的病变较轻,如小叶内肝细胞坏死炎症不明显而汇管区的淋巴细胞反应轻微时,有时难以找到其相对特征性病变。因此慢性丙型肝炎的诊断要结合临床资料,也需要分子病理学的检测结果进行综合分析判断。

与慢性乙型肝炎相比,肝组织中丙型肝炎相关抗原的检出率低,各种抗原的表达相关性差,可能与肝组织中HCV抗原表达的量少、HCV的抗原性不强、各基因片断的抗原敏感性和特异性不同以及HCV的高度变异性有关,致使国内外各大公司或研究机构难以制备稳定可靠的特异性抗体,以至于检测结果重复性差,检出率差距较大,与血清学丙型肝炎病毒标记物不太吻合。国内翟为溶 *et al*对51例血清抗-HCV阳性的慢性丙型肝炎患者进行了研究,其中血清HCV RNA阳性41例(80.4%);免疫组化检测肝组织中CP10、NS3、NS4和NS5的总检出率为60.8%,低于血清HCV RNA的检出率。而同期血清HCV RNA与肝组织中HCVAg的检出结果相比,二者关系并不密切,其相互重合者仅占50.98%;血HCV RNA阳性者,18例组织标本未检出抗原;而血HCV RNA阴性者,却有8份组织标本检出1-3种抗原。肝组织中CP10、NS3、NS4和NS5的检出率分别为54.9%、37.3%、21.6%和50%,4种抗原均阳性者仅18.8%^[9]。Naoki *et al*也报道了慢性丙型肝炎患者肝组织中HCV核心抗原、表面抗原和NS3抗原免疫组化的检出率分别为23%、24%、24%,三者同时阳性率低。因此,在对肝组织进行免疫组化检测时,最好同时选用几种抗原,以提高肝组织内HCVAg的检出率。新近, Benkoel *et al*采用了抗HCV C-100单克隆抗体以免疫组化方法对15例慢性丙型肝炎患者进行了检测,并与血清学,肝组织抽提的HCV核酸以及肝切片原位PCR结果进行了比较。血

清HCV的检出率为80%,组织抽提物HCV RNA的检出率为40%,免疫组化检出率为80%,肝组织原位PCR的检出率为60%。在血清HCV阳性的病例中,免疫组化、原位杂交、肝组织抽提物中的检出率分别为83%、67%及41%;肝组织抽提物呈阳性的病例中,免疫组化及原位PCR的检出率分别为25%及50%;免疫组化呈阳性的切片中,75%的病例原位PCR检出阳性^[10]。

尽管当前采用免疫组化检测肝组织中HCV抗原阳性检出率不高,但一些学者认为HCV免疫组化的研究有助于预测抗病毒治疗的疗效。一些学者认为治疗前肝组织中HCV抗原量较少者,经干扰素治疗疗效较好,远期显著者的二次肝活检HCV抗原可消失。另一篇报道了7例血清学HCV RNA阳性、肝组织免疫组化检测HCV NS3均阳性患者,经干扰素治疗后,3例血清和肝组织中病毒标记物阴转,另有1例血清HCV RNA转阴,但肝组织中NS3蛋白仍阳性,有可能更准确的反映出治疗后病毒的清除状况。

由于HCV的基因高度变异,不同探针的敏感性和特异性不同,检测的结果多不一致。张长法 *et al*采用地高辛标记的HCV5'-NC区cDNA探针对24例慢性丙型肝炎肝组织中的HCV DNA进行了检测,17例同时HCV和HCV DNA均阳性患者中,14例原位杂交呈阳性;7例单项血清抗HCV阳性者均为阴性,总检出率为58.3%^[11]。采用地高辛标记HCV3'-NS5区cDNA探针(随机引物标记法),肝组织原位杂交阳性率为72.7%(24/33)。用PCR法扩增HCV C区基因标记地高辛,用制备的探针原位杂交检出阳性率可达到90%(21/24)^[12]。

病毒性肝炎的病理诊断包括三个基本内容:病理类型、病原学、根据炎症的程度分级、根据纤维化的程度分期。对于慢性丙型肝炎的分期、分级,可参照国内制订的病理标准^[13]。

若用于科研或评估治疗前后药物的疗效,也可根据不同需求选用国外的一些评估系统,其中最为广泛采用的是Knodel评分方法,该方法比较适用于判定小叶炎症坏死的组织学活动指数值,但对于纤维化的细微改变,则可采用Ishak或Chevallier的肝纤维化半定量记分系统^[14-15]。

参考文献

- 1 Puoti C, Castellacci R, Montagnese F, Zaltron S, Stornaiuolo G, Bergami N, Bellis L, Precone DF, Corvisieri P, Puoti M, Minola E, Gaeta GB. Histological and virological features and follow-up of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: the Italian prospective study of the asymptomatic C carriers (ISACC). *J Hepatol* 2002;37:117-123
- 2 Sookoian S, Castano G, Frider B, Flichman D. How to distinguish normal liver from chronic hepatitis in anti-HCV positive individuals with normal alanine aminotransferase levels. *Medicina (B Aires)* 2002;62:226-230
- 3 National Institutes of Health. National institutes of health consensus development conference statement: Management of hepatitis C. *Hepatol* 2002;36(5 Suppl):S3-20
- 4 Urbanek P, Vedralova J, Marecek Z, Brodanova M, Prochazkova-Francisci E, Bruha R, Pettrly J, Kalab M. Importance of liver biopsy in chronic hepatitis C virus infection.

- Vnitr Lek 2002;48:1025-1230
- 5 Gochee PA, Jonsson JR, Clouston AD, Pandeya N, Purdie DM, Powell EE. Steatosis in chronic hepatitis C: association with increased messenger RNA expression of collagen I, tumor necrosis factor-alpha and cytochrome P450 2E1. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:386-392
 - 6 周侃, 姚光弼, 翟为溶. 慢性丙型肝炎的组织学特点和分类. *中华消化杂志* 1998;18:162
 - 7 刘霞, 王泰龄, 郑丽红, 赵静波, 彭向欣, 张晶. 丙型肝炎的病理观察. *中华病理学杂志* 1995;24:292
 - 8 成军. 丙型肝炎与肝脏脂肪变的相关性研究的临床意义. *临床肝胆病杂志* 2004;20:227-229
 - 9 翟为溶, 周侃, 姚光弼. 肝组织内丙型肝炎病毒不同抗原的定位及比较. *中华传染病杂志* 1999;17:11-14
 - 10 Benkoel L, Biagini P, Dodero F, De Lamballerie X, De Micco P, Chamlian A. Immunohistochemical detection of C-100 hepatitis C virus antigen in formaldehyde-fixed paraffin-embedded liver tissue. Correlation with serum, tissue and in situ RT-PCR results. *Eur J Histochem* 2004;48:185-190
 - 11 张长法, 周永兴, 王春杰, 姚志强. 地高辛标记探针原位杂交检测肝组织中丙型肝炎病毒 RNA. *肝脏病杂志* 1995;3:10-12
 - 12 Tanaka Y, Enomoto N, Kojima S, Tang L, Goto M, Marumo F, Sato C. Detection of hepatitis C virus RNA in the liver by in situ hybridization. *Liver* 1993;13:203-208
 - 13 Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-435
 - 14 Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RN. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22:696-699
 - 15 Chevallier M, Guerret S, Chossegros P, Gerard F, Grimaud JA. A histological semi-quantitative scoring system for evaluation of hepatic fibrosis in needle liver biopsy specimens: comparison with morphometric studies. *Hepatology* 1994;20:349-355

慢性丙型肝炎的规范性抗病毒治疗及研究进展

宁 琴, 韩梅芳

宁琴, 韩梅芳, 华中科技大学同济医学院附属同济医院感染科、感染免疫研究室 湖北省武汉市 430030
 项目负责人: 宁琴, 430030, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属同济医院感染科. qning@tjh.tjmu.edu.cn
 电话: 027-83662391
 收稿日期: 2004-09-20 接受日期: 2004-10-08

宁琴, 韩梅芳. 慢性丙型肝炎的规范性抗病毒治疗及研究进展. *世界华人消化杂志* 2004;12(10):2379-2382

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2379.asp>

0 引言

丙型肝炎是由丙型肝炎病毒(HCV)引起的一种以肝脏为靶器官的传染性疾病.我国肝炎患者为数众多,据1992-1995年全国病毒性肝炎血清流行病学调查表明,我国抗HCV阳性者占3.2%,约4 200万人,其中约70-80%的感染者将发展为慢性,即HCV感染后持续6 mo以上可以检测到HCV RNA.慢性患者由于进行性的

肝纤维化将导致在20 a内约有12.5%的人发展为肝硬化,部分发展为肝癌,严重影响了人们的生活质量.由于目前尚缺乏合适、有效的疫苗,远期危害更大.抗病毒治疗是慢性丙型肝炎(CHC)治疗的关键,其目的是根除或长期抑制病毒的复制,减轻肝内炎症和纤维化程度,从而抑制可能出现的肝硬化和肝癌的发生和发展.

1 抗病毒治疗及相关问题

1.1 IFN和利巴韦林抗病毒治疗 目前IFN是抗丙肝治疗的主要药物,根据细胞表面受体不同分为两型,1型IFN与表面受体IFNAR1/IFNAR2(一种异二聚体)结合,包括21种亚型如IFN α 、IFN β 等,而IFN γ 与一个独特的表面受体结合,属于2型.按制备来源IFN可分为天然和重组IFN两种,商品化IFN以重组IFN为主. IFN的抗病毒机制还不完全清楚,推测他可与靶细胞表面的特异性受体结合,诱导机体迅速合成具有抗病毒作用的功能蛋白质,如2',5'-寡腺苷酸合成酶(2',5'-AS)、dsRNA依赖蛋白激酶(RDPK),2',5'-AS可催化RNA降解,RDPK磷酸化起始因子eIF-2 α 可抑制HCV mRNA翻译的起始,阻断病毒进入靶细胞,抑制病毒复制;IFN促进HLA-I、II类分子及Fc受体、 β 2微球蛋白的表达,有助于杀伤性T细胞(Te)识别并杀伤靶细胞;IFN可激活免疫系统,提高Th/Ts比例,调整机体的免疫功能;靶细胞释放的细胞因子加强了NK细胞的活性而达到抗病毒作用.

治疗应答是指抗病毒药物被机体吸收后产生的一系列病理生理反应,包括临床症状和体征的改善,生化、病毒学及病理学的改变.常用的指标为持续病毒应答(SVR),是指IFN治疗完成后持续6 mo或6 mo以上HCV RNA仍为阴性.SVR代表抗病毒治疗成功.有报道,长期的肝脏组织病理学的改善与成功的抗病毒治疗有着密切的联系.SVR可减轻纤维化,有效降低肝细胞癌(HCC)的发生率,降低肝衰竭和与肝病有关的死亡等其他并发症的发生.2000年亚太肝病学会上,将SVR作为慢性肝炎抗病毒治疗的目标.生化和组织学应答仅作为次要目标.

IFN治疗CHC的适应范围:18-60岁,HCV RNA阳性、ALT轻中度(正常值的2-10倍)升高、肝组织轻中度炎症改变、无禁忌证、代偿良好的CHC患者,而伴有肝硬化、老年人、HCV抗体阴性而HCV RNA阳性患者对IFN疗效不佳.禁忌证包括:进展型肝硬化、自身免疫性肝炎(AIH)、自身免疫性甲状腺炎,甲状腺功能亢进、糖尿病、精神分裂症、严重的血小板减少($<30 \times 10^9/L$)、白细胞减少($<2 \times 10^9/L$)、妊娠、严重冠心病、恶性肿瘤、脑发作性疾病等.

自1990年代采用IFN治疗丙肝以来,用标准的IFN治疗(即IFN α ,300-500 mu/次,3次/wk,皮下或肌肉注射,疗程12 wk)可使1/3的丙肝患者HCV RNA转阴,单独使用IFN 12 wk,获得SVR的患者占10-15%,