

慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA, ALT与肝脏病理间的关系

李颖, 丁洋, 王雪莲, 刘沛

■背景资料

HCV感染与慢性肝炎、肝硬化甚至肝癌的发生关系密切, 目前HCV感染导致的肝硬化也是肝移植的主要原因。世界人群HCV感染率约为3%, 我国人群HCV感染率约为3.2%。HCV感染导致慢性化和肝损伤的机制研究一直备受关注, 明确其间的关系, 对于明确HCV感染者疾病的状态并采取有效的治疗措施具有重要的意义。

李颖, 丁洋, 王雪莲, 刘沛, 中国医科大学附属第二医院感染科 辽宁省沈阳市 110004

辽宁省医学科技创新工程技术项目(辽财企), No. [2004]302

通讯作者: 刘沛, 110004, 沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属第二医院感染科, sylupei2003@yahoo.com.cn

电话: 024-83956451 传真: 024-83956451

收稿日期: 2006-01-20 接受日期: 2006-01-26

Correlations of serum hepatitis C virus RNA and alanine transaminase with liver histopathological changes in patients with chronic hepatitis C

Ying Li, Yang Ding, Xue-Lian Wang, Pei Liu

Ying Li, Yang Ding, Xue-Lian Wang, Pei Liu, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by the Medical Science and Technology Innovation Project of Liaoning Province, No. [2004]302

Correspondence to: Pei Liu, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. sylupei2003@yahoo.com.cn

Received: 2006-01-20 Accepted: 2006-01-26

Abstract

AIM: To investigate the relationship among serum hepatitis C virus RNA titer, alanine transaminase (ALT) and liver histological changes in patients with chronic hepatitis C.

METHODS: Fluorescent quantitative polymerase chain reaction was used to detect the level of serum HCV RNA in 132 patients with chronic hepatitis C; meanwhile, the levels of serum ALT were measured by biochemical instrument. Liver biopsy was performed in 30 of 132 patients, and histopathological changes were observed by HE staining under light microscope and scored according to the grades of liver necro-inflammatory activity and stages of liver fibrosis.

RESULTS: Of 132 cases, 98 (74.2%) were positive

for HCV RNA (over 1.0×10^6 copies/L), and 99 (75.0%) were with a higher ALT level. No significant correlation was noted between HCV RNA titer and ALT level ($r = 0.40$, $P = 0.695$), but a statistical relationship was noted between HCV RNA titer and the abnormal rate of ALT level ($r = 1.00$, $P < 0.01$). Liver biopsies indicated that HCV-RNA titer was not significantly correlated with the grades of liver necro-inflammatory activity ($r = 0.50$, $P = 0.667$) or the stage of liver fibrosis ($r = 0.20$, $P = 0.80$). The level of serum ALT was not markedly correlated with the stages of liver fibrosis ($r = 0.40$, $P = 0.60$), either, but statistically correlated with the grades of liver necro-inflammatory activity ($r = 1.00$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: HCV RNA titer has no correlation with ALT level, and it can not reflect the degree of liver histological damage in patients with chronic hepatitis C. ALT level has no correlation with the stages of liver fibrosis, but it can reflect the grades of liver necro-inflammatory activity to some extent.

Key Words: Hepatitis C Virus; RNA; Aminotransferase; Histopathology

Li Y, Ding Y, Wang XL, Liu P. Correlations of serum hepatitis C virus RNA and alanine transaminase with liver histopathological changes in patients with chronic hepatitis C. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(9):916-919

摘要

目的: 探讨慢性丙型肝炎患者血清HCV-RNA水平、ALT浓度及肝组织病理改变三者之间的关系。

方法: 采用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测132例慢性丙型肝炎患者血清中HCV RNA的水平, 用生化自动分析仪检测ALT值, 其中30例患者进行了肝脏活检, 用HE染色, 光学显微镜下观察肝脏病理改变。

结果: 在132例慢性丙型肝炎患者中有98例

HCV RNA水平超过 1.0×10^6 拷贝/L, 阳性率为74.2%, 有99例ALT水平超过正常值, 异常率为75.0%。HCV-RNA水平与ALT浓度相关性不显著($r = 0.40, P = 0.695$), 与ALT异常率呈明显相关($r = 1.00, P < 0.01$)。肝穿病理结果表明, HCV-RNA水平与肝脏的炎症活动度和纤维化程度均不相关($r = 0.50, P = 0.667; r = 0.20, P = 0.80$)。ALT浓度与肝脏的纤维化程度不相关($r = 0.40, P = 0.60$), 而与肝脏的炎症活动度呈明显相关($r = 1.00, P < 0.01$)。

结论: 慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA水平与ALT浓度无关, 也不能反映肝组织病理损伤程度; ALT浓度与肝脏的纤维化程度无关, 但可在一定程度上反映肝脏的炎症改变。

关键词: 丙型肝炎病毒; RNA; 丙氨酸氨基转移酶; 组织病理学

李颖, 丁洋, 王雪莲, 刘沛. 慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA, ALT与肝脏病理间的关系. 世界华人消化杂志 2006;14(9):916-919
http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/916.asp

0 引言

自从1989年发现丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)以来, HCV感染已经被认为是引起世界范围内慢性肝脏疾病并导致慢性肝炎、肝硬化甚至肝癌发生的主要原因^[1-2]。世界人群HCV感染率约为3.0%(0.1%-10%)^[3], 我国一般人群HCV感染率为3.2%, 约3800万人感染HCV^[4]。HCV感染的实验室诊断主要是用酶联免疫吸附试验(ELISA)和聚合酶链反应法(PCR)分别检测血清中的抗-HCV和HCV RNA^[5-6]。长期以来, 对于丙型肝炎慢性化和肝损伤的机制一直都在探讨之中^[3]。我们应用近几年发展起来的荧光定量聚合酶链反应法(fluorescent quantitative polymerase chain reaction, FQ-PCR)^[7-8]定量检测132例慢性丙型肝炎患者血清中HCV RNA的水平, 用大型自动生化分析仪检测丙氨酸氨基转移酶(aminotransferase, ALT)浓度, 并对30例肝脏活检标本的病理改变进行回顾性研究, 以探讨HCV RNA水平、ALT浓度与肝组织损伤三者之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 132例血清标本均来自我科2004-09/2005-09住院患者, 男92例, 女40例, 年龄15-84岁, 平均 46.64 ± 13.94 岁, 诊断均符合2000年西安全国传染病与寄生虫病学术会议修订的病毒性肝

表 1 血清HCV-RNA与ALT的关系

HCV-RNA水平 (拷贝/L)	n	ALT (mean \pm SD) (nkat/L)	ALT异常	
			n	%
$<1 \times 10^6$	34	$1\ 290.6 \pm 1\ 165.6$	19	57.57
10^6	10	$1\ 299.0 \pm 943.8$	6	60.00
10^7	8	$1\ 278.9 \pm 1\ 135.6$	6	75.00
10^8	18	$1\ 442.4 \pm 1\ 123.9$	14	77.77
10^9	38	$1\ 434.1 \pm 987.2$	32	84.21
10^{10}	24	$1\ 550.8 \pm 1\ 455.8$	22	91.66

炎防治方案中拟订的诊断标准。132例标本经检测抗-HCV抗体均为阳性, 且排除甲、乙、戊型肝炎病毒感染。

1.2 方法 HCV RNA定量检测采用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR), 仪器为大和Line-Gene II 荧光定量PCR扩增仪, 由杭州博日公司提供; 试剂由深圳匹基公司提供。HCV RNA载量的正常值为 $<1 \times 10^6$ 拷贝/L。具体方法: 在150 μ L裂解液中加入50 μ L血清、50 μ L氯仿, 充分混匀, 离心13 000 g, 10 min, 取上清, 加入等量异丙醇, 离心, 然后用750 mL/L的乙醇洗一次, 沉淀中加入PCR反应液, Tag酶, 按如下条件, 逆转录与扩增一步完成: 42 $^{\circ}$ C 30 min, 95 $^{\circ}$ C 3 min, 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 40个循环, 反应体系50 μ L。每次实验均设强阳性、弱阳性和阴性对照。ELISA检测抗-HCV。试剂由华美生物工程公司提供的第3代抗-HCV诊断试剂盒, 所使用的包被抗原为含有丙肝病毒结构区核心抗原及非结构区抗原的合成多肽抗原及基因工程抗原。检测的方法按照说明书操作, 阈值 = $0.05 + 0.08 \times$ 阳性对照平均值。ALT的检测由日立全自动生化分析仪完成。肝穿取肝组织1-2 cm以上, 立即40 g/L甲醛溶液固定, 常规脱水, 石蜡包埋切片后, 作HE染色, 病理诊断参考2000年西安全国传染病与寄生虫病学术会议修订的病毒性肝炎诊断标准中的组织病理学诊断标准进行分级和分期^[9], 由中国医大附属二院病理室协助完成。

统计学处理 采用SPSS 10.0软件进行相关性分析。HCV RNA水平与ALT浓度的相关性采用Pearson相关分析, 其他组别采用Spearman相关分析。

2 结果

在132例慢性丙型肝炎患者血清中, HCV RNA水平 $>1 \times 10^6$ 拷贝/L的标本98例, 阳性率为74.2%, ALT >667 nkat/L的标本有99例, 异常率为75.00%(表1)。经相关性分析, HCV RNA水平与

■创新盘点

国内学者发表的相关文章大多都是将HCV RNA水平与ALT进行比较以确定HCV RNA与肝损伤的关系, 真正有肝脏病理结果的文章很少。第二军医大学谭龙益 *et al* 的文章对肝脏病理结果按轻、中、重度进行分组。本文的创新之处就在于不仅进行了30例的肝脏活检并按照肝脏炎症活动度和纤维化程度的分级和分期将HCV RNA、ALT和肝脏病理三者之间的相关性进行了分析, 所得结果更详细、更客观。

■应用要点

本文结果提示,虽然HCV RNA水平对于HCV感染者的抗病毒治疗和疗效判断具有重要的意义,但并不能确切反映肝损伤的情况,肝脏活检仍是临床判定丙型肝炎患者肝脏病理改变的金标准。

表 2 炎症活动度分级、纤维化分期与HCV-RNA、ALT的关系

肝脏病理	<i>n</i>	HCV-RNA (10 ³ 拷贝/L)	ALT浓度 (nkat/L)
炎症活动度分级	G ₁	16	6 723 202 ± 14 878 180
	G ₂	7	2 205 885 ± 3 559 531
	G ₂₋₃	7	10 151 442 ± 24 301 624
纤维化分期	S ₀₋₁	15	1 076.9 ± 893.1
	S ₁₋₂	6	1 119.6 ± 893.1 ^b
	S ₂₋₃	5	1 143.4 ± 460.1
	S ₃₋₄	4	1 052.2 ± 926.8

^b*P* < 0.01.

ALT浓度之间相关性不显著($r = 0.40$, $P = 0.695$). ALT异常率随着HCV RNA水平的升高而增加,且二者之间相关性非常显著($r = 1.00$, $P < 0.01$).我们对30例HCV RNA阳性患者的肝脏活检标本进行了回顾性研究,按其炎症活动度分级, G₁ 16例, G₂ 7例, G₂₋₃ 7例.若按照肝脏纤维化分期,则 S₀₋₁ 15例, S₁₋₂ 6例, S₂₋₃ 5例, S₃₋₄ 4例.经相关性检验, HCV RNA水平与肝脏炎症活动度($r = 0.50$, $P = 0.667$)及纤维化程度($r = 0.20$, $P = 0.80$)均不相关, ALT浓度与肝脏纤维化程度的相关性不明显($r = 0.40$, $P = 0.60$),而与肝脏炎症活动度明显相关($r = 1.00$, $P < 0.01$, 表2).

3 讨论

在HCV感染者中,大约有80%的个体可发展为慢性化,在这些慢性感染者中有近1/3的人其病程可在20-30 a的过程中逐渐进展为肝损伤、肝纤维化,直至肝硬化,而这些肝硬化患者每年发展成肝癌的机率是1.5%-4%^[10-11].现在已经有证据表明,在大多数国家内由于肝癌而导致的死亡人数增加的主要原因是HCV感染^[12-13], HCV感染导致的晚期肝硬化也是肝移植的主要原因^[1,10]. HCV感染者病程变化是非常不同的,有些患者病程可以十几年甚至几十年缓慢进展,而有些患者则可在几年之内进展到肝硬化、肝病晚期,甚至肝癌^[3,11].虽然这其中的主要原因并不清楚,但已经有研究证明, HCV感染者病程进展与诸多因素有关,包括性别、感染HCV的年龄、过度饮酒、脂肪变性、合并感染HBV/HIV、免疫抑制(如器官移植)等^[10,14-15].也有很多学者研究了HCV RNA水平、ALT浓度、HCV基因型等因素与肝脏损伤程度的关系,但所得结果却完全不同. Adinolfi *et al*^[16]认为,血清HCV RNA水平与肝损伤程度相关,高水平的病毒载量与脂肪

变性共同作用,可加速肝损伤的进展. Zechini *et al*^[17]认为, ALT水平,特别是AST的水平,与肝损伤的程度有关.而Puoti *et al*^[18-21]则认为,肝损伤程度与临床症状、ALT水平、HCV基因型和病毒载量不相关.我们的实验对这几方面的关系进行了研究,结果显示, HCV RNA水平与ALT浓度不相关($r = 0.40$, $P = 0.695$),但和ALT异常率的相关性非常显著($r = 1.00$, $P < 0.01$). HCV RNA水平与肝脏炎症活动度和纤维化程度无关($P = 0.667$ 和 $P = 0.80$). ALT浓度与肝脏的纤维化程度无关($P = 0.60$),但与肝脏炎症活动度呈明显相关($r = 1.00$, $P < 0.01$).我们的结果表明, HCV RNA水平与ALT浓度并不相关,也不能反映肝脏病理改变的程度, ALT水平不能反映肝脏纤维化的情况,但是可在一定程度上反映肝脏炎症的改变.目前有学者研究结果显示,在慢性HCV感染者中,有约30%的患者在诊断时其ALT水平是正常的,而且他们当中的很多人在其后的随访中ALT也一直正常,但肝活检结果却显示,他们中有很多人有明显的肝纤维化甚至肝硬化的改变^[21-23].因此,有无明显肝损伤的改变或将来ALT有无升高的可能性是不能完全由病毒学或生化学的检测所能预测的.我们的结果也提示血清中病毒载量和ALT水平高低不能反映慢性丙型肝炎病理改变程度.

有学者认为,慢性丙型肝炎肝损伤的发病机制是HCV与宿主免疫反应之间复杂的相互作用的结果^[24],也有学者认为其肝损伤很可能是由于病毒蛋白的直接细胞病变作用和免疫介导机制联合作用所引起,这种免疫介导机制包括细胞溶解作用和由CTLs(cytotoxic T lymphocytes)与炎性细胞因子介导的非细胞溶解作用^[25],我们的结果则提示, HCV可能不直接参与慢性丙型肝炎肝损伤的发生.总之,虽然HCV RNA水平对

于慢性丙型肝炎患者的抗病毒治疗和疗效判定具有重要的意义^[26-27], 但是, 血清HCV RNA水平并不能确切反映患者肝脏的病理改变, 虽然ALT浓度在某种程度上可反映肝脏炎症的改变程度, 但是不能反映肝脏纤维化的程度. 由于我们肝脏活检的样本量小, 这种关系还有待于我们今后继续观察和总结.

4 参考文献

- Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 558-567
- Poynard T, Yuen MF, Ratzin V, Lai CL. Viral hepatitis C. *Lancet* 2003; 362: 2095-2100
- Alberti A, Benvegnu L. Management of hepatitis C. *J Hepatol* 2003; 38: S104-S118
- 庄辉. 重视丙型肝炎的研究. 中华肝病杂志 2004; 12: 65-66
- Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S65-S73
- Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 2003; 52: 1-13
- Castelain S, Descamps V, Thibault V, Francois C, Bonte D, Morel V, Izopet J, Capron D, Zawadzki P, Duverlie G. TaqMan amplification system with an internal positive control for HCV RNA quantitation. *J Clin Virol* 2004; 31: 227-234
- Komurian-Pradel F, Paranhos-Baccala G, Sodoyer M, Chevallier P, Mandrand B, Lotteau V, Andre P. Quantitation of HCV RNA using real-time PCR and fluorimetry. *J Virol Methods* 2001; 95: 111-119
- 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝病杂志 2000; 8: 324-326
- Leone N, Rizzetto M. Natural history of hepatitis C virus infection: from chronic hepatitis to cirrhosis, to hepatocellular carcinoma. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2005; 51: 31-46
- Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S47-S56
- El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma: an epidemiologic view. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: S72-S78
- El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma: recent trends in the United States. *Gastroenterology* 2004; 127: S27-S34
- Orellana N I, Poniachik T J, Smok S G, Madrid S AM, Menendez A A, Tobar A E, Brahm B J. Factors associated with the severity of liver damage in chronic hepatitis C. *Rev Med Chil* 2005; 133: 1311-1316
- Ramos Gomez M. Natural history of chronic hepatitis C. *Rev Gastroenterol Mex* 2002; 67: S17-S20
- Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, Tripodi MF, Marracino M, Gambardella M, Giordano M, Ruggiero G. Serum HCV RNA levels correlate with histological liver damage and concur with steatosis in progression of chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 1677-1683
- Zechini B, Pasquazzi C, Aceti A. Correlation of serum aminotransferases with HCV RNA levels and histological findings in patients with chronic hepatitis C: the role of serum aspartate transaminase in the evaluation of disease progression. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 891-896
- Puoti C, Magrini A, Stati T, Rigato P, Montagnese F, Rossi P, Aldegheri L, Resta S. Clinical, histological, and virological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal or abnormal alanine transaminase levels. *Hepatology* 1997; 26: 1393-1398
- 谭龙益, 张莉, 王皓, 何金, 陈洁, 胡海清, 侯晓簪, 何洁兰, 袁媛, 冀俊峰. HCV RNA含量与肝脏组织病理学损伤之间的关系. 第二军医大学学报 2004; 25: 1307-1309
- Anand BS, Velez M. Assessment of correlation between serum titers of hepatitis C virus and severity of liver disease. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2409-2411
- Bacon BR. Treatment of patients with hepatitis C and normal serum aminotransferase levels. *Hepatology* 2002; 36: S179-S184
- Rumi MG, De Filippi F, Donato MF, Del Ninno E, Colombo M. Progressive hepatic fibrosis in healthy carriers of hepatitis C virus with a transaminase breakthrough. *J Viral Hepat* 2002; 9: 71-74
- Pradat P, Alberti A, Poynard T, Esteban JI, Weiland O, Marcellin P, Badalamenti S, Trepo C. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Hepatology* 2002; 36: 973-977
- Rehermann B. Interaction between the hepatitis C virus and the immune system. *Semin Liver Dis* 2000; 20: 127-141
- Cerny A, Chisari FV. Pathogenesis of chronic hepatitis C: immunological features of hepatic injury and viral persistence. *Hepatology* 1999; 30: 595-601
- Zeuzem S, Lee JH, Franke A, Ruster B, Prummer O, Herrmann G, Roth WK. Quantification of the initial decline of serum hepatitis C virus RNA and response to interferon alfa. *Hepatology* 1998; 27: 1149-1156
- Davis GL. Monitoring of viral levels during therapy of hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S145-S151

电编 张敏 编辑 潘伯荣