

ALT $\leq$ 2 $\times$ ULN 的 CHB 患者明显肝脏炎症血清生化学替代诊断标志物研究

卓其斌 李 强 陈 冲 李微霞 陈 良

摘 要 **目的** 探讨血清转氨酶水平正常或轻度升高的慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者肝脏炎症的血清生化学替代标志物。**方法** 回顾性纳入 100 例血清谷丙转氨酶 (alanine transaminase, ALT) 水平正常或轻度升高 (<2 倍正常值上限) 的 CHB 患者。明显肝脏炎症定义为炎症分级 $\geq G2$ 。比较无明显肝脏炎症组与明显肝脏炎症组间临床及生化学指标。**结果** 100 例患者中, 无明显肝脏炎症组 56 例, 占 56%; 明显肝脏炎症组 44 例, 占 44%。单因素回归分析显示 ALT、AST、碱性磷酸酶、谷氨酰转肽酶、白蛋白、球蛋白、凝血酶原时间、血小板和中性粒细胞绝对数与明显肝脏炎症相关 (P 均 <0.05)。多因素回归分析显示 GGT 是明显肝脏炎症的独立预测因素 ($P < 0.05$)。**结论** 血清 GGT 是转氨酶水平正常或轻度升高的 CHB 患者明显肝脏炎症的独立预测因素, 可以用做 ALT $\leq 2 \times$ ULN 的 CHB 患者明显肝脏炎症的诊断标志物。

关键词 慢性乙型肝炎 谷氨酰转肽酶 血清生化学标志物 明显肝脏炎症

中图分类号 R575.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.11.025

Investigation of Serum Biochemical Alternative Markers Which Can Effectively Predict Significant Liver Inflammation in CHB Patients with ALT $\leq 2 \times$ ULN. Zhuo Qibin, Li Qiang, Chen Chong, et al. Wenzhou Medical University, Zhejiang 325035, China

Abstract **Objective** To investigate the simple serum markers that can effectively predict significant liver inflammation in chronic hepatitis B (CHB) patients with normal or within 2 times elevated alanine aminotransferase (ALT) levels. **Methods** One hundred CHB patients with normal or within 2 times elevated ALT levels (<80 IU/L) were retrospectively enrolled. Significant liver inflammation was defined as a liver inflammatory activity grade $\geq G2$. The difference of various clinical markers between CHB patients with and without significant liver inflammation was compared. **Results** Of 100 CHB patients, 56 patients (56%) had non-significant liver inflammation and 44 patients (44%) had significant liver inflammation. By univariate regression analysis, the ALT, AST, alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), albumin, globulin, prothrombin time (PT), prothrombin time (PT), and absolute neutrophil count (ANC). By multivariate regression analysis, the gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) was identified as the only independent predictor of significant liver inflammation. **Conclusion** The GGT was independent predictor of significant liver inflammation in CHB patients with normal or within 2 times elevated ALT levels, which could be used to predict significant liver inflammation in this patients group.

Key words Chronic hepatitis B; GGT; Serum biochemical markers; Significant inflammation

慢性 HBV 感染是全球性的公共卫生问题, 全球慢性 HBV 感染者超过 2.4 亿。我国是 HBV 感染中度流行区, 2006 年全国流行病学调查显示我国 HBsAg 携带率为 7.18%, 据此估计我国约有 9300 万 HBV 携带者, 其中 3000 万为 CHB 患者^[1]。伴有明显肝脏炎症 ($\geq G2$) 的 CHB 患者更易进展为肝硬化

或肝癌, 当前各大临床指南均建议这部分患者需要立即进行抗病毒治疗^[2~4]。因此, 早期发现明显肝脏炎症对评估 CHB 患者的预后并指导其抗病毒治疗具有十分重要意义。然而, 有文献称在血清转氨酶水平正常或轻度升高 [<2 倍正常值上限 (upper limit of normal, ULN)] 的 CHB 患者中, 约 24.6% 的患者存在明显肝脏炎症^[5]。当前临床常用的判断肝脏炎症的方法主要有肝穿刺病理学检查和血清生化指标两大类。肝穿刺病理学检查是判断肝脏炎症的金标准, 但面临价格昂贵、有创、罕见但严重的并发症等问题。对于血清转氨酶水平正常或轻度升高的患者, 尚缺乏能够有效预测肝脏明显炎症的血清标志物。因此, 笔

基金项目: 上海市科委“科技创新行动计划”医学与农业领域重点项目 (13401902100)

作者单位: 325035 温州医科大学 (卓其斌、陈冲、陈良); 201508 上海, 复旦大学附属公共卫生临床中心肝炎一科 (李强、李微霞)

通讯作者: 陈良, 主任医师, 硕士生导师, 电子信箱: chenliang@shaphc.org

者在本研究中进行一些无创诊断肝脏炎症的替代血清生化指标的初步探索。

对象与方法

1. 对象:回顾性分析 2014 年 1 月~2015 年 10 月在复旦大学附属公共卫生临床中心就诊的 226 例 CHB 患者,所有患者均在笔者医院进行了常规实验室检查和肝组织活检。CHB 的诊断符合我国《慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)》的诊断标准^[6]。226 例患者中,126 例因如下原因被排除:30 例患者 ALT > 2ULN,68 例为经治患者(抗病毒治疗或保肝治疗),5 例伴有丙型病毒性肝炎,12 例合并非酒精性脂肪性肝病,8 例合并酒精性肝病(酒精摄入 > 20g/d,持续 5 年以上),3 例合并自身免疫性肝病(2 例原发性胆汁性肝硬化,1 例自身免疫性肝炎)。最终 100 例 ALT 正常或轻度升高(≤ 2 ULN)的初治 CHB 患者被纳入该研究。

2. 肝脏病理学检查:采用 16G 一次性穿刺针(Hepafix,德国 B. Braun 公司),在 B 超引导下,局部麻醉后经皮肝穿刺获取肝组织,穿刺所获肝组织 ≥ 10 mm 视为穿刺成功。肝组织标本立即经甲醛溶液固定、石蜡包埋后进行病理学分析。所有肝组织标本均由 2 位病理医师双盲阅片,并取一致性阅片结果作为肝脏炎症分级的病理结果。当 2 位病理医师阅片意见不一致时,则由第 3 位高年资病理医师主持再次阅片并讨论给出病理结果。肝组织炎症活动度分级(G0~G4)参照 2000 年中华医学会传染病与寄生虫分会、肝病学会制定的病毒性肝炎防治方案。

3. 实验室检查:每位患者均进行了 HBVM、HBV DNA、血常规、肝功能、血脂、凝血功能等检查。实验室检查均采用患者空腹时的血标本。HBV 血清学标志物采用自动化学发光免疫分析仪(Advia,德国拜尔公司)。血常规检查采用自动血液分析仪(XT-2000i,日本希森美康公司)。生物化学变量包括 ALT、AST、ALP、GGT、TSB、ALB、GLB、TC、TG、INR、PT、PLT、WBC、Hb 和 ANC 检测采用全自动生化分析仪(7600 Series,日本日立公司)。

4. 统计学方法:所有统计分析采用 SPSS 15.0 统计软件完成,正态分布资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,偏态分布资料以中位数(四分位数间距)表示,分类变量以数值(百分数)表示。 t 检验比较正态分布资料,Kruskal-Wallis 秩和检验比较非正态分布连

续性资料, χ^2 检验比较分类变量资料。Spearman 相关性分析研究血清标志物与肝脏病理炎症分级之间的相关性。对 Spearman 相关显示与肝脏炎症分级有相关性的血清标志物,依次采用单因素回归分析、多因素回归分析来筛选明显肝脏炎症($\geq G2$)的独立相关因素。受试者工作特性曲线(the receiver operating characteristic curve,ROC)和 ROC 曲线下面积(the area under ROC,AUROC)用于评估血清标志物对明显肝脏炎症的诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 患者基线特征:100 例 CHB 患者中,G0 4 例(4.0%)、G1 52 例(52.0%)、G2 27 例(27.0%)、G3 17 例(17.0%)、G4 0 例,患者基线时的临床及生化指标见表 1。患者平均年龄 37 ± 9 岁,主要为男性中年患者。无明显肝脏炎症组与明显肝脏炎症组在年龄、性别、HBeAg 比例、HBV DNA、TBIL、ALB、GLB、TC、TG、PT、WBC 和 Hb 方面的差异无统计学意义(P 均 > 0.05);然而两组患者在 ALT、AST、ALP、GGT、PLT 和 ANC 方面的差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。

2. 血清标志物与肝脏炎症分级的相关性:对无明显肝脏炎症组与明显肝脏炎症组之间差异有统计学意义的指标(ALT、AST、ALP、GGT、PLT 和 ANC)进行 Spearman 相关性分析,比较各指标与肝脏炎症分级相关性的最高,结果显示 ALT、AST、ALP 和 GGT 水平与肝脏炎症程度呈正相关[相关系数(R) > 0],而 ANC 和 PLT 与肝脏炎症程度呈负相关($R < 0$);GGT 与肝脏炎症分级的相关性最高 [$R = 0.508, P < 0.05$],其余依次为 AST($R = 0.397, P < 0.05$)、ALT($R = 0.348, P < 0.05$)、ALP($R = 0.311, P < 0.05$)、ANC($R = -0.251, P < 0.05$)和 PLT($R = -0.214, P < 0.05$)。详见表 2。

3. 单因素回归分析:首先将肝脏炎症分级进行二分类变量转换,炎症分级 $< G2$ 的定义为 0,炎症分级 $\geq G2$ 定义为 1。对与肝脏炎症分级有相关性的 6 个指标(ALT、AST、ALP、GGT、PLT 和 ANC)进行二分类单因素回归分析,结果显示,ALT、AST、ALP 和 GGT 水平是明显肝脏炎症的危险因素($OR > 1, P < 0.05$),ANC 和 PLT 是明显肝脏炎症的保护因素($OR < 1, P < 0.05$),详见表 3。

表 1 患者基线时的临床及生化指标情况 ($\bar{x} \pm s$)

项目	患者总体($n=100$)	无明显肝脏炎症组($n=56$)	明显肝脏炎症组($n=44$)	$t/Z/\chi^2$	P
年龄(岁)	37 ± 9	36 ± 10	38 ± 10	0.66	0.450
性别(男性/女性)	64/36	36/20	28/16	0.25	0.780
HBeAg(阳性/阴性)	54/46	30/26	24/20	0.82	0.090
HBVDNA(IgIU/ml)	5.9(4.8~7.6)	5.8(4.6~7.4)	6.2(4.8~7.9)	0.11	0.920
ALT(IU/L)	45.8 ± 20	41.1 ± 19.2	50.2 ± 20.1	6.35	0.000
AST(IU/L)	33.6 ± 13.7	29.1 ± 8.9	37.7 ± 15.9	5.67	0.000
ALP(IU/L)	77.1 ± 20.4	72.6 ± 18.7	81.3 ± 21.3	6.34	0.000
GGT(IU/L)	50.6 ± 56.6	30.6 ± 26.7	69.2 ± 69.7	4.59	0.000
TBIL(μmol/L)	14.8 ± 10.9	15.0 ± 13.6	14.5 ± 7.7	0.86	0.360
ALB(g/L)	44.3 ± 4.2	45.0 ± 4.1	43.6 ± 4.3	0.14	0.940
GLB(g/L)	26.7 ± 1.2	26.1 ± 4.6	27.3 ± 3.8	0.31	0.700
TC(mmol/L)	4.4 ± 1.0	4.5 ± 0.9	4.4 ± 1.0	0.59	0.560
TG(mmol/L)	1.3 ± 0.9	1.2 ± 0.7	1.4 ± 1.0	0.29	0.840
PT(s)	13.3 ± 0.9	13.2 ± 0.7	13.5 ± 1.0	0.33	0.430
WBC($10^9/L$)	5.6 ± 1.3	5.7 ± 1.4	5.4 ± 1.2	0.28	0.800
Hb(g/L)	143.2 ± 17.5	142.2 ± 17.6	144.2 ± 17.5	0.37	0.460
PLT($\times 10^9/L$)	169.2 ± 54.3	181.6 ± 61.9	157.7 ± 43.9	4.97	0.000
ANC($\times 10^9/L$)	3.1 ± 1.0	3.3 ± 1.0	2.9 ± 0.0	2.94	0.009

ALT. 谷丙转氨酶;AST. 谷草转氨酶;ALP. 碱性磷酸酶;GGT. 谷氨酰转肽酶;TBIL. 总胆红素;ALB. 白蛋白;GLB. 球蛋白;TC. 总胆固醇;TG. 甘油三酯;PT. 凝血酶原时间;WBC. 白细胞计数;Hb. 血红蛋白浓度;PLT. 血小板计数;ANC. 中性粒细胞计数

表 2 血清标志物与肝脏炎症分级的相关性

指标	相关系数(R)	P
ALT(IU/L)	0.348	0.000
AST(IU/L)	0.397	0.000
ALP(IU/L)	0.311	0.000
GGT(IU/L)	0.508	0.000
PLT($\times 10^9/L$)	-0.214	0.014
ANC($\times 10^9/L$)	-0.251	0.004

表 4 明显肝脏炎症相关血清标志物的多因素分析

指标	S. E	P	OR	95% CI
ALT(IU/L)	0.009	0.611	0.995	0.977~1.014
AST(IU/L)	0.021	0.068	1.038	0.997~1.081
ALP(IU/L)	0.013	0.909	1.001	0.977~1.027
GGT(IU/L)	0.008	0.027	1.017	1.002~1.033
PLT($\times 10^9/L$)	0.005	0.096	0.992	0.982~1.001
ANC($\times 10^9/L$)	0.550	0.173	0.473	0.161~1.390

表 3 明显肝脏炎症相关血清标志物的单因素分析

指标	S. E	P	OR	95% CI
ALT(IU/L)	0.004	0.000	1.016	1.007~1.024
AST(IU/L)	0.010	0.000	1.038	1.017~1.059
ALP(IU/L)	0.009	0.010	1.023	1.005~1.040
GGT(IU/L)	0.007	0.001	1.025	1.011~1.040
PLT($10^9/L$)	0.003	0.029	0.992	0.986~0.999
ANC($10^9/L$)	0.148	0.016	0.757	0.566~1.012

4. 多因素回归分析:多因素回归分析显示,GGT 是明显肝脏炎症的独立相关因素($OR=1.017,95\%CI:1.002\sim1.033,P=0.027$),而 ALT、AST、ALP、ANC 和 PLT 对转氨酶正常或轻度升高的 CHB 患者的明显肝脏炎症无独立相关价值($P>0.05$),详见表 4。

5. GGT 对明显肝脏炎症的诊断价值评估:图 1 显示了 GGT 预测明显肝脏炎症的 ROC 曲线。根据 Youden 值最大时,AUROC 最大,所对应的临界点为

最佳界点值。笔者发现 $GGT>42.5IU/L$ 时,Youden 值最大(0.39),AUROC 最大值为 0.704。在笔者的 100 例 ALT 正常或轻度升高 CHB 患者中,GGT $>42.5IU/L$ 预测明显肝脏炎症的敏感度、特异性、阴性预测值和阳性预测值分别为 52.5%、87.5%、43.6% 和 90.5%。

讨 论

早期发现明显肝脏炎症对评估 CHB 患者的预后、判断抗病毒治疗指征、决定治疗时机具有重要价值。ALT 是当前临床最常用的肝脏炎症预测指标,然而在 ALT 正常或轻度升高($\leq 2ULN$)的 CHB 患者中仍有 24.6% 的患者存在明显肝脏炎症^[5]。从 ALT 正常或轻度升高的 CHB 患者中鉴别出明显肝脏炎症患者并给予及时的抗病毒治疗可延缓 CHB 患者病情进展、减少肝纤维化、肝硬化和肝癌的发生率。肝组织病理学检查是评估肝脏炎症的金标准,但面临有创、昂贵、依从性差、罕见但严重的并发症等一系列问题。

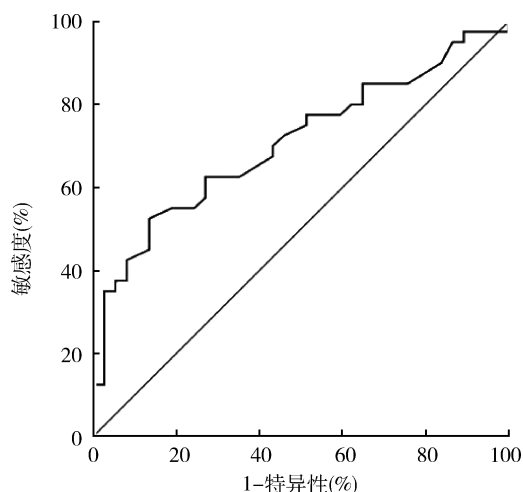


图 1 血清谷氨酰转氨酶 (GGT) 对明显肝脏炎症的预测价值 (AUROC = 0.704)

因此,探索能够有效预测 ALT 正常或轻度升高的 CHB 患者明显肝脏炎症的血清标志物就显得十分必要。

笔者的研究纳入了 100 例初治、血清 ALT 水平正常或轻度升高的 CHB 患者。通过 Spearman 相关性分析、单因素回归分析、多因素回归分析逐层筛选,最终发现血清 GGT 是明显肝脏炎症的独立预测因素。在笔者的 100 例 ALT 正常或轻度升高 CHB 患者中,GGT > 42.5 IU/L 预测明显肝脏炎症的敏感度、特异性、阴性预测值和阳性预测值分别为 52.5%、87.5%、43.6% 和 90.5%。GGT 对 ALT 正常或轻度升高 CHB 患者明显肝脏炎症的预测价值尚需要新的研究队列进一步评估和验证。

Benini 等的研究曾发现血清 GGT 水平升高与慢性丙型肝炎患者的病情进展有相关性。HAK 等^[7]的研究曾发现血清 GGT 水平升高与非酒精性脂肪性肝病的病情进展相关。笔者的研究发现明显肝脏炎症组患者的 GGT 水平显著高于非明显肝脏炎症组 (69.2 IU/L vs 30.2 IU/L, $P = 0.000$), GGT 是 ALT 正常或轻度升高 CHB 患者肝脏炎症活动的唯一独立预测因素,这提示 GGT 水平升高与 CHB 患者的病情进展有关。综合目前的研究,笔者认为 GGT 与慢性丙型肝炎、CHB 以及非酒精性脂肪性肝病等慢性肝病的病程均有一定的相关性,值得进一步探索研究。

该回顾性研究存在如下缺陷,需要进一步完善:(1)本研究仅回顾性纳入 100 例患者,对于探索血清标志物而言,100 例的样本量相对较小。(2)本研究中 ALT ≤ 2ULN 的 CHB 患者肝脏明显炎症的比例为 44%,明显高于已有文献报道 (24.6%),原因可能是样本量过低造成的统计结果的偏倚;也可能与临床医师的主观选择性偏倚有关,临床上往往更倾向于建议“综合指标 (年龄 > 30 岁、男性、有家族史等) 判断伴有明显肝脏炎症可能性大”的 CHB 患者进行肝穿刺检查,而不是对所有 ALT ≤ 2ULN 的 CHB 患者进行肝穿刺检查。(3)本研究发现 GGT > 42.5 IU/L 预测 ALT ≤ 2ULN 的 CHB 患者明显肝脏炎症的特异性和阴性预测值分别为 87.5% 和 90.5%,对明显肝脏炎症具有排除价值,但该结论尚需在一个新的队列中进一步验证。因此,笔者的研究结论尚需多中心、大样本、前瞻性研究进一步验证。

参考文献

- 1 Liang P, Zu J, Yin J, *et al*. The independent impact of newborn hepatitis B vaccination on reducing HBV prevalence in China, 1992 – 2006: A mathematical model analysis[J]. J Theor Biol, 2015, 386: 115 – 121
- 2 Liaw YF, Kao JH, Piratvisuth T, *et al*. Asian – Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2012 update [J]. Hepatol Int, 2012, 6(3): 531 – 561
- 3 Martin P, Lau DT, Nguyen MH, *et al*. A Treatment Algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the united States: 2015 update[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2015, 13(12): 2071 – 2087
- 4 EASL. Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2012, 57(1): 167 – 185
- 5 Cheong JY, Kim DJ, Hwang SG, *et al*. Serum markers for necroinflammatory activity in patients with chronic viral hepatitis and normal or mildly elevated aminotransferase levels [J]. Liver Int, 2011, 31(9): 1352 – 1358
- 6 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]. 中华肝脏病杂志, 2010, 19(1): 13 – 24
- 7 HAK. The serum gamma glutamyl transpeptidase – a non invasive diagnostic bio marker of chronic anicteric non alcoholic liver diseases [J]. J Clin Diagn Res, 2013, 7(4): 691 – 694

(收稿日期: 2015 – 12 – 16)

(修回日期: 2016 – 01 – 07)