

重组干扰素治疗慢性丙型肝炎的临床 及肝组织学疗效评价^①

江元森^② 彭文伟 姚集鲁 陆玮伦 吕凌

(中山医科大学附属第三医院传染病科;广州,510630)

摘要 报告 84 例慢性丙型肝炎(CHC)患者,通过临床、血清学、肝组织学、分子生物学和免疫组织化学等方法,观察应用重组 α -干扰素加传统护肝治疗的效果,疗程 24 周,并与单用传统护肝治疗的对照组治疗前后各项指标变化比较。疗程结束时结果显示:治疗组 64 例中,血清 ALT 复常率为 70.3%,HCV-RNA 阴转率为 67.2%,肝组织学好转率为 65.6%,肝组织内 HCV-RNA 阴转率为 51.5%,肝组织内 HCV-Ag 抗原的免疫组化检出率从治疗前的 15.6%减至治疗后的 6.3%,分别显著高于对照组($P < 0.05$)。疗程结束后随访 3~6 个月,测定 HCV-RNA 并动态观察血清 ALT 的变化,部分病人有复发,但治疗组 ALT 复常率及 HCV-RNA 阴转率仍达 70.0%。

关键词 丙型肝炎病毒;聚合酶链反应;免疫组织化学;重组 α -干扰素

中图分类号 R512.6

慢性丙型病毒性肝炎(CHC)是一种常见的进行性病毒性肝脏疾病。近年来,国外应用干扰素治疗 CHC 的报道较多,且取得较好的疗效^[1,2]。国内研究报道不多,并都只限于血清谷丙转氨酶(ALT)水平和 HCV 标记物方面。本研究旨在客观评价重组 α -干扰素(IFN- α)对丙型肝炎抗病毒的临床疗效,现将观察结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 研究对象

为本科 1991 年 10 月~1994 年 6 月的住院病人,共 84 例,男 66 例,女 18 例,年龄 20~61 岁(平均 42.5 岁),其中年龄 > 50 岁者 10 例;病程均在半年以上,半年~3 年为 72 例,病程 > 3 年 12 例,平均病程 2.65 年。全部病例均有输血或血制品治疗史,符合 1990 年上海全国肝炎会议修订的诊断标准,并经肝穿活检证实。治疗前 HCV-RNA 阳

性, Anti-HCV 阳性,伴有 ALT 活力持续或反复增高,HBV-M 及 HDV-M 均阴性。

1.2 分组与治疗

84 例分两组:A 组(IFN- α 治疗组)64 例和 B 组(对照组)20 例。两组在性别、年龄、病程、病情、输血或输血制品史、血清 ALT、病毒学指标,以及肝组织学诊断方面,都没有显著性差异($P > 0.05$)。A 组的 64 例中,慢性迁延性肝炎(CPH)11 例,慢性活动性肝炎(CAH)46 例,肝硬化(CIR)7 例,用 IFN- α 300 万 U,肌注,每周 3 次,加传统护肝治疗,总疗程 24 周。(IFN α -2a 为沈阳军区军事医学研究所和广州医学院研制,批号 9201)。B 组 20 例,慢性迁延性肝炎(CPH)5 例,慢性活动性肝炎(CAH)13 例,CIR 2 例,单用传统护肝治疗,包括:肌注肝炎灵 4ml/d,口服垂盆草,齐墩果酸片,维生素等。总疗程 24 周。

1.3 检查项目

1.3.1 常规检查 治疗前及治疗期间检查血、尿常规和肾功能每两周 1 次;每月查血清

① 本课题由 CMB 资助;

② 第一作者,44 岁,讲师,博士

病毒学指标(抗-HCV, HCV-RNA, 肝功能, 凝血酶原, 白蛋白, 血尿素氮以及心电图等项目各1次。

1.3.2 肝穿刺活检 治疗前和疗程结束时各做肝穿刺活检1次。取标本长约1~1.5cm, 直径约0.1cm, 将其1/3存放液氮留作病毒学检查, 其余用10%福尔马林固定, 石蜡包埋, 连续切片(厚4 μ m)后, 作HE染色及网状纤维染色。

1.3.3 肝组织学鉴定 按1990年上海全国肝炎会议修订的诊断标准和病理分型标准, 分为慢性迁延性肝炎(CPH), 慢性活动性肝炎(CAH), 并根据CAH的病理特征再分I(轻), II(中), III(重)型, 肝硬化(cirrhosis, CIR), 对其病理变化的判断, 则根据治疗前后双份肝组织标本的炎症及坏死的好转, 无变化及加重按编码采用Knodel HAI方案为基础, 进行对比评价肝组织学活动性^[3]。

1.4 检查方法

1.4.1 肝炎病毒标记物血清学检查 ①抗-HCV检测, 采用上海科华生物工程公司抗-HCV, ELISA检测试剂盒, 批号921110。酶

标仪测定各种标本的吸光度(OD值)。②HCV-RNA用套式RT-PCR检测。引物由本科设计, 委托中国科学院上海细胞生物研究所合成。

1.4.2 肝组织内HCV-Ag检测 采用LSAB法(标记链亲和素-生物素法), 生物素标记抗体鼠免疫球蛋白系同济医院临床免疫研究室提供。抗HCVNS3区单克隆抗体为美国Bionikes公司产品。

1.4.3 肝组织内聚合酶链反应(PCR) 用套式PCR法溶解冰冻, 蛋白酶K消化, 酚提取和酒精沉淀。沉淀物用水溶解作为模板, 按套式RT-PCR法扩增。

1.4.4 统计学处理 计数资料用百分比表示, 显著性测定用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 三项复常率比较

两组ALT、血清和肝组织HCV-RNA复常率比较。见表1。

表1 两组ALT、血清和肝组织HCV-RNA复常率

组别	ALT		血清HCV-RNA		肝组织HCV-RNA	
	治前>40U	治后<40U	治前(+)	治后(-)	治前(+)	治后(-)
	n	n(%)	n	n(%)	n	n(%)
A组 (n=64)	64	45(70.3) ¹⁾	63	43(67.2) ²⁾	61	33(51.5) ³⁾
B组 (n=20)	20	5(25.0)	19	2(10.5)	19	1(5.3)

1), 2), 3) A组与B组比较, $P < 0.05$

2.1.1 血清ALT A组64例, 血清ALT复常率在治疗结束时有45例(45/64, 70.3%), 而B组血清ALT复常率只有5例(5/20, 25.0%), 两组比较有显著性差异($P < 0.05$)。

2.1.2 血清HCV-RNA A组阴转率在治疗结束时有43例(43/64, 67.2%), 而B组只有2例(2/20, 10.5%), 两组比较有显著性

差异($P < 0.05$)。

2.1.3 肝组织内HCV-RNA A组阴转率在治疗结束时有33例(33/64, 51.5%), 特别是7例血清HCV-RNA阴性者, 肝组织内HCV-RNA检测仍阳性, 因此, 对血清HCV-RNA阴性的慢性丙型肝炎患者可考虑肝穿刺做病原学检查。然而B组只有1例(1/20, 5.3%)阴转。两组ALT, 血清HCV-RNA及

肝组织 HCV-RNA 复常率比较有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 两组肝组织学转归比较

治疗前后双份肝组织标本按编码进行详细对比分析,如表2所示。A组肝组织学好转42例(42/64,65.6%)。其中4例首次肝活检诊断CPH,末次肝活检病变轻微,组织学愈合;无变化16例(16/64,25.0%),加重6例(6/64,9.4%)。B组肝组织学好转5例(5/20,25.0%),无变化9例(9/20,45.0%),加重6例(6/20,30.0%)。两组比较有显著性差异($P<0.05$)。

表2 两组肝组织学转归

	A组(64例) 治后(%)	B组(20例) 治后(%)
好转	42(65.6) ¹⁾	5(25.0)
无变化	16(25.0)	9(45.0)
加重	6(9.4)	6(30.0)

1)A组与B组比较 $P<0.05$

2.3 两组肝组织 HCV-Ag 检出率比较

两组治疗前后肝组织 HCV-Ag 检出率比较,A组肝组织学 HCV-Ag 检出率从治疗前的15.6%减至治疗后的6.3%。HCV-Ag 阳性细胞呈浅棕黄色均质颗粒分布于细胞核内(核型)或细胞浆中(浆型),并看出CPH为核型表达,CAH为浆型表达。核型表达的细胞周围一般无明显炎症细胞浸润,而浆型表达的细胞周围有一定数量的炎症细胞浸润。B组治疗前肝组织 HCV-Ag 检出率15.0%,B组治疗后肝组织 HCV-Ag 检出率无变化。

2.4 两组肝组织学活动性指数比较

疗程结束后同B组比较,A组的肝组织学活动性评分有明显好转,而B组则无这种变化见表3。A组肝组织学好转主要是肝细胞坏死减轻、细胞再生活跃、门脉区炎症和碎屑样坏死有程度不同好转,从首次肝组织学的总评分 9.7 ± 1.72 降低到末次评分的 6.1 ± 3.6 。两组平均纤维化评分没有变化。

表3 两组肝组织学活动性指数比较($\bar{x}\pm s$)

组别	碎屑样 坏死	小叶细胞 坏死	门脉区 炎症	纤维化	总评分	
A组	治前	2.5±0.8	2.4±1.2	3.3±0.4	1.5±1.1	9.7±1.72
	治后	1.5±1.4	0.8±0.6	2.4±1.4	1.4±1.1	6.1±3.6
B组	治前	2.9±1.1	2.1±1.2	3.3±0.8	1.5±1.1	9.8±3.8
	治后	2.9±1.4	2.0±1.1	3.1±0.7	1.6±1.0	9.6±3.4

1)HAI,即 Knodell 肝炎组织学活动性指数

2.5 两组 ALT、HCV-RNA 随访结果比较

疗程结束后随访3~6个月,如表4所示,在治疗后3个月,血清ALT仍保持正常,A组为85.7%,B组为28.5%。HCV-RNA持续阴性,A组为85.7%,B组为28.

5%。治疗后6个月,血清ALT仍保持正常,A组为70.0%,B组为25.0%。HCV-RNA持续阴转,A组为70.0%,B组只有1例HCV-RNA阴转。两组比较有显著性差异($P<0.05$)。

表4 两组 ALT、HCV-RNA 随访结果

组别	n	ALT < 40U	HCV-RNA(-)
		n(%)	n(%)
3个月	A组	36(85.7) ¹⁾	33(78.5) ²⁾
	B组	4(28.5)	4(28.5)
6个月	A组	21(70.0) ³⁾	21(70.0) ⁴⁾
	B组	3(25.0)	1(8.3)

1)~4) A组与B组比较, $P < 0.05$

3 讨论

本研究应用重组 α -2a 干扰素治疗慢性丙型肝炎观察临床及肝组织学疗效,评价重组 α 干扰素的抗病毒效应。本组病人对重组 α -干扰素耐受,常见副作用是发热,一般为低热到中度热,发生于最初注射 1~3 次,持续 4~8h,不必处理,自然退热;少数病人中有中性粒细胞减少;轻度脱发。通常不妨碍治疗,不必特殊处理,可自行恢复。本研究经 24 周 IFN 治疗后, A 组 70.3% 的患者血清 ALT 恢复正常, 67.2% 血清 HCV-RNA 阴性。治疗后双份肝组织标本按编码进行病理对比分析, A 组治疗后肝组织学总评分好转为 65.6%, 主要表现是肝细胞坏死减少、减轻, 细胞再生活跃, 门脉区炎症和碎屑样坏死有程度不同好转、修复。其中有 4 例由首次肝组织活检诊断 CPH, 末次肝组织学病变轻微, 组织学愈合, 而 B 组肝组织学好转 25%, 无变化 45.0%, 加重 30.0%, 两组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。纵观组织学活动性指数(HAI)分析, 虽然逐个单项分析无统计学差异, 但各项相加的总评分则明显好转, A 组病人从首次肝组织学总评分的 9.7 ± 1.72 降到末次肝活总评分 6.1 ± 3.6 。而 B 组则没有这种变化。国外报道 6 个月至 1 年 IFN 治疗后 62.5%~68.0% 病人肝组织学改善^[4,5], 本结果与之相近。

干扰素对丙型肝炎病毒有抑制作用^[6,7], 本研究中经 6 个月 IFN 治疗后, A 组病人血清 HCV-RNA 阴转率为 67.2%, 与国外报道

6 个月至 1 年 IFN 治疗后 HCV-RNA 阴转率为 53.7%~70.0% 的结果相似^[8,9]。血清 ALT 水平与 HCV-RNA 变化有相关关系, 治疗期间, HCV-RNA 复制受到抑制, 可能导致了 ALT 正常, 因此血清 HCV-RNA 在一定程度反映了病毒活动指标。本研究进一步观察, 通过肝组织内 HCV-RNA (PCR 法) 检测疗程结束所取肝组织标本, 其中 A 组有 31 份 (48.5%) 阳性, 其中有 13 份 (20.3%) 阳性患者的血清 ALT 是正常, 另有 7 份 (10.9%) 阳性患者血清 HCV-RNA 阴性, 可见干扰素可以抑制病毒的复制, 但还难以根除病毒感染。一旦治疗停止后又出现病毒复制活动即伴随 ALT 复发升高^[10]。

本研究对病例观察时间短, 在评价 α -干扰素治疗慢性丙型肝炎疗效期间, 肝脏的炎症仍存在, 需要一个较长时间观察才能更好评价 α -干扰素抗病毒效应。

(本文承蒙肖杰生教授、胡瑞德教授、张嗣汶副教授、邵国柱副教授、何达秋医师大力支持, 特此致谢)

参 考 文 献

- 1 Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones B, et al: Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. N Eng J Med, 1986, 315: 1575
- 2 Realdi G, Diodati G, Bonetti P, et al. Recombinant human interferon alfa-2a in community acquired non-A, non-B chronic active hepatitis. J Hepatol, 1990, 11: 568
- 3 Knodell RG, Ishak KG, Blak WC, et al. For-

- mulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981, 1 : 431
- 4 David E, Pucci A, Palladin D, et al. Histologic changes in liver biopsy specimens produced by recombinant interferon α -2b therapy for chronic non-A, non-B viral hepatitis. *J Clin Pathol*, 1992, 98 : 397
- 5 Diodati G, Bonetti P, Noventa F, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant human interferon- α -2a: Results of a randomized controlled clinical trial. *Hepatology*, 1994, 19 : 1
- 6 Sase-Royuela F, Porres JC, Moreno A, et al. High doses of recombinant alpha-interferon or gamma-interferon for chronic hepatitis C: A randomized, controlled trial. *Hepatology*, 1991, 13 : 327
- 7 翁林. 干扰素临床应用的生物学基础. 国外医学消化系统疾病分册, 1994, 14(1) : 26
- 8 Chayama K, Saitoh S, Arase Y, et al. Effect of interferon administration on serum hepatitis C virus RNA in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 1991, 13 : 1040
- 9 Haciwara H, Hayashi N, Mita E, et al. Detection of hepatitis C virus RNA in serum of patients with chronic hepatitis C treated with interferon- α . *Hepatology*, 1992, 155 : 37
- 10 王阁. 丙型肝炎病毒感染发病机理研究现状. 国外医学流行病学传染病学分册, 1994, 21(2) : 64
- (1994-08-13 收稿 1994-09-27 修回)

A CLINICAL AND HISTOLOGICAL EVALUATION ON THE IFN- α THERAPY EFFICACY FOR CHRONIC HEPATITIS C

Jiang Yuansen Peng Wenwei Yao Jilu Lu Weilun Lu Ling

(Department of Infection Diseases, The 3rd Affiliated Hospital Sun Yat-Sen University
of Medical Sciences, Guangzhou, 510630)

To assess the efficacy of IFN- α therapy for chronic hepatitis C (CHC), 84 patients were investigated by clinical, serological, histological, molecular biological, and immunohistochemical methods before and after the a course with or without recombinant alpha-IFN for 24 weeks. Of 64 patients with IFN- α , 70.3% have normal ALT level, 65.6% histological improvements at the end of the course, HCV-RNA cleared from serum in 67.2% and from liver in 51.5%. The positivity of HCV antigen in liver was detected by immunohistochemical technique decreased from 15.6% the course before to 6.3% after the course. As compared to the controls treated with supportives but IFN- α , a statistical difference was revealed. Within 6 months after cessation of the course, 70% of the IFN- α treated patients still showed normal ALT levels and negative HCV-RNA, although some had a relapse with one or both of the markers.

Key words hepatitis C virus; polymerase chain reaction; immunohistochemical; recombinant alpha-interferon