

## 急性、亚急性重型乙型病毒性肝炎存活病例远期预后观察

Survivors of acute and subacute severe HBV hepatitis: a study of long term prognosis

朱礼尧,汪习成,薛乐洋,李晶,郭建华

(江苏省淮安市第四人民医院传染科,淮安 223300)

[关键词] 肝炎,乙型;肝炎,病毒性,人;预后

[中图分类号] R 575.1 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X(2006)04-0455-02

本研究采用血清学、肝组织病理学、免疫组织化学及实时定量 PCR 等方法,对 8 例急性、亚急性重型乙型病毒性肝炎存活病例的肝炎病毒标志物、HCV-RNA、HBV-DNA 及前 C 区变异情况进行随访检测,以观察其远期预后。

### 1 资料和方法

1.1 病例来源和随访情况 1989 年 7 月~1993 年 3 月我院临床诊断为急性、亚急性重型乙型病毒性肝炎存活病例 8 例,诊断符合中华医学会传染病与寄生虫学分会、肝病学会联合修订(西安,2000)的病毒性肝炎防治方案急性、亚急性重型病毒性肝炎诊断与分型标准<sup>[1]</sup>,其中男性 7 例,女性 1 例,年龄 8~49 岁,平均 30 岁。全部患者进行跟踪随访 10 年,随访期间,对患者的临床表现、免疫指标和病理检查进行随访观察。

1.2 检测方法 运用 TEICHNICON 全自动血液生化分析仪查肝功能;用 ELISA 或 RIA 法检测血清肝炎病毒标志物;用实时荧光定量 PCR 法检测 HBV-DNA 或 HCV-RNA;运用 PCR+ELISA 法检测 HBV 前 C 区 nt 1 896G→A 的终止变异(nt 1 896G→A);采用 Menghini 法抽取肝组织,经石蜡包埋连续切片,在光镜下进行肝组织病理检查;用 PAP 法检测肝组织中 HBsAg、HBeAg、HCV-NS<sub>3</sub> 区抗原定位。

1.3 住院情况 8 例均有深度黄疸、昏迷,其中 3 例有腹水、肝浊音界缩小。3 例病程为 1 周内,5 例为 2~4 周内。AST/ALT 为 0.99~1.55(1.33±0.181);总胆红素为 280.4~349.4(316.02±24.110) μmol/L;白蛋白/球蛋白比为 0.49~1.98(1.19±0.588);凝血酶原活动度 PTA 为 29.58%~44.23%[(37.00±4.837)%]。急性期 8 例两次均检测出血清 HBV-IgM 阳性,抗-HAV-IgM 阴性,6 例抗-HCV 阴性;HBsAg 均为阳性,抗-HBs 均为阴性,7 例 HBeAg 阳性,4 例抗-HBc 阳性,2 例抗-HCV 阳性,抗-HAV-IgM 均为阴性。5 例行肝穿病理检查符合重型肝炎病理学改变。所有患者经积极保肝、退黄、血制品等支持治疗,肝功能均恢复正常,复查血清肝炎病毒标志物无改变。

### 2 结果

2.1 随访血清病毒标志物结果 有 1 例患者 HBsAg 转为阴性,伴随抗-HBs 阳性,同时 HBeAg 阴性。7 例抗-HBe 阳性,抗-HBc 阳性 7 例,2 例抗-HCV 阳性,8 例抗-HAV-IgM 均为阴性。

2.2 实时荧光定量 PCR 法检测 HBV-DNA 及 HCV-RNA 结果 1 例患者 HBV-DNA 检测结果小于正常检测线,余 7 例患者 HBV-DNA 检测结果均高于正常检测线,结果分别为:2×10<sup>4</sup>、3×10<sup>4</sup>、5×10<sup>6</sup>、4×10<sup>5</sup>、4×10<sup>5</sup>、2×10<sup>7</sup>、6×10<sup>4</sup> copy/ml。6 例患者 HCV-RNA 检测结果小于正常检测线,2 例患者检测结果高于正常检测线,分别为 2×10<sup>5</sup>、3×10<sup>6</sup> copy/ml。

2.3 随访肝组织病理及免疫组化情况 共有 5 例患者病理诊断为慢性病毒性肝炎,2 例患者病理诊断为肝硬化,1 例 HBsAg 阴性患者肝组织表现为轻度肝细胞损伤。免疫组化结果为:HBsAg 阴性患者其 HBsAg、HBeAg 及 HCV-NS<sub>3</sub> 均为阴性,5 例慢性病毒性肝炎患者 HBsAg、HBeAg 为阳性,HCV-NS<sub>3</sub> 为阴性,肝硬化患者 HBsAg、HBeAg、HCV-NS<sub>3</sub> 均为阳性。

### 3 讨论

重型病毒性肝炎临床经过凶险、复杂,并发症多,病死率高,预后差,其中急性、亚急性重型肝炎,国外报道病死率高达 80%~90%<sup>[2]</sup>,国内报道病死率为 35.6%~68.4%<sup>[3]</sup>。

本组 8 例乙型急性或亚急性重型病毒性肝炎存活者,存活期超过 10 年,随访时大多数患者无临床症状或症状不明显,肝功能异常或轻度异常,而病理检查 3 例为慢性肝炎轻度(G<sub>2</sub>S<sub>2</sub>),2 例为慢性肝炎中度(G<sub>3</sub>S<sub>3</sub>),2 例为肝硬化。血清学检查 7 例乙型肝炎病毒标志物阳性,2 例乙、丙型肝炎病毒标志物全部阳性。免疫组化检查,7 例肝组织中均可见到乙型肝炎病毒标志物,其中 2 例尚可见到丙型肝炎病毒标志物。提示血清肝炎病毒标志物检查阴性,并不能排除体内肝炎病毒的存在,肝组织中肝炎病毒的持续存在是引起慢性化的主要原因<sup>[4]</sup>,而乙肝感染 HCV 又加重肝组织损害<sup>[5]</sup>。3 例血清学检查与急性期相比,HBeAg 阴性,抗-HBe 阳性,nt 1 896G→A 的终止变异阳性,提示乙型肝炎病毒前 C 区基因发生变异,也可能是加重慢性肝损害的因素之一<sup>[6,7]</sup>。

8 例存活者中,急性期临床诊断为乙型肝炎,而随访时部分肝组织中尚可见到丙型肝炎病毒标志物,考虑主要与患者急性期使用血制品有关。1993 年以前,我国尚未对献血者强制实行抗-HCV 筛选,且抗-HCV 检测技术到目前尚不稳定,故血制品的使用有导致输血性肝炎发生的可能,且以丙型

肝炎较为常见<sup>[8]</sup>。但也不能排除急性与 HBV 重叠或混合感染及出院后通过日常生活接触、不洁注射等途径感染丙型肝炎病毒的可能性。

[参考文献]

[1] 中华医学会传染病与寄生虫学分会、肝病学会联合修订. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8: 324-329.

[2] Rakela J. Fulminant hepatitis: treatment and management[J]. Mgao Clin Proc. 1983, 58: 690-692.

[3] 董祥家, 关仲英, 张捷, 等. 重症肝炎的临床诊断分型与病理诊断分型[J]. 中国医科大学学报, 1988, 17: 210-212.

[4] 朱礼尧, 费树芬, 刘宗良, 等. 甲型重型病毒性肝炎远期存活病例慢性化原因探讨[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1998, 12:

96-98.

[5] 陈凯红, 刘海肃, 沙安莉, 等. 乙肝后肝硬化患者血清和腹水白介素-6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平的观察[J]. 临床肝胆病杂志, 1998, 14: 113-115.

[6] 张盛, 王永忠. 乙型肝炎病毒前 C 区基因变异与临床的关系[J]. 江苏大学学报(医学版), 2003, 13: 62-63.

[7] 李瀚旻, 张振鄂, 张金发, 等. HBV 前 C 区基因变异与血清肝纤维化标志物的相关性研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2003, 19: 29-30.

[8] 余为民, 胡德昌, 袁和俊, 等. 323 例患者输血后丙型肝炎病毒感染的前瞻性研究[J]. 中华流行病学杂志, 2003, 24: 330-331.

[收稿日期] 2006-03-07 [修回日期] 2006-03-29

[本文编辑] 贾泽军

• 研究简报 •

### VEGF 在非小细胞肺癌中的表达及其与 COX-2 表达的相关性

#### Expression of vascular endothelial growth factor in non-small cell lung cancer and its relationship with COX-2 expression

薛群, 沈振亚, 章臣楠, 许一鸣

(南通大学第二附属医院, 南通市第一人民医院心胸外科, 南通 226001)

[关键词] 血管内皮生长因子; 环氧合酶 2; 非小细胞癌, 肺

[中图分类号] R 734.2 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X(2006)04-0456-02

以往研究<sup>[1]</sup>发现根据肺癌的发病环节寻找肺癌防治的有效靶点是降低肺癌的发病率、死亡率及提高其生存率的重要途径之一。本研究应用免疫组织化学方法观察非小细胞肺癌(NSCLC)中 VEGF 的表达, 探讨它在 NSCLC 发生发展中的意义。

#### 1 材料和方法

1.1 标本来源 收集自 1999 年 1 月至 2000 年 10 月间我院病理科存档的肺癌手术标本蜡块, 共 60 例, 其中肺癌组织、癌旁组织(距癌灶边缘 3 cm)各 60 例, 肺大泡切除术中取正常肺组织 20 例。本组病例中男性 42 例, 女性 18 例, 年龄 32~74 岁, 平均年龄(58.5±12.3)岁。所有标本经病理证实均为 NSCLC, 按 WHO《肺肿瘤组织学分型》(1981)标准分类: 鳞癌 36 例, 腺癌 24 例; 肿瘤组织分化程度: 高分化 15 例, 中分化 24 例, 低分化 21 例; 按 1997 年国际抗癌联盟标准进行 PTNM 分期: I 期 16 例, II 期 31 例, III<sub>A</sub> 期 13 例; 有淋巴结转移者 44 例, 无淋巴结转移者 16 例。

1.2 试剂 VEGF、COX-2 多克隆抗体(兔抗)及链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化染色试剂盒均为美国 Santa Cruz 公司产品, 购自北京中山生物技术有限公司。

1.3 免疫组织化学染色 采用微波修复 S-P 染色技术, 进行 VEGF 和 COX-2 在 NSCLC 组织、癌旁组织及正常肺组织的免疫组化的标记, 三者的方法、步骤及结果判定标准是一

致的, 免疫组织化学染色技术的具体操作步骤严格按照试剂盒要求进行。

1.4 结果判定 每批染色设定阴性空白对照(以 PBS 代替一抗), 同时用已知阳性标本作为阳性对照; VEGF 和 COX-2 蛋白主要位于细胞质中, 细胞质显示棕黄色颗粒为阳性表达; 阳性强度判断: (-) 为无显色, (+) 为 <20% 癌细胞阳性, (++) 为 20%~50% 癌细胞阳性, (+++) 为 >50% 癌细胞阳性。

1.5 统计学处理 采用 STATA(7.0 版)进行  $\chi^2$  检验; 应用 Spearman 等级相关分析软件处理 VEGF 和 COX-2 两指标间的相关性。

#### 2 结果

2.1 VEGF 的表达 VEGF 阳性染色定位于癌细胞质中, 不同区域的染色程度差异不明显, 阳性产物呈弥散或散在的棕黄色颗粒。VEGF 在 NSCLC 组织中阳性表达率为 78.33%(47/60), 明显高于 VEGF 在癌旁组织的阳性表达率 23.33%(14/60), 而正常对照的肺组织中 VEGF 表达呈阴性或弱阳性表达, 阳性表达率仅为 10%(2/20), 三者之间具有显著统计学意义( $P < 0.001$ )。

VEGF 在 NSCLC 中的表达与临床分期、淋巴结转移的

[作者简介] 薛群, 博士生, 副教授、副主任医师。

关系密切,随着肿瘤分期期次的升高和淋巴结的转移, VEGF的阳性率明显上升( $P<0.01$ );与组织分化程度、组织学分型以及肿瘤大小无关(表1)。

表1 VEGF表达NSCLC病理特征的关系

指标	PTNM分期			组织分化			淋巴结转移		组织学分型		肿瘤大小	
	I	II	III	高分化	中分化	低分化	无	有	鳞癌	腺癌	$\geq 3$ cm	$>3$ cm
—	10	2	1	5	6	2	10	3	7	6	8	5
+	4	0	0	3	1	1	0	4	2	2	2	2
++	2	21	1	7	12	5	4	20	14	8	7	17
+++	0	8	11	0	6	13	2	17	13	8	7	12
阳性合计	6	29	12	10	18	19	6	41	29	18	16	31
阳性率(%)	37.5	93.55	92.3	66.67	75	90.48	37.5	93.18	80.55	75	66.67	86.11
$\chi^2$	21.4426			3.1845			21.4343		0.2619		3.2079	
P	0.0000			0.203			0.000		0.609		0.073	
确切概率	0.0000			0.196			0.000		0.420		0.072	

2.2 VEGF和COX-2之间的相关性 从本研究结果中发现VEGF和COX-2的表达存在一定的相关性,COX-2高表达者其VEGF的表达亦增高,而COX-2低表达者,VEGF的表达也下降。应用Spearman等级相关分析软件处理spearman等级相关系数为0.7175,经假设检验,相关有统计学意义, $P<0.001$ 。表明VEGF和COX-2的表达呈正相关,VEGF和COX-2可能相互作用,共同参与NSCLC的发生、发展和淋巴结的转移过程。

### 3 讨论

3.1 VEGF的表达与NSCLC的关系 Hanahan等<sup>[2]</sup>于1996年提出了血管生成的开关平衡假说,认为血管生成受血管生成促进因子和血管生成抑制因子的共同调控,其中VEGF作用最强,是目前研究较为广泛的血管生长正调控因子。本研究结果显示,VEGF在NSCLC组织中的表达明显高于癌旁组织,而正常对照的肺组织中VEGF表达呈阴性或弱阳性表达。这与国内外文献<sup>[3,4]</sup>结果基本一致,表明VEGF与NSCLC关系密切。同时,VEGF阳性表达与肿瘤的临床分期、淋巴结转移均有明显关系。VEGF阳性表达多见于临床分期晚、伴有区域性淋巴结转移者。随着临床病程的发展,肿瘤不断的侵袭、生长,肿瘤体积随之增大,使肿瘤细胞和淋巴管的接触增加,肿瘤细胞较易侵入淋巴结,促进淋巴结转移;此外,在具有转移趋向的肿瘤组织中VEGF呈高表达,这会导致血管形成加剧,肿瘤血管生成增多,可为肿瘤组织提供生长所需的营养和氧分;而肿瘤新生血管往往结构异常,功能也不成熟,如管壁不完整、缺乏基膜等,使肿瘤细胞极易穿透而进入血管,从而促使肿瘤细胞通过血液转移到远隔器官;VEGF可进一步增强新生血管的通透性,增加癌细胞远处扩散的几率,提示VEGF与NSCLC的生长、浸润和转移有密切关系。但VEGF的表达与NSCLC组织学分型和组织分化程度无关,目前国内外研究结果尚不能统一,这可

能是由于影响NSCLC病理特征的因素很多以及其本身生物学的复杂性,需要临床进行更加详尽的研究。

3.2 VEGF、COX-2在NSCLC组织中表达的相关性 本研究结果显示,在所有COX-2阳性表达者,VEGF大多呈中度或高表达,而COX-2无表达或低表达者,VEGF表达也随之降低;VEGF和COX-2的表达呈正相关。表明在NSCLC的血管生成中,COX-2和VEGF作为两个重要的因子相互作用,共同参与肿瘤血管的形成,COX-2与VEGF具有密切相关性<sup>[5,6]</sup>。

### [参考文献]

- [1] Ferreira CG, Huisman C, Giaccone G. Novel approaches to the treatment of non-small cell lung cancer[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2002, 41: 57-77.
- [2] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis[J]. Cell, 1996, 86: 353-364.
- [3] Toomey D, Smyth G, Condrón C, et al. Immune function, telomerase, and angiogenesis in patients with primary, operable non-small cell lung carcinoma: tumor size and lymph node status remain the most important prognostic features[J]. Cancer, 2001, 92: 2648-2657.
- [4] 陈元香, 李远重. 非小细胞肺癌患者肺组织环氧合酶-2表达的变化及其临床意义[J]. 实用肿瘤学杂志, 2005, 19: 16-18.
- [5] Khuri FR, Wu H, Lee JJ, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression is a marker of poor prognosis in stage I non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7: 861-867.
- [6] Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells[J]. Cell, 1998, 293: 705-716.

[收稿日期] 2005-12-06

[修回日期] 2006-03-12

[本文编辑] 贾泽军