

慢性 HBV 感染自然史不同阶段血清 HBsAg 水平及与血清 HBV-DNA 载量相关性的研究

刘 杨, 彭道荣, 霍 豆, 张 涛, 杨玉琪, 赵 媛, 秦 爽

(空军军医大学西京医院检验科, 西安 710032)

摘要: 目的 研究慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染自然史不同阶段血清乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)水平及与血清 HBV-DNA 载量相关性的变化。方法 收集 2018 年~2019 年西京医院确诊的未经抗病毒治疗的慢性 HBV 感染患者 128 例, 根据《慢性乙型肝炎防治指南》中 HBV 感染的自然史标准划分为四组: 免疫耐受期 27 例, 免疫清除期 30 例, 低复制期 48 例和再活动期 23 例, 采用化学发光法及荧光 PCR 定量法分别检测患者血清 HBsAg 定量值和血清 HBV-DNA 载量, 分析不同阶段血清 HBsAg 水平及与 HBV-DNA 载量的相关性。结果 不同阶段血清 HBsAg 水平分别为: 免疫耐受期 (3.03~5.38) lg IU/ml、免疫清除期 (-0.76~5.09) lg IU/ml、低复制期 (-0.88~4.27) lg IU/ml 和再活动期 (-1.22~4.61) lg IU/ml, 各期间差异有统计学意义 ($F=10.80, P<0.001$)。组间比较, 免疫耐受期血清 HBsAg 水平与其他三期差异均有统计学意义 ($t=2.757 \sim 6.092$, 均 $P<0.01$), 免疫清除期血清 HBsAg 水平与低复制期差异有统计学意义 ($t=2.630, P=0.010$), 其余各组间血清 HBsAg 水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)。慢性 HBV 感染自然史血清 HBsAg 水平与 HBV-DNA 载量总体呈正相关 ($r=0.517, P<0.001$), 不同阶段两者仅在低复制期无相关性 ($r=0.288, P=0.121$), 其他各期均呈正相关 ($r=0.467 \sim 0.672$, 均 $P<0.05$)。血清 HBsAg/HBV-DNA 比值在免疫耐受期、免疫清除期及再活动期的均值分别为 0.539、0.502 及 0.600, 三者差异无统计学意义 ($P>0.05$)。低复制期该比值均值为 1.066, 较其他三期明显升高且差异有统计学意义 ($t=4.223 \sim 6.247$, 均 $P<0.001$)。结论 慢性 HBV 感染自然史不同阶段血清 HBsAg 呈动态变化, 低复制期血清 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量无相关性且两者比值较其他三期明显升高, 这一特征可为临床评估慢性 HBV 感染者的自然病程提供更多依据。

关键词: 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒表面抗原; HBV DNA; 自然史

中图分类号: R512.62; Q503 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 03-011-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.03.003

Study on Serum HBsAg Level and Its Correlation with Serum HBV-DNA Load in Different Phase of Natural History of Chronic HBV Infection

LIU Yang, PENG Dao-rong, HUO Dou, ZHANG Tao, YANG Yu-qi, ZHAO Yuan, QIN Shuang

(Department of Clinical Laboratory, Xijing Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To study the changes of serum Hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) levels and its correlation with serum HBV-DNA in different stages of natural history chronic Hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** Collected 128 patients with chronic HBV infection who had not been treated with antiviral treatment at Xijing Hospital from 2018 to 2019. The patients were divided into four different infection phases according to the standard of the chronic hepatitis B prevention guideline: 28 of immune tolerant phase, 30 of immune clearance phase, 48 of low replicative phase, 23 of HBeAg-negative hepatitis phase. The chemiluminescence method and fluorescent PCR quantitative method were used to detect the serum HBsAg quantitative value and serum HBV-DNA load, respectively, and analyzed the serum HBsAg level and its correlation with HBV-DNA load at different phases. **Results** Serum HBsAg levels at different stages were respectively: immune tolerant phase (3.03-5.38) lg IU/mL, immune clearance phase (-0.76~5.09) lg IU/ml, low replicative phase (-0.88~4.27) lg IU/ml, HBeAg-negative hepatitis phase (-1.22~4.61) lg IU/ml, the HBsAg levels varied among the different phases ($F=10.80, P<0.001$). Comparing between groups, the HBsAg levels of the immune tolerant phase were different from other three phases ($t=2.757 \sim 6.092, P<0.05$), and the immune clearance phase was different from the low replicative phase ($t=2.630, P<0.05$). There were no differences between the other groups ($P>0.05$), and there was a positive correlation between serum HBsAg and

基金项目: 国家“863”计划重点项目 (2011AA02A101)。

作者简介: 刘杨 (1988-), 女, 硕士, 主管技师, 主要从事临床免疫工作。

通讯作者: 秦爽 (1990-), 女, 学士, 技师, E-mail: www.cxaqq@qq.com。

HBV-DNA overall ($r=0.288, P=0.121$), which was similar to the immune tolerant phase, the immune clearance phase and the HBeAg-negative hepatitis phase ($r=0.467\sim0.672, P<0.05$), no correlation was found in the low replicative phase ($r=0.288, P=0.121$). The ratios of HBsAg/HBV-DNA for the immune tolerant phase, the immune clearance phase and the HBeAg-negative hepatitis phase were 0.539, 0.502 and 0.600, respectively, and no significant differences were observed among them ($P>0.05$). The ratio was 1.066 for the low replicative phase, which was significantly higher compared with other three phases ($t=4.223\sim6.247, P<0.001$). **Conclusion** The serum HBsAg levels changed dynamically at different phases of natural history of chronic HBV infection. There was no correlation between serum HBsAg level and HBV DNA load in the low replication phase, and the ratio of HBsAg/HBV-DNA was significantly higher than the other three phases. This feature could provide more evidence for clinical evaluation of the natural course of chronic HBV infection.

Keywords: hepatitis B virus; hepatitis B virus surface antigen; HBV-DNA; natural history

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 是一种嗜肝性 DNA 病毒, 慢性 HBV 感染者的自然病程可有免疫耐受期、免疫清除期、低复制期及再活动期四个阶段^[1]。既往研究显示血清乙肝表面抗原 (hepatitis B virus surface antigen, HBsAg) 在判断 HBV 感染, 评估抗病毒疗效上具有一定临床意义, 但针对未经任何抗病毒治疗的慢性 HBV 感染者血清 HBsAg 应用价值的研究较少^[2]。因此, 本研究旨在探讨慢性 HBV 感染者自然史不同阶段患者血清 HBsAg 的水平及与血清 HBV-DNA 的相关性, 为慢性 HBV 感染者的疾病进展及预后评估提供更多依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集空军军医大学西京医院 2018 年~2019 年确诊的慢性 HBV 感染患者 128 例, 男性 86 例, 女性 52 例, 年龄 7~74 岁, 平均年龄 36.46 ± 11.50 岁。所有患者均符合《慢性乙肝防治指南》中的相关诊断标准^[1]。所有患者未经任何抗病毒治疗, 且排除有甲、丙、丁、戊等其他肝炎病毒的感染, 或有自身免疫性肝病, 酒精性肝炎、肝硬化、肝癌等其他原因导致的肝脏损伤。此次研究内容已通过本院医学伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 血清 HBsAg 定量检测用 Roche Cobas E170 发光免疫分析仪及 HBsAg Elecsys II quant 试剂 (德国罗氏诊断有限公司); 血清 HBV-DNA 载量检测用 ABI7500 荧光定量扩增仪及达安

乙型肝炎病毒核酸检测试剂盒 (PCR-荧光法), 操作均按照仪器试剂说明书进行。

1.3 方法 参照《慢性乙肝防治指南》(2019 版)^[1], 根据慢性 HBV 感染自然史病程将患者划分为四个不同阶段, 分别为免疫耐受期 ($n=27$; 慢性 HBV 携带者)、免疫清除期 ($n=30$, HBeAg 阳性慢性乙型肝炎)、低复制期 ($n=48$, 非活动性 HBsAg 携带者) 和再活动期 ($n=23$, HBeAg 阴性慢性乙型肝炎)。所有患者清晨空腹采集静脉血于肝素抗凝管, 37°C 下离心 5min ($3\ 500\text{r}/\text{min}$), 取上清检测 HBsAg 定量值及 HBV-DNA 载量。

1.4 统计学分析 采用 Graphpad Prism 5 软件进行数据处理, 血清 HBsAg 定量及 HBV-DNA 载量检测结果均经对数转换后再进行数据处理。计量资料采用中位数 (四分位间距) 表示, 组间比较采用单因素方差分析、 t 检验及 χ^2 检验。相关性采用 pearson 相关性分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢性 HBV 感染者自然史不同阶段临床基本资料的比较 见表 1。慢性 HBV 感染自然史不同阶段患者的性别组成差异无统计学意义 ($\chi^2=7.509, P=0.057$); 不同阶段患者的年龄 ($F=11.454, P<0.001$), 血清 HBeAg 阳性率 ($\chi^2=130.000, P<0.001$), 血清 HBsAg 水平 ($F=10.800, P<0.001$), 血清 HBV-DNA 载量 ($F=13.306, P<0.001$) 及血清 ALT 水平 ($F=18.705, P<0.001$) 差异均有统计学意义。

表 1 慢性 HBV 感染者自然史不同阶段的临床基本资料 [M(P₂₅~P₇₅)]

项 目	免疫耐受期 ($n=27$)	免疫清除期 ($n=30$)	低复制期 ($n=48$)	再活动期 ($n=23$)
年龄 (岁)	19.48(7~27)	37.46 (16~61)	39.31 (9~74)	42.73 (20~68)
性别 (男/女)	10/17	21/9	30/18	15/8
HBeAg(+/-)	27/0	30/0	0/48	0/23
HBV-DNA (lg copy/ml)	8.19 (6.25~8.98)	7.08 (4.79~8.79)	<2.72 (<2.00~3.35)	5.11 (2.16~8.87)
HBsAg (lgIU/ml)	4.42 (3.03~5.38)	3.55 (-0.76~5.09)	2.78 (-0.88~4.27)	2.97 (-1.22~4.61)
ALT (U/L)	34.06 (14~58.4)	129.58 (52~375.4)	24.67 (10.3~49.1)	168.57 (53.6~751)

2.2 慢性HBV感染者自然史不同阶段血清HBsAg的水平变化 HBV慢性感染自然史四个不同阶段血清HBsAg水平不断变化,由高到低依次为:免疫耐受期、免疫清除期、再活动期和低复制期,具体见表1。免疫耐受期血清HBsAg水平与免疫清除期($t=2.657, P=0.010$)、低复制期($t=6.092, P<0.001$)及再活动期($t=4.074, P=0.002$)比较差异均有统计学意义。免疫清除期血清HBsAg水平与低复制期差异有统计学意义($t=2.630, P=0.010$);免疫清除期及低复制期的血清HBsAg与再活动期差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 慢性HBV感染者自然史不同阶段血清HBsAg与HBV-DNA的相关性分析 HBV慢性感染者总体血清HBsAg与HBV-DNA呈正相关($r=0.517, P<0.001$),回归方程: $Y_{\text{HBV-DNA}}=1.096X_{\text{HBsAg}}+1.579$ 。自然史不同阶段中,低复制期血清HBsAg水平与HBV-DNA载量无相关性($r=0.288, P=0.121$),免疫耐受期($r=0.672, P<0.001$)、免疫清除期($r=0.467, P=0.009$)及再活动期($r=0.470, P=0.027$)血清HBsAg水平与HBV-DNA载量均呈正相关。

2.4 慢性HBV感染者自然史不同阶段血清HBsAg/HBV-DNA比值的变化 免疫耐受期、免疫清除期及再活动期血清HBsAg/HBV-DNA比值的均值分别为0.539,0.502及0.600,三者差异均无统计学意义($P>0.05$)。低复制期该比值为1.066,较其他三期明显升高,与免疫耐受期($t=6.247, P<0.001$)、免疫清除期($t=6.245, P<0.001$)及再活动期($t=4.223, P<0.001$)差异均有统计学意义,见图1。

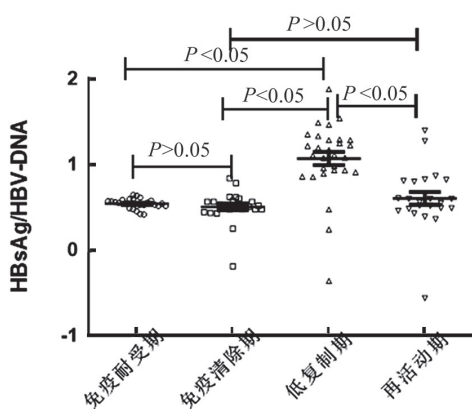


图1 慢性HBV感染自然史不同阶段血清HBsAg/HBV-DNA的变化

3 讨论

HBV是一种嗜肝性的不完全闭合双链DNA病毒,侵入肝细胞后,不完全闭合的正链DNA以负链为模板修补成为完全闭合的环状DNA(cccDNA),并以其为模板进行转录翻译,表达多种不同的结构蛋白和功能蛋白。HBsAg是HBV的外膜蛋白,血清HBsAg与肝脏内HBV的复

制模板cccDNA有一定相关性,临床上常用血清HBsAg,HBV-DNA,HBsAg等作为判断HBV感染及病毒复制程度的指标^[3-4],甚至有学者认为血清HBsAg可能是cccDNA及血清HBV-DNA的替代标志物^[5]。本研究分析了慢性HBV感染者自然史不同阶段患者血清HBsAg的水平及与血清HBV-DNA的相关性,探讨其在慢性HBV感染中的临床意义。

本研究中,慢性HBV感染自然史不同阶段血清HBsAg水平差异大($P<0.001$),由高到低依次为:免疫耐受期、免疫清除期、再活动期和低复制期,与国内外报道一致^[6-7]。免疫耐受期患者血清HBsAg的高水平表达,主要因为在感染早期,机体尚未对HBV进行免疫攻击,尤其是婴幼儿时期感染HBV,胎儿时期暴露在宫内的HBsAg可使病毒特异的T淋巴细胞发生克隆清除,机体缺少对病毒的免疫应答从而经历较长的免疫耐受期,病毒复制活跃,导致HBsAg定量值较高。随着机体对HBV的特异性免疫应答增强,免疫系统可识别并大量清除HBV,血清HBsAg水平也随之大幅下降。若患者的免疫力下降,或患者体内HBV-DNA发生前C区或(和)BCP区等突变,HBV复制再次活跃,可从低复制期再次进入再活动期,血清HBsAg随之升高^[8]。因此,血清HBsAg一定程度上可作为反映机体免疫状态的血清学指标,且与HBV的清除程度密切相关。

近些年来,国内外针对HBV慢性感染患者血清HBsAg与HBV DNA关系的研究报道差异较大^[9-10]。本研究中,慢性HBV感染患者血清HBsAg水平与HBV DNA载量总体呈正相关,不同阶段免疫耐受期,免疫清除期及再活动期两者均有相关性,但低复制期两者未显示相关性。慢性HBV感染患者自然史不同阶段血清HBsAg/HBV DNA比值的变化,结果显示低复制期血清HBsAg/HBV-DNA较其他三期明显升高且差异有统计学意义,其他三期该比值稳定且差异无统计学意义。这也间接证明了慢性HBV感染自然史中,低复制期患者血清HBsAg水平与HBV DNA载量两者的相关性下降,这与TAN等^[11]人的研究结果相似。低复制期血清HBsAg水平与HBV DNA载量不相关且两者比值升高这一现象,分析可能有两个原因:第一,慢性HBV感染低复制期时,HBsAg发生血清转化,HBV的复制优先得到控制使血清HBV-DNA载量下降,但患者HBsAg的转录和分泌在短时期内仍在继续保持原来水平,导致这一时期患者血清HBsAg水平与HBV-DNA载量相关性差,两者比值有所升高^[12]。第二,在慢性HBV感染过程中,HBV-DNA中编码HBsAg的基因(S序列的

I因子)可能整合到宿主基因^[13],在整合基因中相应的序列可作为HBsAg的模板进行表达。当感染进入低复制期时,病毒复制基本得到控制,HBV-DNA载量及病毒本身所分泌的HBsAg水平降低,而此时整合基因所表达的HBsAg有所凸显,从而出现血清HBsAg与HBV-DNA水平不再相关且比值升高的现象。此外,有研究报道,HBV感染者血清HBsAg与HBV DNA的比值与疾病严重程度相关,在预测患者抗病毒疗效上的价值明显高于血清HBsAg及HBV DNA^[14]。

综上所述,慢性HBV感染的不同阶段血清HBsAg水平呈动态变化,血清HBsAg/HBV-DNA比值在低复制期明显升高,各阶段血清HBsAg水平与HBV-DNA载量的相关性也有所不同。通过动态监测血清HBsAg水平及血清HBsAg/HBV-DNA比值,可为临床评估慢性HBV感染者自然病程提供更多依据。

参考文献:

- [1] 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J].肝脏,2019,24(12):1335-1356.
Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association; Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. Guidelines for the Prevention and Treatment of Chronic Hepatitis B (2019 Edition) [J]. Chinese Hepatology, 2019, 24(12):1335-1356.
- [2] 矫淑媛,张学平.HBsAg定量与HBV-DNA联合检测在慢性乙型肝炎中的临床意义[J].标记免疫分析与临床,2015,22(12):1245-1247,1213.
JIAO Shuyuan, ZHANG Xueping. Clinical significance of combined detection of HBsAg and HBV-DNA in patients with chronic hepatitis B [J]. Labeled Immunoassay and Clinical Medicine, 2015, 22(12): 1245-1247,1213.
- [3] 张金颖,刘兰,张永萍.慢性乙型肝炎血清HBsAg定量及HBsAg/HBV DNA比值与肝组织病理炎症活动度的相关性分析[J].现代中西医结合杂志,2017,26(24):2679-2681.
ZHANG Jinying, LIU Lan, ZHANG Yongping. Correlation analysis between serum HBsAg quantification, HBsAg / HBV DNA ratio and pathological inflammatory activity of liver tissue in patients with chronic hepatitis B [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2017, 26(24): 2679-2681.
- [4] 戴二黑,李敏然.HBsAg定量检测技术进展及其临床意义[J].世界华人消化杂志,2017,25(26):2322-2328.
DAI Erhei, LI Minran. HBsAg quantification tests: progress and clinical significance [J]. World Chinese Journal of Digestion, 2017, 25 (26): 2322-2328.
- [5] 朱霞,唐红.HBsAg定量与HBV DNA载量在HBV感染自然史不同阶段的临床意义[J].四川大学学报(医学版),2019,50(5):771-774.
ZHU Xia, TANG Hong. Clinical Significance of HBsAg Quantification and HBV DNA load in different phases of natural history of HBV infection [J]. Journal of Sichuan University (Medical Sciences Edition), 2019, 50 (5): 771-774.
- [6] KARRA V K, CHOWDHURY S J, RUTTALA R, et al. Clinical significance of quantitative HBsAg titres and its correlation with HBV DNA levels in the natural history of hepatitis B virus infection.[J]. Journal of Clinical and Experimental Hepatology, 2016, 6(3): 209-215.
- [7] 刘大吉.慢性HBV感染不同阶段血清HBsAg定量分析研究[D].兰州:兰州大学,2017.
LIU Daji. Serum HBsAg quantitative analysis in different phass of chronic HBV infection[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2017.
- [8] YAO Chih-Chien, HUNG Chao-hung, HU Tsung-Hui, et al. Incidence and predictors of HBV relapse after cessation of nucleoside analogues in HBeAg-negative patients with HBsAg \leq 200 IU/mL.[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1):1839.
- [9] MARTINOT-PEIGNOUX M, CARVALHO-FILHO R, LAPALUS M, et al. Hepatitis B surface antigen serum level is associated with fibrosis severity in treatment-naïve, e antigen-positive patients. [J]. Journal of Hepatology, 2013, 58 (6): 1089-1095.
- [10] 胡金燕,林坤培,周兰.血清HBsAg,HBV DNA水平及相关性在慢性HBV感染过程的变化和意义[J].中国医学创新,2018,15(15):8-11.
HU Jinyan, LIN Kunpei, ZHOU Lan. Changes and significance of serum HBsAg HBV DNA levels and their correlation in chronic HBV infection [J]. Medical Innovation of China, 2018, 15(15): 8-11.
- [11] TAN Zhaoxia, LI Maoshi, KUANG Xuemei, et al. Clinical implications of hepatitis B surface antigen quantitation in the natural history of chronic hepatitis B virus infection[J]. Journal of Clinical Virology : the Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology, 2014, 59(4): 228-234.
- [12] CHAN H L, WONG V W, WONG G L, et al. A longitudinal study on the natural history of serum hepatitis B surface antigen changes in chronic hepatitis B [J]. Hepatology (Baltimore Md.), 2010, 52(4): 1232-1241.
- [13] KIMBI G C, KRAMVIS A, KEW M C. Integration of hepatitis B virus DNA into chromosomal DNA during acute hepatitis B[J].World Journal of Gastroenterology, 2005, 11(41):6416-6421.
- [14] 陈慎,郑水华,易素芳,等.乙肝肝硬化患者血清HBsAg与HBV-DNA比值在不同病程差异及疗效价值研究[J].现代检验医学杂志,2018,33(4):39-42,46.
CHEN Shen, ZHENG Shuihua, YI Sufang, et al. Difference of the ratio of HBsAg to HBV DNA in patients with different severity of chronic hepatitis B virus infection and predictive value for clinical effects[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(4):39-42, 46.