

• 临床检验研究论著 •

兰州地区 HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBcAb 与 HBV DNA 的相关分析及临床价值^{*}

李彩东, 吴 斌, 陈锡莲

(甘肃省兰州市第二人民医院肝病研究所, 甘肃兰州 730046)

摘 要:目的 探讨兰州地区慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染者血清乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(HBV DNA)载量与乙型肝炎病毒血清学标志物(HBV-M)HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBcAb 的相关性。方法 724 例 HBV 感染者分别利用实时荧光定量 PCR 法检测 HBV DNA 载量,运用双抗体夹心化学发光免疫分析法检测血清 HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBcAb 水平。结果 兰州地区慢性 HBV 感染者 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量呈正相关关系($r=0.342, P<0.05$),HBeAg 水平与 HBV DNA 载量呈正相关关系($r=0.463, P<0.05$),HBeAb 水平与 HBV DNA 载量之间呈负相关关系($r=-0.227, P=0.001$),HBcAb 水平与 HBV DNA 载量变化无相关性($r=-0.062, P=0.366$)。结论 兰州地区慢性 HBV 感染者 HBV DNA 载量和 HBsAg、HBeAg 均有明显的正相关关系,提示临床上应把 HBsAg、HBeAg 与 HBV DNA 结合起来观察,能更准确判断患者的传染性程度。

关键词:乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒血清学标志物; 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.20.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)20-2739-03

Correlation analysis between HBsAg, HbeAg, HbeAb and HBcAb with HBV DNA in Lanzhou area and its clinical value^{*}

Li Caidong, Wu Bin, Chen Xilian

(Research Institute of Liver Disease, Lanzhou Municipal Second People's Hospital, Lanzhou, Gansu 730046, China)

Abstract:Objective To investigate the relationship between HBV DNA load with the serological markers(HB-M) HBsAg, HBeAg, HBeAb, HBcAb in the persons infected by chronic hepatitis B virus (HBV) in Lanzhou. **Methods** The real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the HBV DNA load and the double antibody sandwich chemiluminescent immunoassay was used to measure the serum HBsAg, HbeAg, HbeAb and HbcAb levels in 724 cases of HBV infection. **Results** The HBsAg level was positively correlated with the HBV DNA load in chronic HBV infection in Lanzhou area($r=0.342, P<0.05$), there was an obvious positive correlation between HBeAg and HBV DNA load($r=0.463, P<0.05$), the HBeAb level and HBV DNA load had the negative correlation ($r=-0.227, P=0.001$), the HBcAb level and HBV DNA load had no significantly correlation ($r=-0.062, P=0.366$). **Conclusion** There is obvious positive correlation between HBV DNA load with HBsAg, HBeAg in chronic HBV infection in Lanzhou area, which indicating that the observation by combining HBsAg and HBeAg with HBV DNA can judge the infectious degree of the patients more accurately.

Key words: hepatitis B virus; HBV serological marker; HBV DNA

慢性乙型肝炎(CHB)是由于乙型肝炎病毒(HBV)感染引起的,其严重后果是导致机体免疫功能低下,HBV 在体内持续复制。目前,乙型肝炎血清学指标(HBsAg、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb)、乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(HBV DNA)检测是临床上 CHB 的诊断、选择药物治疗的主要依据^[1]。以往的研究多采用乙型肝炎病毒血清学标志物(HBV-M)的定性检测,定性结果不利于判断 HBV 感染的严重程度、用药疗效及预后^[2]。乙型肝炎患者体内 HBV DNA 复制情况和传染性的强弱可通过定量检测 HBV-M 直接反映,且能更好地评估抗病毒疗效^[3]。现有大量研究报道乙型肝炎血清模式与 HBV DNA 载量的关系,但多为 HBV-M 定性、HBV DNA 的关系或单项因素与 HBV DNA 的关系,未见有对于兰州地区的研究报道。为了进一步探讨二者的关系,本研究即对 724 例乙型肝炎患者的 HBV-M 及 HBV DNA 作量化分析,进一步了解兰州地区 HBV 感染者病情特点,期望对 CHB、肝硬化、肝癌的发生及其临床规律的探索提供参考价值,为以后的研究提供新的思路和方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象为 2011 年 1~12 月在兰州市第二

人民医院就诊的 724 例肝病门诊及住院的 CHB 患者,排除甲、丙、丁、戊等肝炎病毒感染,且无其他嗜肝病毒合并感染。年龄为 10~75 岁,724 例 CHB 患者以男性为主,其中男性 539 例(74.44%),女性 185 例(25.56%)。HBeAg 阳性者 238 例(32.87%)、HBeAg 阴性者 486 例(67.13%);所有患者无系统使用保肝、免疫调节及抗病毒药物的病史,无合并其他肝炎病毒感染,同时排除药物性、酒精性、其他病毒性肝炎,以及糖尿病、甲亢、严重心血管等疾病。患者诊断符合 2010 年中华医学会肝病学分会与中华医学会感染病学分会修订的《慢性乙型肝炎防治指南》中的诊断标准^[4]。

1.2 仪器与试剂 美国 ABI 7300 荧光定量分析仪,由美国应用生物系统公司提供,乙型肝炎血清标志物定量检测仪为 CHEMCLIN600 全自动化学发光免疫分析仪,由北京科美生物技术有限公司提供,ST-36W 型洗板机,由上海科华公司提供,TGL16A 低温离心机,由湖南凯达公司提供。主要试剂有 PCR 扩增反应试剂、HBV 核酸荧光检测试剂盒,均由上海科华公司提供,化学发光免疫分析乙型肝炎血清标志物定量试剂盒由北京科美公司提供。

^{*} 基金项目:兰州市科技发展计划项目(2012-1-12)。 作者简介:李彩东,女,主任药师,主要从事慢性肝病的发病机制研究。

1.3 方法 所有研究对象均于清晨空腹抽取 10 mL 静脉血，自然凝固后 3 000 r/min，离心 5 min，取血清备用。荧光定量 PCR 技术检测 HBV DNA 载量，按上海科华生物科技有限公司提供的试剂盒说明书操作。双抗体夹心化学发光免疫分析法(CLIA)检测乙型肝炎病毒标志物指标，按北京科美生物技术有限公司提供的试剂盒说明书操作；HBV DNA 载量结果大于 5.00×10^2 IU/mL 为阳性；HBsAg >0.5 ng/mL，HBsAb >10 mIU/mL，HBeAg >0.05 NCU/mL，HBeAb >5 NCU/mL，HBeAb >1.5 NCU/mL 时为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，方差齐时采用 *t* 检验，方差不齐时采用校正 *t* 检验。

表 1 CHB 患者 HBV-M 与 HBV DNA 在临床分型中的特点($\bar{x} \pm s$)

临床分型	<i>n</i>	HBsAg(ng/mL)	HBeAg(mIU/mL)	HBeAb(NCU/mL)	HcAb(NCU/mL)	HBV DNA [#]
HBeAg(+)CHB	91	213.17±28.75	11.89±3.68*	0.86±1.26	12.52±2.13	6.02±1.56*
HBeAg(-)CHB	101	177.83±53.67	0.03±0.12	8.42±9.66	12.08±0.98	4.93±1.14
慢性 HBV 携带者	52	214.38±24.26	4.90±4.41	7.08±10.32	10.94±4.22	5.57±1.98
非活动性 HBsAg 携带者	316	207.61±26.55	0.01±0.06	11.98±11.15	11.85±2.54	0.00±0.00
HBV 肝硬化	164	203.05±45.60	1.49±2.96	4.89±8.08	11.89±1.55	5.15±1.29

[#]:HBV DNA 载量取对数值；*:*P* <0.05 ，与其他各组相比。

2.2 CHB 患者 HBV-M 水平与 HBV DNA 载量的相关性 HBsAg、HBeAg 与 HBV DNA 载量的相关系数分别为(*r*=0.342,*P* <0.05 ;*r*=0.436,*P* <0.05)，HBeAg 水平与 HBV DNA 载量正相关性，而 HBV DNA 载量与 HBeAb 水平存在负相关关系(*r*=-0.227,*P* <0.05)，提示临床上应把 HBsAg、HBeAg 与 HBV DNA 载量结合起来观察，更能准确反映患者的传染性程度。HBsAg 与 HBeAg 在 HBV DNA 阳性者中相关系数 *r* 为 0.265，差异有统计学意义(*P* <0.05)，在 HBV DNA 阴性者中相关系数 *r* 为 0.910。

表 2 CHB 患者 HBV-M 水平与 HBV DNA 载量的相关性

项目	HBV DNA	HBsAg	HBeAg	HBeAb	HcAb
<i>r</i>	—	0.342	0.436	-0.227	-0.062
<i>P</i>	—	0.000	0.000	0.001	0.366

—:无数据。

3 讨 论

目前，HBV-M 主要反映机体对 HBV 的免疫反映状态，血清 HBV 存在和复制的金标准是 HBV DNA 检测结果呈阳性^[6]。共价闭合环状 DNA(cccDNA)不仅是 HBV 病毒基因组复制的中间体，还是 HBV 病毒 mRNA 和前基因组 RNA 转录的原始模板，是 HBV 持续感染的关键因素^[7]。因而评估 HBV-M 和 HBV DNA 对判断患者预后极为重要的意义。本研究将对 HBsAg、HBeAg、HBeAb、HcAb 水平与 HBV DNA 的相关性进行讨论。

感染 HBV 病毒的标志是 HBsAg 检测呈阳性，其主要组成 HBV 病毒的外壳部分，不含病毒核酸成分。已有多个研究表明 HBsAg 浓度与肝内 cccDNA 和肝内 HBV DNA 水平相关^[8]。cccDNA 一般存在于肝细胞核，但通过肝活检监测肝组织中病毒 cccDNA 水平有很大困难。由于 HBsAg 的产生也是以 cccDNA 为模板，故血清 HBsAg 水平被认为是比 cccDNA

组间比较运用单因素方差分析，组内相关性运用 *Pearson* 相关分析进行处理，相关系数用 *r* 表示。以 *P* <0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CHB 患者 HBV-M 水平与 HBV DNA 载量在临床分型中的特点 兰州地区 CHB 患者 HBsAg 水平呈正态分布，其不同临床分型中有一定的差异，差异具有统计学意义(*P* <0.05)，与 HBV 活动及病情变化有密切关系；依据临床分型，慢性 HBV 携带者、HBeAg(+)CHB 组中 HBsAg 水平均值高于其他 3 组；HBeAg(+)组 HBV DNA 载量和 HBsAg 水平均高于 HBeAg(-)组，差异有统计学意义(*P* <0.05)，见表 1。

更优的无创标志物。本研究对 724 例 HBV 感染者 HBsAg 和 HBV DNA 做相关分析，结果显示两者有相关性(*r*=0.342,*P* <0.05)。以上结果表明通过量化检测 CHB 患者的 HBsAg，证实 HBsAg 可在一定程度上反映机体内病毒复制的情况，可将 HBsAg 水平作为疗效评价及传染性程度的指标之一。

HBeAg 由感染后的肝细胞分泌，是 HBV 病毒 C 基因的翻译产物，目前是临床评价 HBV DNA 复制较敏感、可靠和稳定的指标^[9]。本研究对 HBeAg 量化检测结果显示：HBeAg 定量数值在 HBeAg 阳性时因极值和最大值较多，且呈非正态分布，在临床分型中以 HBeAg(+)CHB 患者最多，其次为慢性 HBV 携带。目前大多研究结果表明，HBV DNA 载量与 HBeAg 和 HBsAg 的水平呈正相关关系。外周血中 HBeAg 与 HBV DNA 相关性良好，且 HBeAg 与 HBV DNA 几乎同时出现于血液中，两者一同消失也被认为是 HBV 病毒被清除的标志。因此，CHB 患者复制水平和带病毒状态可通过 HBeAg 水平结果反映，感染和嗜肝 DNA 病毒 HBeAg 高度保守，所以它的完整表达还与 HBV 的复制有关^[10]。本研究结果表明，兰州地区 CHB 患者 HBeAg 的水平与 HBV DNA 载量呈明显的正相关关系(*r*=0.463,*P*=0.000)。HBeAb 水平与 HBV DNA 载量之间存在明显的负相关关系(*r*=-0.227,*P*=0.001)。研究发现 HBeAg 水平与 HBV DNA 载量呈正相关，两者之间具有良好的相关性，与李云等^[11]研究结果相同，这可能与两者的复制途径有关。HBV DNA 更能准确反映 HBV 复制情况，能够更好地指导临床进行治疗。将 HBeAg 水平与 HBV DNA 载量结合起来观察患者的感染状态、传染性、治疗效果和预后都有十分重要的意义。

既往感染 HBV 的标志是 HBeAb 检出呈阳性，同时其也是机体感染 HBV 病毒后处于“窗口期”期间唯一可在外周血中被检测出的标志物^[12]。多种抗体阳性(HBsAb、HBeAb、HcAb)在机体开始产生免疫力时出现在(下转第 2743 页)

力升高,使左心室肥厚扩大。高血压发病过程中的儿茶酚胺、ATⅡ等物质也可刺激心肌细胞肥大,导致左心功能障碍及心力衰竭的发生。高血压患者的左室舒张功能障碍可在左室收缩功能及心脏结构未见异常时出现^[13],而当左室舒张功能减退时,可因心室壁压力及牵张刺激导致 proBNP 分泌增多,从而可在血液中检测到较高水平的 NT-proBNP。

从试验结果可以发现,在原发性高血压患者的血清中 HCY、UⅡ、ACE 及 NT-proBNP 的水平较健康者均有显著性升高,且 AUC 均大于 0.5,对于 EH 患者的诊断,病情评估及治疗均具有临床意义,其中 HCY 与 NT-proBNP 的 AUC 大于 0.9,表明其具有较高的诊断价值。联合检测患者血清中 HCY、UⅡ、ACE 及 NT-proBNP 的水平并结合动态血压值,有利于更完善了解原发性高血压患者的病情,为高血压病的发现、诊断及治疗提供依据。

参考文献

[1] 周志兰,刘超英,李晓轶,等. 血浆 Hcy 水平与冠状动脉病变程度的相关性[J]. 中国老年学杂志,2013,33(3):659-660.

[2] Hill CH, Mecham R, Starcher B. Fibrillin-2 defects impair elastic fiber assembly in a homocysteinemic chick model[J]. J Nutr, 2002,132(8):2143-2150.

[3] 侯振江,张宗英,安国瑞. 血浆高半胱氨酸与心血管疾病[J]. 国外医学:临床生物化学与检验学分册,2001,22(2):65-66.

[4] 李慧忠. 同型半胱氨酸对内皮细胞凋亡的诱导、对 TAFI 和 TFPI 基因表达的影响及其影响的蛋白质组学研究[D]. 福州:福建医科大学,2004.

(上接第 2740 页)

血清中。HBsAg 阴性不能说明 HBV DNA 被彻底清除,可能是机体响应 HBcAg 的免疫应答的结果。机体感染了 HBV 病毒后,通过细胞免疫应答产生 HBcAg,HBcAb 由随后的体液免疫应答产生。本研究中 HBcAb 水平与 HBV DNA 载量的相关系数($r=-0.062, P=0.366$),差异无统计学意义($P>0.05$),即两者无明显相关。最新研究资料表明,高水平的 HBcAb 可能会伴随出现 HBV DNA 阳性,目前其发生机制和原因尚不明确。因此,推测 HBV DNA 复制有可能会导致 HBcAb 的水平显著升高。对于这一结果的证实有待于研究者尽快开展这方面大规模的验证试验。

综上所述,慢性 HBV 感染者 HBV-M 与 HBV DNA 之间互有联系但又有所不同,前者能反映机体对 HBV 的免疫应答状况,提示疾病的转归趋势,但后者是检测病毒的拷贝数,灵敏度高,特异性强,更能直接真实地反映病毒的感染和复制情况。由此可见,在 HBV 的诊疗中,对 HBV 患者进行多项指标的联合检测,对于临床判断其传染性治疗效果非常必要,既能了解病毒感染状态,又能观察机体免疫水平,更为指导临床治疗提供客观依据。

参考文献

[1] 郭纯. 肝纤维化患者临床检验血清学检测指标分析[J]. 中国当代医药,2011,18(27):75.

[2] 曾钢,吴斌,李彩东,等. 308 例慢性乙肝患者血清 HBV DNA 载量与肝功能及 HBV-M 检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志,

[5] Kato T, Mori T, Niibori K. A case of gastropericardial fistula of a gastric tube after esophagectomy: a case report and review[J]. World J Emerg Surg, 2010,5(5):20.

[6] Yoshimoto T, Matsushita M, Hirata Y. Role of urotensin Ⅱ in peripheral tissue as an autocrine/paracrine growth factor[J]. Peptides, 2004,25(10):1775-1781.

[7] Watanabe T, Suguro T, Kanome T, et al. Human urotensin Ⅱ accelerates foam cell formation in human monocyte-derived macrophages[J]. Hypertension, 2005,46(4):738-744.

[8] 彭旭,尹航,汪丽惠,等. 尾加压素增加血管平滑肌细胞粘着斑激酶的含量和活力[J]. 生理学报,2000,52(6):455-458.

[9] Zhang LF, Ding WH, Shi LB, et al. Effects of exogenous urotensin Ⅱ on vascular remodelling after balloon injury[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2010,37(4):477-481.

[10] Xu SB. Urotensin Ⅱ induces migration of endothelial progenitor cells via activation of the RhoA/Rho kinase pathway[J]. Tohoku J Exp Med, 2009,219(4):283-288.

[11] 唐康庭,门琛,贾坚,等. ACE 基因多态性与原发性高血压患者动脉硬化的相关性[J]. 江苏医药,2012,38(13):1526-1528.

[12] Furumoto T, Fujii S, Mikami T, et al. Increased plasma concentrations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide reflect the presence of mildly reduced left ventricular diastolic function in hypertension[J]. Coron Artery Dis, 2006,17(1):45-50.

[13] 洪冰,林祥灿. 原发性高血压患者血浆 NT-proBNP 的检测[J]. 中国老年学杂志,2013,33(2):298-299.

(收稿日期:2014-03-28)

2013,34(14):1908-1910.

[3] 唐长华. 乙型肝炎肝硬化患者 HBcAg 与血清 HBV DNA 定量分析[J]. 实用肝脏病杂志,2009,12(4):277-278.

[4] 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24.

[5] 裴元元,张旋,魏凤香. 乙型肝炎病毒血清标志物不同模式的血清蛋白检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(20):2756-2757.

[6] 胡慧梅,赵克斌. HBV-M 量化指标 HBV DNA 及 PreS₁ 抗原相关性分析及临床意义[J]. 中国药物与临床,2005,11(11):37-39.

[7] 孙亚琴,李东红,张崇芳,等. 病毒性肝炎患者血清中肝纤维化标志物的联合测定[J]. 中国实验诊断学,2008,12(8):1022-1023.

[8] 诸兴桂. 乙肝病毒标志物和肝功能损伤的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(19):2623-2624.

[9] 陈光辉,孙长义,赵静,等. HBV 血清学标志物与 HBV DNA 荧光定量相关性分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2013,27(2):181-182.

[10] 谢建红,肖奇志,田芬,等. HBV 血清学标志物结合 HBV DNA 定量检测的临床意义[J]. 临床和实验医学杂志,2011,10(3):192-193.

[11] 李云,夏正武,瞿良. 乙型肝炎血清学标志物与 HBV DNA 的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(4):442-443.

[12] 户小均. HBV DNA 定量与 HBV 模式及肝功损害指标定量关系研究[J]. 健康必读:下旬刊,2013,3(3):480-480.

(收稿日期:2014-03-18)