

对乙型肝炎患者检测乙肝表面抗原大蛋白和前 S₁ 抗原的区别和临床意义

王 宇, 杨延敏(北京丰台医院检验科 100071)

【摘要】 目的 检测乙型肝炎(下称乙肝)患者血清中乙肝表面抗原大蛋白(LHBs)、乙肝前 S₁、HBV-DNA, 探讨 LHBs 用于乙肝患者临床诊断的意义。**方法** 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)检测 LHBs 以及乙肝前 S₁, 采用化学发光方法检测乙肝两对半, 采用荧光定量 PCR 方法对患者 HBV-DNA 进行检测。**结果** (1) 相同乙肝模式患者血清 LHBs 与 HBV-DNA 检出率差异无统计学意义($P > 0.05$); (2) HBeAg 阳性患者血清中 LHBs 与 HBV-DNA 阳性率均明显高于 HBeAg 阴性患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$); (3) 相同乙肝模式患者血清乙肝前 S₁ 的检出低于 HBV-DNA 的检出, 两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** LHBs 可以弥补由于乙肝病毒变异引起的 HBeAg 检测的不足, 并在一定程度上反映了乙肝患者肝功能状况。

【关键词】 乙肝表面抗原大蛋白; 乙肝前 S₁; 乙肝病毒脱氧核糖核酶

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.22.006

中图分类号: R446.62

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)22-2446-02

The clinical significance of LHBs and HBV preS₁ in patients with HBV WANG Yu, YANG Yan-min. Department of Clinical Laboratory of Fengtai Hospital Beijing 100071 China

【Abstract】 Objective To explore the clinical significance of HBV large protein (LHBs) in diagnosing viral replication, we detected the LHBs, HBV-DNA, HBV preS₁, ALT and the hepatitis B viral markers (HBV M) in the serum of the patients infected with HBV. **Methods** LHBs, HBV preS₁ and HBV M were analyzed by using ELISA. The HBV-DNA was quantitatively detected by using real-time detection polymerase. **Results** (1) No significant difference between the detectable rate of HBV-DNA and LHBs was found in the same HBV M ($P > 0.05$). (2) The positive rates of LHBs and HBV-DNA in HBeAg positive patients were higher than that in HBeAg negative patients ($P < 0.05$). (3) The detectable rate of HBV-DNA was higher than that of HBV preS₁, which was found in the HBV M, and it was of a significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** There is a perfect correlation between the positive rate of LHBs and HBV-DNA, and LHBs is a reliable serological marker that can reflect the replication of HBV. The average value of ALT in LHBs positive patients was higher than that of LHBs negative patients, and the result showed that LHBs can also reflect liver function.

【Key words】 HBV large protein (LHBs); HBV preS₁; HBV-DNA

近年来随着对乙肝表面抗原大蛋白 (hepatitis B virus large surface protein, LHBs) 中前 S 区抗原在乙肝发病机制、感染与复制等方面研究的深入, 研究者们逐渐认识到乙肝表面抗原前 S 区具有越来越重要的临床意义^[1-3]。研究人员发现 HBV 表面大蛋白在空间上具有两种不同的跨膜构象, 作为 HBV 的包膜蛋白, 内侧可以和 HBV 核壳体膜结合, 外侧可与易感细胞受体结合, 是 HBV 颗粒成熟包装的关键^[1]。由于单独的前 S 区抗原作为 LHBs 的一部分, 无法模拟其复杂的拓扑结构, 通过此种方法制作的单克隆抗体只具有线性表位但是失去了构象型表位。这样针对低级结构抗原制作出的单克隆抗体在实际应用中便可能导致漏检。本研究使用北京热景生物技术有限公司研制的 LHBs 酶联免疫定量试剂盒研究 LHBs 检测用于临床的意义, 该试剂盒针对构象型前 S 区的高亲和力、高特异性的单抗来检测 LHBs, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 血清标本均来自 2008 年 3 月至 2009 年 5 月本院门诊或住院患者, 共计 156 例, 其中男 85 例, 女 71 例, 年

龄 16~79 岁, 平均 47.5 岁, 所有标本均于 -20 ℃ 保存以备用。

1.2 仪器 Roche 公司生产 LightCycler 自动荧光 PCR 仪, 酶标仪 (DENLEY DRAGON MK3); 美国雅培公司生产的 AxSYM 化学发光免疫测定系统。

1.3 方法

1.3.1 LHBs 以及乙肝前 S₁ 检测 采用 ELISA, 试剂由北京热景生物技术有限公司提供; 乙肝前 S₁ 试剂购自上海阿尔法生物技术有限公司。

1.3.2 乙肝两对半检测 采用化学发光方法检测, 试剂为 AxSYM 定量测定配套试剂。

1.3.3 HBV-DNA 检测 采用荧光定量方法, 检测试剂盒购自深圳匹基生物工程有限公司, 灵敏度为 5.0×10^2 copy/mL, 结果大于或等于 1×10^3 copy/mL 为阳性, 阴性时取实测拷贝值, 低于灵敏度以下作零拷贝处理。

1.4 统计学方法 组间比较采用卡方检验, 应用 SPSS13.0 进行统计学分析。正态分布数据用 $\bar{x} \pm s$, 组间差异采用方差

检验。非正态分布的计量资料以中位数表示,组间比较采用 Kruskal-Wallis 法非参数检验。LHBs 与 S₁、HBV-DNA 相关关系采用 Spearman 相关性分析。

2 结 果

2.1 不同乙肝两对半模式患者血清 LHBs、HBV-DNA 以及乙肝前 S₁ 检出情况比较 相同乙肝两对半模式组中 LHBs 的阳性率与 HBV-DNA 的阳性率经过卡方验证差异无统计学意义($P>0.05$);在所有 HBsAg 阳性患者中 LHBs 的阳性率明显高于乙肝前 S₁ 的阳性率,差异均有统计学意义($P<0.05$);不同的乙肝两对半模式组中 LHBs 的阳性率比较差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 不同乙肝模式患者中 LHBs、HBV-DNA 与乙肝前 S₁ 阳性率检测比较[n(%)]

项目	n	HBV-DNA	LHBs	乙肝前 S ₁
1,3,5	32	31(96.30)	30(93.75)	20(62.50)
1,3	8	6(75.68)	8(100.00)	3(37.50)
1,4,5	54	43(79.62)	45(83.33)	12(22.22)
1,5	21	10(45.66)	9(42.86)	3(14.29)
2,4,5	27	0(0.00)	0(0.00)	2(7.41)
2,5	15	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
合计	156	90(57.69)	92(58.97)	40(25.64)

注:1=HBsAg;2=HBsAb;3=HBeAg;4=抗-HBe;5=抗-HBc。

2.2 HBeAg 阳性和阴性患者中 LHBs、HBV-DNA 以及乙肝前 S₁ 的检出情况比较在 HBeAg 阳性中 LHBs 的阳性率明显高于 HBeAg 阴性组,比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 HBeAg 阳性和阴性中 LHBs、HBV-DNA 以及乙肝前 S₁ 的检测比较[n(%)]

HBeAg	n	HBV-DNA	LHBs	HBV preS ₁
阳性	40	37(92.50)	38(95.00)	23(57.50)
阴性	116	53(45.69)	54(46.55)	17(14.66)
合计	156	90(57.69)	92(58.97)	40(25.64)

注:HBV-DNA 和 LHBs 阳性率明显高于乙肝前 S₁,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨 论

目前,医学界认为外周血 HBV-DNA 是 HBV 最直接和可靠的指标,可以用来判定患者和携带者有无传染性。研究发现亚病毒颗粒在 HBV 感染过程中,能显著增强细胞内的病毒复制和基因表达而这种增强作用是由前 S 蛋白的反式激活作用所触发的。此外,还有研究发现在 HBV 形成包膜的过程中需要大蛋白(HBsAg、前 S₁ 和前 S₂ 蛋白)和中蛋白的参与。有学者阐明 LHBs 是导致肝细胞损伤、死亡、纤维化病变的主要原

因,因此检测 LHBs 对于反应病毒的持续复制、预后具有重要的临床意义。ELISA 一直是临床上用于乙肝病毒感染的血清检测手段,传统认为乙肝两对半中 HBeAg 阳性表明 HBV 病毒复制活跃、传染性较强^[4]。本研究显示在 40 例 HBeAg 阳性患者中 LHBs 阳性率(95.00%)与 HBV-DNA 的阳性率(92.50%)一致,两者比较差异无统计学意义;该组中乙肝前 S₁ 的阳性率(57.50%)明显低于 LHBs 和 HBV-DNA 的阳性率。结果表明 LHBs 与 HBV-DNA 的检出具有良好的一致性,能够准确的反映出乙肝患者体内病毒的复制情况,同时结果还表明 LHBs 的检出由于使用针对构象型前 S 区的单克隆抗体,因而其检出明显高于目前临床上使用乙肝前 S₁ 指标^[5]。过去临床上认为乙肝患者出现 HBeAg 阴转是乙肝病毒复制减弱、传染性降低和预后良好的象征,但是本文的研究显示在 116 例 HBeAg 阴性患者中 HBV-DNA 与 LHBs 的阳性率分别为 45.69% 和 46.55%,很多研究显示可能是免疫清除不全或是 HBV 基因前 C 区变异所致^[6],多为慢性乙肝,而且此类患者发生肝硬化、肝癌的风险较大。

本组结果显示,慢性乙肝患者血清使用 ELISA 检测 LHBs 与 HBV-DNA 的检测有良好一致性,可部分作为 HBV-DNA 替代和补充检测指标。同时可以反映 HBV 复制活跃程度,作为 HBV 感染、复制和乙肝患者诊断、治疗和预后的重要标志物,具有重要的临床应用价值。

参考文献

- [1] Bruss V, Vieluf K. Functions of the Internal Pre-S Domain of the Large Surface Protein in Hepatitis B Virus Particle Morphogenesis[J]. J Virol, 1995, 69: 6652-6657.
- [2] Bruss V. Envelopment of the hepatitis B virus nucleocapsid[J]. Virus Res, 2004, 106: 199-209.
- [3] Lambert C, Mann S, Prange R. Assessment of determinants affecting the dual topology of hepadnaviral large envelope proteins[J]. J General Virol, 2004, 85: 1221-1225.
- [4] 谢志贤,谭爱国,何美懿,等.血清中乙型肝炎 5 项标志表现模式与乙型肝炎病毒 DNA 含量的关系[J].中华医院感染学杂志,2002,12(2):81-83.
- [5] 孙颖.乙肝病毒外膜大蛋白检测对于判定 HBV-DNA 复制的意义[J].世界华人消化杂志,2006,14(3):354-357.
- [6] Hamasaki K, Nakata K, Nagayama Y, et al. Changes in the prevalence of HBeAg-negative mutant hepatitis B virus during the course of chronic hepatitis B[J]. Hepatol, 1994, 20: 8-14.

(收稿日期:2010-06-08)