

乙型肝炎病毒外膜大蛋白检测的临床意义

余建华, 陈 瑜, 常 琪, 王 妍, 钱 超[△] (解放军第 454 医院检验科, 南京 210002)

【摘要】 目的 探讨乙型肝炎患者血清中乙型肝炎病毒外膜大蛋白(HBV LP)检测的临床意义。**方法** 采用酶联免疫吸附试验检测 HBV LP; 采用化学发光法检测 HBV 标志物; 采用荧光定量聚合酶链反应检测 HBV DNA。**结果** 317 例 HBsAg 阳性标本中 HBV DNA 与 HBV LP 通过 Kappa 检验得出的结论一致性较好($P < 0.01$, Kappa = 0.85)。221 例 HBeAg 阴性患者标本中 HBV LP 阳性检出率高于 HBV DNA 阳性检出率, 分别为 53.39% 和 47.06%, 采用 χ^2 检验, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。196 例 HBV DNA 阳性标本中 HBV DNA 拷贝数对数值与 HBV LP A 值之间有良好的相关性($r = 0.982$)。**结论** HBV LP 水平能反映乙型肝炎患者体内 HBV 复制程度, 而且检测操作简便, 具有较好的临床实用价值。

【关键词】 乙型肝炎外膜大蛋白; HBV DNA; 乙型肝炎病毒 e 抗原

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.21.024 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)21-2831-02

Clinical significance of HBV large protein detection in patients with chronic hepatitis B YU Jian-hua, CHEN Yu, CHANG Qi, WANG Yan, QIAN Chao[△] (Department of Laboratory Medicine, the 454th Hospital of PLA, Nan-jing, Jiangsu 210002, China)

【Abstract】 Objective To investigate the clinical significance of hepatitis B virus large protein(HBV LP) in patients with chronic hepatitis B(CHB). **Methods** HBV LP level was analyzed by enzyme linked immunosorbent assay, serum marker of HBV were detected by chemo-luminescence method, and HBV DNA was quantitatively detected by real-time quantitative polymerase chain reaction. **Results** No significant difference of the detectable rate between HBV DNA and HBV LP was found in 317 cases of HBsAg positive patients ($P < 0.01$, Kappa = 0.85). The positive rates of HBV DNA and HBV LP in 221 cases of HBeAg negative patients were 47.06% and 53.39% respectively, with statistical difference ($P < 0.05$). The absorbance(A value) of serum HBV LP was positively correlated with HBV DNA copies ($r = 0.982$). **Conclusion** HBV LP could be a reliable serological marker, reflecting the replication of HBV, with important clinical value.

【Key words】 HBV large protein; HBV DNA; HBeAg

我国是乙型肝炎病毒(HBV)流行的高发地区, 目前约有 1.2 亿 HBV 携带者, 慢性乙型肝炎患者约有 3 000 万^[1]。近年来随着对乙型肝炎病毒外膜大蛋白(HBV LP)在乙型肝炎发病机制及病毒复制、感染等方面研究的深入, 研究人员发现 HBV LP 作为 HBV 的包膜, 在空间上具有两种不同的跨膜构象, 是 HBV 颗粒成熟包装的关键^[2-4]。本文通过检测 HBV LP、HBV DNA 及 HBV 标志物来探讨 HBV LP 检测在临床的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 317 例 HBsAg 阳性血清标本来自本院 2011 年 1 月至 2012 年 6 月门诊和住院患者, 其中男 211 例, 女 106 例, 年龄 17~74 岁, 平均 41.2 岁。所有患者均空腹抽取静脉血离心分离血清, 于 -20℃ 冰箱保存备测。

1.2 仪器与试剂 HBV LP 单克隆抗体酶免试剂盒由北京热景生物技术有限公司提供, 仪器为意大利特拉斯全自动酶免分析仪; HBV DNA 试剂购自中山大学达安基因股份有限公司, 仪器为厦门安普利公司荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测仪; HBV 标志物定量检测试剂为雅培公司原装试剂, 仪器为雅培 i2000 酶化学发光仪。

1.3 方法 HBV LP 检测采用酶链免疫吸附试验(ELISA);

HBV DNA 检测采用荧光定量 PCR 方法; HBV 标志物采用化学发光法检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件对所收集的数据进行统计学分析。计数资料的比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBV LP 与 HBV DNA 阳性检出率比较 317 例 HBsAg 阳性标本中, HBV LP 阳性标本 208 例, HBV DNA 阳性标本 196 例, 两种检验方法通过比较 Kappa 检验 ($P < 0.01$, Kappa = 0.85), 可认为这两种检验方法得出的结论一致性较好, 即诊断结果基本一致。HBV LP 与 HBV DNA 阳性检出率相比较采用 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.5$, $P < 0.05$), HBV LP 阳性检出率 65.62% (208/317) 大于 HBV DNA 阳性检出率 61.83% (196/317)。

2.2 不同 HBeAg 模式中 HBV LP 和 HBV DNA 阳性率比较 96 例 HBeAg 阳性标本中, HBV LP 阳性标本 90 例, HBV DNA 阳性标本 92 例, 两者阳性率相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。221 例 HBeAg 阴性标本中, HBV LP 阳性标本 118 例, HBV DNA 阳性标本 104 例, 两者阳性率相比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), HBV LP 阳性率高于 HBV DNA 阳

[△] 通讯作者, E-mail: love96122@sohu.com。

性率。见表 1。

表 1 不同 HBeAg 模式中 HBV LP 和 HBV DNA 阳性率比较[n(%)]

HBeAg	n	HBV LP	HBV DNA	χ^2	P
阳性	96	90(93.75)	92(95.83)	0.25	>0.05
阴性	221	118(53.39)	104(47.06)	7.04	<0.05

2.3 HBV DNA 阳性标本中 HBV DNA 拷贝数与 HBV LP 吸光度(A 值)之间的相关性 196 例 HBV DNA 阳性标本中 HBV DNA 拷贝数对数值与 HBV LP A 均值之间有良好的正相关性($r=0.982$)。见表 2。

表 2 HBV DNA 拷贝数与 HBV LP 相关性比较

HBV DNA 拷贝数	例数(n)	HBV LP(A 值)
10 ³	77	0.242
10 ⁴	41	0.531
10 ⁵	33	0.904
10 ⁶	27	1.033
10 ⁷	18	1.207

3 讨 论

不同状态下 HBV 患者血清中病毒颗粒 HBV LP 含量不同,非复制期不含病毒 DNA 的小球形颗粒和管型颗粒中 HBV LP 含量极低,而含病毒 DNA 的 Dane 颗粒中 HBV LP 的含量可达 20%,是主要的包膜成分,因而提示 HBV LP 水平可能与病毒的复制程度密切相关^[5]。

临床传统上认为乙型肝炎患者 HBeAg 转阴是 HBV 复制减弱、传染性降低和预后良好的象征^[6]。但是本研究显示在 221 例 HBeAg 阴性乙型肝炎患者中,HBV LP 和 HBV DNA 的阳性率分别为 53.39%和 47.06%。这可能是免疫清除不全或是 HBV 基因前 C 区变异所致,此类患者多为慢性乙型肝炎,发生肝硬化、肝癌的风险较大^[7-10]。提示 HBeAg 转阴并不意味着病毒复制能力的绝对降低,而本研究结果说明 HBV LP 检测优于 HBeAg,可弥补 HBV 标志物检测中的不足。

目前认为 HBV DNA 是反映 HBV 复制最直接最可靠的指标,但 HBV DNA 检测对实验室有特殊要求,费用也比较高,在多数基层医疗单位还难以开展。本研究结果显示,HBV LP 与 HBV DNA 在 HBeAg 阳性乙型肝炎患者中检测阳性率差异无统计学意义,而在 HBeAg 阴性乙型肝炎患者中,HBV LP 阳性率要高于 HBV DNA 阳性率($P<0.05$)。而且 HBV DNA 阳性标本中 HBV LP A 值与 HBV DNA 拷贝数之间有良好的正相关性,可以反映体内 HBV 复制活跃程度。亦有文献报道,HBV LP 可反映抗病毒治疗效果^[11-13]。

综上所述,作者认为 HBV LP 可以作为 HBV DNA 的替代或补充检测指标,对评价 HBV 感染、复制、疗效和预后具有重要的临床应用价值。在无条件开展 HBV DNA 检测的基层

医疗单位可以同时检测 HBV LP 和 HBeAg 来判断 HBV 在体内复制情况。在已开展 HBV DNA 检测的医院,最好也开展 HBV LP 检测,以 HBV DNA、HBV LP 和 HBeAg 同时阴性来判断 HBV 复制停止、传染性降低和预后良好更为准确可靠。

参考文献

[1] 庄辉.我国乙型肝炎病毒感染与挑战[J].中华传染病杂志,2005,23(S1):2-6.

[2] Lambert C, Mann S, Prange R. Assessment of determinants affecting the dual topology of hepadnaviral large envelope proteins[J]. J Gen Virol, 2004, 85(5):1221-1225.

[3] 纪冬, 成军, 陆荫英, 等. 乙型肝炎病毒包膜大蛋白的自激活[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(10):59-62.

[4] Barrera A, Guerra B, Notvall L, et al. Mapping of the hepatitis B virus pre-S1 domain involved in receptor recognition[J]. J Virol, 2005, 79(15):9786-9798.

[5] 甘云辉, 徐亮, 夏冬. 乙肝病毒 pre-S1 基因的研究现状[J]. 现代临床医学, 2011, 37(1):8-10.

[6] 马兰. 慢性乙肝患者血清 HBV DNA 与 e 抗原含量的关系[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(1):55-57.

[7] 赵建勤, 刘丽, 雷学忠, 等. HBV DNA 定量与乙肝病毒感染免疫学检测结果对比分析及意义[J]. 华西医学, 2001, 16(3):332-334.

[8] 宋红波, 武俊香, 贾因棠. 乙型肝炎病毒 C 基因启动子区及前 C 区突变与乙型肝炎病情的关系[J]. 山西医药杂志, 2009, 38(6):497-499.

[9] McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection[J]. Hepatology, 2009, 49(5 Suppl):45-55.

[10] Reifenberg K, Hildt E, Lecher B, et al. IFNgamma expression inhibits LHBs storage disease and ground glass hepatocyte appearance, but exacerbates inflammation and apoptosis in HBV surface protein-accumulating transgenic livers[J]. Liver Int, 2006, 26(8):986-993.

[11] Fan X, Fang D, Bin D, et al. Serum levels of surface large envelope proteins: prognostic markers for hepatitis B e antigen-negative patients with adefovir dipivoxil treatment[J]. Antivir Ther, 2009, 14(8):1149-1156.

[12] 温怀凯, 余坚, 李小永, 等. 乙型肝炎病毒外膜大蛋白与 HBV DNA 的关系研究[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2010, 39(4):386-389.

[13] 钟小强, 吴正林, 凌利芬, 等. HBV 感染者血清表面抗原大蛋白, DANE 颗粒, HBV DNA 与 PreS1 蛋白检测分析[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(6):96-98.

(收稿日期:2013-03-25 修回日期:2013-04-30)