

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.13.011

HBsAg 及 HBV DNA 定量检测在慢性乙型肝炎患者不同病程阶段中的应用价值

陈贤坤, 吴翠云[△]

南方医科大学顺德医院检验科, 广东顺德 528300

摘要:目的 研究慢性乙型肝炎(简称乙肝)患者病程进展中 HBsAg 及 HBV DNA 定量水平变化及其相关性,比较其在慢性乙肝不同病程阶段的水平。**方法** 收集 2015 年 1 月至 2016 年 12 月于该院就诊的 302 例慢性 HBV 感染患者血清,分为轻、中及重型慢性乙肝组。采用化学发光法定量检测 HBsAg 水平,采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测血清 HBV DNA 水平。多组间比较采用非参数 Kruskal-Wallis *H* 检验,进一步两两比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,采用 Spearman 检验进行数据间的相关性分析。**结果** 轻、中、重型慢性乙肝组 HBsAg 定量水平中位数分别为 2 583.96、6 998.34、3 669.91 U/mL,3 组比较差异有统计学意义($Z=15.50, P<0.05$);轻型慢性乙肝组与中型慢性乙肝组 HBsAg 定量水平比较,差异有统计学意义($Z=-3.89, P<0.05$);中型慢性乙肝组与重型慢性乙肝组 HBsAg 定量水平比较,差异有统计学意义($Z=-2.32, P<0.05$);轻型慢性乙肝组与重型慢性乙肝组 HBsAg 定量水平比较,差异无统计学意义($Z=-1.22, P>0.05$)。轻、中、重型慢性乙肝组 HBV DNA 定量水平中位数分别为 246 500、2 840 000、894 000 log copy/mL,3 组比较差异有统计学意义($Z=9.33, P<0.05$);轻型慢性乙肝组与中型慢性乙肝组 HBV DNA 定量水平比较,差异有统计学意义($Z=-2.96, P<0.05$);其他两两比较,HBV DNA 定量水平差异无统计学意义($P>0.05$)。HBsAg 与 HBV DNA 在轻型慢性乙肝组、中型慢性乙肝组、重型慢性乙肝组患者中均呈正相关($r=0.68、0.60、0.66, P<0.05$)。**结论** HBsAg 及 HBV DNA 在慢性 HBV 感染患者不同病程阶段均呈正相关,可作为预测慢性乙肝病程进展的血清学标志物。

关键词:慢性乙型肝炎; 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒表面抗原; HBV DNA 载量

中图分类号:R512.6+2;R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)13-1829-04

Application value of HBsAg and HBV DNA quantitative detection in different stages of chronic hepatitis B

CHEN Xiankun, WU Cuiyun[△]

Department of Clinical Laboratory, Shunde Hospital of Southern Medical University, Shunde, Guangdong 528300, China

Abstract: **Objective** To study the quantitative level change and correlation of HBsAg and HBV-DNA levels in patients with chronic hepatitis B, and to compare their levels in different stages of chronic hepatitis B. **Methods** The serum samples of 302 patients with chronic HBV infection were collected from January 2015 to December 2016 in Shunde Hospital of Southern Medical University, and they were divided into three groups: mild, moderate and severe chronic hepatitis B groups. The HBsAg level was quantitatively detected by chemiluminescence enzyme immunoassay, and the real-time fluorescent quantitative PCR technique was applied to detect the serum HBV-DNA capacity. Non-parametric Kruskal-Wallis *H* test was used for comparison among groups, and Mann-Whitney *U* test was used for further pairwise comparison. Data correlation analysis was performed by Spearman test. **Results** The median HBsAg values in patients with mild, moderate, and severe chronic hepatitis B were 2 583.96, 6 998.34, and 3 669.91 U/mL, respectively, and the differences were statistically significant ($Z=15.50, P<0.05$). There was significant difference in HBsAg quantitative level between mild chronic hepatitis B group and moderate chronic hepatitis B group ($Z=-3.89, P<0.05$). There was significant difference in HBsAg quantitative level between moderate chronic hepatitis B group and severe chronic hepatitis B group ($Z=-2.32, P<0.05$). There was no significant difference in the quantitative level of HBsAg between mild chronic hepatitis B group and severe chronic hepatitis B group ($Z=-1.22, P>0.05$). The median HBV DNA quantification levels in mild, moderate and severe chronic hepatitis B groups were 246 500, 2 840 000 and 894 000 log copy/mL, respectively, and the differences were statistically significant among the three groups ($Z=9.33, P<0.05$). There was a significant difference in HBV DNA quantitative level between mild chronic hepatitis B group and moderate chronic hepatitis B group ($Z=-2.96, P<0.05$), but there was

no significant difference between the other two groups ($P>0.05$). HBsAg and HBV DNA were positively correlated in mild chronic hepatitis B group, moderate chronic hepatitis B group, severe chronic hepatitis B group and patients ($r=0.68, 0.60, 0.66, P<0.05$). **Conclusion** HBsAg and HBV-DNA are positively correlated in different stages of chronic HBV infection, and can be used as a serological marker for predicting the progression of chronic hepatitis B.

Key words: chronic hepatitis B; hepatitis B virus; hepatitis B surface antigen; HBV DNA load

乙型肝炎(简称乙肝)病毒(HBV)感染呈世界性流行,但 HBV 感染因地区不同,流行强度也有差异。据报道,2015 年全球 HBV 携带者有 2.57 亿至 2.70 亿人,占 3.5%^[1]。2016 年全球流行率接近 3.9%,约 2.92 亿人。1990—2015 年全球肝癌发病率增加了 75%,其中 42% 的患者继发于 HBV 相关的肝癌^[2]。近来研究表明,病毒性肝炎已成为全球第七大发病和死亡原因,每年有 145 万人死亡,病死率超过人类免疫缺陷病毒(HIV)感染、疟疾和结核病等^[3]。我国属 HBV 感染高流行区,慢性乙肝(CHB)是威胁我国公众健康的重要疾病之一。血清学标志物对慢性 HBV 感染患者的诊断、预后和监测具有重要作用。随着检测技术的进步,检测患者血清中 HBsAg 及 HBV DNA 已广泛用于监测病毒复制的情况或水平,主要用于慢性 HBV 感染的诊断及抗病毒疗效的监测。早期监测 CHB 患者的疾病进展有助于为临床提供及时治疗及适当的抗病毒治疗,降低肝硬化、肝癌的发生率。本研究通过定量检测轻、中、重型 CHB 患者血清 HBsAg 及 HBV DNA 水平,分析其相关性,探讨 HBsAg 及 HBV DNA 在 CHB 患者中的应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2015 年 1 月至 2016 年 12 月于本院住院并诊断为 CHB 的 302 例患者临床资料,其中轻型 CHB 组 115 例,男 86 例,女 29 例,平均年龄(44.79±13.94)岁;中型 CHB 组 108 例,男 79 例,女 29 例,平均年龄(40.30±12.25)岁;重型 CHB 组 79 例,男 70 例,女 9 例,平均年龄(40.08±11.37)岁。3 组性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器、试剂及检测方法 取患者空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液进行检测。采用化学发光法,使用雅培 i2000 及其配套试剂定量

检测 HBsAg;血清 HBV DNA 载量检测试剂购自达安基因有限公司,采用实时荧光定量聚合酶链反应并严格按照试剂说明书进行检测;肝功能相关指标,如丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)检测试剂购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,采用 AU7600 全自动生化分析仪进行检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析处理,偏态分布的计量资料以中位数(四分位数间距)[$M(P_{25} \sim P_{75})$]表示,组间比较采用非参数 Kruskal-Wallis H 检验,进一步两两比较采用 Mann-Whitney U 检验;相关性分析采用 Spearman 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同分型 CHB 患者各项实验室相关指标检测结果比较 见表 1。轻、中、重型 CHB 患者 HBsAg 定量水平比较,差异有统计学意义($Z=15.50, P<0.05$);轻型 CHB 组与中型 CHB 组 HBsAg 定量水平比较,差异有统计学意义($Z=-3.89, P<0.05$);轻型 CHB 组与重型 CHB 组 HBsAg 定量水平比较,差异无统计学意义($Z=-1.22, P=0.22$);中型 CHB 组与重型 CHB 组 HBsAg 定量水平比较,差异有统计学意义($Z=-2.32, P<0.05$)。轻、中、重型 CHB 患者 HBV DNA 定量水平比较,差异有统计学意义($Z=9.33, P<0.05$);轻型 CHB 组与中型 CHB 组 HBV DNA 定量水平比较,差异有统计学意义($Z=-2.96, P<0.05$);轻型 CHB 组与重型 CHB 组 HBV DNA 定量水平比较,差异无统计学意义($Z=-1.98, P=0.05$);中型 CHB 组与重型 CHB 组 HBV DNA 定量水平比较,差异无统计学意义($Z=-0.74, P=0.46$)。轻、中、重型 CHB 组 ALT、AST、GGT 水平比较,差异均有统计学意义($Z=60.21, 50.84, 28.76, P<0.05$)。

表 1 不同分型 CHB 患者各项实验室相关指标检测结果比较[$M(P_{25} \sim P_{75})$]						
组别	<i>n</i>	HBsAg(U/mL)	HBV DNA(log copy/mL)	ALT(U/L)	AST(U/L)	GGT(U/L)
轻型 CHB 组	115	2 583.90(403.60~7 946.55)	5.36(3.14~6.89)	72.00(39.50~208.50)	67.00(40.50~130.50)	74.00(33.00~131.00)
中型 CHB 组	108	6 998.34(2 138.13~18 963.73)	6.45(4.69~7.53)	203.00(121.00~498.50)	121.00(65.00~283.00)	103.00(54.50~74.50)
重型 CHB 组	79	3 669.91(918.75~10 701.34)	5.95(4.34~7.44)	591.00(176.00~1 114.00)	252.50(95.00~695.00)	145.50(92.00~203.00)
<i>Z</i>		15.50	9.33	60.21	50.84	28.76
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 CHB 患者 HBsAg 与 HBV DNA 相关性分析 HBsAg 定量水平与 HBV DNA 定量水平在轻型

CHB 组、中型 CHB 组、重型 CHB 组($r=0.68, 0.60, 0.66, P<0.05$)患者中均呈正相关。

2.3 3 组 HBV DNA 定量水平与 ALT、AST 及 GGT 的相关性分析 见表 2。轻型 CHB 组 HBV DNA 定量水平与 ALT 呈正相关($P<0.05$),与 AST 和 GGT 无明显相关性($P>0.05$);而在中、重型 CHB 组 ALT、AST 及 GGT 与 HBV DNA 定量水平均无相关性($P>0.05$)。

表 2 3 组 HBV DNA 定量水平与 ALT、AST 及 GGT 相关性分析

组别	ALT		AST		GGT	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
轻型 CHB 组	0.22	0.02	0.07	0.41	-0.01	0.29
中型 CHB 组	0.18	0.06	0.18	0.06	-0.04	0.67
重型 CHB 组	0.23	0.05	0.23	0.05	0.17	0.14

3 讨 论

尽管近几年 HBV 感染率有所下降,但在低收入国家,特别是东欧、西太平洋和撒哈拉以南非洲地区的感染率仍较高。我国是 HBV 感染高发地区,HBV 持续感染可引发慢性肝炎、肝硬化及肝癌,给社会和家庭带来沉重的经济负担,危害极大。因此,积极改进 HBV 筛查和监测方法,识别慢性感染个体,抑制传播,及时采取适当措施来减少慢性感染者进一步发展为肝硬化和肝癌至关重要。随着检测技术的发展,血清 HBsAg 及 HBV DNA 定量检测已逐步应用于对 HBV 感染状态的评估和对 CHB 抗病毒治疗疗效的预测。

HBV 流行病学特征显示,农村地区感染率高于城市,男性慢性感染率高于女性^[4-6]。本研究结果显示,中型 CHB 组 HBV DNA 定量水平较轻型 CHB 组高,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$);重型 CHB 组中 HBV DNA 定量水平较中型 CHB 组呈逐渐下降趋势,但两组差异无统计学意义($P>0.05$),这与 WONG 等^[7]研究结果一致。随着慢性 HBV 感染病程的延长,病毒复制活性有所降低,可能是由于机体感染病毒后,随着机体免疫系统的损伤,肝细胞的破坏程度愈发严重,造成大量肝细胞坏死,从而导致依赖肝细胞的 HBV 复制减少。迄今为止,越来越多的研究表明,HBsAg 水平与疾病病程有关^[8-11]。本研究结果显示,疾病进展初期,HBsAg 水平有所升高,随着疾病越来越严重,肝细胞大量坏死,重型 CHB 组较中型 CHB 组 HBsAg 水平逐渐下降。对于 HBsAg 与 HBV DNA 之间的相关性,研究者的观点不尽相同。WERLE-LAPOSTOLLE 等^[12]认为,在疾病的不同阶段,HBsAg 水平与 HBV DNA 的相关性不同;THOMPSON 等^[13]报道,在 HBeAg 阳性患者中,HBsAg 水平与血清 HBV DNA 和肝内共价闭合环状 DNA(cccDNA)水平相关性良好,而在 HBeAg 阴性

患者中,HBsAg 水平与血清 HBV DNA 的相关性较差,与肝内 cccDNA 无相关性;本研究结果显示,CHB 患者 HBsAg 水平与 HBV DNA 呈正相关,这与 THOMPSON 等^[13]的报道一致。HBsAg 定量水平与 HBV DNA 相关性可能与二者的产生均依赖于肝细胞,都以 cccDNA 作为模板,组装成完整的病毒颗粒后分泌到血液中,在一定程度上,HBsAg 可反映 HBV DNA 的复制情况。轻型 CHB 组 HBV DNA 与 ALT 呈正相关($r=0.22, P=0.02$),与 AST、GGT 无明显相关性($P>0.05$);中、重型 CHB 组 HBV DNA 与 ALT、AST、GGT 均无相关性($P>0.05$)。

随着检测技术的进步,越来越多的血清学标志物用于 HBV 感染患者的诊断、预后和监测。有研究表明,联合检测 HBsAg($<1\,000\text{ U/mL}$)和 HBV DNA($\leq 2\,000\text{ log copy/mL}$)能更准确地鉴定 D 型基因型非活性携带者^[14]。低病毒血症($\text{HBV DNA}<2\,000\text{ log copy/mL}$)患者 HBsAg 水平升高时,预示有疾病进展的风险,包括肝衰竭和肝硬化^[15-16]。联合检测 HBV DNA($<2\,000\text{ log copy/mL}$)和 HBsAg($<1\,000\text{ U/mL}$)有助于早期发现微小肝癌^[17]。

综上所述,联合分析 HBsAg 及 HBV DNA 有助于监测 CHB 患者疾病的进展及观察抗病毒治疗的效果,以改善患者生活质量,降低肝脏失代偿、肝硬化和肝癌的发生。尽管如此,由于 HBV 不断变异,其中的相关机制尚需进一步研究。临床应结合 HBsAg 与 HBV DNA 对 CHB 患者不同感染阶段进行综合评价,因此,寻求更合适的临界值去评估 CHB 病情进展仍需大量临床样本进行深入研究。

参考文献

[1] HUTIN Y J, BULTERYS M, HIRNSCHALL G O. How far are we from viral hepatitis elimination service coverage targets[J]. J Int AIDS Soc, 2018, 21(Suppl 2): e25050.

[2] POLARIS OBSERVATORY COLLABORATORS. Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2018, 3(6): 383-403.

[3] STANAWAY J D, FLAXMAN A D, NAGHAVI M, et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the global burden of disease study 2013[J]. Lancet, 2016, 388(10049): 1081-1088.

[4] KOMAS N P, VICKOS U, HUBSCHEN J M, et al. Cross-sectional study of hepatitis B virus infection in rural communities, central african republic[J]. BMC Infect Dis, 2013, 24(13): 286-289.

[5] OTT J J, HORN J, KRAUSE G, et al. Time trends of chronic HBV infection over prior decades - a global analysis[J]. J Hepatol, 2017, 66(1): 48-54.

[6] LEMOINE M, THURSZ M R. Battlefield against hepatitis B infection and HCC in africa[J]. J Hepatol, 2017, 66(3): 645-654.

[7] WONG D K, YUEN M F, POON R T, (下转第 1836 页)

- mm Hg 的诊断标准[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018,10(9):1098.
- [9] 董健,张谓丰,马峰,等. ASA 评分在肝癌患者外科治疗风险评估中的作用[J]. 中国普通外科杂志,2014,23(7):910-914.
- [10] WANG H M, SHI X Y, QIN X R, et al. Comparison of dexmedetomidine and propofol for conscious sedation in inguinal hernia repair: a prospective, randomized, controlled trial[J]. J Int Med Res, 2017, 45(2):533-539.
- [11] LOBO F A, WAGEMAKERS M, ABSALOM A R. Anaesthesia for awake craniotomy[J]. Br J Anesth, 2016, 116(6):740-744.
- [12] 王义凤,杨昌明,周芹,等. 右美托咪定联合罗哌卡因用于高血压患者局麻手术对血流动力学的影响[J]. 中国医药导报, 2017, 14(25):65-68.
- [13] 王振亚. 腹腔镜下直肠癌根治术老年患者应用右美托咪定影响围术期应激反应及免疫功能的观察[J]. 中国医学工程, 2018, 19(11):13-17.
- [14] 王清卿,赵鑫,陈玉超,等. 肝脏缺血再灌注损伤机制及干预的研究进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(6):1225-1229.
- [15] 李玲,路艳,段凤梅,等. 右美托咪定对肝叶切除患者围术期肝功能及血浆细胞因子水平的影响[J]. 山西医药杂志, 2016, 45(14):1619-1621.
- [16] 常远鸿,刘凯歌,阴俊,等. RNA 干扰沉默 CXCR4 基因对肝癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2012, 34(11):1104-1109.
- [17] XU Y M, HUANG J, MA L N, et al. MicroRNA-122 con-
- fers sorafenib resistance to hepatocellular carcinoma cells by targeting IGF-1R to regulate RAS/RAF/ERK signaling pathways[J]. Cancer Lett, 2016, 371(2):171-181.
- [18] MATSUMOTO T, YAMAGAMI T, YOSHIMATSU R A, et al. Hepatic arterial infusion chemotherapy by the fixed-catheter-tip method: retrospective comparison of percutaneous left subclavian and femoral port-catheter system implantation[J]. A J Roentgenol, 2014, 202(1):211-215.
- [19] LIANG H W, WANG N, WANG Y B, et al. Hepatitis B virus-human chimeric transcript HBx-LINE1 promotes hepatic injury via sequestering cellular microRNA-122[J]. J Hepatol, 2016, 64(2):278-291.
- [20] 梁洁,胡君阳,续志斌,等. 氯乙烷对雄性大鼠肝组织及血清 miR-122 表达影响[J]. 中国职业医学, 2016, 43(5):542-546.
- [21] 徐土炳,李莉,罗兴迪,等. 血浆 miR-122 表达与肝癌手术前后肝损伤的相关性[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(14):2697-2699.
- [22] SHARAPOVA T, DEVANARAYAN V, LEROY B, et al. Evaluation of miR-122 as a serum biomarker for hepatotoxicity in investigative rat toxicology studies[J]. Vet Pathol, 2016, 53(1):211-221.
- [23] ROY S, BENZ F, ALDER J, et al. Down-regulation of miR-192-5p protects from oxidative-stress induced-acute liver injury[J]. Clin Sci, 2016, 130(14):1197-1207.

(收稿日期:2019-01-22 修回日期:2019-04-26)

(上接第 1831 页)

- et al. Quantification of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in patients with hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2006, 45(4):553-559.
- [8] 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, 2010, 52(4):1232-1241.
- [9] JAROSZEWICZ J, CALLE SERRANO B, WURSTHORN K, et al. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of hepatitis B virus (HBV)-infection: a european perspective[J]. J Hepatol, 2010, 52(4):514-522.
- [10] NGUYEN T, THOMPSON A J, BOWDEN S, et al. Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: a perspective on asia[J]. J Hepatol, 2010, 52(4):508-513.
- [11] MATSUMOTO A, TANAKA E, MORITA S, et al. Changes in the serum level of hepatitis B virus (HBV) surface antigen over the natural course of HBV infection[J]. J Gastroenterol, 2012, 47(9):1006-1013.
- [12] WERLE-LAPOSTOLLE B, BOWDEN S, LOCARNINI S, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy[J]. Gastroenterology, 2004, 126(7):1750-1758.
- [13] THOMPSON A J, NGUYEN T, ISER D, et al. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers; disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers[J]. Hepatology, 2010, 51(6):1933-1944.
- [14] BRUNETTO M R, OLIVERI F, COLOMBATTO P, et al. Hepatitis B surface antigen serum levels help to distinguish active from inactive hepatitis B virus genotype D carriers[J]. Gastroenterology, 2010, 139(2):483-490.
- [15] TSENG T C, LIU C J, YANG H C, et al. Serum hepatitis B surface antigen levels help predict disease progression in patients with low hepatitis B virus loads[J]. Hepatology, 2013, 57(2):441-450.
- [16] TSENG T C, LIU C J, YANG W T, et al. Hepatitis B surface antigen level complements viral load in predicting viral reactivation in spontaneous HBeAg seroconverters[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2014, 29(6):1242-1249.
- [17] TSENG T C, LIU C J, YANG H C, et al. High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load[J]. Gastroenterology, 2012, 142(5):1140-1149.

(收稿日期:2019-01-02 修回日期:2019-04-12)