

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.23.012

“小三阳”肝炎患者 HBsAg 和 HBV-DNA 水平与 肝脏损伤程度的相关性研究

唐祯臻, 卢发强[△], 宗建国, 魏丹冰, 赵 蕾, 宋慧娟

大连大学附属中山医院检验科, 辽宁大连 116001

摘要:目的 探讨“小三阳”肝炎患者乙型肝炎病毒(HBV)血清标志物 HBsAg 水平和 HBV 脱氧核糖核酸(HBV-DNA)载量与其肝功能指标的关系。方法 选取 2018 年 2 月至 2019 年 2 月该院收治的住院“小三阳”肝炎患者 422 例作为病例组,另选取同期健康体检者 248 例作为对照组,比较两组前清蛋白(PAB)、 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)、腺苷脱氨酶(ADA)和单胺氧化酶(MAO)(后简称 4 项肝功能指标)表达水平;将病例组患者依据血清标志物 HBsAg 不同水平分为 4 组,比较各组 4 项肝功能指标的表达水平;将病例组患者依据 HBV-DNA 不同载量分为 5 组,比较各组 4 项肝功能指标的表达水平。结果 病例组的 PAB 水平显著低于对照组,AFU、ADA 和 MAO 水平均显著高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);病例组不同 HBsAg 水平区间患者的 PAB 水平比较,随着 HBsAg 水平的升高,PAB 水平逐渐降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$),但患者的 AFU、ADA 和 MAO 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);病例组不同 HBV-DNA 载量区间患者的 PAB、AFU、ADA 和 MAO 水平比较,随着 HBV-DNA 载量的增加,PAB 水平逐渐降低,AFU、ADA 和 MAO 水平均逐渐升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 “小三阳”患者 HBsAg 水平和 HBV-DNA 载量增加时,会造成肝脏不同程度的损伤,其中以 HBV-DNA 载量的变化引起 4 项肝功能指标改变更为敏感。

关键词:“小三阳”肝炎; 乙型肝炎病毒表面抗原; 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸; 肝功能指标

中图法分类号:R512.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)23-3433-04

Study on correlation between HBsAg and HBV-DNA levels and liver damage degree in patients with "small three positive" hepatitis

TANG Zhenzhen, LU Faqiang[△], ZONG Jianguo, WEI Danbing, ZHAO Lei, SONG Huijuan

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Zhongshan Hospital,

Dalian University, Dalian, Liaoning 116001, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between serum marker HBsAg level of hepatitis B virus(HBV) and HBV-DNA load with liver function indexes in the inpatients with "small three positive" hepatitis, so as to provide scientific basis and reasonable guidance for clinical evaluation of liver injury degree in patients with HBV infection. **Methods** A total of 422 inpatients with small three positive hepatitis in this hospital were selected as the case group, and contemporaneous 248 cases of healthy physical examination were selected as the control group. The expression levels of prealbumin (PAB), α -L-fucosidase (AFU), adenosine deaminase (ADA) and monoamine oxidase (MAO) were compared between the two groups. The case group was divided into 4 groups according to different levels of serum marker HBsAg. The expression levels of four liver function indexes were compared among the 4 groups. The case group was divided into 5 groups according to different loads of HBV-DNA. Then the expression levels of 4 liver function indexes were compared among 5 groups. **Results** The PAB level in the small three positive hepatitis group was significantly lower than that in the control group, while the AFU, ADA and MAO levels were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). In the comparison of PAB level in the case group among different HBsAg level intervals, the PAB level was gradually decreased with the HBsAg level increase, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$), but the comparison of AFU, ADA and MAO levels showed no statistically significant difference ($P > 0.05$). In the comparison of PAB, AFU, ADA and MAO in the case group among different HBV-DNA loads intervals, the PAB level was gradually decreased with the HBV-DNA load increase, while the AFU, ADA and MOA levels were gradually increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The increase of HBsAg level and HBV-DNA

load in the patients with "small three positive" will cause the liver damage to different degrees, in which the changes of HBV-DNA load causing the change of four liver function indicators are more sensitive.

Key words: "small three positive" hepatitis; hepatitis B virus surface antigen; hepatitis B virus DNA; liver function index

乙型肝炎是一种具有高传染性和高发病率的疾病。据 WHO 全球调查发现,在大约 19.8 亿乙型肝炎患者中,慢性乙型肝炎感染者约占 20%,因乙型肝炎病毒(HBV)引起肝纤维化、肝功能衰竭及原发性肝癌的每年死亡人数约为 102 万,其中以“小三阳”感染模式最为多见^[1-2]。目前,乙型肝炎两对半的定量检测已在临床广泛应用^[3],判定 HBV 复制状态和感染程度的主要方法为 HBV 脱氧核糖核酸(HBV-DNA)定量及 HBV 血清学标志物检测。长期感染并有 HBV 复制时,可引起肝脏炎症持续发展,导致肝脾肿大、纤维化,最终演变成为肝硬化及肝癌^[4-5]。HBV 对肝脏造成损害时,可以通过检测血清生化指标来反映其损伤和炎症情况。近年来,已逐步开展了对前清蛋白(PAB)、 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)、腺苷脱氨酶(ADA)和单胺氧化酶(MAO)(后简称 4 项肝功能指标)在急慢性肝炎、肝硬化和肝癌诊断和鉴别诊断中的价值及临床意义的研究,但在“小三阳”肝炎患者乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、HBV-DNA 与 4 项肝功能指标相关性方面的研究甚少。本研究旨在对上述 4 项肝功指标在 422 例“小三阳”肝炎患者中的表达进行对比分析,为更好地认识和使用这些指标诊断疾病和指导临床治疗提供理论依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 2 月至 2019 年 2 月在本院住院的“小三阳”肝炎患者 422 例作为病例组,同期 246 例健康体检者作为对照组。病例组男 248 例,平均年龄 (54.0 ± 12.5) 岁;女 174 例,平均年龄 (55.0 ± 12.1) 岁;纳入标准:均符合《慢性乙型肝炎防治指南》(2015 年版)慢性乙型肝炎的临床诊断标准^[6]。排除其他肝炎类型、肝癌、肝硬化、酒精性或非酒精性脂肪肝、药物性肝病,以及存在严重心血管系统疾病、梅毒和人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者。每份血清标本同时进行 HBV 两对半、HBV-DNA 和血清生化标志物测定。将病例组患者按 HBsAg 不同水平分为 4 组,按 HBV-DNA 不同载量分为 5 组。

1.2 试剂与仪器 乙型肝炎两对半检测选用美国西门子医学诊断股份有限公司 ADVIA Centaur[®] XP 全自动化学发光免疫分析仪,试剂由美国西门子医学诊断股份有限公司提供,严格按照说明书进行操作。血清生化标志物指标检测选用美国西门子医学诊断股份有限公司 ADVIA[®] 2400 全自动生化分析仪,试剂

由美康生物科技股份有限公司提供。HBV-DNA 检测选用 LineGene 9660 博日 BIOER 荧光定量 PCR 检测系统,试剂由艾康生物技术(杭州)有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 乙型肝炎两对半检测 采用化学发光技术的夹心免疫测试法,通过荧光定量 PCR 检测仪检测 HBV 血清标志物。HBsAg 指数值 >50 的标本认为呈反应性,不需要进一步测试;HBsAg 指数值 ≥ 1 但 ≤ 50 则认为有反应性,重复检测 2 次。

1.3.2 HBV-DNA 定量检测 采用 PCR 荧光探针法通过全自动化学发光免疫分析仪检测,HBV-DNA $\geq 1 \times 10^3$ copy/mL 判断为阳性。

1.3.3 肝功能指标检测 PAB 检测采用免疫比浊法,AFU 检测采用速率法,ADA 检测采用过氧化物酶法,MAO 检测采用连续监测法,均严格参照试剂盒说明书通过全自动生化分析仪检测。各指标的定量参考范围:PAB 200~400 mg/L,AFU 0~40 U/L,ADA 4~22 U/L,MAO 0~12 U/L。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件对数据进行分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组 and 对照组 PAB、AFU、ADA 和 MAO 水平比较 病例组 PAB 水平显著低于对照组,AFU、ADA 和 MAO 水平均显著高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 病例组不同 HBsAg 水平区间患者 PAB、AFU、ADA 和 MAO 水平比较 经单因素方差分析可知,随着 HBsAg 水平的升高,患者的 PAB 水平逐渐降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),但 AFU、ADA 和 MAO 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);两两比较,500 $<$ HBsAg $\leq 1\,000$ 和 HBsAg $> 1\,000$ 的患者 PAB 水平均低于 HBsAg ≤ 50 的患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$),且 HBsAg $> 1\,000$ 的患者 PAB 水平低于 500 $<$ HBsAg $\leq 1\,000$ 的患者($P < 0.05$),见表 2。

2.3 病例组不同 HBV-DNA 载量区间患者 PAB、AFU、ADA 和 MAO 水平比较 经单因素方差分析可知,随着 HBV-DNA 载量的增加,PAB 水平逐渐降低,AFU、ADA 和 MAO 水平逐渐升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);不同 HBV-DNA 载量组患者的

PAB、AFU 和 ADA 水平两两比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);且 10^3 copy/mL $<$ HBV-DNA $<10^4$ copy/mL 组和 10^4 copy/mL $\leq$ HBV-DNA $<10^5$ copy/mL 组与 HBV-DNA $\geq 10^7$ copy/mL 组患者的 MAO 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 1 病例组和对照组 PAB、AFU、ADA 和 MAO 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	PAB(mg/L)	AFU(U/L)	ADA(U/L)	MAO(U/L)
对照组	246	267.48±31.20	20.15±4.81	10.27±2.37	6.71±1.64
病例组	422	238.32±49.99 [*]	23.61±6.53 [*]	14.74±5.33 [*]	7.29±2.24 [*]

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$

表 2 病例组不同 HBsAg 水平区间患者 PAB、AFU、ADA 和 MAO 水平比较($\bar{x}\pm s$)

HBsAg	<i>n</i>	PAB(mg/L)	AFU(U/L)	ADA(U/L)	MAO(U/L)
HBsAg ≤ 50	47	267.62±38.81	20.71±4.43	13.00±4.30	6.96±2.36
50 $<$ HBsAg ≤ 500	57	259.96±40.84	20.38±4.77	13.13±4.21	7.18±2.76
500 $<$ HBsAg $\leq 1\ 000$	56	249.57±36.41 [*]	21.51±4.54	13.46±4.01	7.21±1.83
HBsAg $>1\ 000$	58	238.98±37.03 [*]	21.44±4.57	13.45±3.99	7.30±2.81
<i>F</i>		5.646	0.717	0.166	0.174
<i>P</i>		0.001	0.543	0.919	0.914

注:与 HBsAg ≤ 50 比较,^{*} $P<0.05$

表 3 病例组不同 HBV-DNA 载量区间患者的 PAB、AFU、ADA 和 MAO 水平比较($\bar{x}\pm s$)

HBV-DNA(copy/mL)	<i>n</i>	PAB(mg/L)	AFU(U/L)	ADA(U/L)	MAO(U/L)
$10^3<$ HBV-DNA $<10^4$	64	246.78±57.48	21.81±5.17	14.41±4.55	6.71±1.97
$10^4\leq$ HBV-DNA $<10^5$	32	232.00±68.25	23.59±5.23	14.56±4.57	6.98±1.76
$10^5\leq$ HBV-DNA $<10^6$	33	219.98±31.59 [*]	26.68±4.57 ^{*#}	16.57±6.66 ^{*#}	7.22±1.64
$10^6\leq$ HBV-DNA $<10^7$	32	217.25±64.66 [*]	27.42±7.16 ^{*#}	16.78±8.46 ^{*#}	7.39±2.07
HBV-DNA $\geq 10^7$	50	195.20±19.04 ^{*#}	32.13±5.89 ^{*#}	18.76±5.08 ^{*#}	7.88±1.99 ^{*#}
<i>F</i>		7.907	26.120	5.254	2.772
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.028

注:与 10^3 copy/mL $<$ HBV-DNA $<10^4$ copy/mL 组比较,^{*} $P<0.05$;与 10^4 copy/mL $\leq$ HBV-DNA $<10^5$ copy/mL 比较,[#] $P<0.05$;与 HBV-DNA $\geq 10^7$ copy/mL 组比较,^{*} $P<0.05$

3 讨 论

HBsAg 是实验室诊断乙型肝炎患者感染和评价抗病毒治疗效果的主要指标。HBV-DNA 载量可用于判断 HBV 感染患者体内病毒的复制水平和抗病毒治疗适应证的选择及疗效判断^[7]。患者感染 HBV 后,该嗜肝细胞病毒可持续刺激肝细胞增生,增加了肝细胞癌的发病风险^[8]。因为 HBV 对肝脏造成损害时可引起血清生化指标变化,所以对乙型肝炎患者血清生化指标进行检测,可有效反映其肝脏损伤及炎症情况,从而指导临床治疗。PAB、AFU、ADA 和 MAO 是反映肝功能损伤较为敏感的检测项目。

PAB 是由肝细胞合成的稳定四聚体,在电泳条带中排在清蛋白前面,当肝细胞受损时其合成减少,血清 PAB 水平也相应降低,故可作为肝功能变化的敏感指标^[9]。AFU 是一种溶酶体酸性水解酶,广泛分布于人体各组织中,在肝脏中的活性最高,主要功能

为分解机体代谢的糖脂蛋白大分子,当肝细胞坏死及破裂时 AFU 会释放入血液,致血中 AFU 水平升高,同时当肝脏受损时,肝细胞清除 AFU 的能力下降,血中 AFU 水平也会升高^[10-11]。ADA 是人体重要的核酸分解酶,血清中 ADA 主要来源于肝脏的肝细胞胞质酶,当肝细胞损伤后,肝细胞膜通透性增强,ADA 释放入血清的水平升高^[12]。MAO 是水溶性的含铜蛋白质,当肝内慢性炎性刺激时,参与了胶原最后的架桥形成过程,使其与弹性硬蛋白结合形成胶原纤维,导致肝脏纤维化。MAO 也可游离进入血液中,使血中的 MAO 水平升高。故 MAO 可反映肝细胞损伤和肝纤维化^[13]。

HBV 的易感性对不同个体的差异较大,感染过程复杂,临床表现多样。乙型肝炎的确诊依赖于 HBV 血清标志物、HBV-DNA 病毒载量,以及肝生化指标检测的结果。本研究显示,病例组 PAB 水平显

著低于对照组,AFU、ADA 和 MAO 水平均显著高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),表明“小三阳”患者肝功能存在不同程度的损伤。当病例组不同 HBsAg 水平区间患者 PAB 水平比较时,随着 HBsAg 水平的升高,PAB 水平逐渐降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$),这可能与“小三阳”患者 HBsAg 肝炎病毒水平增加时,造成了肝细胞受损其合成减少,血清中的 PAB 水平降低相关,与胥栋^[14]报道的 PAB 在肝脏病变早期比较敏感,在乙型肝炎相关肝病患者的不同病程阶段血清中变化差异均有统计学意义($P < 0.05$)相符。但不同 HBsAg 水平区间患者 AFU、ADA 和 MAO 水平比较变化不大,差异均无统计学意义($P > 0.05$),可知它们无相关性,表明 HBsAg 水平多少与这 3 项肝损伤指标无直接关系。病例组不同 HBV-DNA 载量区间患者的 PAB、AFU、ADA 和 MAO 水平比较,随着 HBV-DNA 载量的增加,PAB 指标水平逐渐降低,AFU、ADA 和 MAO 水平逐渐升高,可能是由于“小三阳”肝炎患者体内病毒水平复制增高时,激发了机体的免疫应答,从而使肝细胞出现不同程度的损伤,表明 HBV-DNA 复制情况与肝损伤程度有直接关系,与国内相关报道不尽一致^[15]。同时,本研究还发现,当 HBV-DNA $\geq 10^7$ copy/mL 时,血清 MAO 水平升高显著,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示可能有肝纤维化发生^[16]。近年也有研究表明,血清 HBV-DNA 高水平表达,会加重病情危险程度,与肝硬化、肝细胞癌等密切相关^[17]。所以通过降低血清 HBV-DNA 载量,可以减轻对肝细胞的损伤,改善患者预后。有研究表明,HBV-DNA 与 HBsAg 的合成途径不同,在血清中的表达不平行^[18],所以对肝脏损伤程度也不一样,与本研究相符。

综上所述,HBV-DNA 载量比 HBsAg 水平对评价 HBV 感染患者肝脏损伤程度和血清学肝功能指标变化更为敏感,可为临床疾病诊断和病情评估提供依据,指导临床治疗,达到治疗效果。

参考文献

- [1] YAN L B, ZHU X, BAI L, et al. Mutations in basal core promoter is associated with significant fibrosis in both HBeAg positive and negative treatment-naïve chronic hepatitis B[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2017, 41(3): 296-302.
- [2] 杨宗燕, 张洁利. HBV 和 HCV 相关性肝细胞癌的临床特征分析[J]. 中华保健医学杂志, 2018, 20(5): 426-428.
- [3] NINOMIYA M, KONDO Y, KIMURA O, et al. The expression of miR-125b-5p is increased in the serum of patients with chronic hepatitis B infection and inhibits the detection of hepatitis B virus surface antigen[J]. J Viral

Hepatol, 2016, 23(5): 668-674.

- [4] 鹿雷明. 慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 及 HBsAg 水平与肝脏纤维化的相关性[J]. 解放军预防医学杂志, 2015, 33(1): 18-20.
- [5] ESTRADA J, NAJERA M, POUNDS N, et al. Clinical and Serologic Response to the 23 • -valent Polysaccharide Pneumococcal Vaccine in Children and Teens with Recurrent Upper Respiratory Tract Infections and Selective Antibody Deficiency[J]. Pediatr Infect Dis J, 2016, 35(2): 205-208.
- [6] 孟庆华, 侯维. 2015 年版《慢性乙型肝炎防治指南》: 慢性乙型肝炎抗病毒治疗指南解读[J]. 中国全科医学, 2016, 19(14): 1613-1615.
- [7] CHUAYPEN N, SRIPRAPUN M, PRAIANANTATHAVORN K, et al. Kinetics of serum HBsAg and intrahepatic cccDNA during pegylated interferon therapy in patients with HBeAg-positive and HBeAg-negative chronic hepatitis B[J]. J Med Virol, 2017, 89(1): 130-180.
- [8] 戴建刚, 陈燕. HBV 相关性肝病患者 HBsAg 水平与 HC-CR、AFP 的相关性及其肝功能指标的变化情况[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22): 2842-2845.
- [9] 张涛. 血清前白蛋白检测在肝病中的临床意义[J]. 医学信息, 2015, 28(26): 341-342.
- [10] WANG K, GUO W, LI N, et al. Alpha-1-fucosidase as a prognostic indicator for hepatocellular carcinoma following hepatectomy: a large-scale, long-term study[J]. Br J Cancer, 2014, 110(7): 1811-1819.
- [11] 张文娟, 张莉辉. 联合检测血清 AFP、GGT、AFU、D. D 在原发性肝癌诊断中的临床应用[J]. 中国医学创新, 2017, 14(9): 125-128.
- [12] 杨炜炜. 自身免疫性肝炎患者血清腺苷脱氨酶水平与肝组织学的关系[J]. 肝脏, 2018, 23(7): 614-617.
- [13] 王彩凤, 齐发梅, 袁秀梅. 249 例肝病患者血清单胺氧化酶活性变化的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(14): 2091-2092.
- [14] 胥栋. 血清前白蛋白、胆碱酯酶和总胆汁酸指标在乙型肝炎进展及原发性肝癌诊断及预后中的意义[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(12): 2043-2045.
- [15] 苏晓明, 黄雪珍. 乙型肝炎患者 HBV-M、HBV-DNA 检测及其与患者肝功能指标的关系[J]. 医学临床研究, 2018, 35(4): 740-741.
- [16] CAI W M. Noninvasive diagnosis of significant liver fibrosis[J]. J Clin Hepatol, 2011, 27(7): 762-767.
- [17] 于宏亮, 刘峰. 血清 ALT、AST 及 HBV-DNA 水平联合检测在慢性乙型肝炎患者诊断中的应用及相关生物学行为的评价[J]. 实验与检验医学, 2017, 35(5): 760-762.
- [18] 武建国. HBsAg 与 HBV-DNA 定量的临床信息互补[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(11): 80-84.