

• 综 述 •

乙型肝炎病毒标志物临床应用价值探讨

许金全 综述, 赵建华[△] 审校

(南京医科大学附属肿瘤医院临床检验中心, 江苏南京 210009)

关键词: 肝炎, 乙型; 肝炎病毒, 乙型; 肝炎抗体, 乙型; 肝炎抗原, 乙型**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.19.025**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2012)19-2354-03

中国是乙型肝炎病毒(HBV)感染高发地区。截止 2009 年, 中国 HBV 携带者有 1.3 亿、感染者约 9 300 万、慢性乙型肝炎(以下简称乙肝)患者约 2 000 万, 肝癌发病数占全球的 55%^[1]。提高乙肝的诊断和治疗水平迫切需要实验室检测指标的合理化选择和应用。目前, HBV 标志物(HBV-M)主要有血清学标志物和核酸标志物两大类。血清学标志物包括 HBV 表面标志物及其抗体、前 S1 抗原(PreS1-Ag)等; 核酸标志物包括 HBV DNA、共价环状闭合 DNA(cccDNA)及 HBV 基因型和变异等。其检测方法已由定性、半定量发展为定量检测, 且灵敏度和特异性也得到了较大的提高。

1 HBV 血清学标志物

目前以定性检测为主, 主要用于疾病诊断、流行病学调查及献血员和各种血制品筛查。随着定量检测的广泛应用, 血清学标志物被赋予了一些新的意义。

1.1 HBV 表面抗原(HBsAg)和表面抗体(HBsAb) HBsAg 为 HBV 外膜蛋白, 由 HBV DNA 负链开放阅读框 S 区编码, 不仅是包被病毒成分的蛋白, 也是启动感染的重要分子。乙肝患者血循环中, HBsAg 通常以 3 种形式存在, 即圆形颗粒、管形颗粒和 Dane 颗粒。只有 Dane 颗粒内存在 HBV, 但仅占所有 HBsAg 的 0.2%, 说明 HBsAg 和 HBV 之间缺乏正相关性。因此, 通常认为 HBsAg 阳性仅为 HBV 感染的标志, 很难准确反映病毒有无复制、复制程度、传染性强弱及预后状况。但也有研究显示 HBsAg 与 HBV DNA 之间存在一定相关性。Kim 等^[2]发现慢性乙肝(CHB)患者在免疫耐受期时的 HBsAg 水平最高, 免疫清除期则最低, 其在 CHB 各个阶段的变化与 HBV DNA 的变化一致, 认为 HBsAg 有可能代替 HBV DNA 成为检测病毒复制和观察药物疗效的标志物。但由于缺乏大样本前瞻性研究及长期随访, 还有待进一步探讨。Lee 等^[3]对 565 例 HBsAg > 250 IU/mL 的患者进行了分析, 发现 HBsAg 定量检测可以较好地反映 CHB 患者早期病毒复制水平, 且 HBsAg 与 HBV DNA 呈弱相关, 说明 HBsAg 水平可作为 HBV 复制状态和疾病活动程度的参考指标, 辅助或在某些特殊情况下替代 HBV DNA 等指标为临床提供重要信息, 但由于缺乏纵向研究, 值得商榷。同时, 定量检测对 HBsAg 的清除也具有较好的预测价值, HBsAg < 10 IU/mL 是最强的 HBsAg 清除预测因子^[4]。

部分情况下, HBV 感染者血清 HBsAg 测定可表现为阴性, 如: 患者处于急性乙肝“窗口期”、隐匿性 HBV 感染或 CHB、S 区基因变异、急性重症乙肝等; 肝细胞以合成 HBeAg 为主, 很少或不合成 HBsAg, 也会表现为 HBsAg 阴性^[5]。因此, 对于初筛 HBsAg 阴性患者, 需要结合临床症状及其他实验室指标以确诊。

HBsAb 是机体感染 HBV 后处于恢复期时血清中出现的中和性抗体, 或者机体接种乙肝疫苗后形成的抗体, 具有免疫保护作用。值得关注的是, 有研究发现在 HBsAb 阳性患者体内仍有 5% HBV DNA 阳性; 慢性肝炎中的一些 HBsAb 阳性者, 肝细胞中可检出 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA, 因此尽管自然感染者 HBsAb 阳转后, 大多数预后良好, 但也不能过于乐观, 应定期复查。HBsAb 定量测定的价值是用于人群乙肝疫苗注射效果的判断。接种疫苗后 HBsAb 含量超过 10 IU/L, 表明其具有保护性, 且免疫力及持续时间与 HBsAb 水平高低呈正比。

HBsAb 通常在 HBsAg 消失几周至几个月后方呈阳性, 极少数在 HBsAg 消失后即呈阳性。同时检出 HBsAb 和 HBsAg 则更少见, 如: 先后或同时感染不同亚型 HBV, 此时 HBsAb 和 HBsAg 常表现为强阳性且持续很久, 或编码 HBsAg 的 S 基因变异, 导致抗原性改变, HBsAb 不能将其清除^[6]。

1.2 HBV e 抗原(HBeAg)和 e 抗体(HBeAb) HBeAg 由 HBV DNA 负链 ORF 前 C/C 区编码, 属血清分泌性蛋白, 不参与构成病毒颗粒, 可能主要与免疫调节作用有关。HBeAg 在血清中出现的时间稍晚于 HBsAg, 可在急性感染 6~12 周检出。急性期 HBeAg 消失伴丙氨酸氨基转移酶(ALT)的降低, 预示肝脏免疫炎症反应减轻、疾病好转; 如 HBeAg 持续阳性超过 12 周, 则有疾病慢性化倾向。HBeAg 由 Dane 颗粒分泌, 其阳性是病毒复制活跃的标志, 可用于判断传染性的强弱。有研究显示, HBeAg 阳性妊娠患者分娩的新生儿 HBeAg 阳性率较 HBeAg 阴性妊娠患者明显增高, HBeAg 的阳性是导致母婴传播的重要因素^[7]。HBeAg 定量可较好地预测抗病毒疗效。李明慧等^[8]的研究证实, 在 HBeAg 阳性 CHB 患者接受干扰素治疗过程中, HBeAg 与 HBV DNA 水平显著相关, 且随着治疗时间的延长, 两者变化趋势一致, 对干扰素抗病毒疗效的预测具有重要的意义。朱月永等^[9]发现, 聚乙二醇化干扰素治疗 HBeAg 阳性 CHB 患者 24 周后, HBeAg 水平可以预测治疗的应答状况, 但有待大样本研究的证实。

HBeAg 的血清学转换标志着免疫系统开始发挥作用, 是治疗有效的标志; HBV 的抑制更持久和稳定, ALT 正常, 肝脏炎症坏死逆转, 继发肝硬化及肝癌的几率下降。由于 HBV 核心区启动子或前 C 区易出现点突变, 使得 HBeAg 表达缺失, 表现为 HBeAg 检测持续阴性, 但此时仍有大量病毒存在。因此不能仅仅以 HBeAg 定量检测作为乙肝患者抗病毒疗效的观察指标, 需联合其他指标进行监测。

HBsAb 通常在 HBeAg 转阴后出现, 如出现在 HBeAg 阴转后早期(2 周内), 可能预示急性肝炎恢复顺利; 如出现在晚期(HBeAg 阴转后 6 周以上)或不出现, 预示发展为慢性的可

[△] 通讯作者, E-mail: jhzhao2838@sina.com。

能。HBeAb 不是保护性抗体,其阳性说明病毒复制减少,传染性减弱,但并非没有传染性。

1.3 HBV 核心抗原(HBcAg)和核心抗体(HBcAb) HBcAg 由 HBV 前 C/C 区编码,仅存在于 Dane 颗粒的核心,血清中极少有游离的 HBcAg,因此 HBcAg 检测需裂解 Dane 颗粒外壳,难以常规开展。由于 HBcAg 有很强的免疫原性,HBeAb 几乎均可检出,但 HBeAb 也不是保护性抗体。总 HBeAb 主要包括 IgM 和 IgG 等。HBeAb IgM 是机体感染 HBV 后最早出现的血清特异性抗体,是诊断急性乙肝的重要指标,持续高滴度提示疾病有慢性化倾向。如慢性活动性乙肝患者 HBeAb IgM 滴度较高,说明 HBV 在体内复制活跃,具有高度传染性。HBcAb IgG 阳性仅为 HBV 感染的标志,高滴度提示正在感染,低滴度则提示既往感染。“二对半”多检测 HBeAb IgG。

美国疾病控制中心对 HBeAb 单独阳性(非假阳性)的解释为:(1)急性感染后的恢复早期:HBsAg 减少甚至消失,而 HBeAb 尚未出现,HbcAb 是唯一能检出的特异性指标,此时 HBeAb IgM 也为阳性;(2)被动转移:母亲携带 HBsAg 时,婴儿可因抗体被动转移(HBeAb 可通过胎盘)而呈 HBeAb 单独阳性;(3)既往感染伴 HBeAb 消失:常见于感染 HBV 多年后,且相当少见(0.5%);(4)既往感染伴低水平 HBsAg 或 HBV 反复感染继发 HBsAg 产生下降。

1.4 PreS1-Ag PreS1-Ag 为 HBV 基因 S1 区编码的外膜蛋白,主要存在于具有传染性的 Dane 颗粒上,免疫原性较强。PreS1-Ag 是急性乙肝早期的诊断指标,其转阴越早,预后越好;反之,PreS1-Ag 持续阳性患者易发展成 CHB。郑瑾等^[10]研究了 456 例 HBsAg、HBeAb、HBcAb 阳性患者标本,发现 HBV DNA 和 PreS1-Ag 阳性率无统计学差异,对 176 例两者均阳性的标本进行分段研究,发现 HBV 载量与 PreS1-Ag 水平显著相关,是反映病毒复制的理想指标。孙桂珍^[11]证实 PreS1-Ag 是反映 HBV 复制,尤其在抗 HBe 阳性但仍有病毒复制时,较有价值的指标,对指导抗病毒治疗有重要临床意义。王建军和于芹^[12]在 212 例 HBsAg 阳性血清标本中检出 PreS1Ag 阳性标本 160 例,阳性率为 75.5%,认为 PreS1-Ag 是对“二对半”很好的补充,有助于病毒性肝炎的诊断、评估抗病毒疗效及判断患者预后。相对于 HBV DNA,PreS1-Ag 更易检测。作为可反映 HBV 复制且检测简单的理想血清学指标,PreS1-Ag 具有替代 HBV DNA 检测的价值^[13]。但对该价值的认识仍存在争议,例如:前 S1 区基因突变可导致 PreS1-Ag 阴性,但这并不影响病毒复制及装配。

2 HBV 核酸标志物

随着荧光定量 PCR 等技术的发展和广泛应用,HBV 核酸标志物,尤其是 HBV DNA 检测,为研究病毒载量与病情严重程度、监测疾病进展、评价抗病毒疗效及耐药风险等提供了可靠依据。

2.1 HBV DNA 急性乙肝患者临床症状较为典型,辅以肝脏代谢指标(ALT 和/或胆红素)及“二对半”检测,结合病史即可明确诊断,HBV DNA 检测意义不大。急性 HBV 感染超过 6 个月或血清 HBsAg、HBV DNA 持续阳性超过 6 个月即可诊断为慢性 HBV 感染。部分慢性 HBV 感染(例如隐匿性 HBV 感染和隐匿性 CHB)没有典型血清学指标异常,但 HBV 仍可有低水平复制,此时 HBV DNA 是惟一具有确诊价值的实验室指标。血清 HBV DNA 水平也是判断病毒复制最直接和最可靠的标志,是目前评价 HBV 复制的“金标准”,与病毒传染性和疾病进展密切相关,HBV DNA 持续存在更是患者发展至

肝癌的高危因素之一。

HBV DNA 定量检测是判断抗病毒治疗始点及终点的重要指征。《慢性乙型肝炎防治指南》建议:无肝硬化且 ALT $\geq$ 2 ULN 的慢性肝炎患者 HBeAg 阳性、HBV DNA $\geq$ 20 000 IU/mL 或 HBeAg 阴性,应给予抗病毒治疗;HBV DNA $\geq$ 2 000 IU/mL,代偿性肝硬化 HBeAg 阳性患者 HBV DNA $\geq$ 2 000 IU/mL,HBeAg 阴性患者 HBV DNA $\geq$ 200 IU/mL,失代偿肝硬化患者检出 HBV DNA,则建议抗病毒治疗^[14]。Liu 等^[15]认为在拉米夫定治疗 CHB 过程中,应将血清 HBsAg 转阴作为治疗终点,但对于因基因突变导致 HBsAg 或 HBeAg 阴性及由于 HBV 发生整合而持续表达 HBsAg 的患者,该治疗终点难以判断或实现。因而,临床上将基于 HBV DNA 定量检测的病毒学应答作为判断抗病毒治疗终点的重要指标^[14,16]。但是,有相当比例的 CHB 患者在接受抗病毒治疗一段时间后,血清 HBV DNA 常降至无法检出的水平。因此,HBV DNA 检测用于判断抗病毒治疗终点存在有一定局限性,迫切需要提高 HBV DNA 检测灵敏度和准确性。

HBV DNA 定量检测也是用于判断抗病毒疗效的重要指标。Zheng 等^[17]的回顾性研究显示,拉米夫定治疗后第 24 周血清 HBV DNA 水平与 HBeAg 血清转换相关,是判断疗效及病毒学突破的理想指标,且及时判断疗效可将耐药风险降到最低。Chen 等^[18]发现,阿德福韦治疗 CHB 第 24 和 48 周时,HBV DNA 水平是很强的耐药预测因子,可以指导临床选择合理的抗病毒药物,也有助于在发生耐药后及时更换治疗方案。因此,在抗病毒治疗过程中,须动态监测 HBV DNA、ALT、HBeAg 和 HBeAb(每 3~6 个月检测 1 次)。

2.2 cccDNA HBV 入侵肝细胞后,松弛环状 DNA(rcDNA)即进入肝细胞核形成 cccDNA。HBV cccDNA 的形成成为病毒复制提供了原始模板,是病毒复制起始的标志,也是反映宿主肝细胞内感染状态最重要标志。只有清除了细胞核内的 cccDNA,才能彻底消除乙肝患者体内 HBV。因此,乙肝患者肝细胞内 HBV cccDNA 含量检测是评价抗病毒药物疗效的更有意义的指标。由于只能通过肝脏活组织穿刺获得用于 cccDNA 检测的组织标本,属于创伤性检测,因此不宜用于常规检测,而且活组织穿刺还存在样本的代表性问题。血清中是否存在 cccDNA 目前仍有争议。研究显示,实时定量 PCR 法检测患者血清 cccDNA 的阳性率为 57%,但与 ALT 仅呈弱相关性,因此其是否来源于受损肝细胞还有待研究^[19]。

2.3 HBV 基因型及基因突变 根据 HBV 全基因或 S 区基因的序列差异,HBV 分为 A~H 8 个基因型,中国主要以 B、C 型为主。大量研究显示,不同基因型的 HBV 对抗病毒治疗存在反应差异^[20-22]。CHB 患者 B 基因型对干扰素治疗的应答率高于 C 基因型,A 基因型高于 D 基因型,而 A 和 D 基因型又高于 B 和 C 基因型^[23-24]。基因型对核苷(酸)类似物疗效的影响尚未确定^[25]。

HBV 发生基因位点突变是影响乙肝治疗效果的重要因素,其中核苷(酸)类似物治疗中的耐药突变最常见,也最受关注。最常见的突变是酪氨酸-蛋氨酸-天门冬氨酸-天门冬氨酸(YMDD)变异,即由 YMDD 变异为酪氨酸-异亮氨酸-天门冬氨酸-天门冬氨酸(YIDD,rtM204I)或酪氨酸-缬氨酸-天门冬氨酸-天门冬氨酸(YVDD,rtM204V),并常伴有 rtL180M 变异,且受药物选择而逐渐成为对拉米夫定耐药的优势株。阿德福韦耐药位点主要集中于 P 基因 D 区和/或 B 区(rtA180V/T、rtP237H 和 rtN238T/D 等),其他药物(如恩替卡韦和替诺福

韦等)也存在相应耐药位点。耐药基因型检测可达到提前指导临床用药的目的。

3 小 结

HBV-M 从最初的血清学标志物,逐步发展到核酸标志物,已成为乙肝筛查、诊断、疗效监测、治疗方案选择的重要实验室指标。虽然关于 HBV-M 的研究已很多,但最佳检测指标的选择及检测结果的合理解释仍有待加强;单独检测 HBV-M 能否用于病情判断,从而避免创伤性检查(如活组织穿刺),还需深入研究;用于 HBV-M 检测的方法也尚不完善,需要进一步优化以提高检测灵敏度及准确度。对 HBV-M 研究的深入和检测体系的不断完善,将有助于更好地满足乙肝临床诊治的需求,提高治愈率和降低医疗成本,为更多患者造福。

参考文献

[1] Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China[J]. Chin Med J(Engl), 2009, 122(1): 3-4.

[2] Kim YJ, Cho HC, Choi MS, et al. The change of the quantitative HBsAg level during the natural course of chronic hepatitis B[J]. Liver Int, 2011, 31(6): 817-823.

[3] Lee JH, Kim SJ, Ahn SH, et al. Correlation between quantitative serum HBsAg and HBV DNA test in Korean patients who showed high level of HBsAg[J]. J Clin Pathol, 2010, 63(11): 1027-1031.

[4] Tseng TC, Liu CJ, Yang HC, et al. Determinants of spontaneous surface antigen loss in HBeAg-negative patients with a low viral load[J]. Hepatology, 2012, 55(1): 68-76.

[5] 曹瑞华. HBsAg 阴性献血者乙肝五项标志物及 HBV-DNA 检测性分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2009, 13(5): 538-540.

[6] 王蕾, 刘华, 宁小晓. HBsAg 和 HBsAb 双阳性慢性乙肝患者血清中 HBV 基因型与 S 区突变的关系[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2010, 30(10): 1226-1230.

[7] 诸思赞, 蒋音, 张丹丹, 等. 自然分娩慢性 HBV 感染妊娠患者母婴传播相关因素分析[J]. 肝脏, 2010, 15(3): 164-166.

[8] 李明慧, 谢尧, 邱国华, 等. 慢性乙型肝炎 HBsAg, HBeAg 和 DNA 变化的相关性研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2011, 25(1): 26-28.

[9] 朱月永, 董菁, 陈攸涛, 等. e 抗原定量对聚乙二醇干扰素治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎 e 抗原血清学转换的预测[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2010, 19(10): 883-885.

[10] 郑瑾, 吴蓉, 倪振华, 等. HBsAg、抗 HBe、抗 HBe 阳性患者 PreS1-Ag 与 HBV 复制的关系研究[J]. 检验医学, 2009, 24(12): 904-906.

[11] 孙桂珍. 乙型肝炎病毒前 S1 抗原与抗体的研究进展及临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(8): 761-763.

• 综 述 •

[12] 王建军, 于芹. PreS1Ag 与乙型肝炎病毒两对半同步检测结果的分析[J]. 中国当代医药, 2010, 17(15): 67-68.

[13] 茹维平, 王福党. HBeAg 阴性的乙肝患者血清前 S1 抗原检测及意义[J]. 山东医药, 2011, 51(15): 93-94.

[14] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. 肝脏, 2011, 16(1): 2-16.

[15] Liu F, Wang L, Li XY, et al. Poor durability of lamivudine effectiveness despite stringent cessation criteria: a prospective clinical study in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 6(3): 456-460.

[16] European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B[J]. Gastroenterol Clin Biol, 2009, 33(6/7): 539-554.

[17] Zheng Q, Jiang JJ, Chen J, et al. Serum HBV DNA level at week 24 as a proper predictor for the effect of 2-year lamivudine treatment[J]. Chin Med J(Engl), 2011, 124(8): 1257-1260.

[18] Chen CH, Wang JH, Lu SN, et al. Characteristics of adefovir resistance in patients with or without lamivudine-resistant hepatitis B virus treated with adefovir: a 4-year experience[J]. Liver Int, 2011, 31(2): 206-214.

[19] Takkenberg RB, Zaaijer HL, Molenkamp R, et al. Validation of a sensitive and specific real-time PCR for detection and quantitation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in plasma of chronic hepatitis B patients[J]. J Med Virol, 2009, 81(6): 988-995.

[20] 陈应华, 邱隆敏, 陈宇. 拉米夫定治疗 53 例 HBV 基因型对乙型肝炎患者 P 基因突变的影响[J]. 重庆医学, 2010, 39(23): 3236-3237.

[21] Hsieh TH, Tseng TC, Liu CJ, et al. Hepatitis B virus genotype B has an earlier emergence of lamivudine resistance than genotype C[J]. Antivir Ther, 2009, 14(8): 1157-1163.

[22] 张书楠, 余文辉, 周大桥, 等. 乙型肝炎病毒基因型与耐药病毒株的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(14): 1543-1545.

[23] Raimondi S, Maisonneuve P, Bruno S, et al. Is response to antiviral treatment influenced by hepatitis B virus genotype[J]. J Hepatol, 2010, 52(3): 441-449.

[24] Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(Suppl 1): 123-130.

[25] Wiegand J, Hasenclever D, Tillmann HL. Should treatment of hepatitis B depend on hepatitis B virus genotypes? A hypothesis generated from an explorative analysis of published evidence[J]. Antivir Ther, 2008, 13(2): 211-220.

(收稿日期: 2012-03-26)

Cide 蛋白质与糖脂代谢相关性的研究进展

马立艳 综述, 孙 伟 审校

(首都医科大学附属北京友谊医院临床检验中心, 北京 100050)

关键词: Cide 蛋白质; 糖代谢; 脂代谢; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 19. 026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)19-2356-03

细胞内糖脂代谢的稳态调控是维持细胞或机体基本生命活动的基础, 糖脂代谢紊乱与糖尿病、肥胖、脂肪肝变性、心血

管疾病以及癌症的发生和发展密切相关。1998 年, 细胞死亡诱导的 DNA 片段化因子- α 样效应子(Cide)被首次发现, 其蛋