· 临床检验研究论著 ·

慢性乙型肝炎患者 5 年阿德福韦酯疗程中 HBsAg 水平变化及其与 HBV DNA 水平相关性分析*

谭朝霞，况雪梅，丁世涛，邓国宏，何登明△

（第三军医大学西南医院全军感染病研究所，重庆 400038）

摘　要：目的　了解慢性乙型肝炎（简称乙肝）患者阿德福韦酯治疗过程中血清 HBsAg 水平变化，并探讨其与 HBV DNA 水平的相关性及临床意义。**方法**　对阿德福韦酯治疗 5 年的 20 例 HBeAg 阳性慢性乙肝患者进行 HBV 基因型检测，并于服药 0、8、12、24、52、104、156、208、260 周时进行 HBV DNA、HBsAg 定量检测。**结果**　阿德福韦酯治疗 5 年对总体 HBsAg 水平影响不大（$P=0.658$）。0 周 HBsAg 水平与 HBV DNA 水平呈负相关（$r=-0.603$，$P=2.13\times10^{-4}$）；其余各时间点中，仅 52 周时可见二者呈负相关（$r=-0.434$，$P=0.008$）；12 例 HBV 基因 B 型患者仅在 0 周时呈负相关（$r=-0.657$，$P=0.003$），8 例 C 基因型患者 0、52 周时呈负相关（$r=-0.643$，$P=0.026$；$r=-0.857$，$P=0.003$）；考虑 ALT 水平时，二者负相关则仅表现在 ALT＜2×ULN 者（$r=-0.648$，$P=0.016$）。**结论**　阿德福韦酯治疗 5 年对 HBsAg 总体水平无影响；HBsAg 水平和 HBV DNA 水平的负相关性仅存在于未予抗病毒治疗且 ALT 低水平者；抗病毒治疗过程中评价二者相关性的意义不大。

关键词：肝炎表面抗原，乙型；　DNA，病毒；　肝炎病毒，乙型；　化学发光测定法；　抗病毒药

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.003　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2012)22-2695-03

Changes of HBsAg level and its correlation with HBV DNA in patients with chronic hepatitis B undergoing adefovir dipivoxil therapy for five years*

Tan Zhaoxia, Kuang Xuemei, Ding Shitao, Deng Guohong, He Dengming△

(*Institute of Infectious Diseases of PLA, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing* 400038, *China*)

Abstract: Objective　To observe the dynamic correlation between levels of HBsAg and DNA of hepatitis B virus (HBV) in chronic hepatitis B (CHB) patients undergoing adefovir dipivoxil therapy for five years. **Methods**　Twenty CHB patients treated with adefovir dipivoxil for 5 years were enrolled in this study and detected for HBV genotypes. Serum levels of HBsAg and HBV DNA were detected at 0, 8, 12, 24, 52, 104, 156, 208 and 260 weeks during the treatment. **Results**　Five years adefovir dipivoxil treatment had no significant effect on the overall level of HBsAg ($P=0.658$). There was a negative correlation between HBsAg and HBV DNA level at 0 and 52 week ($r=-0.603$, $P=2.13\times10^{-4}$; $r=-0.641$, $P=0.004$, respectively). Within the 12 cases carrying HBV of genotype B, the negative correlation was observed at 0 week ($r=-0.657$, $P=0.003$). Meanwhile, within the rest of 8 cases carrying genotype C, the negative correlation was observed at 0 and 52 weeks ($r=-0.643$, $P=0.026$; $r=-0.857$, $P=0.003$, respectively). Furthermore, the negative correlation was only seen in the group with ALT≤2×ULN ($r=-0.648$, $P=0.016$). **Conclusion**　Five years adefovir dipivoxil therapy might have no significant impact on HBsAg level. The negative correlation between HBsAg and HBV DNA level at baseline could only be seen in the patients with lower ALT levels. It might be without significance to evaluate the correlation between HBsAg and HBV DNA level during antiviral treatment.

Key words: hepatitis B surface antigens;　DNA, viral;　hepatitis B virus;　chemiluminescent measurements;　antiviral agents

乙型肝炎病毒（HBV）感染是中国常见感染性疾病，易发展为慢性肝炎、肝硬化、肝细胞肝癌。阿德福韦酯是应用广泛的抗 HBV 药物，可显著抑制 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎（简称乙肝）患者 HBV DNA 复制。HBV cccDNA 与血清 HBsAg 水平及血清 HBV DNA 水平相关，但肝组织 HBV cccDNA 水平检测尚难以普及。随着 HBsAg 定量检测技术的发展，HBsAg 定量检测已可替代 HBV cccDNA 水平检测[1-3]。目前，关于 HBV 感染标志物水平与 HBV DNA 水平相关性研究较多，但大多缺乏较长时间的随访[4-5]。本研究旨在观察 5 年阿德福韦酯治疗过程中慢性乙肝患者血清 HBsAg 水平的变化及其与 HBV DNA 水平相关性的变化，并探讨二者相关性的临床意义。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择 2006 年 6～12 月于本科门诊接受阿德福韦酯初治的 20 例 HBeAg 阳性慢性乙肝患者，随访登记所有临床资料，于治疗 0、8、12、24、52、104、156、208、260 周检测血清 HBsAg 和 HBV DNA 水平。病例诊断均符合《病毒性肝炎防治方案》标准[6]，排除合并其他病毒性肝炎的患者。

1.2　方法

1.2.1　血清 HBsAg 水平定量检测　采用双抗体夹心法，仪器为 Roche 公司 Elecsys 2010 全自动电化学发光免疫分析仪。测定结果以临界值指数（COI）表示，COI≥1 为阳性。

1.2.2　HBV DNA 水平定量检测　采用 FQ-PCR 技术，试剂盒购于上海复星医药科技发展有限公司。仪器采用 Roche 公司 LightCycler48 实时荧光定量 PCR 仪。最低检测限 500 copy/mL，低于检测限者按照最低检测标准给予处理。

1.2.3　HBV 标志物检测　采用 ELISA 进行 HBV 标志物检

*　基金项目：国家自然科学基金资助项目（81071694）。　△　通讯作者，E-mail：hedengming@sina.com。

测，包括 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb，试剂盒为上海科华生物工程公司产品。

1.2.4 HBV 基因分型　对基线血清进行 HBV 基因分型，方法参照 Naito 等[7]的研究，采用复星公司 HBV 核酸检测试剂盒进行 DNA 提取及检测。PCR 产物长度分别为：A 型 68 bp、B 型 281 bp、C 型 122 bp、D 型 119 bp。

1.3 统计学处理　采用 SPSS18.0 统计软件。试验数据（计量资料）均符合正态分布，以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两变量间关系紧密程度用双变量相关分析，多变量均值比较采用单因素方差分析。显著性检验水准为 $\alpha=0.05$。

2 结　果

2.1 患者基本资料　20 例 HBeAg 阳性慢性乙肝患者中，男 18 例、女 2 例，年龄（31±7）岁，B 基因型 12 例、C 基因型 8 例。4 例患者在 52 周时血清 HBV DNA 低于检测限，260 周时增至 8 例；8 例患者在 52 周时 ALT 恢复正常，260 周时增至 15 例。260 周时，8 例患者发生 HBeAg 血清转换，1 例患者 HBsAg 下降至 2.6 COI；B、C 基因型患者 HBeAg 转阴率分别为 33.3%（4/12）和 50.0%（4/8）。患者 HBsAg、HBV DNA 及 ALT 基线水平分别为 3 817±3 027 COI（范围：527～9 802 COI）、8.7±0.8（范围：7.1～10.2，以每毫升 HBV DNA 拷贝数的常用对数值表示）、119±86 IU/L（范围：44～387 IU/L）。

2.2 HBsAg 水平变化及其与 HBV DNA 定量的相关性　260 周疗程，总计 9 个时间点，HBsAg 水平变化无统计学意义（$P=0.658$），HBV DNA 水平变化则有统计学意义（$P=2.959\times10^{-13}$）。在 0、52 周时，HBsAg 水平与 HBV DNA 水平呈负相关（0 周：$r=-0.603$，$P=2.13\times10^{-4}$；52 周：$r=-0.434$，$P=0.008$），HBsAg 水平越低者 HBV DNA 水平越高；其余 7 个时间点二者无相关性，见表 1。

表 1　患者 HBsAg、HBV DNA 水平变化及二者相关性

时间（周）	HBsAg[COI，$\bar{x}\pm s$（最低值～最高值）]	HBV DNA[$\bar{x}\pm s$（最低值～最高值）]*	Kendall τ 相关系数（P 值）
0	3 817±3 027（527～9 802）	8.9±0.8（7.1～10.2）	−0.603（2.13×10^{-4}）
8	4 539±3 256（582～10 184）	7.2±1.8（3.8～10.3）	−0.011（0.948）
12	4 672±3 455（731～10 283）	6.9±1.8（3.2～9.5）	−0.159（0.330）
24	5 507±3 419（76～10 104）	5.7±1.7（2.3～7.9）	−0.095（0.559）
52	4 930±3 514（634～10 300）	5.8±2.9（2.3～9.9）	−0.434（0.008）
104	5 572±3 214（1 051～10 226）	5.1±2.3（2.3～8.61）	−0.016（0.922）
156	5 803±2 909（489～10 135）	4.4±2.1（2.3～7.2）	0.011（0.948）
208	5 541±3 176（57～9 591）	4.1±2.9（2.3～8.4）	0.164（0.325）
260	4 770±3 236（3～9 691）	4.2±2.9（2.3～7.9）	0.124（0.453）

*：以每毫升 HBV DNA 拷贝数的常用对数值表示。

2.3 不同 HBV 基因型患者 HBsAg、HBV DNA 水平相关性　HBsAg、HBV DNA 水平的负相关主要出现在基线，为进一步探讨相关性的消失是否与抗病毒治疗引起的 HBV DNA 水平下降有关，本研究分析了这一相关性是否受 HBV 基因型的影响。结果发现 B 基因型仅在基线时表现出相关性；C 基因型在基线和治疗 52 周时均呈负相关，且以 52 周时的相关性更为显著，见表 2。

表 2　不同 HBV 基因型患者 HBsAg、HBV DNA 水平相关性

基因型	时间（周）	HBsAg（COI，$\bar{x}\pm s$）	HBV DNA（$\bar{x}\pm s$）*	Kendall τ 相关系数（P 值）
B 基因型（n=12）	0	4 392±3 196	9.0±0.7	−0.657（0.003）
	8	5 332±3 504	7.8±1.8	−0.107（0.630）
	12	534±3 528	7.4±1.7	−0.382（0.086）
	24	7 086±3 049	6.0±1.7	−0.229（0.303）
	52	6 576±3 092	5.5±2.5	−0.394（0.075）
	104	727±2 754	5.5±2.1	−0.198（0.372）
	156	7 022±2 512	5.1±1.6	−0.198（0.372）
	208	6 542±3 112	4.4±3.0	0.171（0.447）
	260	5 231±3 579	4.7±3.0	0.154（0.491）
C 基因型（n=8）	0	2 953±2 721	8.4 ±0.9	−0.643（0.026）
	8	3 350±263	6.3±1.4	−0.143（0.621）
	12	3 620±3 277	6.0±1.7	−0.214（0.458）
	24	3 138±2 538	5.2±1.7	−0.357（0.216）
	52	2 460±2 623	6.3±3.5	−0.857（0.003）
	104	3 076±2 061	4.4±2.5	0.143（0.621）
	156	3 974±2 586	3.4±2.6	−0.704（0.802）
	208	4 039±2 804	3.5±2.7	−0.222（0.451）
	260	4 079±2 717	3.7±2.5	−0.182（0.533）

*：以每毫升 HBV DNA 拷贝数的常用对数值表示。

2.4 不同 ALT 基线水平患者 HBsAg、HBV DNA 水平相关性　按 ALT 基线水平将患者分为 2 组（ALT≤2×ULN 组及 2×ULN<ALT<5×ULN 组，ULN：参考范围上限），分别对 2 组在 9 个时间点的 HBsAg、HBV DNA 水平进行相关性分析。结果显示仅在 ALT≤2×ULN 组二者呈显著负相关关系，见表 3。

表 3　不同 ALT 水平患者 HBsAg、HBV DNA 水平相关性

ALT 水平*	时间（周）	HBsAg（COI,$\bar{x}\pm s$）	HBV DNA（$\bar{x}\pm s$）	Kendall τ 相关系数（P 值）
ALT≤2×ULN（n=9）	0	3 963±3 119	8.9±0.3	−0.648(0.016)
	8	4 767±3 530	7.9±1.7	0.028(0.917)
	12	5 133±3 928	7.6±1.5	−0.254(0.345)
	24	5 347±3 509	6.1±1.6	−0.197(0.463)
	52	5 601±3 665	5.7±3.0	−0.389(0.144)
	104	5 832±3 538	5.6±2.7	0.085(0.753)
	156	5 532±3 264	5.0±2.4	−0.197(0.463)
	208	5 686±3 234	5.9±2.8	0.085(0.753)
	260	5 727±3 308	5.7±2.7	−0.197(0.463)
2×ULN<ALT<5×ULN（n=8）	0	2 269±1 778	9.4±0.6	0.143(0.621)
	8	3 539±3 356	7.5±1.5	0.143(0.621)
	12	3 729±3 541	7.2±1.3	−0.071(0.805)
	24	5 873±3 939	6.4±0.5	0.000(1.000)
	52	4 688±3 638	6.7± 2.0	−0.571(0.058)
	104	5 780±3 220	5.4±1.5	−0.429(0.138)
	156	6 820±2 244	4.2±2.0	0.143(0.621)
	208	6 220±3 237	2.6±2.3	0.491(0.098)
	260	4 352±3 386	3.1±2.8	0.189(0.524)

*：ACT≥5×ULN 者仅 3 例，无法作统计学处理。

3　讨　论

HBV 进入肝细胞后可形成难以清除的 cccDNA，且外周血 HBsAg 水平与肝内 HBV cccDNA 水平呈显著正相关[8]。血清 HBV DNA 水平是判断 HBV 复制活动最直接和可靠的标志，其定量检测对于了解 HBV 感染者的传染性以及正确判断抗病毒治疗疗效意义重大。任伟宏等[9]的研究显示血清 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量及 HBeAg 水平呈高度正相关，可较好地反映 HBV 复制水平。卢建溪等[10]则认为在以干扰素为基础的慢性乙肝患者治疗期间，血清 HBsAg 水平与 HBV DNA 水平显著相关，动态检测 HBsAg 水平对治疗有一定的指导意义，可作为监测抗病毒治疗疗效的替代标记。

本研究对 20 例阿德福韦酯治疗的 HBsAg 阳性慢性乙肝患者进行了持续了长达 5 年的随访，结果显示基线和 52 周时 HBsAg 水平与 HBV DNA 水平呈显著负相关，与单万水等[11]的研究一致，即 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量的相关性是动态变化的。尽管个别患者 HBsAg 水平下降较为显著，但本研究显示阿德福韦酯治疗 5 年对 HBsAg 整体水平并未产生显著影响，说明二者相关性的动态变化主要来自于抗病毒药物对 HBV DNA 水平的影响。国内常见的两种 HBV 基因型 B 型和 C 型对 HBsAg 与 HBV DNA 的相关性影响不大。但根据 ALT 水平对患者进行分组研究，结果表明 HBsAg 与 HBV DNA 的相关性仅出现在 ALT 低水平组，即无明显肝炎活动者。由此可见，肝炎活动（ALT 显著升高）对 HBsAg 与 HBV DNA 的相关性有显著影响。抗病毒治疗后 HBsAg 与 HBV DNA 不再有相关性，则说明在抗病毒治疗过程中对二者相关性进行评价的临床意义不大，这也符合临床患者抗病毒治疗后 HBV DNA 水平下降和 HBsAg 变化不成比例的事实。尽管总体上 HBsAg 水平变化不大，但本研究中有 1 例患者于 208 周时 HBsAg 水平降至 57 COI，260 周时降至 2.6 COI，接近 HBsAg 检测底限。由此可见，HBsAg 水平持续下降是抗病毒治疗疗效较佳的标志。本研究随访时间长达 5 年，因此样本量较少，统计结果可能出现偏倚，大样本量研究可能会进一步验证本研究的结论。

总之，阿德福韦酯治疗对 HBeAg 阳性慢性乙肝患者的 HBsAg 水平无显著影响；HBsAg 水平和 HBV DNA 水平存在负相关性，这种负相关性仅见于未予抗病毒治疗且 ALT 低水平者；抗病毒治疗后二者相关性消失；抗病毒治疗过程中评价二者的相关性意义不大。

参考文献

[1] Chan HL, Wong VW, Tse AM, et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response[J]. Clin astroenterol Hepatol, 2007, 5(12): 1462-1468.

[2] Takagi K, Tanaka Y, Naganuma H, et al. Clinical evaluation of a novel HBsAg quantitative assay[J]. Rinsho Byori, 2007, 55(7): 619-625.

[3] Chen CH, Lee CM, Wang JH, et al. Correlation of quantitative assay of hepatitis B surface antigen and HBV DNA levels in asymptomatic hepatitis B virus carriers[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2004, 16(11): 1213-1218.

[4] 刘灿，翁义锐，陈永东. 乙肝患者 HBsAg 定量与 HBV DNA 及乙肝标志物模式的比较分析[J]. 福建医药杂志，2006，28(4)：124-125.

[5] Jaroszewicz J, Calle SB, 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.

[6] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会，肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志，2000，8(2)：324-329.

[7] Naito H, Hayashi S, Abe K. Rapid and specific genotyping system for hepatitis B virus corresponding to six major genotypes by PCR using type-specific primers[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(1): 362-367.

[8] Ozaras R, Tabak F, Tahan V, et al. Correlation of quantitative assay of HBsAg and HBV DNA levels during chronic HBV treatment[J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(11): 2995-2998.

[9] 任伟宏，赵素玲，赵志娟，等. 血清 HBsAg 与 HBVDNA 定量关系分析[J]. 医药论坛杂志，2010，31(11)：32-33.

[10] 卢建溪，陈文思，舒欣，等. 在慢性乙型肝炎治疗过程中 HBsAg 水平与 HBV DNA 病毒复制的相关性分析[J]. 中国病理生理杂志，2009，25(9)：1839-1842.

[11] 单万水，韩红星，杨燕，等. ECLIA 定量检测 HBsAg 及 HBeAg 与 HBV DNA 相关分析[J]. 中国热带医学，2006，6(2)：213-214.

（收稿日期：2012-08-10）