

• 临床检验研究论著 •

乙肝患者血清标志物与前 S1 抗原及 HBV-DNA 相关性分析

罗慧琴¹, 王志刚², 李玲¹, 刘付芹¹

(1. 中国人民解放军第二六四医院检验科, 山西太原 030001; 2. 海军出版社医疗所, 天津塘沽 300450)

摘要: 目的 探讨乙肝患者血清标志物(HBV-M)与前 S1 抗原(PreS1)及 HBV-DNA 之间的相关性。方法 采用实时荧光定量 PCR 对 225 例 HBV 感染者血清中 HBV-DNA 含量进行检测, 同时运用 ELISA 方法检测 HBV 血清标志物和 PreS1, 按照不同 HBV-M 模式对 PreS1 和 HBV-DNA 进行分析。结果 在受检的 225 例标本中, 大三阳组中 HBV-DNA 阳性率 95%, PreS1 阳性率 96.66%, HBV-DNA 和 PreS1 阳性率接近, 组间比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.00, P>0.05$); 小三阳组中 HBV-DNA 阳性率 50.86%, PreS1 阳性率 93.10%, PreS1 阳性率明显高于 HBV-DNA 阳性率, 组间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=51.32, P<0.01$); 在 HBsAg 阳性中 HBV-DNA 阳性率 66.32% (126/190), PreS1 阳性率 94.74% (180/190), 高于 HBV-DNA 阳性率, 组间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=48.93, P<0.01$); 在 HBeAg 阳性中 HBV-DNA 阳性率为 93.55% (58/62), PreS1 阳性率为 95.16% (59/62), 二者差异无统计学意义 ($\chi^2=0.00, P>0.05$); 在 HBeAg 阴性中 HBV-DNA 阳性率为 42.33% (69/163), PreS1 阳性率为 76.07% (124/163), 高于 HBV-DNA 阳性率, 组间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=38.42, P<0.01$)。结论 在 HBeAg 阳性中, HBV-DNA 和 PreS1 有较高相关性, 三者联合检测有利于全面监测乙肝病情和提高乙肝疗效。

关键词: 乙肝标志物; HBV-DNA; 前 S1 抗原; 荧光定量 PCR

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.031

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2013)24-3337-02

Correlation studies on HBV serum markers with preS1-antigen and HBV-DNA in patients with hepatitis B

Luo Huiqin¹, Wang Zhigang², Li Ling¹, Liu Fugui¹

(1. Department of Laboratory Medicine, the 264th Hospital of PLA, Taiyuan, Shanxi 030001, China;

2. Medical Center of China Navigation Publications Press, Tanggu, Tianjin 300450, China)

Abstract: Objective To investigate the correlations on HBV serum markers in patients with preS1-antigen (preS1-Ag) and HBV-DNA. **Methods** Real-time fluorescence quantitative PCR was used on 225 cases of HBV infected patients to detected HBV-DNA contents in serum, and ELISA was used for the detection of HBV serum markers and preS1-Ag, respectively. According to the different HBV-M models, preS1-Ag and HBV-DNA were analyzed. **Results** In the 225 subjects, the positive rate of HBV-DNA in big 3 this world group was 95%, preS1-Ag positive rate was 96.66%, HBV-DNA positive rate compared close to that of preS1-Ag, there was no difference between these two groups ($\chi^2=0.00, P>0.05$); the positive rate of HBV-DNA in small 3 this world group was 50.86%, preS1-Ag positive rate was 93.10%, which was higher than that of HBV-DNA, comparisons between these two groups were statistically significant ($\chi^2=51.32, P<0.01$); the positive rate of HBV-DNA in HBsAg was 66.32% (126/190), preS1-Ag positive rate was 94.74% (180/190), preS1-Ag positive rate was higher than the positive rate of HBV-DNA, the difference between groups was significant ($\chi^2=48.93, P<0.01$). In HBeAg positive group, the positive rate of HBV-DNA was 93.55% (58/62), preS1-Ag positive rate was 95.16% (59/62), there was no significant difference between these two groups ($\chi^2=0.00, P>0.05$). In HBeAg negative group, HBV-DNA positive rate was 42.33% (69/163), preS1-Ag positive rate was 76.07% (124/163), which was higher than HBV-DNA positive rate, the difference between groups was statistically significant ($\chi^2=38.42, P<0.01$).

Conclusion In the positive HBsAg group, HBV-DNA and preS1 have higher correlations, the joint detections of these three methods is beneficial to comprehensive surveillance of hepatitis B disease and improving the therapeutic effect.

Key words: hepatitis B markers; HBV-DNA; preS1 antigen; fluorescence quantitative PCR

中国是 HBV 高流行区^[1], HBV-DNA 是 HBV 存在的最直接的证据亦是 HBV 复制和具有传染性的标志^[2]。PreS1 蛋白是 HBV 与肝细胞膜上特异性受体相结合的主要蛋白成分, 在 HBV 感染肝细胞和机体免疫应答中起重要作用^[3]。为提高乙肝治愈率, 解决基层单位不能开展 PCR 的现状, 本文就乙肝血清标志物(HBV-M)、PreS1 和 HBV-DNA 三者之间的相关性做一分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 7 月至 2012 年 3 月来本院进行 HBV-DNA 检测的门诊和住院病例 225 例, 其中男性 122 例, 年龄 2~83 岁, 平均年龄 46.58 岁; 女性 103 例, 年龄 19~78 岁, 平均年龄 40~60 岁。

1.2 标本采集和保存 真空负压管抽取患者空腹静脉血

3 mL, 4 h 内分离出血清当天检测。当天不能检测的 -20°C 保存, 并于第 2 天检测。

1.3 仪器与试剂 HBV-DNA 定量检测采用 DA7600 荧光定量 PCR 仪(达安), 试剂盒购于广州中山大学达安基因有限公司, 试剂盒的线性范围为 $10^2 \sim 10^8 \text{ IU/mL}$, HBV-M 检测试剂盒购自上海科华有限公司, 前 S1 检测试剂盒购自威海威高生物技术有限公司, 操作严格按照说明书进行。

1.4 结果判断 HBV-M、PreS1 和 HBV-DNA 测定分别按试剂盒说明书和 SOP 操作规程进行, HBV-M、PreS1 加入显色剂后避光显色 15 min 后肉眼观察, 乙肝标志物 HBsAg、HBsAb、HBeAg 以显色为阳性, HBeAb、HBcAb 以显色为阴性; HBV-DNA $>5.0 \times 10^2 \text{ IU/mL}$ 为阳性结果。

1.5 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行数据处理和统计

学分析,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同乙肝模式的 HBV-DNA 与 Pre-S1 感染情况 在受检的 225 例标本中,大三阳(HBsAg、HBeAg、HBcAb 阳性)组中 HBV-DNA 阳性率 95%,PreS1 阳性率 96.66%,HBV-DNA 和 PreS1 阳性率接近,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.00, P > 0.05$);小三阳(HBsAg、HBeAb、HBcAb)组中 HBV-DNA 阳性率 50.86%,PreS1 阳性率 93.10%,明显高于 HBV-DNA 的阳性率,差异有统计学意义($\chi^2 = 51.32, P < 0.01$);两头阳(HBsAg、HBcAb 阳性)组中 HBV-DNA 阳性率 66.67%,PreS1 阳性率 100%;三抗阳(HBsAb、HBeAb、HBcAb)组中 HBV-DNA 阳性率 3.13%,PreS1 阳性率 9.38%,HBV-DNA 和 PreS1 阳性率接近,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.27, P > 0.05$)。

2.2 HBV-DNA、PreS1 同 HBsAg 和 HBeAg 的关系 在受检的 225 例标本中,在 HBsAg 阳性中 HBV-DNA 阳性率 66.32%(126/190),PreS1 阳性率 94.74%(180/190),PreS1 阳性率高于 HBV-DNA 阳性率,差异有统计学意义($\chi^2 = 48.93, P < 0.01$);在 HBsAg 阴性中 HBV-DNA 阳性率为 2.86%(1/35),PreS1 阳性率为 8.57%(3/35),差异无统计学意义($\chi^2 = 0.27, P > 0.05$);HBV-DNA 阳性率在 HBsAg 阳性和 HBsAg 阴性组中,组间比较有统计学意义差异($\chi^2 = 48.41, P < 0.01$);PreS1 阳性率在 HBsAg 阳性和 HBsAg 阴性组中的差异有统计学意义($\chi^2 = 144.53, P < 0.01$)。在 HBeAg 阳性中 HBV-DNA 阳性率为 93.55%(58/62),PreS1 阳性率为 95.16%(59/62),二者差异无统计学意义($\chi^2 = 0.00, P > 0.05$);在 HBeAg 阴性中 HBV-DNA 阳性率为 42.33%(69/163),PreS1 阳性率为 76.07%(124/163),PreS1 阳性率高于 HBV-DNA,差异有统计学意义($\chi^2 = 38.42, P < 0.01$);HBV-DNA 阳性率在 HBeAg 阳性和 HBeAg 阴性组中,差异有统计学意义($\chi^2 = 59.19, P < 0.01$);PreS1 阳性率在 HBeAg 阳性和 HBeAg 阴性组中,差异有统计学意义($\chi^2 = 10.78, P < 0.01$)。

3 讨 论

HBV 感染主要在非洲和亚洲国家流行,中国属于高地方流行^[4]。由于 HBV-DNA 检测对实验室的环境布局、设备、人员要求高,难以在基层医院开展,PreS1 蛋白的检测正好弥补了这方面的不足。有文献报道^[5],PreS1 在急性乙肝的早期诊断中有一定的临床价值,在急性乙肝的病程中先于 HBV-DNA 阴转,对急性乙肝预后亦有参考价值。

本研究中选取 225 例病例,大三阳组中 HBV-DNA 阳性率 95%,PreS1 阳性率 96.66%,与相关文献报道相一致^[6],HBV-DNA 和 PreS1 阳性率接近组间比较无统计学意义($\chi^2 = 0.00, P > 0.05$)。同时在 HBeAg 阳性中 HBV-DNA 阳性率为 93.55%(58/62),PreS1 阳性率为 95.16%(59/62),二者阳性率接近,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.00, P > 0.05$),说明 HBeAg、HBV-DNA、PreS1 三者之间有很好的一致性,与孟令国等^[7]、陆颖等^[8]的报道一致,证实了 HBeAg 阳性时,PreS1 可以代替 HBV-DNA 检测来反映病毒的活跃程度和传染性。

本研究中小三阳组 HBV-DNA 阳性率 50.86%,PreS1 阳性率 93.10%,差异有统计学意义($\chi^2 = 51.32, P < 0.01$);在 HBeAg 阴性中 HBV-DNA 阳性率为 42.33%(69/163),PreS1 阳性率为 76.07%(124/163),PreS1 阳性率高于 HBV-DNA 阳性率,差异有统计学意义($\chi^2 = 38.42, P < 0.01$),说明乙肝模式从大三阳转变成小三阳后病毒并没有停止复制,这可能与病

毒前 C 区的变异有关,也说明 HBeAb 的存在并不表示患者体内没有病毒复制^[9],表明 HBeAg 阴性并不代表病毒复制的完全终止或病毒血症的消失,因此不能单纯以 HBeAg 阳性与否作为判断 HBV 感染、传染性及 HBV 是否在体内复制的指标^[10]。本研究还显示在 HBsAg 阳性中 HBV-DNA 阳性率 66.32%(126/190),PreS1 阳性率 94.74%(180/190),PreS1 阳性率高于 HBV-DNA 阳性率,组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 48.93, P < 0.01$),与孟令国等^[7]报道相一致,PreS1 阳性率高于文献报道,HBV-DNA 阳性率低于文献报道^[6],可能是因为病毒复制过程中大量过剩的外膜蛋白组成了管形颗粒导致病程后期部分病例 PreS1 阳性而 HBV-DNA 阴性^[7]。三抗阳组中 HBV-DNA 阳性率 3.13%,PreS1 阳性率 9.38%,HBV-DNA 和 PreS1 阳性率接近($\chi^2 = 0.27, P > 0.05$),说明 HBsAb 抗体阳性并不代表体内病毒清除完毕,或者有可能处理病毒清除的过程中,或由于病毒含量低,或某些原因导致 HBV 突变或者 HBsAg 弱阳性^[11-12]。两头阳组中 HBV-DNA 阳性率 66.67%,PreS1 阳性率 100%。本研究结果显示,小三阳、两头阳、HBsAg 阳性时,HBV-DNA 与 PreS1 的阳性率并不一致,说明在这些时候 HBV-DNA 和 PreS1 并没有太大的相关性,表达的意义也不完全一致。

综上所述,HBV-M、PreS1 与 HBV-DNA 在乙型肝炎检测中各有优势,并且存在一定交叉,在有条件的地方应联合检测 HBV-M、PreS1 与 HBV-DNA,可提高乙肝的检出率,全面地反映 HBV 感染、复制以及评价和监测抗病毒药物疗效。

参 考 文 献

- [1] 刘伟平,殷明刚,马盛余. HBV 血清标志物与 Prs-S1 抗原及 HBV-DNA 联合检测研究[J]. 医学研究杂志,2010,39(3):121-123.
- [2] 邢颖,程金华,高勇. 1517 例乙肝标志物和 HBV-DNA 定量相关性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(4):502-503.
- [3] 闵福援,孙桂珍,王健,等. 前 S1 蛋白在乙型肝炎诊断及判断预后中的作用[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(4):224-226.
- [4] Liu J, Fan D. Hepatitis B in China[J]. Lancet, 2007, 369(9573): 1582-1583.
- [5] 王健,闵福援. 乙肝病毒血清标志物的检测方法及其临床意义[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(1):113-115.
- [6] 徐肖丁,张义文,周锦霞,等. 联合检测乙肝五项,前 S1 抗原与乙肝 DNA 的临床应用[J]. 实验与检验医学,2011,29(4):366-368.
- [7] 孟令国,李和楼,赵建香,等. HBV DNA 与 PreS1 以及 ALT 联合检测乙型肝炎的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(11):1052-1054.
- [8] 陆颖. HBV DNA 与 Pre-S1 相关性分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,17(4):27.
- [9] 邓庆梅,高勇,何婉伟,等. 原发性肝癌患者血清 HBV 标志物和 HBV DNA 测定的临床意义[J]. 实用肝脏病杂志,2012,15(5):414-416.
- [10] 柳文菊,段六生,黄娥,等. 联合检测乙肝患者 HBVM,HBV-DNA 与 Pre-S1 Ag 的结果分析[J]. 中国误诊学杂志,2010,10(31):7617.
- [11] 彭静,管青,王斌,等. HBsAg 检测结果弱反应的分析与处置[J]. 临床检验杂志,2008,26(4):284-285.
- [12] 柳枝,黄欣. 前 S1 抗原在诊断乙肝病毒复制时的临床价值[J]. 实验与检验医学,2009,27(4):353-353.

(收稿日期:2013-08-08)