

· 论 著 ·

乙型肝炎病毒外膜大蛋白临床意义及其与病毒复制的相关性

钟小强, 吴正林, 徐韵靖, 何涛君, 朱新建
(深圳市第四人民医院检验科, 广东深圳 518033)

摘要: 目的 探讨乙型肝炎病毒(HBV)外膜大蛋白(LHBs)与 HBV 复制的相关性。方法 随机收集深圳市第四人民医院 2013 年 8~11 月乙型肝炎患者血清标本 170 例, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 LHBs, 电化学发光法检测 HBV 表面抗原(HBsAg)及 HBV e 抗原(HBeAg), 实时荧光定量聚合酶链反应方法检测 HBV-DNA。按 HBeAg 结果分为 HBeAg 阳性组(58 例)和 HBeAg 阴性组(112 例)。比较 LHBs 和 HBV-DNA 的阳性率, 同时分析 LHBs 水平与 HBsAg 浓度及 HBV-DNA 拷贝数的相关性。结果 HBeAg 阳性患者血清中, LHBs 阳性率与 HBV-DNA 阳性率差异无统计学意义($\chi^2 = 0.342, P > 0.05$); HBeAg 阴性患者血清中, LHBs 阳性率与 HBV-DNA 阳性率有统计学意义($\chi^2 = 5.349, P < 0.05$)。LHBs 水平与 HBV-DNA 拷贝数($r = 0.979, P < 0.05$)、HBsAg 浓度($r = 0.923, P < 0.05$)呈正相关。结论 LHBs 是从蛋白水平反映乙型肝炎患者体内病毒复制情况的可靠指标, 尤其是对 HBeAg 阴性患者抗病毒治疗和预后判断有重要意义。

关键词: 乙型肝炎; 乙型肝炎病毒外膜大蛋白; 乙型肝炎病毒-DNA

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.11.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)11-1559-02

Clinical significance of hepatitis B virus large surface protein and its correlation with hepatitis B virus replication

Zhong Xiaoqiang, Wu Zhenglin, Xu Yunjing, He Taojun, Zhu Xinjian

(Department of Clinical Laboratory, the Forth People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen, Guangdong 518033, China)

Abstract: Objective To explore the clinical significance of hepatitis B virus(HBV) large surface protein (LHBs) and its correlation with HBV replication. **Methods** A total of 170 patients infected with HBV were randomly collected from the Forth People's Hospital of Shenzhen from August to November 2013. LHBs was measured by using enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), HBV surface antigen and HBV e antigen were measured by using electrochemiluminescence immunoassay, HBV-DNA was quantitatively measured by real-time polymerase chain reaction. The objects were divided into HBeAg positive group (58 cases) and HBeAg negative group (112 cases). The positive rate of LHBs and HBV-DNA were compared, the correlation of LHB and HBsAg, HBV-DNA were analyzed. **Results** The positive rates of LHBs and HBV-DNA had no significant difference ($\chi^2 = 0.342, P > 0.05$) in HBeAg-positive patients. The positive rate of LHBs was higher than that of HBV-DNA in HBeAg-negative patients ($\chi^2 = 5.349, P < 0.05$). Serum LHBs level was respectively correlated with the serum HBV-DNA copies ($r = 0.979, P < 0.05$) and HBsAg content ($r = 0.923, P < 0.05$). **Conclusion** Serum LHBs measurement might serve as a reliable biochemical criterion in the reflection of HBV replication at protein level, and it is also valuable to monitor treatment effect and prognosis of the disease, especially in HBeAg-negative patients.

Key words: hepatitis B virus; hepatitis B virus large surface protein; hepatitis B virus DNA

乙型肝炎病毒(HBV)感染是一个严重危害广大人民群众健康的公共卫生问题, 全球约有 3.5 亿人感染慢性乙型肝炎, 其中中国约占 1/3^[1]。随着 HBV 疫苗的普遍接种, HBV 感染得到了较好的控制, 但是 HBV 抗病毒治疗效果监测和停药时机的选择仍是困扰临床的难题。目前临床检测病毒及监测患者体内复制情况主要用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HBV 血清学标志物和聚合酶链反应(PCR)检测 HBV-DNA。但这 2 种方法均存在局限性^[2], 传统 HBV 5 项检测难以判断病毒的复制情况, HBV-DNA 又对检测条件有严格要求, 不适合在基层卫生单位普遍推广。本研究探讨了 HBV 外膜大蛋白(LHBs)作为一种新的可靠血清学指标在乙型肝炎诊治中的临床意义, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取深圳市第四人民医院 2013 年 8~11 月乙型肝炎患者 170 例, 其中男 97 例, 女 63 例, 年龄 5~76 岁, 平均(31.2±3.5)岁, 均符合 HBV 感染临床诊断标准。按照 HBV e 抗原(HBeAg)检测结果分为 HBeAg 阳性组(58 例)和 HBeAg 阴性组(112 例)。

1.2 仪器与试剂 罗氏荧光定量 PCR(FQ-PCR)仪; 瑞士

HAMILTON FAME24/20 全自动酶标仪; 德国罗氏 COBAS E601 全自动电化学发光免疫分析仪。HBV-DNA 检测试剂由深圳匹基生物有限公司生产; LHBs 检测试剂由北京热景生物技术有限公司提供; HBV 表面抗原(HBsAg)和 HBeAg 试剂由德国罗氏公司生产。

1.3 标本采集 所有患者均取清晨空腹外周静脉血 4 mL, 分离血清于 -80 °C 保存备用。

1.4 检测方法 LHBs 检测采用 ELISA 方法, 样品 A 值大于 2.1 倍阴性对照 A 值时判定为阳性, 反之为阴性。HBV-DNA 采用 FQ-PCR 测定。HBsAg 和 HBeAg 采用电化学发光免疫分析, HBsAg 定量检测下限为 0.05 IU/L, HBeAg 滴度(COI)>1.0 判定为阳性, 反之为阴性。所有试剂均在有效期内使用, 严格按照试剂说明书操作。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理及统计学分析, 计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 回归分析采用直线相关回归分析。

2 结 果

2.1 2 组患者 LHBs 与 HBV-DNA 阳性率比较 在 HBeAg 阳性组中, LHBs 与 HBV-DNA 阳性率分别为 98.28%(57 例)

和 96.55% (56 例), LHBs 与 HBV-DNA 阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.342, P > 0.05$)。在 HBeAg 阴性组中, LHBs 与 HBV-DNA 阳性率分别为 66.96% (75 例) 和 51.79% (58 例), LHBs 与 HBV-DNA 阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.349, P < 0.05$)。

2.2 LHBs 水平与 HBV-DNA 水平、HBsAg 浓度相关性 170 例乙型肝炎患者血清标本中, 114 例为 HBV-DNA 阳性。按照 HBV-DNA 复制数 10 倍的差异对该 114 例标本进行等级分组, 并统计分析。LHBs 水平 [用吸光度 (OD) 值表示] 与 HBV-DNA 复制数 ($r = 0.979, P < 0.05$) 及 HBsAg 浓度 ($r = 0.923, P < 0.05$) 呈正相关, 见表 1。

表 1 LHBs 水平与 HBV-DNA 水平、HBsAg 浓度相关性 ($n=114$)

HBV-DNA 复制数(对数值)	<i>n</i>	LHBs OD 值	HBsAg (IU/mL)
2	14	0.267	548.22
3	16	0.481	895.43
4	29	0.584	1 045.41
5	35	0.856	2 682.73
6	11	0.903	5 167.32
7	9	1.301	11 663.68

3 讨 论

HBsAg 由一个单独的开放读码框 (ORF) 组成, 依靠 3 个不同的启动位点和同一终止位点, 表达 3 种不同的外膜蛋白。其中 LHBs 具有双重跨膜拓扑结构, N 端胞质 pre-s 结构域可以在翻译后留在病毒颗粒内, 或者跨过细胞膜或病毒包膜。LHBs 在病毒包膜内可以和病毒核衣壳结合, 还可以激活多个启动子元件, 同时介导 HBsAg 亚病毒颗粒的细胞质滞留^[3]; 在病毒包膜表面则参与病毒受体的结合。本研究采用针对 Pre-s 结构域立体构象表位的特异性抗体来检测 LHBs, 结果显示 LHBs 阳性率与 HBV-DNA 有一定的平行关系, 114 例 HBV-DNA 阳性的血清中, LHBs 水平与 HBV-DNA 复制数及 HBsAg 浓度存在良好的正相关, 表明 LHBs 是反映 HBV 感染者体液病毒复制情况的可靠指标。但 HBeAg 阴性模式乙型肝炎患者血清中, LHBs 阳性率高于 HBV-DNA, 分析原因可能与 HBV 基因前 C 区或 CP 区发生变异有关, HBV-DNA 检测方法学与灵敏度缺陷等使 HBV-DNA 阴性结果不能真实反映肝组织内 HBV 复制情况, 尤其是血清中 HBV-DNA 低水平

(上接第 1558 页)

原体属一旦出现耐药就有可能是多药耐药菌株, 应引起重视, 临床需要更合理有效地选择、使用抗菌药物; 交沙霉素, 多西环素和米诺环素可作为临床治疗支原体属感染的首选药物。

因此在临床工作中, 应提高支原体正确检出率和药敏结果的可靠性, 指导临床方面更合理、有效使用抗菌药物, 以减少耐药菌株的产生, 确保医疗安全。

参考文献

- [1] 伍启康, 黄淑萱, 雷兰芳, 等. A7 固体和液体培养检测泌尿生殖道支原体的效果评价 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2008, 22(11): 694-695.
- [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 886.
- [3] 张久富. 泌尿生殖道支原体、衣原体感染状况及药敏分析 [J]. 当

时, 肝内仍可维持一定水平。再者, 目前抗病毒药物只能抑制 cccDNA 再复制, 不能抑制已经形成的病毒表达蛋白, 有研究表明 LHBs 转阴较 HBV-DNA 晚大约 5 个月^[4], LHBs 对 HBV 有反式激活作用, 可以导致患者病情反复^[5]。HBV 感染肝细胞后合成的大蛋白数远超病毒合成所需的量, 在缺少病毒核衣壳的条件下, 生成空的亚病毒颗粒, 亚病毒颗粒在肝细胞内积累使肝细胞毛玻璃化, 或因直接毒性作用而导致细胞凋亡, 说明 LHBs 检测可弥补 HBV-DNA 在评估抗病毒疗效及判定治疗终点的不足^[6]。由于干扰素、抗核苷类药物作用、长期治疗、前 C 和 CP 区启动子变异等原因, HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎流行率不断升高^[7]。临床已经不能仅以 HBeAg 或 HBV-DNA 转阴作为终止抗病毒治疗的观察指标, 结合 LHBs、HBV-DNA、HBsAg 定量, 可以给临床对乙型肝炎患者尤其是血清低水平 HBV-DNA 患者监测体内病毒复制、疾病进程、抗病毒疗效及预后判断提供指导。但 HBV-DNA、HBsAg 定量要求严格的实验室条件, 特殊的设备, 成本居高不下, 难以在基层单位大面积推广, 而 LHBs 的检测设备要求低, 操作简单, 易于推广。

参考文献

- [1] Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease [J]. Hepatology, 2009, 49(5): 13-21.
- [2] 黄前川, 曹军皓, 闫有功, 等. 前 S1 蛋白在 HBeAg 阴性乙型肝炎患者中的临床价值 [J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(5): 670-671.
- [3] Bruss V, Vieluf K. Functions of the internal pre-S domain of the large surface protein in hepatitis B virus particle morphogenesis [J]. J Virol, 1995, 69(11): 6652-6657.
- [4] 陈晓明, 杨美芳, 薛寒, 等. HBV 大蛋白和 DNA 在抗病毒治疗中的变化 [J]. 中华传染病杂志, 2007, 25(7): 405-407.
- [5] 张欣欣, Locarnini SA. HBsAg 定量检测在慢性乙型肝炎抗病毒治疗监测中的意义 [J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(1): 82-83.
- [6] Gervain J. Significance of the changes in HBV DNA and HBsAg levels during the treatment of chronic hepatitis B [J]. Orv Hetil, 2011, 152(22): 866-868.
- [7] 金霆. 乙型肝炎患者 HBV 表面大蛋白水平的检测及临床意义 [J]. 检验医学与临床, 2008, 5(24): 1479-1480.

(收稿日期: 2015-02-25)

代医学, 2010, 16(7): 140-141.

- [4] 吴清坛, 蒲荣. 固体与液体培养法在鉴别支原体感染的差异性研究 [J]. 中国医药导报, 2011, 8(6): 69-71.
- [5] 孟冬娅, 马晓博, 何莉, 等. 解脲脲原体 23SrRNA 位点突变与大环内酯类药物耐药的关系 [J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(6): 653-654.
- [6] Bebear CM, Renaudin H, Charron A, et al. In vitro activity of trovafloxacin compared to those of five antimicrobials against mycoplasmas including Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum fluoroquinolone-resistant isolates that have been genetically characterized [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(9): 2557-2560.

(收稿日期: 2015-01-18)