

## · 综述 ·

# 血清 HBV RNA 分子特征、检测方法及临床应用研究\*

刘小花,余杨,王桂香,张林艳,陈涛 综述, 黄华翠<sup>△</sup> 审校  
成都市新都区人民医院医学检验科, 四川成都 610500

**摘要:**肝细胞内共价环状闭合 DNA (cccDNA) 是乙型肝炎病毒(HBV)的复制中间体,与 HBV 复制密切相关。同时,它是前基因组 RNA(pgRNA)的转录模板,而血清中的 HBV RNA 多来自未逆转录的 pgRNA。近年来许多研究表明 HBV RNA 在监测疾病进展和预测慢性 HBV 感染患者的预后等方面有重要作用,是慢性乙型病毒性肝炎的一种潜在的生物标志物。该文从 HBV RNA 的分子特征、检测方法及临床应用研究进展进行概述。

**关键词:**乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒 RNA; 分子特征; 检测方法; 临床应用

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2024.22.023      **中图法分类号:**R512.62;R446.6

**文章编号:**1673-4130(2024)22-2805-05      **文献标志码:**A

## Advances in molecular characteristics, detection methods, and clinical applications of serum HBV RNA<sup>\*</sup>

LIU Xiaohua, YU Yang, WANG Guixiang, ZHANG Linyan, CHEN Tao, HUANG Huacui<sup>△</sup>

Department of Medical Laboratory, Xindu District People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610500, China

**Abstract:** Covalently closed circular DNA (cccDNA) in hepatocytes is the replication intermediate of hepatitis B virus (HBV), which is closely related to HBV replication. Meanwhile, it is the transcriptional template of pregenomic RNA (pgRNA), and most of the HBV RNA in serum is derived from unreversed transcribed pgRNA. In recent years, many studies have demonstrated that HBV RNA has an important role in monitoring disease progression and predicting the prognosis of chronic HBV-infected patients, and is a potential biomarker of chronic viral hepatitis B. This article provides an overview of the molecular characterisation of HBV RNA, detection methods and research progress in clinical applications.

**Key words:** hepatitis B virus; hepatitis B virus RNA; molecular characteristics; detection methods; clinical application

慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染是一个主要的公共卫生问题,全球约有 2.4 亿慢性 HBV 感染者。如果 HBV 没有得到有效控制,慢性 HBV 感染可能导致肝硬化,最终发展成肝细胞癌(HCC)<sup>[1-2]</sup>。有研究报告,乙型肝炎病情的慢性化及进展主要与肝细胞内共价环状闭合 DNA(cccDNA)有关<sup>[3]</sup>。cccDNA 是一种持续存在于被感染的肝脏细胞核中的分子,HBV 感染后不能被完全消除。另外,目前还没有发现根除 cccDNA 的有效方法<sup>[4-5]</sup>。尽管肝脏活检是一种诊断方法,但因其具有侵入性,cccDNA 作为常规诊断方法是不现实的,因此有必要开发非侵入性的替代标志物来监测 cccDNA 的数量或活性。在过去,一些血清学标志物,包括 HBV DNA、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)等已被证明与乙型肝炎内部有关<sup>[6-8]</sup>。最近,血清 HBV RNA 已被认为是 cccDNA 的一个新的替代生物标志物,特别是在 HBV DNA 转阴后的疗效监测、停药风险提示及干扰素优势人群筛选方面。因此,充分了解 HBV RNA 作为乙型肝炎感染的潜在生物标志物的分子特征、检测方法及临床应用十分重要。

## 1 分子特征

HBV 是 Hepadnaviridae 家族的一个原型成员,被称为部分双链的 DNA 病毒,含有一个 3.2 kb 的基因组。由钠牛磺酸共转运多肽(NTCP)介导的 HBV 进入肝细胞后,病毒的弛缓环状 DNA(rcDNA)被送入细胞核,并转化为 cccDNA<sup>[9-10]</sup>。它是 5 种 HBV mRNA 的转录模板,包括 3.5 kb 的前核心 mRNA (pcRNA) 和 2.4 kb 的 pgRNA 和 2.1 kb 的表面 mRNA 及 0.7 kb 的 X mRNA<sup>[11-12]</sup>。其中最长的一条 RNA 是长度为 3.5 kb 的前基因组 RNA(pgRNA),子代 rcDNA 是以 pgRNA 为模板,在 HBV 逆转录酶作用下形成的。血清中的 HBV RNA 主要来源于逆转录 pgRNA,其本质是 cccDNA 的直接产物<sup>[13]</sup>。由于血清当中的 HBV RNA 是 cccDNA 的直接产物,所以血清中 HBV RNA 与 cccDNA 转录活性密切相关,被认为是一个理想的反映肝组织 cccDNA 的活性血清替代指标。

## 2 HBV RNA 检测方法

### 2.1 逆转录-实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)

\* 基金项目:成都市医学科研项目(2020201);四川省医学会科研项目(S21094);成都市医学科研项目(2022418)。

△ 通信作者,E-mail:839373273@qq.com。

血清 HBV RNA 的检测是基于 TaqMan 探针法的 RT-qPCR, 配以 PCR 反应液, 通过收集到的荧光信号的变化联合采用一组标准品制订的标准曲线来实现 HBV RNA 的定量检测。有研究指出, RT-qPCR 法是检测 HBV RNA 的常用方法<sup>[14]</sup>。HUANG 等<sup>[1]</sup>利用 RT-qPCR 技术对 19 例急性乙型肝炎患者和 84 例治疗无效的慢性 HBV 感染者定量检测血清 HBV RNA 和 HBV DNA。由于血清 HBV RNA 的定量检测方法已经成熟, 而从 HBV RNA 反转录的 cDNA 中的锚定序列 RNA 可以显著减少 HBV DNA 的干扰<sup>[15-16]</sup>, 血清 HBV RNA 和 HBV DNA 可联合用于指导抗病毒治疗效果监测和停用核苷类似物(NAs)治疗风险评估。

**2.2 实时荧光恒温扩增检测(SAT)** SAT 是一种 RNA 转录扩增同时使用探针实时检测的方法。带有 T7 序列的引物与靶标 RNA 结合, 在反转录酶 M-MLV 作用下产生靶标核酸(RNA)的 DNA 拷贝, T7 RNA 聚合酶以 DNA 拷贝为模板产生多个 RNA 产物。在循环扩增的同时, 反应体系内的特异性探针可以与 RNA 产物结合。RNA 产物越多, 与产物杂交的探针就越多, 发出的荧光信号就越强。检测仪器可以实时检测到发出的荧光信号, 荧光信号到达特定阈值的反应时间与靶标 RNA 起始浓度成比例。每个反应都有内标, 用于质控样本在处理、扩增和检测期间的变化差异。RNA 捕获探针法无需 DNA 酶的处理, 可以避免使用 DNA 酶处理导致样本中的 RNA 损耗, 有助于进一步规避核酸提取产物中混杂的 DNA 对 HBV RNA 定量的干扰。张缈曲等<sup>[17]</sup>报道, 全自动 HBV SAT 与 RT-qPCR 结果一致, 但在低浓度 HBV DNA 样本中灵敏度高于 RT-qPCR, HBV RNA 检测快速及准确。

**2.3 液滴式数字 PCR(ddPCR)** ddPCR 是传统 PCR 方法的改进, ddPCR 结合了微流控技术和基于探针的 qPCR 技术, 以实现核酸的绝对定量, 测试样品中目标模板的浓度。由于这种数字式的二进制读数, 所以不需要标准曲线来实现定量。ddPCR 的主要优势还包括高精确度和可减少 PCR 偏差。因此, 近年来 ddPCR 已被广泛采用为量化 AAV 滴度的一种方法。先将样品分为多个 PCR 反应, 每个反应多包含一个模板, 然后通过对阳性和阴性反应进行计数来确定初始样品中模板分子的数量。有报道指出, 在 HBeAg 浓度低的感染者中, 由于 ddPCR 技术不需要标准曲线来实现定量, 可以提高 HBV RNA 检测的灵敏度及特异度<sup>[18-19]</sup>。

**2.4 cDNA 末端快速扩增技术(RACE)** RACE 是一种基于逆转录 PCR, 通过已知的部分 cDNA 序列来得到完整的 cDNA 的 5' 和 3' 端。RACE 的优势是在仅已知单侧序列设计特异性引物时, 利用 RACE 技术仍能完成扩增, 特异度大大提高。BRAKENHOFF 等<sup>[20]</sup>利用 RACE 技术对 176 例 HBeAg 阳性患者和 103 例 HBeAg 阴性患者检测血清 HBV RNA, 提示 HBV RNA 可以预测 HBsAg 的下降或清除。有研究

发现, 大量 poly A 尾缺失的 HBV RNA 存在血清中, 利用 RACE 技术 poly A 尾缺失的 HBV RNA 有可能出现漏检<sup>[21]</sup>。

**2.5 QuantiGene 测定** QuantiGene 测定无需 cDNA 合成或 PCR 扩增, 是一种核酸探针信号放大检测技术。利用探针杂交和信号放大得到样本中 HBV RNA 的具体含量。有研究发现, QuantiGene 与液态芯片(Luminex/xMAP)技术相结合, 能同时检测 80 个基因以上<sup>[22]</sup>, 该技术对样本类型要求低, 如细胞、血液等。

**2.6 基因测序** 基因测序技术又称 DNA 测序技术, 是分子生物学研究中最常用的技术, 它的出现极大地推动了生物学的发展成熟。HUANG 等<sup>[23]</sup>利用测序技术对 7 例慢性 HBV 感染患者血清和配套肝活检样本(来自 2 个前瞻性临床研究队列)的血清 HBV RNA 进行检测, 研究结果表明 cccDNA 可在几个月完成更新, 提示血清 HBV RNA 可以作为 cccDNA 的临床替代标志物。

### 3 HBV RNA 的临床意义

**3.1 血清 HBV RNA 与肝组织内 cccDNA 的相关性** 血清 HBV RNA 主要由肝细胞核内的 cccDNA 模板转录而来, 故可用于反映 cccDNA 的拷贝数量及其转录活性。在慢性 HBV 感染的过程中, 血清 HBV RNA 可作为预测慢性乙型肝炎患者疾病自然病程的生物标志物<sup>[24]</sup>。在治疗初期 HBeAg 阴性的 HBV 感染者中, 血清 HBV RNA 在区分“HBeAg 阴性反应”阶段上显示出优越性<sup>[1]</sup>。基线时血清 pgRNA 水平低或第 6 个月大幅下降可独立预测 NAs, 治疗后第 4 年血清 pgRNA 检测不到的高发生率, 基线血清 pgRNA 可作为 NAs 治疗期间 HBeAg 血清转换的新预测因子<sup>[25]</sup>。乙型肝炎未治疗患者中血清 HBV RNA 与血清 HBsAg、HBV DNA 呈正相关, 且随着慢性 HBV 感染病程的进展, 血清 HBV RNA 水平逐渐下降。血清 HBV RNA 水平可作为预测聚合酶抑制剂治疗 HBeAg 阳性患者血清反应的新工具<sup>[26]</sup>。血清 HBV RNA 可用于监测 cccDNA 的转录活性, 适用于监测抗病毒治疗的疗效监测。

**3.2 预测 HBV 停药后复发风险** 在长期抗病毒过程中, 血清 HBV RNA 和 DNA 水平均显著下降。血清中 HBV RNA 病毒颗粒水平可能与停止治疗后 HBV 病毒反弹的风险相关, 因此, 它可能是监测 NAs 治疗安全终止的潜在预测生物标志物。即使 HBsAg 已经消失, 包括 HBsAg 逆转或 HBV DNA 再出现在内的复合逆转在停药后仍可能发生, 血清 HBV RNA 被认为 NAs 治疗后病毒反弹的潜在预测因子。停药时血清 HBV RNA 阴性不是独立的安全停药预测指标, 但可以联合 HBsAg 监测安全停药<sup>[27-28]</sup>。

### 3.3 血清 HBV RNA 预测抗病毒治疗应答

**3.3.1 血清 HBV RNA 指导患者 NAs 停药的价值** 血清 HBV RNA 可用于预测慢性乙型肝炎患者接受 NAs 治疗的应答情况。尽管指南推荐 HBeAg 阳性的患者在规律治疗后, 1~3 年后可以考虑停药,

但停用 NAs 1 年内,患者的病毒临床复发率和病毒复发率分别在 6%~76%、30%~100%<sup>[29]</sup>。有研究报道发现,即使 NAs 能快速有效抑制 HBV DNA 低至检测下限,但肝脏中存在的 cccDNA 继续在影响病毒的复制,NAs 长期连续治疗的慢性乙型肝炎患者仍有一部分会发展到终末期肝病,甚至肝癌<sup>[30]</sup>。有研究发现,经长期 NAs 治疗的 60 例 HBV 相关肝癌患者中,HBV DNA 检测阴性而 HBV RNA 检测阳性者有 9 例<sup>[31]</sup>,提示在 HBV DNA 检测低于检测下限后,仍需要进一步检测血清 HBV RNA。综上所述,HBV RNA 在指导患者停药方面具有应用价值,在符合现行停药标准的患者,若检测 RNA 显示阳性,则停药后复发的风险较大,应持续进行抗病毒治疗,已实现 RNA 转阴的患者停药后复发风险更低,但不能完全排除复发的可能性。

**3.3.2 血清 HBV RNA 预测聚乙二醇干扰素  $\alpha$ -2a 治疗疗效** 聚乙二醇干扰素  $\alpha$ -2a 抗病毒机制包括降解或沉默 cccDNA、调控宿主免疫及影响 pgRNA 的包装和稳定性等,相比 NAs 治疗,血清 HBV RNA 的下降也更为显著。HBV RNA 可以预测经聚乙二醇干扰素  $\alpha$ -2a 治疗后 HBeAg 患者的血清学转换<sup>[32-34]</sup>,早期已有研究报道,HBV RNA 水平能够有效预测干扰素治疗患者 DNA 应答及 HBsAg 的阴转<sup>[16]</sup>。在使用干扰素抗病毒治疗过程中,血清 HBV RNA 可以判断抗病毒治疗疗效,其变化与抗病毒药物及疗程有关,呈下降趋势<sup>[35]</sup>。因此,HBV RNA 对于预测乙二醇干扰素  $\alpha$ -2a 治疗的 HBeAg 患者的血清学转换及 HBsAg 的阴转都有临床应用价值。

**3.4 血清 HBV RNA 预测肝细胞癌的价值** 有研究发现,血清 HBV RNA 是在 NAs 治疗过程中导致肝癌发生的独立危险因素,提示在 NAs 治疗过程中,血清 HBV RNA 转阴有利于慢性乙型肝炎患者的长期预后<sup>[29]</sup>。HBV RNA 的基线水平和病毒复制中间体的组成在慢性 HBV 感染的自然过程中存在显著差异。这些发现阐明了病毒复制的性质和慢性 HBV 感染不同阶段疾病的发病机制<sup>[36]</sup>。接受抗病毒治疗的慢性 HBV 感染患者中残留的 HBV DNA 和 pgRNA 病毒血症与 HCC 有关<sup>[37]</sup>。长期 NAs 抗病毒治疗的 HBV 相关肝细胞癌患者,在 HBV DNA 低于检测下限后,HBV RNA 仍可检测到,HBsAg 滴度可能与血清 HBV RNA 水平相关<sup>[30]</sup>。血清 HBV RNA 与接受抗病毒治疗慢性乙型肝炎患者的 HCC 发生风险独立相关。实现血清 HBV RNA 转阴将有利于慢性乙型肝炎患者长期治疗的预后,提示其可作为潜在的抗 HBV 治疗替代终点之一<sup>[38]</sup>。HBV 病毒的复制不仅与肝癌干细胞的形成及致癌机制相关,更与肝癌术后复发相关。HBV RNA 是评估肿瘤组织中 HBV 病毒复制水平的关键指标,且能够监测目前非癌组织的远期癌变风险<sup>[39]</sup>。因此,HBV RNA 可应用于预测慢性乙型肝炎患者的 HCC 发生风险,以及评估 HCC 术后复发风险。

**3.5 预测 HBsAg 下降或者阴转** 抗病毒治疗结束时,血清 HBV RNA 阳性可预测慢性 HBV 感染患者停药后 HBsAg 逆转的高风险<sup>[28]</sup>,治疗 4 周时血清 HBV pgRNA 和 HBcrAg 的早期变化可预测长期 NA 治疗的慢性 HBV 感染患者的 HBsAg 血清清除或  $\leq 100 \text{ IU/mL}$ <sup>[39]</sup>。HBV RNA 的动力学特点联合丙氨酸氨基转移酶是 HBsAg 下降的独立预测因素。研究表明,通过控制 HBV RNA 的水平可以预测慢乙型肝炎的产妇在停药后的 HBsAg 状态和下降特点<sup>[20]</sup>。

**3.6 预测 HBeAg 血清转化** 抗病毒治疗期间,HBV RNA 的动态变化可预测 HBeAg 血清学转换,彭亚梦等<sup>[40]</sup>研究发现,HBeAg 阳性或阴性的 HBV RNA 与 HBV DNA 水平存在较大差异,HBeAg 是慢性乙型肝炎患者血清 HBV RNA 水平的影响因素,但 HBeAg 与 HBV DNA 不相关,与 HBV DNA 相比较,HBV RNA 能更好地预测 HBeAg 的转阴变化。WANG 等<sup>[41]</sup>将 30 例 HBeAg 阳性、非肝硬化的慢性乙型肝炎患者分为两组:SR 组(出现 HBeAg 血清转换的患者, $n=9$ ),NSR 组(未出现 HBeAg 血清转换的患者, $n=21$ ),在治疗 48 周的所有患者,HBV RNA 均呈现出逐渐下降的趋势。但 SR 组相比 NSR 组,HBV RNA 水平下降的幅度更大,在第 48 周时,SR 组的血清 HBV RNA 水平显著低于 NSR 组。研究验证了 HBV RNA 下降与 HBeAg 血清转化相关,血清 HBV RNA 的动态变化可预测治疗效果。

**3.7 血清 HBV RNA 在区分 HBV 感染自然史中的价值** 有研究表明<sup>[42]</sup>,新指标血清 HBV RNA 能更好地反映 cccDNA 转录活性,其水平在病毒与宿主长期相互作用中可能发生变化。与 HBeAg 阳性患者相比 HBeAg 阴性患者的血清 HBV RNA 水平显著降低,而免疫控制期患者血清 HBV RNA 水平最低。慢性 HBV 感染者血清 HBV RNA 水平与血清 HBV DNA、HBsAg 水平呈正相关。分析发现,HBeAg 阳性患者血清 HBV RNA 与 HBV DNA 或 HBsAg 存在相关性;而在 HBeAg 阴性患者中,血清 HBV RNA 仅与 HBV DNA 呈正相关<sup>[42]</sup>。在慢性 HBV 感染的自然病程中,血清 HBV RNA 水平是有差异的。血清 HBV RNA 可作为预测慢性乙型肝炎患者自然病程的生物标志物。在未经治疗的 HBeAg 阴性的慢性 HBV 感染者中,血清 HBV RNA 在区分“HBeAg 阴性免疫清除期”方面具有优势。

#### 4 小结

HBV 慢性感染难以被彻底清除,其根源在于感染后形成的 cccDNA 微染色体可长期稳定存在于肝细胞核内。HBV RNA 作为 cccDNA 的直接下游转录产物,有可能成为慢性 HBV 感染的新标志物,在反映抗病毒疗效、评估 NAs 停药后复发风险等方面有重要作用,并可能成为监测 cccDNA 转录活性更好的替代标志物。虽然不同研究的血清 HBV RNA 检测方法不同,但已显示出初步的临床意义。因此,需要进行更广泛的研究,以进一步确定血清 HBV RNA 的

分子生物学特征，并评估其临床价值。

## 参考文献

- [1] HUANG H,WANG J,LI W,et al. Serum HBV DNA plus RNA shows superiority in reflecting the activity of intrahepatic cccDNA in treatment-naïve HBV-infected individuals[J]. *J Clin Virol*,2018,99-100:71-78.
- [2] 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J].中国肝脏病杂志,2019,27(12):938-961.
- [3] KAO J H,HU T H,JIA J,et al. East asia expert opinion on treatment initiation for chronic hepatitis B[J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2020,52(10):1540-1550.
- [4] KAO J H,HU T H,JIA J,et al. East asia expert opinion on treatment initiation lucifora J, protzer U. Attacking hepatitis B virus cccDNA: the holy grail to B cure[J]. *J Hepatol*,2016,64(Suppl):S41-S48.
- [5] XIA Y,GUO H. Hepatitis B virus cccDNA: formation, regulation and therapeutic potential[J]. *Antiviral Res*,2020,180:104824.
- [6] GUNER R,KARAHOCAGIL M,BUYUKBERBER M,et al. Correlation between intrahepatic hepatitis B virus cccDNA levels and other activity markers in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B infection[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*,2011,23(12):1185-91.
- [7] WONG D K,SETO W K,CHEUNG K S,et al. Hepatitis B virus core-related antigen as a surrogate marker for covalently closed circular DNA[J]. *Liver Int*,2017,37(7):995-1001.
- [8] 刘小花,蒋萍,连颖,等. HBeAg 阳性及阴性乙肝患者血清 HBV RNA 与 HBV DNA 和转氨酶水平变化的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志,2023,44(17):2169-2172.
- [9] HONG X,KIM E S,GUO H. Epigenetic regulation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA: Implications for epigenetic therapy against chronic hepatitis B [J]. *Hepatology*,2017,66(6):2066-2077.
- [10] MARCHETTI A L,GUO H. New insights on molecular mechanism of hepatitis B virus covalently closed circular DNA formation[J]. *Cells*,2020,9(11):2430.
- [11] LIUS,ZHOU B,VALDES J D,et al. Serum hepatitis B virusRNA: a new potential biomarker for chronic hepatitis B virusInfection[J]. *Hepatology*,2019,69:1816-1827.
- [12] MITRA B,THAPA R J,GUO H,et al. Host functions used by hepatitis B virus to complete its life cycle: Implications for developing host-targeting agents to treat chronic hepatitis B[J]. *Antiviral Res*,2018,158:185-198.
- [13] JUNG K S,PARK J Y,CHON Y E,et al. Clinical outcomes and predictors for relapse after cessation of oral antiviral treatment in chronic hepatitis B patients[J]. *J Gastroenterol*,2016,51(8):830-839.
- [14] D'ARIENZO V,MAGRI A,HARRIS J M,et al. A PCR assay to quantify patterns of HBV transcription[J]. *J Gen Virol*,2021,102(3):001373.
- [15] VAN BÖMMEL F,BARTENS A,MYSICKOVA A,et al. Serum hepatitis B virus RNA levels as an early predictor of hepatitis B envelope antigen seroconversion during treatment with polymerase inhibitors[J]. *Hepatology*,2015,61(1):66-76.
- [16] BRAKENHOFF S M,DE MAN R A,BOONSTRA A,et al. Hepatitis B virus RNA decline without concomitant viral antigen decrease is associated with a low probability of sustained response and hepatitis B surface antigen loss [J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2021,53(2):314-320.
- [17] 张缈曲,张琪然,张寒悦,等.一种新型乙型肝炎病毒 RNA 定量检测方法的临床检测性能评估[J].中华传染病杂志,2020,38(12):782-785
- [18] KOJABAD A A,FARZANEHPOUR M,GALEH H,et al. Droplet digital PCR of viral DNA/RNA, current progress, challenges, and future perspectives[J]. *J Med Virol*,2021,93(7):4182-4197.
- [19] LIMOTHAI U,CHUAYPEN N,POOVORAWAN K,et al. Reverse transcriptase droplet digital PCR vs reverse transcriptase quantitative real-time PCR for serum HBV RNA quantification[J]. *J Med Virol*,2020,92(12):3365-3372.
- [20] BRAKENHOFF S M,DE MAN R A,BOONSTR A,et al. Hepatitis B virus RNA decline without concomitant viral antigen decrease is associated with a low probability of sustained response and hepatitis B surface antigen loss [J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2021,53(2):314-320.
- [21] SHEN S,XIE Z,CAI D,et al. Biogenesis and molecular characteristics of serum hepatitis B virus RNA[J]. *PLoS Pathog*,2020,16(10):e1008945.
- [22] VERBIST B,ADRIAENSEN E,KEERSMAEKERS V,et al. Analyzing magnetic bead QuantiGene® Plex 2.0 gene expression data in high throughput mode using QGprofiler[J]. *BMC Bioinformatics*,2019,20(1):378.
- [23] HUANG Q,ZHOU B,CAI D,et al. Rapid turnover of hepatitis B virus covalently closed circular DNA indicated by monitoring emergence and reversion of signature-mutation in treated chronic hepatitis B patients[J]. *Hepatology*,2021,73(1):41-52.
- [24] LIU Y Y,LIANG X S. Progression and status of antiviral monitoring in patients with chronic hepatitis B: From HBsAg to HBV RNA[J]. *World J Hepatol*,2018,10(9):603-611.
- [25] BUTLER E K,GERSCH J,MCNAMARA A,et al. Hepatitis B virus serum DNA andRNA levels in nucleos(t)ide Analog-Treated or untreated patients during chronic and acute infection[J]. *Hepatology*,2018,68(6):2106-2117.
- [26] LIAO H,LIU Y,LI X,et al. Monitoring of serum HBV RNA, HBcrAg, HBsAg and anti-HBc levels in patients during long-term nucleoside/nucleotide analogue therapy. *Antivir Ther*[J]. 2019,24(2):105-115.
- [27] LUO H,ZHANG X X,CAO L H,et al. Serum hepatitis B virus RNA is a predictor of HBeAg seroconversion and virological response with entecavir treatment in chronic hepatitis B patients[J]. *World J Gastroenterol*,2019,25(6):719-728.
- [28] WANG J,CHEN X,WU Y,et al. Serum HBV RNA is a potential predictor of hepatitis B surface antigen reversion [J]. *Hepatol Commun*,2018,2(10):1168-1171.
- [29] 刘燕娜,樊蓉,杨瑞峰,等,中华医学会肝病学分会基础医学与实验诊断协作组.慢性 HBV 感染者血清 HBV RNA 检测及临床应用的专家共识[J].中华肝脏病杂志,2022,30(5):505-512.

(下转第 2816 页)

## · 短篇论著 ·

# 血清 CKLF-1、VCAM-1 水平对小儿支气管炎病情及预后的评估价值

傅 彬,季汝凤<sup>△</sup>

江苏省南京市溧水区人民医院儿内科,江苏南京 211200

**摘要:**目的 分析血清趋化素样因子-1(CKLF-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)水平对小儿支气管炎病情及预后的评估价值。方法 选取 2019 年 2 月至 2022 年 11 月该院接诊的 100 例小儿支气管炎患者作为研究组,根据病情发展情况分为轻症组( $n=52$ )和重症组( $n=48$ ),另根据患者预后情况分为预后良好组( $n=56$ )和预后不良组( $n=44$ ),另选取同期于该院进行体检的体检健康儿童 47 例作为对照组。采用酶联免疫吸附试验检测血清 CKLF-1、VCAM-1 水平并进行比较;收集所有患者的临床资料并进行比较;影响小儿支气管炎患者预后的因素采用 Logistic 回归分析,血清 CKLF-1、VCAM-1 水平对小儿支气管炎患者预后的预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线进行分析。结果 研究组血清 CKLF-1、VCAM-1 水平显著高于对照组,并随着患者病情加重而显著升高( $P<0.05$ );预后不良组患者与预后良好组患者的病情发展程度及 C 反应蛋白(CRP)、白细胞计数(WBC)、CKLF-1、VCAM-1 水平之间比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),且重症、CRP、WBC、CKLF-1、VCAM-1 水平升高均是小儿支气管炎患者预后不良的危险因素( $P<0.05$ );血清 CKLF-1、VCAM-1、联合预测小儿支气管炎患者预后的曲线下面积(AUC)分别为 0.859、0.793、0.918,联合预测价值更高( $Z_{\text{两者联合-CKLF-1}}=2.282, P=0.023; Z_{\text{两者联合-VCAM-1}}=2.927, P=0.003$ )。结论 血清 CKLF-1、VCAM-1 水平随着小儿支气管炎患者病情加重而显著升高,并与患者预后情况密切相关,可能成为评估其预后的生物学指标。

**关键词:**趋化素样因子-1; 血管细胞黏附分子-1; 小儿支气管炎; 预后

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2024.22.024

**文章编号:**1673-4130(2024)22-2809-04

**中图法分类号:**R725.6

**文献标志码:**A

支气管炎是一种常见的呼吸道疾病,表现为支气管黏膜及其周围组织发生慢性炎症反应。由于儿童身体各组织器官处于发育阶段,其抵抗力低,较易受病原菌侵害,所以支气管炎在儿童中的发病率更高<sup>[1]</sup>。因小儿支气管炎主要发生于其肺部的细小支气管中,所以又被称为毛细支气管炎。一般情况下,小儿支气管炎是由于感冒等普通疾病进一步发展而来,由于病原菌的肆意侵袭而导致炎症发生,患者常会出现咳嗽、发热、呕吐、呼吸困难等症状<sup>[1-4]</sup>。该病病情发展迅速,但考虑到儿童年龄较小,一般以药物治疗为主,对患者进行止咳平喘,消除炎症<sup>[2-4]</sup>。但该病容易反复,且临床诊断多以患者症状及一些炎症标志物为主,缺乏特异性,也不能准确反映病情进展。因此,寻找有效标志物可以帮助临床快速确诊及判断预后情况,避免病情进一步发展。趋化素样因子-1(CKLF-1)是近些年新发现的炎症趋化因子,受炎症信号诱导高表达在外周血白细胞中,通过与其受体结合诱发体内炎症反应<sup>[5]</sup>。血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)是一种参与白细胞炎症反应的糖蛋白,与免疫反应、炎症反应及癌症、心脏疾病的发生均有关<sup>[6]</sup>。虽然 CKLF-1 与 VCAM-1 均涉及炎症反应,但二者与小儿支气管炎病情发展的具体关系报道较少。本研究旨在探究血清 CKLF-1、VCAM-1 水平对小儿支气管炎病情发展及预后的评估价值,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料 选取 2019 年 2 月至 2022 年 11 月本

院接诊的 100 例小儿支气管炎患者作为研究组,根据病情发展情况分为轻症组( $n=52$ )和重症组( $n=48$ )。其中患儿喂养量下降一半或拒食,呼吸频率加快,肋间隙凹陷,易烦躁,上述症状符合任意其中一项即可判定为重症患儿;轻症患儿食量正常,呼吸频率正常或稍快,无胸壁吸气性三凹征,无鼻翼煽动或呻吟,精神状态正常。另选取同期于本院进行体检的体检健康儿童 47 例作为对照组。纳入标准:(1)符合小儿支气管炎的诊断标准<sup>[7]</sup>; (2)结合临床症状及病理学确诊为小儿支气管炎;(3)年龄小于 10 岁;(4)首次入院治疗。排除标准:(1)患有重症疾病者;(2)发生重要脏器损伤者;(3)患有其他呼吸系统疾病者;(4)有传染性、免疫性、血液性疾病者;(5)易过敏体质患者。本研究方案均已获得所有儿童家属同意并签署知情同意书,且已通过医学伦理委员会审核批准。

### 1.2 方法

**1.2.1 患者临床资料收集** 收集患者的年龄、性别、患病时间、住院时间、C 反应蛋白(CRP)、白细胞计数(WBC)、病情发展情况、被动吸烟史、家族疾病史。

**1.2.2 血清 CKLF-1、VCAM-1 水平检测** 采集所有研究对象清晨空腹静脉血,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液。采用来自武汉天正源生物科技有限公司的酶联免疫吸附试剂盒抽提血清 CKLF-1、VCAM-1(货号分别为 TK02478、TK03853)。提取完成后用酶标仪检测 CKLF-1、VCAM-1 的吸光度,并代入标准曲线计算其血清浓度。

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:b19wfv@163.com。