

# HBsAg 定量与 HBV DNA 载量在 HBV 感染自然史 不同阶段的临床意义\*

朱霞<sup>1,2</sup>, 唐红<sup>1,2△</sup>

1. 四川大学华西医院 感染性疾病中心(成都 610041);

2. 四川大学华西医院 生物治疗国家重点实验室 感染性疾病研究室(成都 610041)

**【摘要】** 目的 研究未经抗病毒治疗的慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染者自然史不同阶段乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)定量与其血清 HBV DNA 载量水平之间的相关性及其临床意义。方法 1 339 例未经抗病毒治疗的慢性 HBV 感染者,根据 HBV 感染的自然史,分为 4 个组:免疫耐受期,免疫清除期,低复制期,再活动期。对所有 HBV 感染者的血清使用化学发光法检测 HBsAg 定量值,荧光 PCR 定量法检测血清 HBV DNA 载量。分析不同阶段 HBsAg 定量值与 HBV DNA 载量的相关性,及 HBsAg 定量值与年龄、血清学指标的关系。结果 免疫耐受期、免疫清除期、低复制期、再活动期的 HBV 感染者 HBsAg 定量值分别为 4.71(4.46~4.97)lg IU/mL、3.19(2.72~3.76)lg IU/mL、2.32(1.54~2.93)lg IU/mL、2.75(2.12~3.18)lg IU/mL,HBV DNA 载量分别为 7.39(6.55~7.83)lg IU/mL、5.53(4.85~6.62)lg IU/mL、2.14(1.56~2.61)lg IU/mL、3.88(3.39~4.47)lg IU/mL,HBsAg 定量及 HBV DNA 载量在 HBV 感染自然史不同阶段间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。在 HBV 感染自然史的不同阶段,HBsAg 定量与 HBV DNA 载量仅在免疫清除期呈正相关( $r = 0.552, P < 0.05$ )。HBsAg 定量水平与年龄呈负相关( $r = -0.37, P < 0.001$ ),HBsAg 定量水平与丙氨酸氨基转移酶、门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素在 HBV 感染自然史的不同阶段均呈正相关,但相关性小。结论 在 HBV 感染自然史中,免疫耐受期、免疫清除期、低复制期 HBsAg 定量和 HBV DNA 载量均呈逐渐下降趋势,而再活动期较前呈上升趋势。仅在免疫清除期 HBsAg 定量与 HBV DNA 载量呈正相关。

**【关键词】** HBsAg 定量 HBV DNA 载量 乙肝病毒感染

慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染者外周血含有大量的乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)。HBsAg 是 HBV 感染的血清学标志物,以肝组织 HBV 共价闭合环状 DNA(cccDNA)为模板复制生成,有研究表明血清 HBsAg 与肝组织 cccDNA 存在良好的相关性<sup>[1-2]</sup>。HBsAg 定量可能是肝组织 cccDNA 和血清 HBV DNA 的一个替代标志物<sup>[3]</sup>。近年来,随着 HBsAg 实验室定量检测技术的发展及其临床的研究开展,HBsAg 定量的临床应用价值逐渐受到重视。但目前血清 HBsAg 定量检测的临床价值及与 HBV DNA 的相关性尚存在争议<sup>[4-6]</sup>。血清 HBsAg 在 HBV 感染的自然病程中呈动态变化,HBsAg 在鉴别 HBV 感染自然史不同阶段有重要价值,特别是免疫耐受期与免疫清除期<sup>[7]</sup>。本研究旨在探讨 HBV 感染者 HBsAg 定量和 HBV DNA 载量在 HBV 感染自然史中的变化及两者之间的相关性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 病例选择

2016~2018 年四川省绵阳示范区(涪城区及江油市)收集的 1 400 例慢性 HBV 感染者,所有 HBV 感染者均未接受抗 HBV 治疗及免疫调节治疗,所有纳入的慢性 HBV 感染者均知情并签署知情同意书。慢性乙型肝炎诊断标准依据 2015 年中国慢性乙型肝炎防治指南:有乙型

病毒性肝炎病史或 HBsAg 阳性的时间超过 6 个月,目前 HBsAg 和/或 HBV 载量仍为阳性<sup>[8]</sup>。排除标准:①合并甲肝病毒、丙肝病毒、丁肝病毒、戊肝病毒感染和艾滋病病毒感染;②合并乙肝后肝硬化、乙肝相关性肝癌或其他恶性肿瘤;③合并自身免疫性肝病和肝脏代谢性疾病;④曾使用过抗乙肝病毒药物或免疫调节剂治疗;⑤合并严重心、肺、肾及血液系统疾病。

### 1.2 分组标准

参照中国 2015 年慢性乙型肝炎防治指南,根据 HBV 感染自然病程将 HBV 感染者分为 4 个期:免疫耐受期,免疫清除期,低复制期与再活动期。免疫耐受期:血清 HBsAg 和乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)阳性,HBV DNA 载量高(常 $> 200\ 000$  IU/mL),血清谷丙转氨酶正常,肝脏组织病理学无明显异常或轻度肝脏炎症坏死,无或仅有缓慢肝纤维化进展。免疫清除期:血清 HBV DNA $> 2\ 000$  IU/mL,血清谷丙转氨酶水平持续或间歇升高,肝脏组织病理学中度或严重肝脏炎症坏死,肝脏纤维化可快速进展,部分发展为肝硬化和肝衰竭。低复制期:血清 HBsAg 阳性,HBeAg 阴性,乙型肝炎病毒 e 抗体(HBeAb)阳性,HBV DNA 载量低或检测不到(常 $< 2\ 000$  IU/mL),谷丙转氨酶正常,肝脏组织学无炎症或仅有轻度炎症。再活动期:血清 HBsAg 阳性,HBeAg 阴性,HBeAb 阳性,HBV DNA 中~高水平复制( $> 20\ 000$  IU/mL),谷丙转氨酶持续或反复异常。

### 1.3 试验方法

采集 HBV 感染者的血清样本同时进行 HBsAg 定量及

\* “十三·五”国家科技重大专项(No. 2018ZX10715-003)资助

△ 通信作者, E-mail: htang6198@Hotmail.com

HBV DNA 载量检测。

**1.3.1 HBsAg 定量检测** 应用雅培 Architect i20000<sub>SR</sub> 设备,利用化学发光微粒子免疫检测(CMA)技术,对血清样本的 HBsAg 定量使用双抗体夹心两步法进行检测。操作过程严格按照雅培公司提供的 HBsAg 定量测定试剂盒的说明书和仪器的操作手册进行检测。HBsAg 定量检测值的范围为 0.05~250 IU/mL,若定量检测值>250 IU/mL,则使用手工或自动稀释程序对样本进行稀释后,再重复检测。稀释比例为 1:500 或 1:1 000。

**1.3.2 HBV DNA 检测** 应用实时荧光定量 PCR 技术检测 HBV DNA 载量,仪器为 ABI7500 荧光 PCR 检测仪,试剂由湖南圣湘生物科技有限公司生产,HBV DNA 载量最低检测下限为 30 IU/mL。

**1.3.3 肝功能检测** 使用 OPUS 全自动生物化学分析仪测定丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、间接胆红素(IBIL)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)等生物化学指标。

#### 1.4 统计学方法

HBV DNA 载量和 HBsAg 定量值经过对数转换后再进

行统计学分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  或中位数(四分位间距)表示,组间比较分别采用  $\chi^2$  检验、单因素方差分析和  $t$  检验, $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 基本信息

共收集了 1 400 例未经抗 HBV 治疗的慢性乙型肝炎患者的血清标本,其中,61 例患者因血清标本量太少,不符合检测要求被剔除。最后,共有 1 339 例患者被纳入分析,其中,免疫耐受期 50 例,免疫清除期 135 例,低复制期 895 例、再活动期 259 例。所有纳入的人群中,男 693 例,女 646 例,年龄 7~82 岁,平均年龄(49.8±13.6)岁。免疫耐受期乙型肝炎患者的平均年龄低于免疫清除期、低复制期、再活动期患者的平均年龄,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

### 2.2 HBV 感染者自然史不同阶段血清 HBsAg 水平

HBV 感染者自然史不同阶段血清 HBsAg 定量水平不同,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。HBsAg 定量水平在免疫耐受期最高,其次为免疫清除期,再次为再活动期;低复制期 HBsAg 水平最低,约为免疫耐受期的 1/2。

表 1 HBV 感染者不同阶段的临床检测指标( $\bar{x} \pm s$  或中位数(四分位间距))

指标	总数 (n=1 339)	免疫耐受期 (n=50)	免疫清除期 (n=135)	低复制期 (n=895)	再活动期 (n=259)	P
年龄/岁	49.80±13.60	26.20±14.20	49.00±14.00	50.60±12.80	52.30±11.70	<0.05
ALT/(U/mL)	32.00 (24.00~44.00)	31.5 (21.75~40.25)	80.00 (63.00~111.00)	27.00 (22.00~32.00)	48.40 (43.80~66.00)	>0.05
AST/(U/mL)	36.70 (15.00~41.50)	18.20 (10.70~23.50)	55.20 (43.60~87.20)	15.60 (8.70~19.60)	46.60 (37.40~62.50)	>0.05
TBIL/(IU/mL)	6.98 (5.60~8.36)	6.35 (3.80~13.58)	10.10 (5.40~15.50)	4.60 (3.30~6.30)	5.80 (4.10~10.60)	>0.05
IBIL/(IU/mL)	4.80 (3.70~5.50)	4.63 (3.56~5.30)	5.12 (3.90~5.80)	3.24 (2.30~4.80)	4.50 (4.10~5.40)	>0.05
TP/(g/L)	70.20 (67.20~79.60)	72.40 (68.70~74.60)	74.30 (68.40~85.30)	73.70 (68.10~84.30)	72.80 (67.20~85.60)	>0.05
ALB/(g/L)	45.40 (42.60~47.80)	46.45 (42.95~49.28)	45.80 (42.00~48.00)	45.20 (42.80~47.80)	45.70 (42~47.6)	>0.05
HBsAg/(lg IU/mL)	5.10 (3.50~7.59)	4.71 (4.46~4.97)	3.19 (2.72~3.76)	2.32 (1.54~2.93)	2.75 (2.12~3.18)	<0.05
HBV DNA/(lg IU/mL)	2.57 (1.78~3.58)	7.39 (6.55~7.83)	5.53 (4.85~6.62)	2.14 (1.56~2.61)	3.88 (3.39~4.47)	<0.05

ALT:丙氨酸氨基转移酶;AST:门冬氨酸氨基转移酶;TBIL:总胆红素;IBIL:间接胆红素;TP:总蛋白;ALB:白蛋白

### 2.3 HBV 感染者自然史不同阶段血清 HBV DNA 载量

HBV 感染者自然史不同阶段血清 HBV DNA 载量不同,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。HBV DNA 载量在免疫耐受期最高,其次为免疫清除期,再次为再活动期;低复制期 HBV DNA 载量最低,约为免疫耐受期的 1/3~1/4。

### 2.4 HBV 感染者自然史不同阶段 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量的关系

总体上,HBV 感染者血清 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量呈正相关( $r=0.468, P<0.05$ ,图 1)。在 HBV 感染者不同阶段,免疫清除期 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量呈正相关( $r=0.552, P<0.05$ ,图 2),免疫耐受期( $r=0.330, P=0.091$ )、低复制期( $r=0.131, P=1.032$ )和再活动期( $r=0.185, P=0.942$ )HBsAg 水平与 HBV DNA 载量均无关。

### 2.5 血清 HBsAg 水平与年龄、血清学指标的关系

1 339 例 HBV 感染者中,HBsAg 定量水平与年龄呈负相关( $r=-0.37, P<0.001$ ),HBsAg 定量水平与 ALT( $r=0.187, P<0.001$ )、AST( $r=0.142, P<0.001$ )、TBIL( $r=0.131, P<0.001$ )的相关性小,与 IBIL、TP 和 ALB 无相关

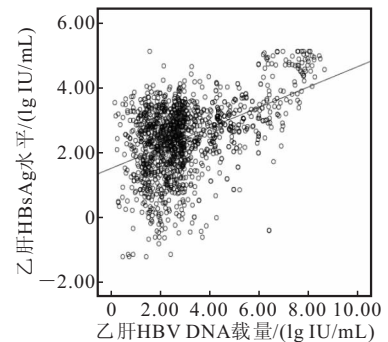


图 1 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量的相关性

性。HBV 感染自然史的不同阶段,HBsAg 定量水平与 ALT、AST、TBIL 均有正相关关系,但相关性小,与 IBIL、TP 和 ALB 仍无关。

## 3 讨论

HBsAg 于 1965 年首先由 BLUMBERG 等发现,HBsAg 阳性是 HBV 现症感染的标志。与肝组织 cccDNA 检测相

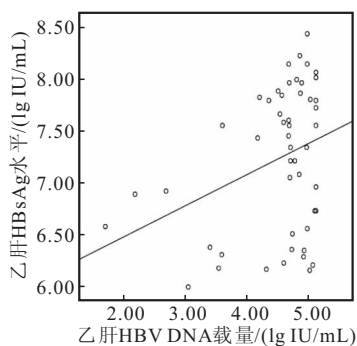


图2 免疫耐受期 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量的相关性

比, HBsAg 定量检测无创、便宜, 且全自动化、高通量<sup>[1,9-10]</sup>。血清 HBsAg 定量可能是肝组织 cccDNA 和血清 HBV DNA 的一个替代标志物。本研究主要探讨 HBV 感染者 HBsAg 定量和 HBV DNA 载量在 HBV 感染自然史中的变化及两者之间的相关性。

HBV 感染为动态变化的过程, 根据 HBV 自身的变化及宿主的免疫应答状态, 慢性 HBV 感染的过程分为 4 个时期: 免疫耐受期、免疫清除期、低复制期与再活动期<sup>[11]</sup>。HBV 感染 4 个分期对临床上了解 HBV 感染者的免疫状态具有重要意义, 宿主的免疫状态不同, HBV 感染自然史不同阶段 HBsAg 定量存在差异。本研究结果显示, 在 HBV 感染自然史的不同阶段, HBV 感染者血清 HBsAg 定量值存在明显的差异, 免疫耐受期最高, 为 4.71 lg IU/mL, 低复制期最低, 为 2.32 lg IU/mL, 免疫清除期为 3.19 lg IU/mL, 再活动期为 2.75 lg IU/mL。本研究结果与国内文献报道<sup>[7,12-13]</sup>的结果基本一致。在 HBV 感染的早期, 机体尚未对体内的 HBV 以及 HBsAg 发动免疫攻击, 所以 HBV 复制活跃, HBV DNA 载量及 HBsAg 定量值均偏高。随着机体对 HBV 特异性免疫应答增强, 对 HBV 的免疫清除和对感染 HBV 的肝细胞的免疫攻击不断提高, 肝细胞内的 HBV 颗粒逐渐减少, 从而 HBsAg 定量水平降低<sup>[14]</sup>。因此, HBsAg 的定量水平也是反映机体免疫状态的血清学指标, 与机体免疫系统对病毒的清除程度密切相关。

HBV 感染者自然病程的不同时期, HBsAg 定量与 HBV DNA 载量的相关性不完全相同, 不同研究结果有所差异<sup>[2-4,6,15]</sup>。本研究结果显示, 免疫耐受期、免疫清除期、再活动期、低复制期 HBsAg 定量和 HBV DNA 载量均呈逐渐下降趋势。总体上, 血清 HBsAg 定量与 HBV DNA 载量呈正相关( $r=0.47$ ), 但在 HBV 感染 4 个自然史分期中, 仅免疫清除期 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量呈正相关( $r=0.55$ )。HBV 在自然感染过程中, HBsAg 的合成与 HBV 的复制并不完全一致。临床医师在判断 HBsAg 水平评估病毒复制状态时, 应考虑到乙肝不同自然感染时期的影响。分析可能的原因是 HBsAg 在血清中以 3 种颗粒形式存在, 球形、管型颗粒不含有乙肝病毒的遗传物质, 所以不具有传染性, 而 Dane 颗粒具有很强的传染性。非感染性的球形、管型

颗粒与 Dane 颗粒的不固定性, 影响 HBsAg 定量与 HBV DNA 载量的相关性。而在免疫清除期, 随着机体对 HBV 免疫清除能力的增强, 完整 HBV 颗粒数量反而减少, 血清 HBsAg 定量与 HBV DNA 载量在一定程度上可以反映 HBV 的复制情况。TAN 等<sup>[15]</sup>研究结果显示, 慢性 HBV 感染免疫耐受期及 HBeAg 阳性患者血清 HBsAg 定量与 HBV DNA 载量呈正相关, 但 HBeAg 阴性患者血清 HBsAg 定量与 HBV DNA 载量无相关性。HBeAg 的状态不同, HBsAg 定量和 HBV DNA 载量的相关性不同。本研究中因 HBeAg 阳性 HBV 感染者样本量偏少, 故未对 HBeAg 阳性和 HBeAg 阴性的人群做进一步的亚组分析。今后需加大样本量, 对 HBeAg 不同状态的 HBV 感染者进行进一步研究。

HBsAg 定量水平与反映肝脏功能的生化指标关系的研究较少。有学者研究发现, HBeAg 阳性的患者血清 ALT 水平与肝组织内 HBsAg 阳性肝细胞数量呈负相关<sup>[5]</sup>, 本研究观察到血清 HBsAg 定量与血清 ALT、AST、TBIL 有正相关关系, 但相关性均小, 可能由于慢性 HBV 感染者血清中亚病毒颗粒水平远远超过完整病毒颗粒水平, 从而干扰了外周血中 HBsAg 定量与肝功能的相关性。

综上, HBsAg 定量水平在一定程度上反映了 HBV 感染者的免疫状态, 为临床医生制定抗病毒治疗方案提供更多的信息。本研究不足之处是仅对未行抗病毒治疗的 HBV 感染者 HBsAg 定量与 HBV DNA 的相关性进行了研究, 对 HBsAg 定量在指导抗病毒治疗疗效评估、抗病毒治疗药物停用时机等方面尚欠缺, 需进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] 陈崑, 吴峰. 慢性 HBV 感染者肝脏 HBV cccDNA 含量相关因素分析. 临床肝胆病杂志, 2013, 12(6): 434-437.
- [2] DEGUCHI M, YAMASHITA N, KAGITA M, *et al.* Quantitation of hepatitis B surface antigen by an automated chemiluminescent microparticle immunoassay. *J Virol Methods*, 2004, 115(24): 217-222.
- [3] 任伟宏, 赵素玲, 李延卿, 等. 乙型肝炎患者血清中 HBV cccDNA 与 HBV DNA、HBsAg 和 HBeAg 定量关系的分析. 检验医学, 2010, 25(6): 438-441.
- [4] NGUYEN T, THOMPSON A J, BOWDEN S, *et al.* Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: a perspective on Asia. *J Hepatol*, 2010, 52(12): 508-513.
- [5] THOMPSON A J, NGUYEN T, ISER D, *et al.* Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. *Hepatology*, 2010, 51(24): 1933-1944.
- [6] GANJI A, ESMAEILZADEH A, GHAFARZADEGAN K, *et al.* Correlation between HBsAg quantitative assay results and HBV DNA levels in chronic HBV. *Hepat Mon*, 2011, 11(5): 342-345.

- [7] NGUYEN T, THOMPSON A J, BOWDEN S, *et al.* Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: a perspective on Asia. *J Hepatol*, 2010, 52(12):508-513.
- [8] 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年版). 中国肝脏病杂志电子版, 2015, 9(5):1-18[2018-11-08]. <http://kns.cnki.net/KXReader/Detail?TIMESTAMP=636995797468247500&DBCODE=CJFD&TABLEName=CJFDLAST2015&FileName=GZBZ201503001&RESULT=1&SIGN=RW5jp2MWELCwp47QeLC5D2It4Go%3d>. doi:10.3969/j.issn.1674-7380.2015.03.001.
- [9] CHAN H L, WONG V W, TSE A M, *et al.* Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2007, 5(12):1462-1468.
- [10] WURSTHORN K, LUTGEHETMANN M, DANDRI M, *et al.* Peginterferon alpha-2b plus adefovir induces strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2006, 44(3):675-684.
- [11] MEMAHON B J. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 2009, 49(5):45-55.
- [12] KARRA V K, CHOWDHURY S J, RUTTALA R, *et al.* Clinical significance of quantitative HBsAg titres and its correlation with HBV DNA levels in the natural history of hepatitis B virus infection. *J Clin exp Hepatol*, 2016, 6(2):209-215.
- [13] KIM Y J, CHO H C, CHOI M S, *et al.* The change of the quantitative HBsAg level during the natural course of chronic hepatitis B. *Liver Int*, 2011, 31(6):817-823.
- [14] WONG D K, YUEN M F, PEON R T, *et al.* Quantification of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2006, 45(4):553-559.
- [15] TAN Z, LI M, KUANG X, *et al.* Clinical implications of hepatitis B surface antigen quantitation in the natural history of chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Virol*, 2014, 59(4):228-234.

(2019-01-13 收稿, 2019-05-20 修回)

编辑 余琳