

· 综述 ·

血清 HBsAg 和 HBeAg 的定量检测及临床意义

岑枝梅 冯铁柱

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)侵入人体后主要感染肝脏细胞,可以引起急性或慢性肝炎,导致肝功能衰竭、肝硬化和原发性肝癌等相关疾病,严重危害着人类健康,已经成为全球性重大的公共卫生问题。据世界卫生组织(WHO)报道,全球近 60 亿人口中,约 20 亿人曾感染 HBV,其中 3.5 亿为慢性乙型肝炎患者,中国是 HBV 感染的高流行区。早在 1965 年,Blumberg 等^[1]在人体血液中首先发现了澳大利亚抗原(Australia antigen),命名为乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)。自此,检测患者血清中 HBsAg 水平成为诊断 HBV 感染的基本指标。有研究显示,慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)反复发作的患者获得性免疫细胞的功能低下,其 T 细胞、B 细胞应答能力均较低,病毒复制不能被有效控制,这是导致 HBV 持续性感染的关键因素^[2]。Fattovich 等^[3]一项为期 25 年的有关 CHB 自然史研究发现,免疫控制期患者进展为肝硬化和肝癌的风险降低,生存率达 95%,提示免疫控制是 CHB 治疗的关键。HBV 病原学诊断的新进展包括分子诊断(HBV DNA 载量、基因型、耐药变异等的检测)和血清学检测(HBsAg 定量和 HBeAg 定量)。HBsAg 和 HBeAg 的定量检测是近年来检验技术的重要发展,不仅作为 HBV DNA 定量检测的补充,还能更好地反映人体对 HBV 的免疫控制情况,更适合预测抗病毒治疗尤其是干扰素治疗的长期疗效,以指导临床建立不同患者的个体化治疗方案;HBsAg 和 HBeAg 的定量检测在临床实践中发挥着重要的作用^[4]。

一、血清 HBsAg 定量检测的临床意义

1. HBsAg 的病毒学基础:研究显示 HBsAg 的合成与 HBV 复制分属于不同的信号通路。HBV 复制是以 ccc DNA 为模板,在宿主逆转录作用下转录为复制中间体信使 RNA(mRNA)和前基因 RNA(pgRNA),继而分为 HBV DNA 通路和 HBsAg 通路。

HBV DNA 复制通路:pgRNA 通过逆转录形成复制中间体,即子代负链 DNA,随后在 DNA 多聚酶(DNA polymerase, DNAP)作用下合成为部分双股环化 HBV DNA,进一步与核心抗原共同组成核壳。

HBsAg 合成通路:HBsAg 来源于 3 个不同启动子的 3 个框架(PreS1、PreS2 和 PRFs),经过 HBV mRNA 转录和后续的翻译,产生大、中、小 3 种蛋白后在内质网与成熟的核衣壳组成完整的病毒颗粒(Dane 颗粒)。HBsAg 的合成量远远超过需要组装的完整病毒量,约为 $10^3 \sim 10^5$ IU,而这些缺损颗粒可以逃避宿主的免疫应答。Jaroszewicz 等^[5]研究认为

HBsAg 水平的下降或消失能够反映机体的免疫控制状态。

Nguyen 等^[6]于分子水平对 HBV DNA 定量和 HBsAg 进行分析,并指出其所代表的临床意义:血清 HBV DNA 水平下降提示 HBV DNA 复制水平下降;血清 HBsAg 水平下降具有两个含义,首先提示完整病毒颗粒(Dane 颗粒)的复制下降,其次是缺损病毒(球形和管型)颗粒的减少,而后者代表 ccc DNA 转录的下降和 mRNA 翻译病毒蛋白水平下降。

2. HBsAg 的定量检测方法:目前研究中 HBsAg 的定量检测多采用微粒子分析法(雅培公司 Architect)和电化学发光免疫分析技术(罗氏公司 Elecsys),其中微粒子分析法进行 HBsAg 定量检测应用较为广泛,检测范围为 0.05 ~ 250 IU/ml,标本 1:500 倍稀释可使检测范围达 125 000 IU/ml;其缺点是需要手工稀释,操作繁琐,也是带来实验误差的主要来源。电化学发光免疫分析技术进行 HBsAg 定量检测的优点是可以自动稀释,检测上限可以达到 52 000 IU/ml,由于稀释过程由仪器完成,相对操作方便,也有助于减少实验误差。以上两种均参照 WHO 标准,多项研究显示二者相关性良好^[7]。

3. HBsAg 水平在 CHB 发病过程中的分布特征:欧洲一项对 226 例 HBV 单一感染而未经抗病毒治疗患者的研究显示,免疫耐受期和免疫清除期患者的 HBsAg 水平显著高于低复制期和 HBeAg 阴性患者;同时提示在免疫耐受期和免疫清除期 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量无显著相关性,而在急性肝炎发病过程中却具有高度相关性。该研究还显示 HBsAg 水平与 HBV DNA 载量在 HBV D 基因型患者中具有相关性,在 HBV A 基因型患者中未见相关性^[5]。Nguyen 等^[6]分析亚洲 220 例 HBV 感染者(B 或 C 基因型),血清 HBsAg 滴度在 CHB 自然史中的分布特征。结果显示:① CHB 各期血清 HBsAg 滴度具有显著差异,其中免疫耐受期最高,而免疫清除期最低;② 基因 B 和基因 C 型患者血清 HBsAg 滴度差异无统计学意义;③ 血清 HBsAg 滴度与 HBV DNA 载量仅在 CHB 免疫清除期具有显著相关性,而血清 HBsAg 与 ALT 水平无相关性。

4. HBsAg 定量检测的临床意义:近年来,HBsAg 的检测技术快速发展,目前全球应用于 HBV 筛查的 HBsAg 定性检测试剂有 70 余种,是判断 HBV 感染状态的最常用指标^[8]。随着近年 CHB 治疗中抗病毒药物与 HBV 感染以及血清标志物水平相关性研究的不断深入,单纯 HBsAg 定性检测在疗效的监测,尤其是其早期变化对远期疗效的预测方面已无法满足临床的需求^[9-10]。

近年来 HBsAg 的定量检测有以下进展:①在 CHB 诊断中的意义:HBsAg 定量检测可以精确区分 HBeAg 阴性的慢性肝炎患者是处于活动期还是非活动期。Jaroszewicz 等^[5]研究发现欧洲 HBV 感染者中, HBeAg 阴性的慢性肝炎低复

制期的 HBsAg 水平较基线值增加 3 倍(或 > 3500 IU/ml),提示慢性乙型肝炎病情活动,即 HBV 再次被激活。Brunetto 等^[11]报道在一项 D 基因型 CHB 患者长期随访研究中,满足 HBsAg < 1000 IU/ml 和 HBV DNA < 2000 IU/ml 则可准确地诊断为 HBV 非活动性感染,敏感度和特异性分别为 91.7% 和 94.5%。②在疗效评判中的意义:2010 年《干扰素治疗慢性乙型肝炎专家建议》提出可根据治疗过程中患者 HBsAg 和 HBeAg 定量或半定量检测的动态变化同时结合 HBV DNA 变化,进行综合判断^[12]。近年来国外研究者发现,干扰素尤其是聚乙二醇化干扰素治疗过程中进行 HBsAg 和 HBeAg 定量检测,能更好地预测持久病毒学应答和 HBsAg 转阴和血清转换,因而提出了干扰素治疗过程中“应答指导治疗(response guided therapy, RGT)”的概念^[4,13]。还有研究显示 HBeAg 阴性患者的 HBsAg 定量变化可作为重要的病情预测指标。Moucari 等^[14]的一组 48 例 HBeAg 阴性患者研究的结果显示,经聚乙二醇化干扰素 α -2a 治疗患者的 HBsAg 定量下降仅见于发生持续病毒学应答者。治疗 12 和 24 周后患者血清 HBsAg 定量分别下降 $0.5 \log_{10}$ IU/ml 和 $1 \log_{10}$ IU/ml 的患者具有较高的 HBV DNA 持续应答预测率。值得引起注意的是 HBsAg 的动力学改变在治疗早期(12 周和 24 周)即能区分治疗结束时的 HBV DNA 持续应答者和无应答者。Brunetto 等^[11]在一项 386 例 HBeAg 阴性患者研究中显示,聚乙二醇化干扰素 α -2a 或联合拉米夫定治疗患者的 HBsAg 定量显著下降,治疗结束时的 HBsAg 水平对治疗结束后 6 个月的 HBV DNA 仍 < 400 拷贝/ml 者的疗效有很好的预测作用。治疗结束时 HBsAg 定量 < 10 IU/ml 或治疗期间 HBsAg 定量下降 $> 1 \log_{10}$ IU/ml,与治疗随访 3 年的 HBsAg 持久消失呈显著相关。Wursthorn 等^[15]研究 162 例替比夫定治疗的 HBeAg 阳性患者,结果显示 3 年随访中与 HBeAg 未消失组相比较,HBeAg 消失组的 HBsAg 水平下降速度显著加快。治疗 48 周内 HBsAg 水平下降 $> 1 \log_{10}$ IU/ml 者,持续治疗 3 年后其 HBsAg 消失率为 26%。Chan 等^[16]在一项 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎研究中发现,治疗 6 个月时患者 HBsAg Cut-off 值 < 300 IU/ml 和 HBsAg 水平下降 $> 1 \log_{10}$ IU/ml,联合检测以上两个指标可预测治疗后的持续应答;其敏感性和特异性分别为 62% 和 89%。

二、血清 HBeAg 定量检测的临床意义

1. HBeAg 的合成途径及生物学特征:HBeAg 是以隐蔽形式存在的一种可溶性蛋白,其编码基因与 HBcAg 互相重叠,C 基因编码核心蛋白(HBcAg),前-C 基因起始密码子启动前 C 基因和 C 基因连续编码 HBeAg 前体蛋白,在内质网和高尔基体中进行修正(将氨基端、羧基端部分水解)形成 HBeAg,其功能与 HBcAg 完全不同。

HBeAg 蛋白具有免疫调节作用,无论在乙型肝炎发病自然史还是动物实验中,均认为血清中的 HBeAg 可起到免疫耐受原的功能,导致 T 细胞耐受,而细胞内的 HBeAg 可作为机体抗炎性反应的靶点。未接受抗病毒治疗的 CHB 患者中,HBeAg 阳性提示 HBV 复制活跃,是传染性强的标志;抗-HBe 阳性,若由抗病毒治疗或机体自发对 HBV 免疫清除,则表示 HBV 复制减弱,传染性降低;若由前-C 区 1896 位点

变异所致,HBeAg 分泌减少,提示 HBV 仍在复制,仍有传染性,即为 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎。

2. HBeAg 定量检测:HBeAg 不仅是反映 HBV 复制的指标,而且与自然病程及治疗转归有关,HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎患者在治疗过程中 HBeAg 阴转及血清学转换与长期临床疗效具有相关性,是慢性乙型肝炎抗病毒治疗的目标之一。近期研究表明,通过 HBeAg 基线值和治疗期间 HBeAg 浓度变化的监测可以预测远期的疗效。

与 HBsAg 定量检测不同,目前尚无供常规使用的商品化 HBeAg 定量检测试剂盒,而且 HBeAg 也无 WHO 的标准品。目前所有 HBeAg 的定量化操作均以 PEI U/ml 为单位。慢性乙型肝炎患者的 HBeAg 比 HBsAg 的浓度要低,中位数为 1509 PEI U/ml ($1 \sim 14236$ PEI U/ml),目前罗氏公司的 Elecsys 以及雅培的 Architect 均根据 Cut-off 值(COI,临界参考值)的结果经过公式换算成 PEI U/ml^[11]。

3. HBeAg 定量检测的临床意义:已证实 HBeAg 血清学转换常伴有 HBV DNA 水平下降和 ALT 水平的正常化,肝脏炎症坏死程度减轻。获得 HBeAg 血清学转换的患者可以显著降低疾病的复发和病死率^[17-18]。Fried 等^[19]比较分析聚乙二醇化干扰素 α -2a 治疗 HBeAg 阳性患者 12 周、24 周时 HBeAg 的水平与治疗结束后 24 周的持续 HBeAg 血清学转换率的相关性,结果显示患者治疗中 HBeAg 水平的变化与停药 24 周 HBeAg 血清学转化率相关,治疗中 HBeAg 持续下降患者的持续应答率较高;治疗 24 周时 HBeAg 水平下降至 10 PEI U/ml 以下时约 52% 的患者可获得持续 HBeAg 血清学转换。该研究同时显示 HBeAg 阳性的 CHB 患者经干扰素治疗 24 周为较好的预测疗效的时间节点,治疗 24 周时 HBeAg 水平是较 HBV DNA 更好的预测指标。

总之,HBsAg 和 HBeAg 的定量检测是近年来检验技术的重要进展,可作为 HBV DNA 定量检测的补充,能够更好地反映人体对 HBV 感染的免疫控制情况,更适合预测抗病毒治疗尤其是干扰素治疗的长期疗效,能够很好地指导临床对不同类型乙型肝炎患者给予更合理的治疗。

三、展望

目前研究亟需对现有的 HBsAg 和 HBeAg 定量检测在 Peg-IFN/NA 治疗中的价值进行深入评价,以便进一步阐明 HBsAg 与 HBV DNA 的相关性;明确如何在 Peg-IFN/NA 治疗管理中应用 HBV DNA、HBsAg 和 HBeAg 的定量检测及其他指标,能够更好地确定治疗目标、治疗终点以及停药时间。

参 考 文 献

- 1 Blumberg BS, Alter HJ, Visnitch SA. New antigen in leukemia sera. JAMA, 1965, 191(7):541-546.
- 2 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. N Engl J Med, 2004, 350(11):1118-1129.
- 3 Fattovich G, Olivari N, Pasino M, et al. Long-term outcome of hepatitis B in caucasian patients: mortality after 25 years. Gut, 2008, 57(2):84-90.
- 4 European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B. J Hepatol, 2009, 50(2):227-242.

- 5 Jaroszewicz J, Calle Serrano B, Wurthorn K, et al. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of chronic hepatitis B virus (HBV)-infection: a European perspective. *J Hepatol*, 2010, 52(4):514-522.
- 6 Nguyen T, Thompson AJ, Bowden S, et al. Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic B: A perspective on Asia. *J Hepatol*, 2010, 52(4):508-513.
- 7 Sonneveld MJ, Rijckborst V, Boucher CA, et al. A comparison of two assays for quantification of hepatitis B surface antigen in patients with chronic hepatitis B. *J Clin Virol*, 2011, 51(3):175-178.
- 8 Scheiblaue H, El-Nageh M, Diaz S, et al. Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. *Vox Sang*, 2010, 98(3):403-414.
- 9 Chan HL, Wong VW, Wong GL, et al. A longitudinal study on the natural history of serum hepatitis B surface antigen changes in chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2010, 52(4):1232-1241.
- 10 Sonneveld MJ, Zoutendijk R, Janssen HL. Hepatitis B surface antigen monitoring and management of chronic hepatitis B. *J Viral Hepat*, 2011, 18(7):449-457.
- 11 Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, et al. Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative patients. *Hepatology*, 2009, 49(4):1141-1150.
- 12 万漠彬, 翁心华. 干扰素治疗慢性乙型肝炎专家建议 (2010 更新). *中华传染病杂志*, 2010, 28(4):193-200.
- 13 Lok ASF, McMahon BJ. AASLD practice guidelines. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology*, 2009, 50(3):1-36.
- 14 Moucari R, Mackiewicz V, Lada O, et al. Early serum HBsAg drop: a strong predictor of sustained virological response to pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative patients. *Hepatology*, 2009, 49(4):1151-1157.
- 15 Wurthorn K, Jung M, Riva A, et al. Kinetics of hepatitis B surface antigen decline during 3 year of telbivudine treatment in hepatitis B e antigen positive patients. *Hepatology*, 2010, 52(5):1611-1620.
- 16 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. *Clin gastroenterol Hepatol*, 2007, 5(12):1462-1468.
- 17 Wong VW, Wong GL, Chim AM. Surrogate end points and long-term outcome in patients with chronic hepatitis B. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2009, 7(10):1113-1120.
- 18 Yang HI, Lu SN, Liaw YF, et al. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2002, 347(3):168-174.
- 19 Fried MW, Piratvisuth T, Lau GK, et al. HBeAg and hepatitis B virus DNA as outcome predictor during therapy with peginterferon alfa-2a for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2008, 47(2):428-434.

(收稿日期:2012-03-03)

(本文编辑:孙荣华)

岑枝梅, 冯铁柱. 血清 HBsAg 和 HBeAg 的定量检测及临床意义 [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2012, 6(4): 353-355.