

· 临床论著 ·

慢性乙型肝炎免疫清除期甲胎蛋白与 HBV DNA 清除的相关性研究

庞晓鹰 徐洪涛 杨秀珍 咸建春 沈美龙

【摘要】目的 探讨乙型肝炎免疫清除期, 甲胎蛋白 (AFP) 与 HBV DNA 清除之间的相关性。

方法 收集处于免疫清除期发病 2 周内 AFP 升高 5 倍以上患者共 58 例, 分为非抗病毒治疗组 (下称观察组) 31 例和核苷 (酸) 类似物抗病毒治疗组 (下称阳性对照组) 27 例, 另取同期住院 AFP 阴性首次发病的慢性乙型肝炎核苷 (酸) 类似物抗病毒患者 30 例作为阴性对照组。分析影响 HBV DNA 清除率的相关因素。结果 阳性对照组及阴性对照组患者均行抗病毒治疗, HBV DNA 定量与各临床数据之间均无相关性, 观察组 HBV DNA 定量与各指标之间的关系结果显示, AFP 与 HBV DNA 清除具有显著相关性 ($r = 0.8420$, $P = 0.018$), 以下依次为 ALT ($r = 0.7888$, $P = 0.027$) 和总胆红素 (TBil) ($r = 0.7816$, $P = 0.032$)。HBsAg ($r = 0.0480$, $P = 0.413$) 和 HBeAg ($r = 0.3356$, $P = 0.191$) 与 HBV DNA 清除无显著相关性。结论 对乙型肝炎免疫清除期 AFP 升高 5 倍以上患者, 可先进行密切病情观察, 根据病情需要进行抗病毒治疗。

【关键词】肝炎, 乙型, 慢性; 免疫清除期; 甲胎蛋白; HBV DNA

Correlation between serum alpha-fetoprotein level and HBV DNA clearance in immune clearance phase of patients with chronic hepatitis B PANG Xiaoying, XU Hongtao, YANG Xiuzhen, XIAN Jianchun, SHEN Meilong. Department of Liver Diseases of Taizhou People's Hospital, Taizhou 225300, China
Corresponding author: SHEN Meilong, Email: shenml9326@126.com

【Abstract】Objectives To investigate the relationship between serum alpha-fetoprotein level and HBV DNA clearance in immune clearance phase of patients with chronic hepatitis B (CHB). Methods Total of 58 cases with CHB, who were in immune clearance phase and the serum alpha-fetoprotein level > 5 upper limits of normal in two weeks since disease onset were enrolled. Among which 31 cases received non-antiviral therapy as experimental group, and 27 cases received antiviral therapy as positive control group. While other 30 cases with CHB who were in immune clearance phase and the serum alpha-fetoprotein level were normal in two weeks since disease onset, were enrolled as negative control group. And the correlation factors of HBV DNA clearance were analyzed, respectively. Results There were no significant correlation between HBV DNA clearance and other data in patients who received antiviral therapy in positive and negative control group. In experimental group, there were positive correlation between HBV DNA clearance and serum alpha-fetoprotein level ($r = 0.8420$, $P = 0.018$), and inturn were alanine aminotransferase ($r = 0.7888$, $P = 0.027$), total bilirubin (TBil) ($r = 0.7816$, $P = 0.032$), but there were no significant correlation among HBV DNA clearance with HBsAg ($r = 0.0480$, $P = 0.413$) and HBeAg ($r = 0.3356$, $P = 0.191$). Conclusions Patients with CHB who were in immune clearance phase and the serum alpha-fetoprotein level > 5 upper limits of normal, might be close surveyed firstly, and might be given antiviral therapy when need.

【Key words】Chronic hepatitis B; Immune clearance phase; Alpha-fetoprotein; HBV DNA

在乙型肝炎免疫清除期, 机体免疫系统可逐渐清除体内的 HBV, 可伴随肝脏的炎症活动会增加^[1-2], 肝细胞再生以及甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP) 升高^[3]。AFP 是一种胚胎时期及机体病理状态下产生的生物蛋白质, 其在免疫清除期与 HBV 的相关性未得到应有的重视。本研究旨在研究在免疫清除期, AFP 与 HBV DNA 清除及病情发展的高度相关性, 现报道如下。

资料与方法

一、病例选择及分组

入选患者均为 2010 年 9 月至 2012 年 9 月于泰州市人民医院肝科接受住院治疗的首次发病的慢性乙型肝炎患者(处于免疫清除期)^[1]。诊断皆符合 2010 年制订的慢性乙型肝炎的诊断标准^[4]。所有患者均排除原发性肝癌、其他病毒性肝炎、脂肪性肝炎、酒精性肝炎、药物性肝炎及自体免疫性肝炎。患者均签署知情同意书。其中发病 14 d 内 AFP 升高 5 倍以上患者共 58 例, 按患者意愿分为不抗病毒治疗组(下称观察组) 31 例和核苷(酸)类似物抗病毒治疗组(下称阳性对照组) 27 例, 另取同期住院 AFP 阴性首次发病给予核苷(酸)类似物抗病毒治疗的慢性乙型肝炎患者 30 例作为阴性对照组。各组性别、年龄、身高和体重等差异均无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

二、研究方法

患者入院后常规进行丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总胆红素(TBil)、HBsAg、HBeAg、HBV DNA 载量和 AFP 定量检测并每 14 d 复查 1 次。阳性及阴性对照组在常规护肝治疗基础上给予核苷(酸)类似物抗病毒治疗, 观察组不给予抗病毒治疗, 并观察患者疗程, 所有患者出院后至少随访 6 个月。

三、HBV DNA 载量的检测

HBV DNA 采用 PE5700 全自动荧光定量 PCR

仪及试剂盒(中山医科大学达安基因诊断中心提供)检测, 严格按照说明书操作。

四、HBsAg 和 HBeAg 滴度的测定

采用 Abbott AxSYM (美国雅培公司) 试剂和仪器, 为全自动免疫分析系统, HBsAg 滴度结果以 S/N 表示, 即标本(S)与阴性对照(N)的 A 值之比。S/N ≥ 2.0 为阳性。HBeAg 检测结果以 S/CO 为单位, S/N ≥ 1 为阳性。

五、AFP 的检测

采用微粒子酶免疫分析法(microparticle enzyme linked immunoassay, MEIA)测定。仪器使用德国西门子化学发光仪 Centaur CP, 试剂为该仪器的配套试剂盒, 严格按说明书操作。

六、统计学处理

统计分析用 SPSS 16.0 软件进行, 各组患者之间指标的比较采用 t 检验及直线相关分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、患者的基线情况

本研究中, 观察组 31 例, 阳性对照组 27 例, 阴性对照组 30 例。各组 TBil、ALT、HBV DNA、HBsAg 及 HBeAg 滴度等差异均无统计学意义, 具有可比性, 观察组、阳性对照组与阴性对照组 AFP 差异具有统计学意义($t = 4.632$, $P = 0.002$), 患者基线情况见表 1。

二、各组患者的预后

本组入选患者均病情好转出院, 无 1 例死亡。所有 AFP 升高患者在随访过程中无肝肿瘤发生证据。观察组有 3 例患者行护肝治疗 4 周后病毒载量无显著下降, 而退出观察组, 病毒自动清除率达 90.32% (28/31)。各组患者平均住院天数和平均住院费用比较见表 2, 各组比较差异均无统计学意

表 1 入选患者的基线情况 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | TBil ($\mu\text{mol/L}$) | ALT (U/L) | AFP (ng/ml) |
|-------|----|----------------------------|-------------------|-------------------|
| 观察组 | 31 | 172.6 \pm 71.2 | 573.2 \pm 249.0 | 369.1 \pm 184.1 |
| 阳性对照组 | 27 | 179.3 \pm 68.3 | 527.6 \pm 310.8 | 348.6 \pm 176.2 |
| 阴性对照组 | 30 | 176.1 \pm 77.5 | 601.9 \pm 191.2 | 24.1 \pm 2.8 |
| t | | 0.763 | 0.680 | 4.632 |
| P | | 0.470 | 0.510 | 0.002 |

| 组别 | 例数 | HBV DNA (\log_{10} 拷贝/ml) | HBsAg (S/N) | HBeAg (S/CO) |
|-------|----|------------------------------|---------------------|-------------------|
| 观察组 | 31 | 5.72 \pm 2.87 | 3437.1 \pm 1964.1 | 756.7 \pm 591.2 |
| 阳性对照组 | 27 | 5.96 \pm 2.13 | 3988.6 \pm 2276.2 | 693.5 \pm 669.1 |
| 阴性对照组 | 30 | 5.94 \pm 162.76 | 3816.5 \pm 2862.0 | 782.1 \pm 610.4 |
| t | | 0.876 | 0.654 | 0.966 |
| P | | 0.380 | 0.530 | 0.240 |

表 2 各组患者平均住院天数和住院费用费比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 平均住院天数 (d) | 平均住院费用 (元) |
|----------|-------------|------------------|
| 实验组 | 45.3 ± 14.2 | 22178.4 ± 3670.9 |
| 阳性对照组 | 46.7 ± 13.1 | 21712.3 ± 4460.1 |
| 阴性对照组 | 44.1 ± 14.8 | 22809.8 ± 3955.9 |
| <i>t</i> | 1.362 | 0.793 |
| <i>P</i> | 0.160 | 0.480 |

表 3 观察组患者 HBV DNA 等指标的变化 ($\bar{x} \pm s$)

| 治疗时间 | HBV DNA (log ₁₀ 拷贝/ml) | AFP (ng/ml) | TBil (μmol/L) | ALT (U/L) | HBsAg (S/N) | HBeAg (S/CO) |
|------|-----------------------------------|----------------|---------------|---------------|-------------------|---------------|
| 0 周 | 5.7 ± 2.9 | 369.8 ± 184.0 | 172.6 ± 71.2 | 573.2 ± 249.0 | 3 437.8 ± 1 964.3 | 756.7 ± 591.2 |
| 2 周 | 5.9 ± 2.4 | 1083.1 ± 591.2 | 203.1 ± 87.7 | 221.7 ± 165.6 | 3 675.4 ± 2 016.0 | 741.6 ± 513.5 |
| 4 周 | 4.5 ± 3.0 | 689.6 ± 100.9 | 143.7 ± 91.5 | 40.3 ± 5.8 | 3 859.9 ± 2 103.5 | 801.2 ± 555.4 |
| 6 周 | 3.6 ± 1.6 | 355.2 ± 173.4 | 50.6 ± 45.4 | 27.7 ± 3.9 | 3 457.1 ± 2 045.8 | 792.8 ± 590.0 |
| 8 周 | 3.2 ± 1.7 | 108.3 ± 65.5 | 30.1 ± 17.3 | 26.5 ± 4.8 | 3 760.5 ± 1 962.0 | 789.6 ± 603.3 |
| 16 周 | 3.0 ± 0.7 | 31.1 ± 10.3 | 16.1 ± 9.8 | 28.1 ± 6.2 | 3 578.1 ± 1 960.7 | 748.7 ± 619.2 |
| 20 周 | 3.0 ± 0.7 | 6.5 ± 2.0 | 14.6 ± 5.9 | 21.5 ± 3.0 | 3 428.9 ± 1 994.1 | 785.5 ± 590.3 |
| 24 周 | 2.6 ± 0.4 | 3.2 ± 2.1 | 8.1 ± 6.0 | 21.6 ± 3.2 | 3 635.6 ± 1 987.6 | 761.9 ± 568.2 |

义 (P 均 > 0.05)。

三、HBV DNA 清除与各临床指标的相关性

阳性对照组和阴性对照组患者均给予抗病毒治疗, 其 HBV DNA 载量与各临床指标之间均无相关性 (数据略), 观察组 HBV DNA 载量与各指标的相关性检测结果显示, AFP 与 HBV DNA 清除具有显著相关性 ($r = 0.8420$, $P = 0.018$), 以下依次为 ALT ($r = 0.7888$, $P = 0.027$) 和 TBil ($r = 0.7816$, $P = 0.032$)。HBsAg ($r = 0.0480$, $P = 0.413$) 和 HBeAg ($r = 0.3356$, $P = 0.191$) 与 HBV DNA 清除无显著相关性 (P 均 > 0.05), 见表 3 和图 1 ~ 5。

讨 论

HBV 感染的第二阶段为免疫清除期^[1]。其特点是血清 HBV DNA 载量高, ALT/AST 持续或间接升高, 肝组织学有坏死和炎症表现^[5-6]。由于 HBV 在人体内大量复制, 激活了免疫细胞, 机体的免疫系统开始向 HBV 发起免疫攻击, 机体处较活跃的免疫应答状态。免疫系统在攻击肝细胞膜上 HBsAg 时, 导致大量肝细胞损伤或坏死, 并伴随着肝细胞的再生, 临床可能出现黄疸升高及转氨酶异常^[5]。

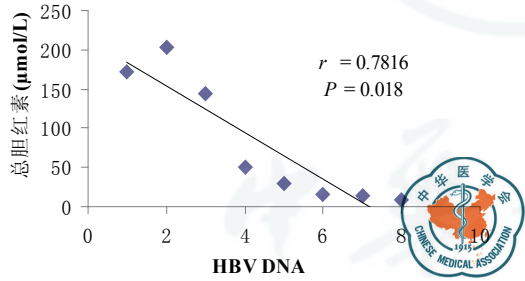


图 1 HBV DNA 定量与总胆红素的相关性分析

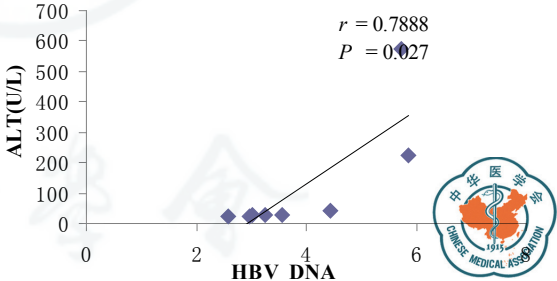


图 2 HBV DNA 定量与 ALT 的相关性分析

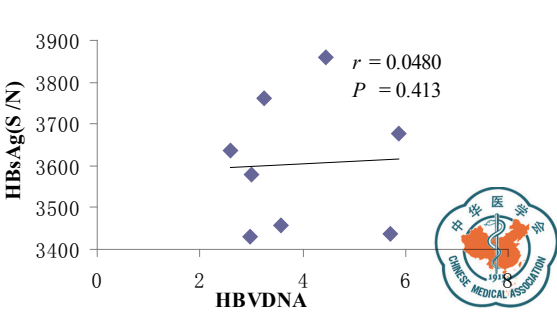


图 3 HBV DNA 定量与 HBsAg 的相关性分析

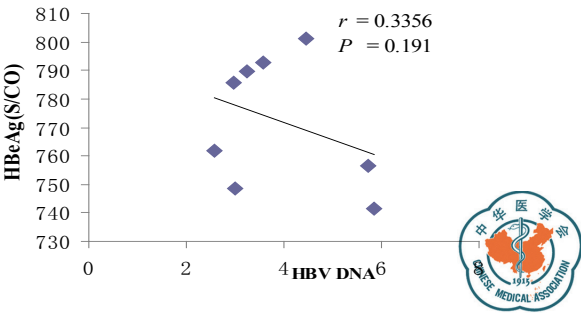


图 4 HBV DNA 定量与 HBeAg 的相关性分析

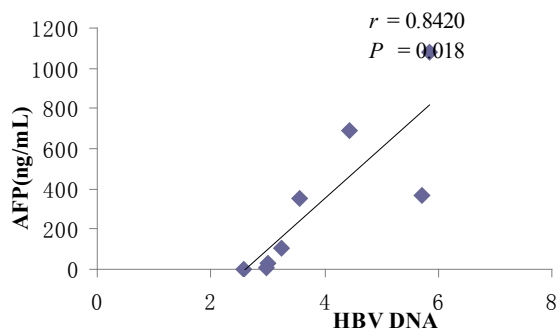


图5 HBV DNA 定量与 AFP 的相关性分析

AFP 是一种胚胎时期及机体病理状态下产生的生物蛋白质^[3]。伴随着细胞分裂的旺盛过程,当人体发育成熟时,AFP 分泌减少,但当发生肝细胞癌或肝脏损伤时,肝细胞便分泌大量的 AFP。自 60 年代发现 AFP 与肝癌的高度相关性以来,AFP 作为肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的标志已广泛用于肝癌的筛检、诊断、早期诊断、鉴别诊断、疗效评价以及判断预后等多方面^[7-8]。但近年来,有研究认为 AFP 在急性肝炎或慢性肝炎急性发作时的急剧升高有可能与肿瘤无关。早在 2005 年有报道显示,肝硬化患者急性肝损害时,伴随 AFP 升高,患者无肿瘤发生迹象^[9]。Tai 等^[10]和 Kobeisy 等^[11]研究认为,在无肝癌发生的丙型肝炎患者,AFP 升高与肝纤维化的进展等密切相关。Fung 等^[12]亦在乙型肝炎患者中得出类似结论。但其在免疫清除期与 HBV 关系未得到应有的重视。本研究发现,在乙型肝炎免疫清除期 AFP 升高患者,伴随着 HBV DNA 载量的下降,其 AFP 随之下降,具较强相关性。这可能与携带病毒的肝细胞受到损伤或坏死,伴随着肝细胞的再生有关。这也可能是 ALT、总胆红素与 HBV DNA 载量下降有高度相关性的原因。本研究未发现 HBsAg 和 HBeAg 滴度与 HBV DNA 载量下降之间有相关性。

近年来,乙型肝炎抗病毒治疗愈加受到重视,有指南认为对乙型肝炎应进行积极的抗病毒治疗^[13-14],本研究发现,在乙型肝炎免疫清除期发病 14 d 内 AFP 升高 5 倍以上患者,其可能发生病毒清除概率较高 (28/31),且不影响患者预后及不加重患者住院时间

和费用。对免疫清除期发病 14 d 内 AFP 升高 5 倍以上患者,可暂时进行密切病情观察,根据病情需要再决定是否抗病毒治疗。

参考文献

- 1 Nebbia G, Peppia D, Maini MK. Hepatitis B infection: current concepts and future challenges[J]. QJM,2012,105(2):109-113.
- 2 European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol,2012,57(1):167-185.
- 3 Nakao K, Ichikawa T. Recent topics on alpha-fetoprotein[J]. Hepatol Res,2013,43(8):820-825.
- 4 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. 中国病毒病杂志,2011,1(3):9-23.
- 5 Illoeje UH, Yang HI, Chen CJ. Natural history of chronic hepatitis B: what exactly has REVEAL revealed?[J]. Liver Int,2012,32(9):1333-1341.
- 6 Szpakowski JL, Tucker LY. Causes of death in patients with hepatitis B: a natural history cohort study in the United States[J]. Hepatology,2013,58(1):21-30.
- 7 Tinkle CL, Haas-Kogan D. Hepatocellular carcinoma: natural history, current management, and emerging tools[J]. Biologics,2012,6(1):207-219.
- 8 Mondal G, Chatterjee U, Chawla YK, et al. Alterations of glycan branching and differential expression of sialic acid on alpha fetoprotein among hepatitis patients[J]. Glycoconj J,2011,28(1):1-9.
- 9 Bae JS, Park SJ, Park KB, et al. Acute exacerbation of hepatitis in liver cirrhosis with very high levels of alpha-fetoprotein but no occurrence of hepatocellular carcinoma[J]. Korean J Intern Med,2005,20 (1):80-85.
- 10 Tai WC, Hu TH, Wang JH, et al. Clinical implications of alpha-fetoprotein in chronic hepatitis C[J]. J Formos Med Assoc,2009,108(3):210-218.
- 11 Kobeisy MA, Morsy KH, Galal M, et al. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein (AFP) in patients with chronic hepatitis C without hepatocellular carcinoma in upper EGYPT[J]. Arab J Gastroenterol,2012,13(2):49-53.
- 12 Fung J, Lai CL, Fong DY, et al. Correlation of liver biochemistry with liver stiffness in chronic hepatitis B and development of a predictive model for liver fibrosis[J]. Liver Int,2008,28(10):1408-1416.
- 13 王贵强. 2012年版亚太《慢性乙型肝炎病毒感染治疗指南》要点解读[J].中华内科杂志,2012,51(10):749-750.
- 14 Chen TM, Chang CC, Huang PT, et al. Performance of risk estimation for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B (REACH-B) score in classifying treatment eligibility under 2012 Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) guideline for chronic hepatitis B patients[J]. Aliment Pharmacol Ther,2013,37(2):243-251.

(收稿日期: 2013-08-01)

(本文编辑: 孙荣华)