

HBsAg定量在慢性乙型肝炎患者干扰素抗病毒治疗中的变化及临床意义

张楠¹ 颜学兵² 郝俊贵² 张言超²

【摘要】目的 研究HBsAg定量在慢性乙型肝炎患者干扰素抗病毒治疗期间的变化及临床意义。**方法** 收集43例接受IFN- α 治疗的HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者为研究对象。分别在治疗前和治疗后1、3和6个月时定量检测患者血清HBsAg水平；并同时监测其HBV DNA、HBeAg、HBcAb及ALT的水平。**结果** 43例患者治疗前和治疗后1、3、6个月时血清HBsAg水平呈下降趋势，差异具有统计学意义($P = 0.029$)；治疗1个月时较治疗前有所下降，但差异无统计学意义($t = -1.12$ 、 $P = 0.304$)；治疗3个月和6个月时均较治疗前显著下降，差异具有统计学意义($t = -2.71$ 、 $P = 0.015$ ， $t = -2.71$ 、 $P = 0.010$)；其他不同时间点间比较差异均无统计学意义。IFN- α 治疗6个月时患者血清HBsAg下降 $> 0.5 \log_{10}$ IU/ml组患者ALT复常率高于下降 $< 0.5 \log_{10}$ IU/ml组，差异具有统计学意义($\chi^2 = 5.536$ 、 $P = 0.019$)；下降 $> 0.5 \log_{10}$ IU/ml组HBeAg阴转率高于下降 $< 0.5 \log_{10}$ IU/ml组，差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.226$ 、 $P = 0.040$)；下降 $> 0.5 \log_{10}$ IU/ml组HBeAg血清学转换率高于下降 $< 0.5 \log_{10}$ IU/ml组，差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.226$ 、 $P = 0.040$)。**结论** HBsAg定量在慢性乙型肝炎患者IFN- α 治疗早期呈下降趋势。HBsAg定量在慢性乙型肝炎IFN- α 治疗早期下降迅速的患者ALT复常率、HBeAg阴转率及HBeAg血清学转换率均高于下降缓慢者。

【关键词】 表面抗原，肝炎病毒，乙型；丙氨酸氨基转氨酶；e抗原，肝炎病毒，乙型；血清学转换

Changes and clinical significance of quantitative hepatitis B surface antigen in patients with chronic hepatitis B receiving interferon therapy Zhang Nan¹, Yan Xuebing², Hao Jungui², Zhang Yanchao².

¹Intensive Care Unit, Wuxi No.2 People's Hospital, Wuxi 214000, China; ²Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China

Corresponding author: Yan Xuebing, Email: yxbxuzhou@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the changes and clinical significance of quantitative hepatitis B surface antigen (HBsAg) in patients with chronic hepatitis B (CHB) receiving interferon- α (IFN- α) therapy. **Methods** Total of 43 CHB patients with HBeAg-positive who received IFN- α therapy were enrolled. The levels of serum HBsAg were detected before treatment and after 1 month, 3 months and 6 months respectively; while the levels of HBV DNA, HBeAg, HBcAb and ALT were monitored, respectively. **Results** The levels of serum HBsAg decreased during the IFN- α therapy, with significant difference ($P = 0.029$); the level of HBsAg at 1 month after treatment was lower than the baseline, but with no significant difference ($t = -1.12$, $P = 0.304$); the level of HBsAg at 3 and 6 months after treatment were lower than the baseline, with significant differences ($t = -2.71$, $P = 0.015$; $t = -2.71$, $P = 0.010$); there were no significant difference between other time points (P all > 0.05). After 6 months treatment, the patients with a reduction of HBsAg $> 0.5 \log_{10}$ IU/ml achieved higher ALT normalization rate ($\chi^2 = 5.536$, $P = 0.019$), HBeAg loss rate ($\chi^2 = 4.226$, $P = 0.040$) and HBeAg seroconversion rate ($\chi^2 = 4.226$, $P = 0.040$) than the rest patients with a reduction of HBsAg $< 0.5 \log_{10}$ IU/ml. **Conclusions** The levels of serum HBsAg in patients with CHB decreased during IFN- α early treatment. The patients whose serum HBsAg decreased

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2016.02.004

基金项目：国家自然科学基金项目 (No. 81371867)；江苏省“科教兴卫”医学重点人才培养基金 (No. RC2011117)；江苏省第四期“333高层次人才培养工程”

作者单位：214000 无锡市，江苏省无锡市第二人民医院重症医学科¹；221002 徐州市：徐州医学院附属医院感染性疾病科²

通讯作者：颜学兵，Email: yxbxuzhou@126.com

faster had higher ALT normalization rates, HBeAg loss rates and HBeAg seroconversion rates than the other ones.

【Key words】 Hepatitis B surface antigen; Alanine Transaminase; Hepatitis B e antigen; Seroconversion

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染是严重的社会公共卫生问题^[1], HBV感染可导致慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB), CHB可以发展为肝硬化、肝细胞癌, 甚至可以导致患者死亡。

HBV感染的慢性进展决定了抗病毒治疗是一个漫长的过程, 至今公认的抗HBV治疗药物有干扰素 (interferon alpha, IFN- α) 和核苷 (酸) 类似物 [nucleos(t)ide analogues, NA] 两大类^[2]。现有的这两大类抗HBV药物各有优缺点: NA抗病毒起效快, 但HBeAg血清学转换发生率较低、难以停药、部分在治疗过程中容易产生耐药; 而IFN- α 直接抗病毒作用较弱, 抗病毒起效较慢, 但其具有疗程相对固定、不易产生病毒耐药、HBeAg和HBsAg血清学转换率高且应答持久的优势。两者抗HBV作用靶位及机制不同, 联合应用理论上可实现其优势互补。

近几年来, 伴随着HBsAg定量检测技术的发展, 越来越多的研究为重新认识HBsAg及其变化在临床实践中的意义提供了更多的依据^[3], 新的研究结果提示, 血清HBsAg水平与肝细胞内的共价闭合环状DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA) 数量相关, 与HBV DNA消长并不完全同步^[4]; HBsAg的水平和变化可以作为自然史不同阶段的重要观察指标; HBsAg水平的下降可以反映免疫控制, HBsAg定量能够很好地预测聚乙二醇化干扰素- α (peginterferon alpha, PegIFN- α) 的治疗应答, 与HBV DNA定量结合用于临床评价抗病毒治疗效果可起到互补作用^[5]。

本研究初步探讨了HBsAg定量在CHB患者IFN- α 抗病毒治疗早期的变化趋势及其临床意义, 现报道如下。

资料和方法

一、研究对象

收集2013年10月至2014年10月就诊于徐州医学院附属医院感染性疾病科 (门诊和住院) 的接受

IFN- α 治疗的HBeAg阳性CHB患者共43例, 其中男性30例, 女性13例, 平均年龄 (29.5 ± 8.3) 岁, ALT水平为 (122.9 ± 78.3) U/L, HBV DNA水平为 (6.73 ± 1.00) \log_{10} IU/ml。诊断符合2010年中国《慢性乙型肝炎防治指南》的标准^[6]。所有患者均除外合并其他嗜肝病毒感染、酒精性肝炎、自身免疫性疾病等, 并且至少半年内未经免疫调节剂及其他抗病毒治疗。

二、血清学检测

分别收集患者治疗前和治疗后1、3、6个月时的血清标本并进行相关指标的检测。ALT测定使用日本Olympus AU 270仪, 正常值参考范围为0~40 U/L。HBsAg、HBeAg及HBcAb采用美国雅培公司生产的ARCHITECT i1000SR仪器, 使用其配套专用试剂进行检测; 其中HBsAg定量检测范围为0~250 IU/ml, 若标本HBsAg > 250 IU/ml, 则采用稀释500倍再次检测。HBV DNA采用上海科华生物工程股份有限公司的乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒 (PCR-荧光探针法) 检测, 检测下限为500 IU/ml。

三、统计学处理

所有数据均采用SPSS 19.0统计学软件包处理。HBV DNA与HBsAg定量进行对数转换以改善正态性。定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本均数比较采用独立样本 t 检验, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 两样本率的比较采用 χ^2 检验或校正 χ^2 检验, 构成比的比较采用 χ^2 检验或确切概率法, 相关分析采用Pearson相关分析或Spearman相关分析。双侧检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、血清HBsAg定量的动态变化

43例患者在接受IFN- α 治疗前和治疗后1、3、6个月时血清HBsAg的水平整体呈下降趋势, 差异具有统计学意义 ($F = 3.073$ 、 $P = 0.029$)。治疗1个月时较治疗前有所下降, 但差异无统计学意义 ($t = -1.12$ 、 $P = 0.304$); 治疗3个月和6个

月时均较治疗前显著下降,差异具有统计学意义($t=-2.71$ 、 $P=0.015$ 、 $t=-2.71$ 、 $P=0.010$);其他不同时间点间差异无统计学意义($P>0.05$)。

二、治疗6个月时患者的应答情况

治疗6个月时有26例患者ALT水平复常(0~40 U/L),ALT复常率为60.5%(26/43);14例患者HBV DNA低于检测下限(500 IU/ml),HBV DNA低于检测下限的比率为32.6%(14/43);9例患者HBeAg阴转,HBeAg阴转率为20.9%(9/43);9例患者发生HBeAg血清学转换,产生HBeAb,HBeAg血清学转换率为20.9%(9/43)。

三、相关性分析

1. 血清HBsAg水平与HBV DNA水平的相关性:抗病毒治疗前、治疗1个月、3个月和6个月两者均呈正相关($r=0.566$ 、 $P<0.001$, $r=0.440$ 、 $P=0.003$, $r=0.424$ 、 $P=0.005$, $r=0.465$ 、 $P=0.002$)。

2. 血清HBsAg水平与HBeAg水平的相关性:抗病毒治疗前、治疗1个月、3个月和6个月两者均呈正相关($r=0.417$ 、 $P=0.005$, $r=0.416$ 、 $P=0.005$, $r=0.371$ 、 $P=0.014$, $r=0.306$ 、 $P=0.046$)。

3. 不同治疗时间点血清HBsAg水平与HBcAb

及ALT均无显著相关性(P 均 >0.05)。

四、治疗6个月后不同血清HBsAg下降幅度患者疗效比较

1. 基线特征比较:共有14例患者在治疗6个月时血清HBsAg下降 $>0.5 \log_{10}$ IU/ml,29例患者下降 $<0.5 \log_{10}$ IU/ml,IFN- α 治疗前两组患者性别构成比、家族史构成比、年龄、ALT、HBV DNA、HBsAg、HBeAg和HBcAb水平差异均无统计学意义,见表1。

2. 治疗6个月时的应答情况:治疗6个月后ALT复常率血清HBsAg下降 $>0.5 \log_{10}$ IU/ml组(12/14、85.7%)高于下降 $<0.5 \log_{10}$ IU/ml组(14/29、48.3%);HBeAg阴转率,下降 $>0.5 \log_{10}$ IU/ml组(6/14、42.9%)高于下降 $<0.5 \log_{10}$ IU/ml组(3/29、10.3%);HBeAg血清学转换率,下降 $>0.5 \log_{10}$ IU/ml组(6/14、42.9%)高于下降 $<0.5 \log_{10}$ IU/ml组(3/29、10.3%);两组患者HBV DNA低于检测下限的比率差异无统计学意义,见表2。

五、接受IFN- α 治疗12个月患者血清HBsAg定量的动态变化和应答情况

1. 血清HBsAg定量的动态变化:13例应用IFN- α 满12个月的患者在治疗前和治疗后1、3、6、9、12个月时血清HBsAg水平未见显著下降。

表1 患者接受IFN- α 治疗前的基线特征

指标	血清HBsAg		统计量	P值
	下降 $>0.5 \log_{10}$ IU/ml ($n=14$)	下降 $<0.5 \log_{10}$ IU/ml ($n=29$)		
性别(男/女) ^a	11/3	19/10	—	0.491
家族史(有/无)	6/8	13/16	$\chi^2=0.015$	0.903
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	29.6 \pm 9.8	29.4 \pm 7.7	$t=0.071$	0.944
ALT($\bar{x} \pm s$, U/L)	126.4 \pm 65.9	121.2 \pm 84.7	$t=0.348$	0.729
HBV DNA($\bar{x} \pm s$, \log_{10} IU/ml)	6.75 \pm 1.08	6.72 \pm 0.99	$t=0.065$	0.948
HBsAg($\bar{x} \pm s$, \log_{10} IU/ml)	3.96 \pm 0.55	3.81 \pm 0.46	$t=0.958$	0.344
HBeAg($\bar{x} \pm s$, PEIU/ml)	267.74 \pm 193.21	200.03 \pm 177.33	$t=1.094$	0.280
HBcAb($\bar{x} \pm s$, S/CO)	10.73 \pm 2.39	10.23 \pm 2.11	$t=1.171$	0.248

注:^a确切概率法,无相关统计量值

表2 患者接受IFN- α 治疗6个月时的治疗应答[例(%)]

指标	血清HBsAg		χ^2 值	P值
	下降 $>0.5 \log_{10}$ IU/ml ($n=14$)	下降 $<0.5 \log_{10}$ IU/ml ($n=29$)		
ALT复常	12 (85.7)	14 (48.3)	5.536	0.019
HBV DNA低于检测下限 ^a	5 (35.7)	9 (31.0)	0.000	1.000
HBeAg阴转 ^a	6 (42.9)	3 (10.3)	4.226	0.040
HBeAg血清学转换 ^a	6 (42.9)	3 (10.3)	4.226	0.040

注:^a校正 χ^2 检验

2. 治疗12个月时的应答情况: 有8例ALT复常, ALT复常率为61.5% (8/13); 7例HBV DNA低于检测下限, HBV DNA低于检测下限的比率为53.8% (7/13); 7例HBeAg阴转, HBeAg阴转率为53.8% (7/13); 7例HBeAg发生血清学转换, HBeAg血清学转换率为53.8% (7/13); 有1例HBsAg阴转, HBsAg阴转率为7.7% (1/13)。

讨 论

HBV在感染者肝细胞内形成cccDNA, 而目前尚无作用于cccDNA的药物, 故慢性化发展决定了抗HBV治疗是一个漫长的过程, 如何筛选合适的患者、达到理想的停药指标、实现有限疗程仍然是亟需解决的问题。虽然在CHB患者的管理方面, 血清HBV DNA定量仍然是最广泛使用的病毒学标志物, 但其检测费用昂贵, 且并非总能准确地反应持续病毒学应答(sustained virologic response, SVR)^[7]。因而, 寻找能够预测抗HBV应答及停药的简便、易行及可靠的指标已成为该领域的研究热点。

血清HBsAg水平可以反映肝细胞内共价闭合环状DNA的水平^[8], 是活性cccDNA转录的标志, 亦可反映机体的免疫控制。PegIFN- α 治疗后HBsAg下降可能与cccDNA下降相关^[9-13]。

愈来愈多的研究显示, HBsAg定量和HBeAg可以预测PegIFN- α 的疗效, 亦可以用来预测NA的疗效^[8-10, 12, 14-16], HBsAg定量是评估CHB病情控制的必不可少的工具^[17-19]。HBsAg是最难以阴转的HBV标记物之一, 在宿主转录和翻译表达过程没有障碍的前提下, HBsAg水平下降、消失甚至发生HBsAg的血清学转换, 预示体内HBV DNA下降或者HBV cccDNA下降。近期研究提示, HBsAg可作为预测PegIFN- α 或NA单一抗HBV疗效的指标^[20-22]。

HBsAg水平与病情轻重有一定的相关性, 可以利用HBsAg来预测干扰素治疗HBeAg阴性CHB患者治疗疗效重要^[5, 23]。Moucari等^[12]HBeAg阴性并接受48周IFN- α 治疗的患者进行观察, 发现血清HBsAg水平在治疗过程中下降的程度越多, 患者越容易达到SVR, 而最终病毒反弹患者的HBsAg水平在IFN- α 治疗过程中无显著下降趋势。在HBeAg阳性CHB患者中Janssen等^[24]发现对于干扰素应答患者的HBsAg下降幅度较大, 获得5年内持续应答

的患者(发生HBeAg血清学转换和HBV DNA < 2 000 IU/ml)在治疗结束时HBsAg水平较低。本研究发现43例HBeAg阳性患者在接受IFN- α 治疗6个月期间血清HBsAg水平呈下降趋势, 并且治疗3个月和6个月时均较治疗前显著下降; 在治疗6个月时血清HBsAg水平下降 > 0.5 log₁₀IU/ml组的患者较下降 < 0.5 log₁₀IU/ml组有着更高的ALT复常率、HBeAg阴转率及HBeAg血清学转换率, 提示接受IFN- α 抗病毒治疗的CHB患者HBsAg下降快的更容易控制肝脏的炎症活动, 取得更高的HBeAg阴转率及血清学转换率。本研究中13例抗病毒治疗满12个月的患者中有1例患者获得HBsAg的清除, 但血清HBsAg水平整体并未见到显著下降, 这可能与患者例数有限有一定相关性, 本研究仍需要大量的临床样本, 以进一步探讨患者在干扰素治疗期间血清HBsAg水平的动态变化。

本研究还发现43例患者在抗病毒治疗的不同时间点(治疗前和治疗后1、3、6个月), 血清HBsAg水平与HBV DNA水平及HBeAg水平均呈正相关, 即患者接受IFN- α 治疗早期, 血清HBV DNA及HBeAg水平在治疗期间呈下降趋势, 这与Brunetto等^[2]研究血清HBsAg水平与HBV DNA消长并不完全同步的结果是不一致的, 但因本研究病例数尚少并且随访时间有限, 仍需大样本例数的观察以证实。

本研究结果为整个试验的部分结果, 随着患者病例数量的增加, 治疗时间的延长, 观察终点的延长, 血清HBsAg水平是否会逐渐下降, HBV DNA低于检测下限的比率、HBeAg的阴转率及血清学转换率是否会随血清HBsAg水平的下降而升高, 仍有待进一步研究。

综上所述, CHB患者在接受IFN- α 抗病毒治疗早期HBsAg定量呈下降趋势; HBsAg定量下降迅速的患者更容易实现生物化学应答, HBeAg更容易实现阴转并达到HBeAg的血清学转换。

参 考 文 献

- 1 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences[J]. N Engl J Med, 2004, 350(11): 1118-1129.
- 2 Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, et al. Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop[J]. Hepatology, 2007, 45(4): 1056-1075.
- 3 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.
- 4 Brunetto MR. A new role for an old marker, HBsAg[J]. J Hepatol, 2010, 52(4): 475-477.

- 5 Chan HL, Thompson A, Martinot-Peignoux M, et al. Hepatitis B surface antigen quantification: why and how to use it in 2011-a core group report[J]. *J Hepatol*,2011,55(5):1121-1131.
- 6 中华医学会肝病学会和感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010)年版[J]. *中华肝脏病杂志*,2011,19(1):13-24.
- 7 Bowden S. Serological and molecular diagnosis[J]. *Semin Liver Dis*,2006,26(2):97-103.
- 8 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[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*,2007,5(12):1462-1468.
- 9 Rijckborst V, Hansen BE, Cakaloglu Y, et al. Early on-treatment prediction of response to peginterferon alfa-2a for HBeAg-negative chronic hepatitis B using HBsAg and HBV DNA levels[J]. *Hepatology*,2010,52(2):454-461.
- 10 Sonneveld MJ, Rijckborst V, Boucher CA, et al. Prediction of sustained response to peginterferon alfa-2b for hepatitis B e antigen positive chronic hepatitis B using on-treatment hepatitis B surface antigen decline[J]. *Hepatology*,2010,52(4):1251-1257.
- 11 Piratvisuth T, Marcellin P, Popescu M, et al. Hepatitis B surface antigen: association with sustained response to peginterferon alfa-2a in hepatitis B e antigen-positive patients[J]. *Hepatol Int*,2011,7(2):429-436.
- 12 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[J]. *Hepatology*,2009,49(4):1151-1157.
- 13 Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, et al. Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B[J]. *Hepatology*,2009,49(4):1141-1150.
- 14 Ozaras R, Tabak F, Tahan V, et al. Correlation of quantitative assay of HBsAg and HBV DNA levels during chronic HBV treatment[J]. *Dig Dis Sci*,2008,53(11):2995-2298.
- 15 Wursthorn K, Jung M, Riva A, et al. Kinetics of hepatitis B surface antigen decline during 3 years of telbivudine treatment in hepatitis B e antigen-positive patients[J]. *Hepatology*,2010,52(5):1611-1620.
- 16 Chen J, Wang Z, Guo Y, et al. Serum HBsAg changes in HBeAg positive chronic hepatitis B patients with continuous viral load reductions during treatment with adefovir or peg-interferon-alpha-2a[J]. *Antiviral Res*,2009,81(1):88-91.
- 17 Akuta N, Suzuki F, Kobayashi M, et al. Correlation between hepatitis B virus surface antigen level and alpha-fetoprotein in patients free of hepatocellular carcinoma or severe hepatitis[J]. *J Med Virol*,2014,86(1):131-138.
- 18 Liu J, Yang HI, Lee MH, et al. Incidence and determinants of spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance: a community-based follow-up study[J]. *Gastroenterology*,2010,139(2):474-482.
- 19 Chan HLY, Wong GLH, Tse CH, et al. Viral determinants of hepatitis B surface antigen seroclearance in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients[J]. *J Infect Dis*,2011,204(3):408-414.
- 20 Kobayashi M, Hosaka T, Suzuki F, et al. Seroclearance rate of hepatitis B surface antigen in 2,112 patients with chronic hepatitis in Japan during long-term follow-up[J]. *J Gastroenterol*,2014,49(3):538-546.
- 21 Brunetto MR, Oliveri F, Colombatto P, et al. Hepatitis B surface antigen serum levels help to distinguish active from inactive hepatitis B virus genotype D carriers[J]. *Gastroenterology*,2010,139(2):483-490.
- 22 Lin LY, Wong VW, Zhou HJ, et al. Relationship between serum hepatitis B virus DNA and surface antigen with covalently closed circular DNA in HBeAg-negative patients[J]. *J Med Virol*,2010,82(9):1494-1500.
- 23 Thompson AJ, 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 virus markers[J]. *Hepatology*,2010,51(6):1933-1944.
- 24 Janssen HL, Kerhof-Los CJ, Heijink RA, et al. Measurement of HBsAg to monitor hepatitis B viral replication in patients on alpha-interferon therapy[J]. *Antiviral Res*,1994,23(3-4):251-257.
- (收稿日期: 2015-06-02)
(本文编辑: 孙荣华)

张楠, 颜学兵, 郝俊贵, 等. HBsAg定量在慢性乙型肝炎患者干扰素抗病毒治疗中的变化及临床意义[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志:电子版*,2016,10(2):146-150.