

# 乙型肝炎病毒逆转录酶区耐药突变对血清乙型肝炎病毒表面抗原水平的影响

张小曼<sup>1</sup> 马筱秋<sup>2</sup> 许正锯<sup>1</sup> 张纯瑜<sup>1</sup> 何彩婷<sup>1</sup>

**【摘要】目的** 探讨乙型肝炎病毒(HBV)逆转录酶区(RT)耐药突变对血清HBV表面抗原(HBsAg)水平的影响。**方法** 采用聚合酶链反应(PCR)产物直接测序法分析2016年1月至2021年12月于联勤保障部队第九一〇医院感染科接受核苷(酸)类药物(NAs)治疗的402例慢性乙型肝炎(CHB)患者RT区序列,根据RT区耐药突变情况分为HBV RT野生组(181例)和HBV RT耐药突变组(221例,其中A181突变患者33例、V191突变患者15例、L180 + M204V突变患者82例、M204I突变患者91例)。采用非参数秩和检验(Mann-Whitney *U*)探讨血清HBsAg水平的影响因素及HBV RT区耐药突变对血清HBsAg水平的影响;采用Spearman相关性分析探讨HBV RT耐药突变组血清HBsAg与HBV DNA相关性。**结果** 入组402例CHB病例中,HBV RT野生组患者血清HBsAg、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)B型基因所占比例显著高于HBV RT耐药突变组,差异均有统计学意义( $Z = -3.426, P = 0.001, Z = -2.347, P = 0.019, Z = -2.532, P = 0.011, Z = -10.387, P = 0.001$ )。HBV RT耐药突变组患者中,A181突变组、V191突变组、L180 + M204V突变组、M204I耐药突变组血清HBsAg水平均显著低于HBV RT野生组( $Z = 2.475, P = 0.013, Z = 2.148, P = 0.032, Z = 2.115, P = 0.034, Z = 2.449, P = 0.014$ )。HBV DNA水平在各突变组间两两比较差异均无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ )。血清HBsAg水平与HBV DNA载量在A181突变组、L180M + M204V突变组和M204I突变组中均呈显著正相关性( $r = 0.486, P = 0.004, r = 0.578, P < 0.001, r = 0.369, P < 0.001$ )。**结论** HBV RT区A181、V191、L180及M204V位点突变显著降低了CHB患者血清HBsAg水平。

**【关键词】** 肝炎,乙型;逆转录酶区;耐药突变;乙型肝炎病毒表面抗原;乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸

**Effect of drug-resistant mutations in reverse transcriptase region of hepatitis B virus on the level of serum hepatitis B surface antigen** Zhang Xiaoman<sup>1</sup>, Ma Xiaoqiu<sup>2</sup>, Xu Zhengju<sup>1</sup>, Zhang Chunyu<sup>1</sup>, He Caiting<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Infectious Diseases Department, <sup>2</sup>Department of Health Medicine, the 910th Joint Logistic Support Unit of the People's Liberation Army of China, Quanzhou 362000, China

Corresponding author: He Caiting, Email: 253886200@qq.com

**【Abstract】Objective** To investigate the effect of drug-resistant mutations in the reverse transcriptase region (RT) of hepatitis B virus (HBV) on serum hepatitis B surface antigen (HBsAg) level. **Methods** HBV DNA RT region was sequenced from 402 patients with chronic hepatitis B (CHB) who received nucleos(t)ide analogues drug treatment in Infectious Diseases Department of the 910th Joint Logistic Support Unit of the People's Liberation Army of China from January 2016 to December 2021 by direct sequencing. According to the resistance mutation in RT region, the patients were divided into HBV RT wild group (181 cases) and HBV RT resistant mutation group (221 cases, including 33 cases with A181 mutation, 15 cases with V191 mutation, 82 cases with L180 + M204V mutation and 91 cases with M204I mutation). The influence factors of serum HBsAg level and the impact of HBV RT region resistance mutations on

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2023.05.006

基金项目: 泉州市科技计划项目 (No. 2018N135S)

作者单位: 362000 泉州市, 联勤保障部队第九一〇医院感染科<sup>1</sup>、体检中心<sup>2</sup>

通信作者: 何彩婷, Email: 253886200@qq.com

serum HBsAg level were analyzed by non parametric rank sum test (Mann Whitney *U*). The correlation between serum HBsAg level and HBV DNA in HBV RT resistant mutation group was explored by Spearman correlation analysis. **Results** The levels of serum HBsAg, ALT, AST and HBV genotype B infected patients in HBV RT wild group were significantly higher than those in HBV RT resistant mutation group ( $Z = -3.426, P = 0.001$ ;  $Z = -2.347, P = 0.019$ ;  $Z = -2.532, P = 0.011$ ;  $Z = -10.387, P = 0.001$ ). Among patients with HBV RT resistant mutation, serum HBsAg level in A181 mutation group, V191 mutation group, L180 + M204V mutation group, and M204I mutation group were significantly lower than those in HBV RT wild group ( $Z = 2.475, P = 0.013$ ;  $Z = 2.148, P = 0.032$ ;  $Z = 2.115, P = 0.034$ ;  $Z = 2.449, P = 0.014$ ). There was no significant difference in HBV DNA level among the mutation groups (all  $P > 0.05$ ). Serum HBsAg level were significantly positively correlated with HBV DNA load in A181 mutation group, L180M + M204V mutation group and M204I mutation group ( $r = 0.486, P = 0.004$ ;  $r = 0.578, P < 0.001$ ;  $r = 0.369, P < 0.001$ ). **Conclusion** HBV RT region drug resistance mutation in site of A181, V191, L180 and M204V had negative effect on serum HBsAg level of patients with CHB.

**【Key words】** Hepatitis B virus; Reverse transcriptase region; Drug resistance mutation; Hepatitis B surface antigen; Hepatitis B virus deoxyribonucleic acid

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染目前仍然是危害公众健康的世界性重大卫生问题。监测HBV感染者体内病毒复制状态是HBV感染诊断、疗效监控和抑制疾病进展的重要指标。有报道显示, HBsAg (hepatitis B surface antigen) 定量检测与肝内HBV复制水平显著相关<sup>[1-3]</sup>, 血清HBsAg定量在抗病毒治疗、免疫控制以及临床预后等方面发挥着越来越重要的作用。编码HBsAg蛋白的S区基因与HBV逆转录酶区 (reverse transcriptase region, RT) 开放阅读框 (open reading box, ORF) 重叠, 长期抗病毒治疗易导致RT区出现耐药性突变。而部分RT区位点的突变又导致HBsAg表达受影响, 有研究显示RT区A181T突变、V191I突变、M204I/V突变和V173L突变等导致HBsAg截短株或非截短变异HBsAg出现<sup>[4-9]</sup>, 而在HBV RT区与经典核苷(酸)类药物[nucleos(t)ide analogues, NAs]相关耐药突变中, 包含rtA181和rtM204位点的突变率分别为15.35%和80.26%, 作为rtM204V的伴随突变, 包含rtL180突变率为39.35%<sup>[10]</sup>。作为NAs相关主要耐药突变位点, 这些突变对HBsAg的影响并不十分明确。本研究分析402例接受NAs抗病毒治疗的HBV感染者HBV RT区L180、A181、V191及M204位点的突变情况, 并分析这些位点突变对HBsAg和HBV DNA相关性的影响, 以期进一步探讨血清HBsAg定量的价值, 现报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象

回顾性分析2016年1月至2021年12月于联勤保障部第九一〇医院感染科接受NAs抗病毒治疗且出现病毒学突破的402例CHB患者的临床资料。纳入病例的诊断标准参照2019年《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[11]</sup>。本研究通过第九一〇医院伦理委员会管理审定[审批号: 院医伦(2023)6号]。

入院时随访患者既往抗病毒治疗情况, 符合NAs抗病毒治疗时间>6个月并排除存在下列条件的患者纳入本研究: ①血清HBV DNA < 500 IU/ml; ②乙型病毒性肝炎合并甲型、丙型、丁型肝炎等其他因素引起的肝功能损伤患者; ③有干扰素应用史。

患者入院时抽取空腹静脉血检测肝功能、病毒学指标等并进行HBV DNA RT区耐药分析。

NAs治疗方式[用药时间为36.0(17.3, 60.0)个月]: ①L-Nucleosides为起始药物: LAM (LAM单药治疗), LDT (LDT单药治疗), L-Nucleosides→ADV (LAM或LDT作为初始药物治疗, 然后换用或添加ADV继续治疗, 后续治疗也可能包括改用或添加L-Nucleosides, 但不包括ETV), L-Nucleosides→ETV (LAM或LDT作为初始药物治疗, 然后换用或添加ETV继续治疗, 后续治疗也可能包括改用或添加L-Nucleosides, 但不包括ADV), L-Nucleosides→ADV/ETV (LAM

或LDT作为初始药物治疗, 然后换用或添加ADV/ETV继续治疗); ②ADV为起始药物: ADV (ADV单药治疗); ADV→L-Nucleosides (ADV作为初始药物治疗, 然后换用或添加LAM或LDT继续治疗, 但不包含ETV), ADV→ETV (ADV作为初始药物治疗, 然后换用或添加ETV继续治疗, 但不包含LAM或LDT); ③ETV为起始药物: ETV (ETV单药治疗), ETV→ADV (ETV作为初始药物治疗, 然后换用或添加ADV继续治疗, 但不包含LAM或LDT), ETV→L-Nucleosides组 (ETV作为初始药物治疗, 然后换用或添加LAM或LDT继续治疗, 但不包含ADV); ④其他NAs为起始药物: LAM + ADV (LAM联合ADV作为初始治疗药物), ETV + ADV组 (ETV联合ADV作为初始治疗药物)。

根据HBV RT区是否存在L180、A181、V191和M204位点突变分为HBV RT耐药突变组 (221例) 及HBV RT野生组 (181例), HBV RT耐药突变组根据位点突变不同分为A181组、V191组、L180 + M204V组和M204I组。

## 二、检测方法

1. 实验室检测: 血清丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平采用美国贝克曼 (Beckman Coulter) AU680全自动生化分析仪检测; HBsAg、乙型肝炎病毒e抗原 (hepatitis B e antigen, HBeAg) 采用罗氏 (Roche) e601全自动电化学发光分析仪; 血清HBV DNA定量及HBV RT区测序试剂采用上海申友技术有限责任公司HBV及耐药突变检测试剂盒, 操作方法参见说明书。HBV DNA扩增采用美国安捷伦 (Agilent Technologies) Mx3000P QPCR实时荧光定量PCR仪, HBV RT区序列测定采用美国应用生物系统公司 (Applied Biosystems) ABI 310型全自动DNA测序仪。

2. HBV RT区序列分析: HBV RT区核苷酸序列分析与比对采用DNA Star 5.0 和MEGA 4.0软件。本研究与血清HBsAg含量相关的HBV RT区NAs相关耐药变异位点包含L180、A181、V191和M204位点。本研究分析HBV RT区K169~M250核苷酸序列, 其中包含以上4个突变位点的氨基酸改变情况。

## 三、统计学处理

采用Prism 5.0统计学软件进行统计学分析, 计

量资料中年龄、HBV DNA、HBsAg、ALT和AST呈非正态分布, 用中位数 (四分位数) [M (P25, P75)]表示, 两组间比较采用Mann-Whitney *U* 检验, 3组间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验; 计数资料[性别、HBeAg (+) 例数、基因型]以例 (%) 表示, 组间比较采用Pearson卡方检验。血清HBsAg与HBV DNA相关性分析采用Spearman相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、一般资料

HBV RT野生组和HBV RT耐药突变组患者性别、年龄、HBV DNA浓度、HBeAg (+) 差异均无统计学意义 ( $P$ 均 $> 0.05$ )。HBV RT野生组患者血清HBsAg、ALT、AST水平均显著高于HBV RT耐药突变组 ( $Z = -3.426$ 、 $P = 0.001$ ,  $Z = -2.347$ 、 $P = 0.019$ ,  $Z = -2.532$ 、 $P = 0.011$ ), HBV RT野生组患者B型基因所占比例显著高于HBV RT耐药突变组 ( $Z = 10.387$ 、 $P = 0.001$ ), 见表1。

### 二、HBV RT野生组和HBV RT耐药组患者NAs治疗方式

临床中CHB患者抗病毒药物使用情况复杂。为最大限度地减少HBV RT野生组与HBV RT耐药突变组间NAs用药情况偏差, 表2中总结了13种治疗方案; 402例患者中, 使用TDF治疗患者仅6例, 为简化治疗方式分组, 根据6例患者其他NAs药物的使用情况进行分组。在不同NAs治疗方式下, HBV RT野生组与HBV RT耐药突变组患者用药时间差异无统计学意义, 但在ETV作为单药治疗组及ETV→L-Nucleosides患者中, HBV RT耐药突变患者用药时间显著长于HBV RT野生组 ( $Z = 3.123$ 、 $P = 0.002$ ,  $Z = 6.000$ 、 $P = 0.036$ ), 见表2。

### 三、血清HBsAg水平影响因素

402例CHB患者血清HBsAg水平如表3所示, HBeAg (+) 组、HBV RT野生组患者中血清HBsAg水平显著高于HBeAg (-) 患者、HBV RT耐药突变患者 ( $Z = -6.805$ 、 $P < 0.001$ ,  $Z = -2.142$ 、 $P = 0.032$ ); HBV DNA载量越高, 血清HBsAg表达水平也显著升高 ( $H = 80.456$ 、 $P < 0.001$ )。

四、HBV RT区野生组与突变组患者血清HBsAg及HBV DNA水平

HBV RT区野生组与各突变组患者血清HBsAg及HBV DNA水平如图1所示。A181突变组、V191突变组、L180 + M204V突变组及M204I突变组患者血清HBsAg水平均显著低于HBV RT野生组

( $Z = 2.475$ 、 $P = 0.013$ ,  $Z = 2.148$ 、 $P = 0.032$ ,  $Z = 2.115$ 、 $P = 0.034$ ,  $Z = 2.449$ 、 $P = 0.014$ ) (图1A)。但各组间HBV、DNA水平差异均无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ ) (图1B)。

血清HBsAg水平在不同的HBV DNA分组、HBeAg状态及HBV RT突变类型差异有统计学意

表1 402例CHB患者一般资料

指标	HBV RT野生组 (181例)	HBV RT耐药突变组 (221例)	统计量	P值
男性 [例 (%) ]	152 (84.0)	176 (79.6)	$\chi^2 = 0.976^a$	0.323
年龄 [M (P25, P75), 岁]	36.0 (29, 46)	39.0 (31, 47)	$Z = -1.772$	0.076
HBV DNA [M (P25, P75), IU/ml]	$1.1 \times 10^5$ ( $8.8 \times 10^3$ , $6.5 \times 10^6$ )	$4.7 \times 10^5$ ( $2.6 \times 10^4$ , $3.5 \times 10^6$ )	$Z = -1.222$	0.222
HBsAg [M (P25, P75), IU/ml]	8 553.0 (5 259.0, 24 429.0)	7 541.0 (5 091.0, 16 412.8)	$Z = -3.426$	0.001
HBeAg (+) [例 (%) ]	141 (77.9)	179 (81.0)	$\chi^2 = 0.412^a$	0.521
ALT [M (P25, P75), IU/ml]	86.8 (30.4, 274.9)	54.3 (33.0, 126.2)	$Z = -2.347$	0.019
AST [M (P25, P75), IU/ml]	54.0 (25.8, 135.9)	33.0 (23.6, 79.5)	$Z = -2.532$	0.011
基因型B [例 (%) ]	116 (64.1)	105 (47.5)	$\chi^2 = 10.387^a$	0.001

注: <sup>a</sup>: Pearson 卡方检验

表2 HBV RT 野生组和 HBV RT 耐药组患者 NAs 治疗方式

治疗方式	例数		治疗时间 [M (P25, P75), 月]		Z值	P值
	HBV RT野生组 (181例)	HBV RT突变组 (221例)	HBV RT野生组 (181例)	HBV RT突变组 (221例)		
L-Nucleosides为起始药物						
LAM	24	42	24.0 (12.0, 35.0)	33.0 (14.0, 50.0)	1.040	0.298
LDT	9	20	10.0 (10.0, 17.0)	219.0 (11.8, 27.0)	1.212	0.225
L-Nucleosides→ADV	29	31	55.0 (20.8, 99.3)	68.0 (48.5, 106.3)	1.320	0.187
L-Nucleosides→ETV	5	14	26.0 (25.5, 73.0)	39.0 (38.0, 72.0)	0.408	0.683
L-Nucleosides→ADV/ETV	2	5	56.0 (37.5, 100.5)	93.0 (65.5, 110.3)	0.800	0.424
ADV为起始药物						
ADV	9	32	21.0 (12.0, 21.0)	28.0 (15.0, 56.0)	0.782	0.434
ADV→L-Nucleosides	10	7	44.0 (23.8, 65.0)	59.0 (53.0, 64.5)	0.959	0.337
ADV→ETV	12	3	33.0 (24.0, 37.5)	56.0 (52.0, 61.0)	1.757	0.079
ETV为起始药物						
ETV	53	30	17.0 (7.0, 36.0)	44.0 (26.8, 59.5)	3.123	0.002
ETV→ADV	7	13	37.0 (24.5, 54.0)	39.0 (38.0, 72.0)	0.852	0.394
ETV→L-Nucleosides	5	9	10.0 (7.0, 13.8)	59.0 (36.0, 60.0)	6.000	0.036
其他NAs为起始药物						
LAM + ADV	14	10	34.0 (12.0, 63.0)	28.0 (14.0, 48.8)	0.194	0.846
ETV + ADV	2	5	28.0 (21.5, 32.5)	55.0 (35.5, 60.0)	0.577	0.564

表3 402例CHB患者血清HBsAg水平

指标	例数	HBsAg [M (P25, P75), logIU/ml]	统计量	P值
性别			Z=-0.814	0.416
男	328	3.90 (3.71, 4.26)		
女	74	3.94 (3.72, 4.33)		
年龄(岁)			Z=-1.583	0.113
< 40	219	3.96 (3.73, 4.3)		
≥ 40	183	3.90 (3.73, 4.28)		
HBeAg			Z=-6.805	< 0.001
+	318	4.02 (3.75, 4.33)		
-	84	3.77 (3.55, 3.87)		
ALT (IU/ml)			Z=-0.635	0.525
≤ 40	122	3.93 (3.68, 4.31)		
> 40	246	3.88 (3.71, 4.26)		
AST (IU/ml)			Z=-0.724	0.469
≤ 40	176	3.91 (3.69, 4.27)		
> 40	192	3.89 (3.73, 4.27)		
HBV DNA (IU/ml)			H= 80.456	< 0.001
≤ 10 <sup>4</sup>	84	3.71 (3.55, 3.87)		
10 <sup>4</sup> ~10 <sup>6</sup>	165	3.86 (3.70, 4.05)		
≥ 10 <sup>6</sup>	153	3.85 (3.65, 3.99)		
基因型			Z=-0.835	0.404
B	221	3.92 (3.73, 4.27)		
C	181	3.87 (3.66, 4.15)		
突变类型			Z=-2.142	0.032
HBV RT野生	181	3.93 (3.72, 4.39)		
HBV RT耐药突变	221	3.88 (3.71, 4.22)		

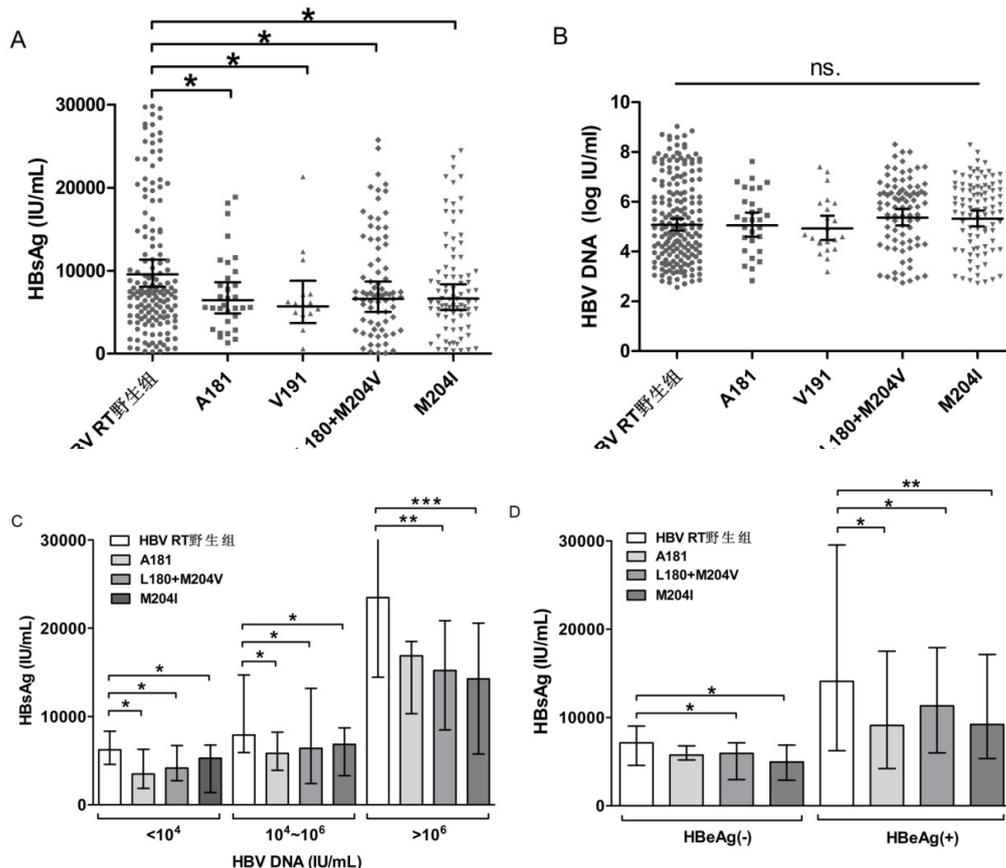
义, 见表3。为进一步分析HBV RT区突变对血清HBsAg水平的影响, 将野生组与突变组患者血清HBsAg水平分别进行HBV DNA浓度、HBeAg状态的分层分析(V191突变组由于突变例数较少未进行分层分析)。当HBV DNA < 10<sup>4</sup> IU/ml及 10<sup>4</sup> < HBV DNA < 10<sup>6</sup> IU/ml时, A181、L180 + M204V和M204I突变组患者血清HBsAg表达水平均显著低于HBV RT野生组(Z = 2.222、P = 0.028, Z = 2.102、P = 0.030, Z = 1.977、P = 0.049, Z = 2.131、P = 0.033, Z = 2.285、P = 0.023, Z = 2.387、P = 0.017); 当HBV DNA

> 10<sup>6</sup> IU/ml时, L180 + M204V和M204I突变组血清HBsAg表达水平显著低于HBV RT野生组(Z = 2.638、P = 0.008, Z = 3.332、P < 0.001), 见图1C。HBeAg (-)时, L180 + M204V和M204I突变组血清HBsAg水平均显著低于HBV RT野生组(Z = 1.989、P = 0.048, Z = 2.073、P = 0.039); HBeAg (+)时, A181、L180 + M204V和M204I突变组血清HBsAg水平均显著低于HBV RT野生组(Z = 1.992、P = 0.047, Z = 2.050、P = 0.041, Z = 2.767、P = 0.006), 见图1D。

### 五、HBV RT耐药突变组患者血清HBsAg水平与HBV DNA载量相关性

33例A181突变组、82例L180M + M204I/V突变组、91例M204I突变组中，血清HBsAg水平和HBV

DNA均呈显著正相关（图2A:  $r = 0.486$ 、 $P = 0.004$ ，图2C:  $r = 0.578$ 、 $P < 0.001$ ，图2D:  $r = 0.369$ 、 $P < 0.001$ ），但在15例V191V突变组中，HBsAg和HBV DNA无显著相关性（ $r = 0.496$ 、 $P = 0.060$ ），见图2B。



注：图A~B：血清HBsAg及HBV DNA在HBV RT野生组及各突变组的水平；图C~D：HBV RT野生组、A181、L180 + M204V、M204I突变组血清HBsAg在不同HBV DNA载量、不同HBeAg状态分组中的水平

图1 不同组患者血清HBsAg水平和HBV DNA载量

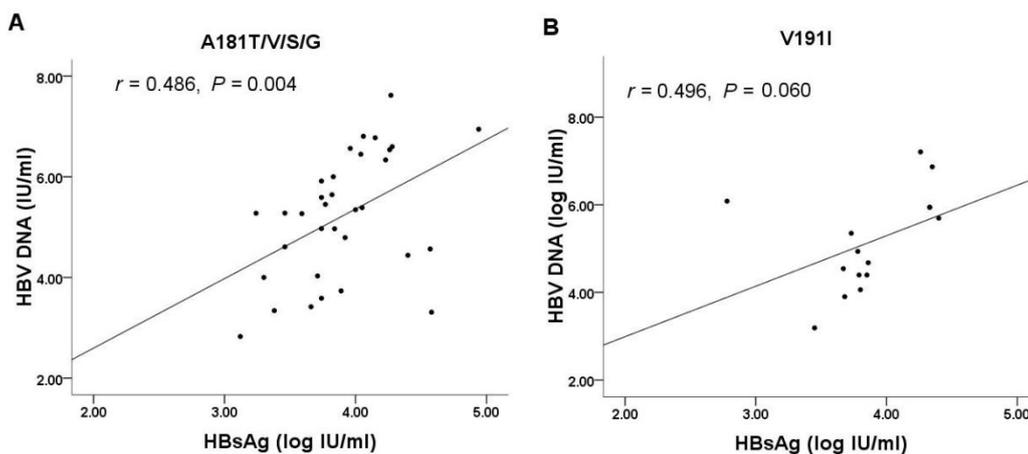
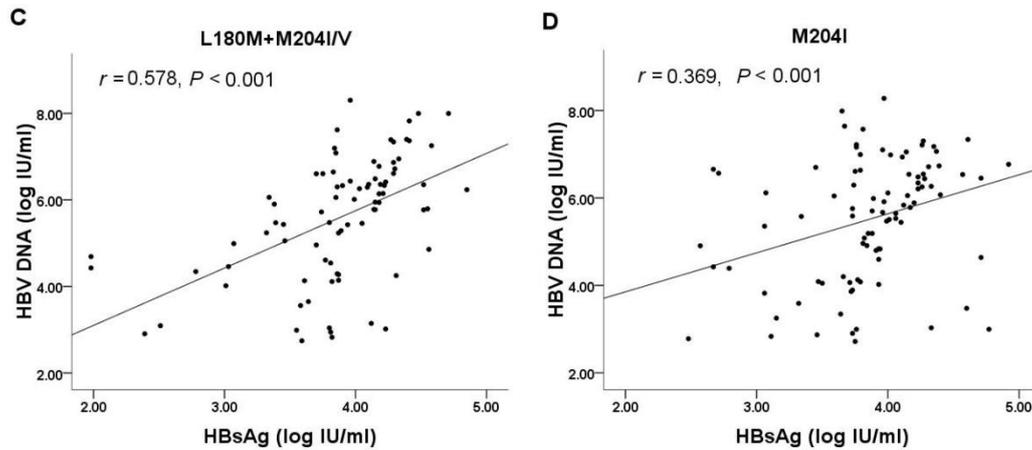


图2 HBV RT耐药突变组患者血清HBsAg水平与HBV DNA载量相关性



续图2 HBV RT耐药突变组患者血清HBsAg水平与HBV DNA载量相关性

## 讨 论

HBV基因组由不完全的环状双链DNA组成,编码HBsAg的S区基因和HBV的逆转录酶区(RT)高度重叠,而HBV RT区是NAs抗病毒治疗的靶位区。NAs治疗引起的HBV RT区耐药突变会同时造成S区基因变异,某些核苷酸变异会产生终止密码子,形成C-端疏水区大段缺失的截短型或变异型HBsAg<sup>[4-6]</sup>。目前文献报道的截短型HBsAg突变包含:A181T/sW172\*、V191I/sW182\*、M204I/sW196\*, HBV RT区耐药突变引起的非截短型HBsAg包含:A181T/sW172L、A181T/sW172S、A181V/sL173F、M204V/sI195M、M204I/sW196S、M204I/sW196L和V173L/sE164D等<sup>[7-9]</sup>。本研究筛选了HBV RT区A181、A191、L180和M204共4个变异点患者作为观察对象,探讨血清HBsAg水平的影响因素及其与HBV DNA载量的相关性。

本研究入选的病例中,HBV RT耐药突变组C型基因所占比例较高,与笔者之前报道的HBV-C型感染者耐药突变率显著高于HBV-B型感染者一致<sup>[10,12]</sup>。181例HBV RT野生组与221例HBV RT耐药突变组患者血清HBsAg、ALT和AST水平差异均有统计学意义。ALT和AST是评估肝功能损伤的常用生化指标,其与病情进展、免疫状态和病毒复制等密切相关。本研究中HBV RT野生组患者ALT和AST水平均显著高于HBV RT耐药突变组,可能与所选病例标本存在差异有关。本研究结果显示,HBV DNA载量、HBeAg水平、HBV RT区突变与否中,血清HBsAg水平差异有统计学意义。其他研

究表明,年龄亦是影响HBsAg表达水平的重要参数<sup>[13-14]</sup>。但Liu等<sup>[15]</sup>认为,HBsAg水平与年龄无相关性,但与HBV DNA载量、HBeAg水平和性别有关。

HBV RT区部分耐药突变位点造成了HBsAg变异,可能影响了HBsAg的表达和分泌。本研究结果显示,A181突变组、V191突变组、L180+M204V突变组、M204I突变组患者血清HBsAg水平均显著低于HBV RT野生组,各突变组间与HBV RT野生组间HBV DNA水平差异无统计学意义。进一步分层分析表明,L180+M204V、M204I突变组血清HBsAg水平与HBV RT野生组的显著性差异不受HBV DNA载量和HBeAg状态影响。申红玉等<sup>[16]</sup>报道认为,包含M204IV、L180M、A181T和N236T变异的突变组患者血清HBsAg水平显著低于非突变组,与本研究结果一致。另有研究者报道<sup>[17]</sup>,M204I/V突变组、L180M+M204I/V突变组、N236T突变组患者血清HBsAg水平显著高于HBV RT非突变组患者,A181T/V突变组HBsAg水平与非突变组患者无显著差异。另外,黄碧霞等<sup>[18]</sup>报道血清HBsAg水平在HBV RT耐药突变组与HBV RT野生组间差异无统计学意义。以上研究表明,HBV RT区耐药突变对血清HBsAg水平的影响目前还不十分明确。赵丽等<sup>[19]</sup>从细胞水平研究rtA181T引起sW172终止与非终止突变的表型差异,该报道证实,在体外实验中rtA181T/sW172\*突变导致HBsAg分泌和表达缺陷,但A181T/sW172L、A181T/sW172S突变对HBsAg分泌表达影响较小,携带两种病毒突变株患者的HBsAg水平差异无统计学意义,提示HBV RT区某位点的突变在细胞水平可能对HBsAg分泌和表达产生不同影响,这取决于HBV RT区位点突变导致的HBsAg变异类

型。事实上, HBV感染者体内HBV毒株以准种形式存在, 是包含突变株与野生株的杂合子。在药物选择压力下, 某些优势突变株成为主要毒株被检测到, 而共存的其他突变株或少量野生株也可能提供病毒所需的HBsAg。故临床检测中, HBV RT区某一位点突变对血清HBsAg水平的影响是多因素混杂的结果。以上报道中, 入组患者所采用的抗病毒治疗方案、患者依从性、病毒学指标检测时的基线水平等也不尽相同, 这些因素均可能导致以上类似研究结果并不十分一致。

与HBV DNA定量相比, HBsAg定量相对价格经济且已被广泛应用于监测HBV感染者的疾病进展和疗效预测<sup>[20-21]</sup>。有学者认为HBsAg定量可作为HBV DNA定量的替代指标, 二者相关性密切<sup>[22-26]</sup>。但在HBV RT区发生突变的患者中二者相关性是否受到影响, 目前还不明确。有研究认为, HBsAg在野生组、M204I/V突变组、L180M + M204V突变组、A181T/V突变组、N236T突变组中与HBV DNA含量呈显著正相关<sup>[15]</sup>。但在A181T/V + N236T突变组、L180M + M204I突变组中二者却无显著相关性。本研究结果与之类似, 但在V191突变组中, HBsAg与HBV DNA相关性并不显著。提示HBV RT区某些特定定位点的突变影响了HBsAg的分泌和表达, 其与血清HBV DNA载量的相关性可能同样受到影响, 从而导致HBsAg表达和病毒复制的平衡被打破<sup>[14]</sup>。

综上, 本研究表明HBV RT区A181、L180 + M204V、M204I位点突变对血清HBsAg水平产生了负面影响, V191突变组中血清HBsAg与血清HBV DNA相关性也受到了影响。因此, 在监测HBV RT区耐药突变人群血清HBsAg水平时, 血清HBsAg水平对临床的指导意义需要重新被评估。

### 参 考 文 献

[1] 张荣芳, 钱磊, 常明杰, 等. 血清HBV RNA在慢性乙型肝炎抗病毒治疗过程中的动态变化及其临床意义[J]. 天津医科大学学报, 2021, 27(5): 520-523.

[2] 张玲, 郑荣, 何三军, 等. 慢性乙型肝炎患者HBV-DNA载量、肝功能指标与免疫学标志物的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(22): 3348-3350.

[3] 刘潘婷, 向瑜, 周红菊, 等. HBeAg和HBeAb共同阳性CHB患者血清HBV RNA表达水平及检测意义[J]. 检验医学与临床, 2022, 11(21): 2885-2889.

[4] D'souza S, Lau KC, Coffin CS, et al. Molecular mechanisms of viral hepatitis induced hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol,

2020, 6(38): 5759-5783.

[5] Yeh, Chau-Ting. Development of HBV S gene mutants in chronic hepatitis B patients receiving nucleotide/nucleoside analogue therapy[J]. Antivir Ther, 2010, 15(3 Part B): 471-475.

[6] Wu C, Li B, Zhang X, et al. Complementation of wild-type and drug-resistant hepatitis B virus genomes to maintain viral replication and rescue virion production under nucleos(t)ide analogs[J]. Virol Sin, 2019, 34(4): 377-385.

[7] Colledge D, Soppe S, Yuen L, et al. Stop codons in the hepatitis B surface proteins are enriched during antiviral therapy and are associated with host cell apoptosis[J]. Virology, 2017, 501(Complete): 70-78.

[8] Colagrossi L, Hermans LE, Salpini R, et al. Immune-escape mutations and stop codons in HBsAg develop in a large proportion of patients with chronic HBV infection exposed to anti-HBV drugs in Europe[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18: 251.

[9] 刘妍, 徐东平. 再谈乙型肝炎病毒反转录酶区/表面抗原区基因变异的临床发生特点及意义[J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(5): 361-366.

[10] Zhang X, Chen X, Wei M, et al. Potential resistant mutations within HBV reverse transcriptase sequences in nucleos(t)ide analogues-experienced patients with hepatitis B virus infection[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 8078.

[11] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2019, 13(6): 441-466.

[12] 张小曼, 徐涛, 许正锯. 闽南地区核苷(酸)类药物经治的乙型肝炎患者乙型肝炎病毒基因型与逆转录酶区耐药突变特点[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2019, 13(4): 293-299.

[13] Jang JW, Yoo SH, Kwon JH, et al. Serum hepatitis B surface antigen levels in the natural history of chronic hepatitis B infection[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2011, 34(11-12): 1337-1346.

[14] Matsumoto A, Tanaka E, Morita S, et al. Changes in the serum level of hepatitis B virus (HBV) surface antigen over the natural course of HBV infection[J]. J Gastroenterol, 2012, 47(9): 1006-1013.

[15] Liu MH, Chen QY, Harrison TJ, et al. The correlation between serum HBsAg levels and viral loads depends upon wild-type and mutated HBV sequences rather than the HBeAg/anti-HBe status[J]. J Med Virol, 2015, 87(8): 1351-1360.

[16] 申红玉, 张宏宇, 陈敏, 等. 乙型肝炎患者不同突变谱的乙肝表面抗原水平变化[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(3): 344-348.

[17] Shen H, Chen C, Ye C, et al. Mutations in reverse transcriptase region of HBV affect Hepatitis B surface antigen titers and its correlation with HBV DNA[J]. J Infect Dev Ctries, 2019, 13(11): 1062-1067.

[18] 黄碧霞, 刘妍, 思兰兰, 等. 乙型肝炎病毒反转录酶区耐药突变患者HBsAg主要亲水区免疫逃逸相关突变研究[J]. 解放军医学杂志, 2020, 45(5): 526-530.

[19] 赵丽, 李晓东, 陈荣娟, 等. 乙型肝炎病毒rtA181T耐药相关突变引起的sW172终止与非终止突变的临床发生特点及表型差异分析[J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(5): 373-379.

[20] 段金伟, 张鹏, 张婧, 等. 慢性HBV感染人群血清HBsAg清除的影响因素及其临床意义[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(7): 1682-1685.

[21] Martinot-Peignoux M, Carvalho-Filho R, Lapalus M, et al. Hepatitis

- B surface antigen serum level is associated with fibrosis severity in treatment-naïve, E antigen positive patients[J]. J Hepatol, 2013,58(6):1089-1095.
- [22] 吕新建, 石贵福, 王合群. HBsAg低反应性乙肝患者HBeAg表达与HBV基因型, DNA载量的关系[J]. 河南医学研究, 2022,9(13):3339-3342.
- [23] Xiang Y, Yang Y, Chen P, et al. Analysis of serum hepatitis B virus RNA levels among HBsAg and HBsAb copositive patients and its correlation with HBV DNA[J]. Medicine (Baltimore), 2021,100(40): e27433.
- [24] 李彦霖, 王妍, 周颖琼, 等. 慢性乙型肝炎免疫耐受期的抗病毒治疗: 系统综述[J]. 临床肝胆病杂志, 2021,37(6):1282-1287.
- [25] 石璐瑶, 郭文敏, 李红. 表面抗原定量在慢性乙型肝炎抗病毒治疗中的研究现状[J]. 安徽医药, 2022,26(9):1701-1705.
- [26] 张学平, 邵宏伟, 王静. 不同阶段慢性HBV感染患者血清HBsAg定量值与血清HBV DNA相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2021,28(1):51-54.

(收稿日期: 2023-02-03)

(本文编辑: 孙荣华)

张小曼, 马筱秋, 许正锯, 等. 乙型肝炎病毒逆转录酶区耐药突变对血清乙型肝炎病毒表面抗原水平的影响 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2023,17(5):324-332.