

· 综述 ·

## HBeAg 阴性慢性乙型肝炎研究进展

马宁 陈焕永

乙型肝炎病毒(HBV)感染是全球面临的严重的公共卫生问题,全世界约20亿人曾感染HBV,其中3.5亿为慢性HBV感染者,每年约有100万人死于HBV感染所致的肝衰竭、肝硬化和原发性肝细胞癌(HCC)<sup>[1]</sup>。根据血清HBeAg的状况,慢性乙型病毒性肝炎可以分为HBeAg阳性和阴性两种<sup>[2]</sup>。近年来的临床与基础研究表明,HBeAg阴性的慢性乙型肝炎患者所占的比例逐年增高,其分子病原学、流行病学、发病机制、自然进程、临床表现、预后、抗病毒治疗的方案与应答等诸多方面与HBeAg阳性的慢性乙型肝炎存在显著差别。

### 一、HBV DNA 阳性慢性乙型肝炎患者 HBeAg 阴性的原因

HBV DNA 阳性而 HBeAg 阴性的乙型肝炎是否均为 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎,从疾病的自然病程、实验方法、基因变异几方面进行分析,已明确慢性乙型肝炎 HBV DNA 阳性患者出现 HBeAg 阴性的原因:(1)在 HBV 急性感染期治疗过后,HBeAg 阴转而抗-HBe 尚未阳转时,可以有短时间 HBeAg 阴性;(2)HBeAg 在体内形成 HBeAg/IC 后,常规 ELISA 法的酶标记抗-HBe 与 HBeAg 结合位点被 HBeAg/IC 中的抗-HBe 所占,不能与 HBeAg 形成夹心复合物,故无法检测出 HBeAg/IC 中的 HBeAg<sup>[18]</sup>;(3)ELISA 实验中,当 HBeAg 浓度大大高于包被抗体时,会产生后带效应,导致 HBeAg 假阴性;(4)HBV 前-C 区或核心区启动子变异<sup>[9]</sup>。其中 HBeAg/IC 阳性所引起的 HBeAg 阴性约占 HBV DNA 阳性患者 HBeAg 阴性所有原因的 50.0%<sup>[11]</sup>。后带效应主要发生在抗-HBe 阴性血清;前-C 区基因突变主要发生在抗-HBe 阳性血清<sup>[12]</sup>。

由此可见,只有 HBV 前-C 区或核心区启动子变异所产生的才是与 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者临床表现、治疗效果及预后等均有区别的 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎。因此要注意鉴别 HBeAg 阴性的原因,这对于我们的诊断和治疗有重要的指导意义。

### 二、HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎病原学特点

HBV 属嗜肝 DNA 病毒科,基因组长约 3.2 kb,为部分不完全闭合双链环状 DNA。HBV 在其复制过程中存在着转录与逆转录过程。HBV DNA 聚合酶缺乏严密的校读功能,易发生基因变异。肝病学家从病毒变异的角度对 HBeAg 阴性 HBV 感染的形成机制进行了深入探讨,发现了几种有代表性的导致 HBeAg 阴性的变异位点,分别从前-C 区 mRNA 的转录、HBeAg 前体的翻译及 HBeAg 前体的翻译后加工 3 个水平,导致 HBeAg 阴性 HBV 感染。(1)转录水平:迄今为止,核

作者单位:150001 哈尔滨市,哈尔滨医科大学第一附属医院

通讯作者:陈焕永 Email:huangyong\_chen@163.com

心启动子变异与 HBeAg 阴性 HBV 感染的关系基本明确。在研究 HBeAg 阴性 HBV 感染者时发现,核心启动子变异很常见,变异类型包括 nt 1752 ~ 1776 区段内的点突变和不同长短片段的缺失,以 T1762/A1764 联合点突变最为常见。体外实验发现,T1762/A1764 联合点突变影响前-C 区 mRNA 的转录效率,使得该 mRNA 转录水平下降至 1/5 ~ 1/3,导致 HBeAg 表达水平明显降低<sup>[10]</sup>;(2)翻译水平:在翻译水平上影响 HBeAg 形成的因素主要是 HBV 前-C 区基因,包括 A1896 即前-C 区终止密码子变异和前-C 起始密码变异。A1896 变异使得前-C 区第 28 位密码子由 UGG 突变为 UAG(终止密码),造成 HBeAg 前体翻译提前终止。起始密码突变大约占前-C 区变异的 10%。A1896 突变株在东亚及地中海国家很常见。目前业已明确 A1896 变异株的出现具有基因型依赖性,即 D、B 和 C 型常见<sup>[6]</sup>;(3)翻译后水平: HBeAg 前体在核糖体内从前-C 区 mRNA 上翻译出时,携带着 29 个氨基酸的信号肽,进入内质网并经特异性的信号肽酶切割,同时将羧基端的数个氨基酸残基切除,方能成为可分泌性的 HBeAg。nt 1862C-T 的变异导致前-C 区第 17 位密码子由缬氨酸到苯丙氨酸的突变是较多见的突变<sup>[5]</sup>。

### 三、HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎的流行病学

据观察,HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎感染 HBV 的途径大多为幼龄期家庭内传播,通常并无急性肝炎发作史;在静脉注射毒品、同性恋及多次输血者中很少发生<sup>[2]</sup>。

随着流行病学研究的发展,发现世界上不同地区和不同种族的 HBV 感染有各自的流行亚型,HBV 的基因型呈不同的地理区域性分布。HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的流行,具有明确的基因型依赖性,其中基因型 B、D、E、G 及部分 C 最易发生前-C 区的突变。故针对不同基因型,HBeAg 阴性慢性乙型肝炎亦呈一定的地理区域性分布,在基因 B 和 D 型 HBV 流行地域 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎为其主要类型,在东南亚和地中海已达慢性乙型肝炎患者的 50% ~ 80%,其患病率近年来还在不断上升<sup>[2]</sup>,到 2004 年中国患 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的人数占慢性乙型肝炎总人数的比例已由 2000 年的 30% 升至 53.7%<sup>[3,5]</sup>。

### 四、HBeAg 阴性慢性乙型肝炎自然史及发病机制

目前大多数专家都认为,HBeAg 阴性慢性乙型肝炎是在持续的 HBV 与宿主相互作用中形成的一种状态。在 HBV 慢性感染的过程中,人体内的 HBV 感染状况可分为 4 个时期:第 1 期为免疫耐受期,表现为血中 HBeAg 及 HBV DNA 均为阳性,转氨酶正常。通常认为免疫耐受的机制为 HBeAg 有免疫及耐受双面性,它可调节机体免疫反应,促使 Th2 样细胞因子(IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13)等的分泌,从而下调机体对 HBeAg 的免疫攻击反应,由于感染病毒的年龄不同,此期持续的时间约数年至 30 年;第 2 期为免疫清除期,即血清转换期,表现为抗-HBe 阳性,血中 HBV DNA 降低,转氨酶波动性升高。在此时期内抗体对感染肝细胞免疫攻击增加,HBeAg 及产生 HBeAg 的病毒感染肝细胞逐渐被清除,变异株就是在这种免疫或药物的选择压力下存活下来。有研究表明野生株的变异发生在血清

转换早期或更早的时期,此期持续数月至数年;第3期为抗-HBe 阳性期,这个时期表现为抗-HBe 阳性、HBeAg 阴性,HBV DNA 水平低,转氨酶正常,肝炎活动处于静止期或缓解,此期可持续数年以致终身;但约20%的患者在血清转换后出现肝炎重新活动,转氨酶升高,病毒复制增加,这就是所谓的第4期即 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎时期<sup>[13]</sup>。由于 HBeAg 阴性,即血中不存在 HBeAg,对机体就可能发生以下影响:(1)对病毒的免疫耐受性消失,HBeAg 的免疫耐受性调节不能进行,造成更为严重的临床后果。分泌性 HBeAg 对免疫细胞识别感染肝细胞进行负调节,血中缺乏 HBeAg 的 HBV 感染者,其 HBV 复制常可引起较重、较频繁的肝组织炎症活动;但另一方面,同时又缺乏膜结合性 HBeAg,炎症活动对清除感染细胞中的病毒效率下降。因而 HBeAg 阴性的 HBV 感染可引起一种持久而低效的抗病毒免疫应答,同时导致了肝脏病变的进展<sup>[14]</sup>;(2)病毒特异的炎症应答不断引起肝细胞变性坏死;(3)病毒特异的炎症应答释放的各种细胞因子引起非特异性肝细胞坏死。故 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎往往容易反复,容易重症化,容易进展至肝硬化甚至肝癌。

在免疫压力或抗病毒药物作用下,HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎患者,体内感染的常是不能翻译 HBeAg 的 HBV 的变异株,这导致了以下后果<sup>[14,15]</sup>:(1)在感染肝细胞表面,由 HLA 分子提呈的病毒核壳肽的组成可能发生了改变,因而可能激发新系列的 T 细胞反应;(2)变异可能影响细胞内核心颗粒的转运和包装,大量核壳抗原在细胞内的蓄积增强 CTL 的细胞毒活性,对肝细胞有损伤作用;(3)某些新出现的变异毒株,可能对感染肝细胞有致细胞病变作用。

### 五、HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎的临床特点

HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎与 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎的临床特征有所不同。HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎患者年龄大(36~45岁,中位年龄40岁),以男性为主,男女性别比为3.9~17<sup>[4]</sup>;HBV DNA 和 ALT 水平常波动,而持续性自发缓解率低,具有较高的向肝硬化、肝细胞癌发展的倾向<sup>[2,8]</sup>。

HBeAg 阴性慢性乙型肝炎在临床上有2种表现形式:(1)持续性的 ALT 中等程度的升高,无自动缓解趋向;(2)患者的病情表现为炎症的波动,部分时间为病情平静,但相当一段时间表现为肝炎活动,甚至表现为类似急性肝炎的症状。由此可见 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎不具有特征性临床表现,因此对慢性乙型肝炎患者的长期追踪的检测是十分必要的<sup>[17]</sup>。

### 六、HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的诊断及鉴别诊断

中华医学会肝病分会、中华医学会感染病分会联合制定的《慢性乙型肝炎防治指南》中将 CHB 明确分为 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎和 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎两类。其中对 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的诊断标准表述为:患者血清 HBsAg 和 HBV DNA 阳性,HBeAg 持续阴性,抗-HBe 阳性或阴性,血清丙氨酸转氨酶(ALT)持续或反复异常,或肝组织学检查有肝炎病变。

需要指出,抗-HBe 阳性是国际上对 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的重要诊断标



准之一,而我国《慢性乙型肝炎防治指南》中提出的“抗-HBe 阳性或阴性”是符合我国国情的。我国的大多数医院,尤其是基层医院使用的是国产检测试剂,抗-HBe 的检出率较低,存在一定的假阴性。如过多强调抗-HBe 阳性标准,可能出现漏诊<sup>[16]</sup>。

HBeAg 阴性慢性乙型肝炎主要与非活动性 HBsAg 携带状态相鉴别<sup>[7]</sup>。非活动性 HBsAg 携带状态表现为:(1) HBsAg(+) > 6 个月;(2) HBeAg(-), 抗-HBe(+);(3) 血清 HBV DNA 水平低或检测不出( $< 10^4$  拷贝/ml);(4) 血清 ALT、AST 水平持续正常(1 年内,监测不少于 4 次);(5) 肝活体组织检查显示不存在明显的肝炎。而 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎表现为抗-HBe 阳性或阴性,血清丙氨酸转氨酶(ALT)持续或反复异常,或肝组织学检查有肝炎病变。

### 七、HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的治疗策略

HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的治疗包括抗病毒、免疫调节、抗炎和抗纤维化。病毒水平与疾病进展和远期预后密切相关,因此抑制 HBV 复制或清除 HBV 感染是 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎治疗的关键<sup>[19]</sup>。

对 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎的治疗目标是要取得 HBeAg 的血清互换,即 HBeAg 转阴并出现抗-HBe。但 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者不可能出现 HBeAg 的血清互换,对这类患者治疗的目标应当是实现 HBV DNA 的持续抑制(0 拷贝/ml),ALT 恢复正常。其治疗效果可分为:(1)完全应答(显效):ALT 复常,HBV DNA 阴转;(2)部分应答(有效):ALT 复常,HBV DNA 下降 2 个对数级;(3)无应答(无效):ALT 未恢复正常,HBV DNA 下降小于 2 个对数级;(4)持续应答:完全应答或部分应答者,停药 6~12 个月仍为显效或有效;(5)复发:治疗结束时为显效和有效,停药 6~12 个月内出现 ALT 异常及 HBV DNA 再次上升。

2007 年 AASLD 慢性乙型肝炎防治指南所推荐的 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎抗病毒治疗及监测方法为:(1)若 ALT  $< 1$  ULN、HBV DNA  $< 10^4$  拷贝/ml,则首年每 3 个月检测 ALT,连续 3 次;若 ALT 仍  $< 1$  ULN,则每 6~12 个月进行复查;(2)ALT =  $1 \sim 2$  ULN、HBV DNA  $\leq 10^4 \sim < 10^5$  拷贝/ml:每 3 个月检测 ALT 和 HBV DNA,若持续如此则考虑肝活检,必要时抗病毒治疗;(3)若 ALT  $> 2$  ULN、HBV DNA  $\geq 10^5$  拷贝/ml 持续存在,可考虑抗病毒治疗,或进行肝活检。同时 AASLD 指出对于 HBeAg(-)患者,即使 HBV DNA 已降至 PCR 测不出的水平 1 年以上,复发仍然比较常见,因此其治疗终点尚不明确。对于 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者,抗病毒治疗主要使用 2 种药物,即干扰素和核苷类似物类药物。

干扰素分为普通干扰素和聚乙二醇化干扰素。普通干扰素对于 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎者由母婴遗传所致者或合并其他病毒感染者疗效差。聚乙二醇化干扰素- $\alpha$ -2a 是一种新型干扰素,其主要作用特点是半衰期长、用药次数少、对病毒抑制作用持久,目前临床研究已表明聚乙二醇化干扰素- $\alpha$ -2a 对 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎和 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者的治疗效果均优于普通干扰素<sup>[17]</sup>。

治疗 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的另一类药物是核苷类似物类药物,包括拉

米夫定、阿德福韦酯和恩替卡韦。其中拉米夫定在临床上应用最广,它在治疗 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎时具有起效快、近期疗效好和不良反应少、价格便宜等优点,这已得到广泛的承认。目前其不仅可以用于 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的治疗,而且可以用于乙型肝炎病毒引起的肝硬化和重症肝炎的治疗。拉米夫定在临床应用中出现的主要问题是停药后复发率高,对于拉米夫定,2004 年我国临床应用专家达成共识,建议治疗 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎时,拉米夫定在取得 HBV DNA 转阴和 ALT 恢复正常后再用 2 年,但随着用药时间的延长,病毒出现耐药的情况也在增加。据统计,使用拉米夫定后第 1 年、第 2 年、第 3 年和第 4 年其耐药率分别达到 14%、38%、53% 和 67%<sup>[20]</sup>。有少数耐药的患者可出现病情加重。阿德福韦酯治疗 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的优势在于出现耐药的情况很少,使用 1 年后才有 0% ~ 1% 的患者出现耐药。从目前的情况看,联合用药治疗 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎并不能提高疗效,但可以序贯用药,即先用拉米夫定,HBV DNA 转阴和 ALT 恢复正常后再用阿德福韦酯,这样既可以很快取得近期疗效,又可以防止停药后复发和出现耐药的情况。恩替卡韦是目前治疗 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的希望药物。最近,一项国际多中心、双盲 III 期临床试验表明:使用恩替卡韦治疗 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者,在治疗 48 周后其组织学改善率、病毒学应答率和转氨酶应答率分别达到 70%、90% 和 78%,均高于拉米夫定和阿德福韦酯<sup>[21]</sup>。但其临床应用时间尚短,远期效果尚待考察。替比夫定(Telbivudine, LdT)等亦有助于 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎的治疗的临床报告。

#### 八、HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎的研究展望

HBeAg 阴性慢性乙型肝炎与 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎存在显著差别,随着对这一问题认识的不断深入,国内外学者从分子病原学、流行病学、发病机制、自然进程、临床表现、预后、抗病毒治疗的方案与应答等诸多方面对 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎作了大量的基础研究和临床观察。然而,由于其临床特殊性,在多方面仍有待于我们进一步研究。现多数学者认为 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎是在持续的 HBV 与宿主相互作用中形成的一种状态,亦有学者认为可初始感染即为 HBeAg 阴性的变异株病毒。这有待临床进一步观察,以得出确定结论;另外,现对出现 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎转化的慢性肝炎患者的预测仍然为一盲区。有约 20% 的患者在血清转换后出现肝炎重新活动,如果能找到出现 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎转化的预测因素,在慢性乙型肝炎自然病程中监测并给于适当的干预,也许会降低 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的发生;免疫作用在肝炎的发生中至关重要,HBeAg 阴性慢性乙型肝炎在免疫学方面的特点尚待进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 1 World Health organization. Hepatitis B [HB]. World Health Organization Fact Sheet 204. (Revised October 2000).
- 2 Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2001, 34: 617-624.
- 3 任红. 中国慢性乙型肝炎治疗策略-2004 年全国乙型肝炎治疗策略专家峰会纪要. *中华肝脏病杂志*, 2005, 13: 326-328.

- 4 Fattovich G. Natural history of hepatitis B. *J Hepatol*, 2003, 39 suppl 1: S50-S58.
- 5 Hou JL, Lin YL, Waters J, et al. Detection and significance of a G1862T variant of hepatitis B virus in Chinese patients with fulminant hepatitis. *J Gen Virol*, 2002, 83: 2291-2298.
- 6 Lok AS, Akarca U, Greene S. Mutations in the pre-core region of hepatitis B virus serve to enhance the stability of the secondary structure of the pre-genome encapsidation signal. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 4077-4081.
- 7 Papatheodoridis GV, Hadziyannis SJ. Diagnosis and management of pre-core mutant chronic hepatitis B. *J Viral Hepat*, 2001, 8, 311-321.
- 8 Boinno F, Brunetto MR. Chronic hepatitis B e antigen (HBeAg) negative, anti-HBe positive hepatitis B: an overview. *J Hepatol*, 2003, 39 suppl 1: S160-S163.
- 9 Funk ML, Rosenberg DM, Lok AS. World-wide epidemiology of HBeAg-negative chronic hepatitis B and associated precore and core promoter variants. *J Viral Hepat*, 2002, 9: 52-61.
- 10 Buckwold VE, Xu Z, Chen M, et al. Effects of a naturally occurring mutation in the hepatitis B virus basal core promoter on precore gene expression and viral replication. *J Virol*, 1996, 70: 5845-5851.
- 11 刁奇志, 王贵学. HBV DNA 与 preS1 抗原均阳性患者 HBeAg 阴性的原因探讨. *临床检验杂志*, 2006, 24: 346-347.
- 12 Okmoto H, Yotsumoto S, Akahane Y, et al. Hepatitis B virus with pre-core region defects prevail in persistently infected hosts along with seroconversion to the antibody against e antigen. *J Virol*, 1990, 64: 1298.
- 13 刘紫锰, 陈湖. e 抗原阴性的慢性乙型肝炎. *胃肠病学和肝病杂志*, 2005, 14: 101-103.
- 14 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 48-144.
- 15 权启镇, 孙自勤, 王要军. 新肝脏病学. 济南: 山东科学技术出版社, 2003. 102-165.
- 16 万谟彬. 重视 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的诊断和治疗. *中国实用内科杂志*, 2006, 26: 657-659.
- 17 成军. 应充分重视 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者的诊断与治疗. *中华传染病杂志*, 2006, 24: 1-2.
- 18 Maruyama T, McInchlaio A, Lino S. Serological of chronic hepatitis B infection revisited. *Clin Invest*, 1993, 91: 2586-2595.
- 19 王贵强. 乙型肝炎 e 抗原阴性患者的诊断与治疗. *疾病*, 2006, 6: 11-15.
- 20 Guan R, Lai CL, Liaw YE, et al. Efficacy and safety of 5 years lamivudine treatment in chronic patients with chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol*, 2001, 16: 160-167.
- 21 Lai CL. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med*, 2006, 354: 1011-1120.

(收稿日期: 2007-06-22)

(本文编辑: 王丹静)

马宁, 陈煥永. HBeAg 阴性慢性乙型肝炎研究进展 [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2008, 2(4): 343-348.