

HBsAg 与抗-HBs 共存现象的解释

张晓宁

乙型肝炎病毒血清标志物(HBVM)是乙型肝炎临床诊断和治疗的重要依据,不同的HBVM谱往往有其独特的临床意义。近年来临床上发现越来越多的HBVM特殊模式,其表现模式较为复杂^[1]。HBV感染者病毒标志物中,HBsAg与抗-HBs是相对应的一对抗原抗体,一般情况下HBV感染者,如人体能完全清除病毒,HBsAg消失,抗-HBs逐渐产生;或在HBsAg滴度接近消失前,抗-HBs滴度逐渐升高。这是人体对乙型肝炎病毒的正常免疫反应。但部分病例中出现HBsAg与抗-HBs同时存在的现象。

一、HBsAg和抗-HBs共存的原因解释为“二者可能为不同亚类”^[2]

即某一血清型亚型的乙型肝炎病毒(HBV)感染后诱导产生了该型特异抗体,随后患者又感染了另一亚型,原先产生的抗-HBs不能中和新感染的HBV,故血清中同时出现HBsAg、抗-HBs并存的局面。HBsAg存在免疫优势表现位“a”,对“a”决定簇的抗体可对所有亚型的HBV感染提供保护性免疫,但其他亚型抗体并无交叉保护性。HBsAg可分为10个亚型,除有一个共同抗原决定簇“a”外,还有2组相互排斥的亚抗原决定簇,即d和y,w和r。HBsAg亚型的地理分布亦各不相同:ayw多见于非洲、中东、东地中海及巴基斯坦;adw多见于美洲及北欧;adr多见于东南亚及远东,adw及adr多见于印尼、新几内亚、马来西亚及泰国。而我国则具有一定的民族性,汉族人以adr为主,adw次之;蒙族、维吾尔族、回族等兄弟民族几乎都是ayw亚型,ayr亚型极其少见,而几乎没有adr亚型。近年随着流动人口的不断增加,各类人种接触增多,打破了HBsAg各亚型感染的地区区别,人们感染其他亚型的几率大大增加。

二、基因变异导致HBsAg与抗-HBs共存

HBV基因组的S基因变异可使HBV的免疫原性发生改变^[3],特别是共同“a”决定簇变异,改变了HBsAg的构型,从而逃避宿主的免疫系统,造成病毒持续或重复感染。S基因变异使野毒株产生的抗-HBs与变异HBsAg的结合力下降从而导致两者共存。HBsAg、抗-HBs共存模式中存在S基因的多位点变异^[4]。Kohno等^[5]报道,5例HBsAg、HBsAb同时阳性的慢性乙型肝炎患者,3例在第130 aa、1例在第145 aa、1例在第126 aa发生变异;Wang等^[6]在HBsAg与抗-HBs均为阳性的慢性乙型肝炎患者中检测到前-S/S基因变异株。认为一些乙型肝炎患者并发HBsAg和抗-HBs可能是乙型肝炎病毒S突变,抗-HBs与HBsAg共存者有前-S/S基因多个突变和少量缺失,尤其是“a”决定簇变异导致野毒株第126位

作者单位:061500 南皮县,河北省南皮县人民医院检验科

通讯作者:张晓宁,Email:zxnmphos@sina.com

异亮氨酸变为天门冬酰胺,引起 HBsAg“a”决定簇的抗原性和免疫原性发生改变,使 B 细胞只能识别和处理该 HBsAg 的次要表位,其显性表位可能被掩饰,而由该 HBV 变异株诱导产生的抗-HBs,由于只能与 HBsAg 的次要表位结合,因而与 HBsAg 的亲和力下降,便不能快速有效地阻止 HBV 吸附至易感细胞上,而导致两者共存;Kfourg-Baz 等^[7]报道,“a”决定簇或其邻近位点的变异导致 HBsAg 与抗-HBs 共存。除点突变外,也发现有缺失性突变,如 Weinberger^[8]等发现了 1 例 S 基因发生缺失性突变的慢性活动性肝炎患者,其血清学指标为抗-HBs、HBsAg 均为阳性,经测序证实 S 基因有 31 个核苷酸缺失,导致 HBsAg 阅读框架发生改变,并在 HBsAg 的第 21 位氨基酸之后引入了终止密码子;Fiordalisi 等^[9]报道干扰素诱导会出现前-S1 缺失株,同时出现相应的抗-HBs,但病毒血症仍以原型毒株占优势,变异型的抗-HBs 不能中和原型株的 HBsAg,故二者共存。由于 S 基因编码的 HBsAg 是诱导产生中和性抗体的主要蛋白,也是后者作用的主要靶点。因此,抗体的免疫压力是 HBV S 基因变异的主要原因之一。无论是接种乙肝疫苗还是直接接受抗-HBs 治疗^[10-12]。疫苗接种,有正常的免疫应答,感染“a”决定簇变异的免疫逃逸变异株。Lee 等^[13]和 Heijink 等^[14]报道,接种乙肝疫苗或 HBIG,出现 HBsAg 肽 G145R 逃避变异,输入的 HBIG 或乙肝疫苗产生的 HBsAb 缺乏对变异毒株的中和特异性,使变异株不能被抗-HBs 所中和,因而在正常抗体应答的情况下,变异株仍能复制,疫苗产生的抗体可不干扰变异株 HBsAg,不具保护作用,其亲和力很差,从而出现 HBsAg 与抗-HBs 共存。1989 年,Carman 等^[15]首先发现 1 例接种乙肝疫苗并且产生了保护性抗-HBs 的意大利婴儿感染了 HBV,经测序发现核苷酸序列第 587 位碱基发生了 G587A 突变,导致 HBsAg 第 145 位核苷酸被精氨酸取代,显著降低了 HBsAg 的抗原性,从而成为免疫逃避株感染患者。另外,Okamoto 等^[16]报道有病毒携带者或慢性持续性感染者可“自然”发生免疫逃避的现象。

三、HBsAg 与抗-HBs 共存与假阳性有关

检测试剂品质差异造成 HBsAg 与抗-HBs 共存应引起检验人员和试剂生产厂家的重视,并采取不同试剂盒复检以尽可能减少检验误报。检测 HBVM 目前最常用的酶联免疫法、化学发光等试剂盒都要利用 HBV 的各种抗原和抗体(多克隆或单克隆)。包被与标记的抗原或抗体质量(亲和力、效价、对无关抗原的交叉反应程度、对特异抗原表位的覆盖范围等)对检测结果影响甚大。ELISA 包被的抗-HBs 和酶标记的抗-HBs 之间,有些厂商试剂盒批间存在交叉反应,可造成 HBsAg 与抗-HBs 同时阳性^[17]。交叉反应的存在,证明抗原和单克隆抗体在制备技术上存在问题,使临床检测结果的客观真实性受到怀疑。各厂家生产的试剂盒所用抗原与抗体不可能相同,同一厂家不同批次的试剂盒,质量上也存在差异。目前国内 HBsAg 检测试剂盒主要针对 adr 亚型,供应我国的美国 Abbott 试剂盒也主要含有 adr 和 adw 亚型,国内外厂家生产的 HBsAg ELISA 检测试剂因包被用抗原片段及生产工艺等因素的影响,其检测结果间存在差异。组成试剂盒的原材料

料如不纯、采用多克隆抗体和酶结合物纯度低等均可能造成假阳性结果。一个可靠的抗-HBs测定方法应能检测针对HBsAg的各种抗体,包括HBsAg的“a”和各种亚型特异决定簇。试剂生产厂家应使用一致的抗原或表位来制备抗-HBs检测试剂盒,可改善抗-HBs测定的标准化,从而改善不同试剂和不同实验室间结果的可比性。由于试剂、样品、操作等因素而导致一些非特异性反应或称假阳性,常需进行复查或其他方法验证,以保证检验结果的准确性。干扰ELISA实验导致假阳性测定的干扰因素包括RF、补体、某些自身抗体、交叉反应物质、标本溶血等^[18,19]。

四、其他原因

1. 慢性乙型肝炎患者,在感染初期可能存在一个抗原抗体动态平衡阶段,这也是HBsAg与抗-HBs共存的因素之一。HBV感染恢复期,HBsAg未消失,抗-HBs已产生。HBsAg与抗-HBs同时存在的内在机理可能是HBV血清标志模式转换的中间模式^[20]。

2. 赵世祯等^[21]报道,HBV2是一种嗜肝病毒,其HBsAg DNA序列与HBV有同源性,故可检出HBsAg,但自动或被动产生的抗-HBs不能中和HBV2病毒,这就导致HBsAg与抗-HBs共存。

3. HBV感染恢复期,患者体内存在HBsAg-抗-HBs的免疫复合物,未被清除的HBsAg-抗-HBs免疫复合物存在是HBV和抗-HBs共存现象的原因之一^[22]。

4. 检测灵敏度的提高。

五、总结

HBVM的传统检测方法因其影响因素多,易出现假阳性和假阴性,其检测结果已无法满足临床医生对HBV感染的诊断、治疗方案的选择及疗效判定。仅以HBVM检测结果作为判断HBV感染及传染性、治疗效果指标及HBV是否在体内复制有一定局限性。只有检测HBV DNA存在才能确定HBV感染后在体内复制并追踪预后。HBV DNA是HBV感染的特异性指标,只要有DNA就可引起HBV感染^[23]。PCR用于HBV DNA检测,作为乙型肝炎诊断的金标准用于临床诊断和评价,成为乙型肝炎诊断技术的发展方向^[24]。PCR检测灵敏度高,特异性强,是判断感染者有无病毒复制和传染性的理想方法^[25]。HBVM的变化是HBV在感染的不同时期与机体免疫系统反应的结果,而HBV DNA检测是直接观察血清中HBV是否存在的指标。HBV DNA较HBVM更能说明DNA复制情况及数量多少,对诊断和疗效判断是最直接证据,但不能代表HBVM的检测,因HBVM对医生了解患者机体免疫状态更具优势。以上提示对于HBsAg与抗-HBs共存模式的解释,应该在临床背景下与HBV DNA和生物化学结果相结合,作出恰当的解释,进行综合评价。

参 考 文 献

- 1 Robinson WS. Hepatitis B virus and hepatitis D virus In: Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 4ed. New York: Churchill Livingstone Inc, 1995, 1426-1427.
- 2 Mushahwar IK, Dienstag JL, Polesky HF, et al. Interpretation of various serological profiles of hepatitis B virus infection. Am J

Clin Pathol, 1981,76:773-777.

- 3 Seddigh-Tonekaboni S, Waters JA, Jeffers S, et al. Effect of variation in the common "a" determinant on the antigenicity of hepatitis B surface antigen. *J Med Virol*,2000,60:113-121.
- 4 Jongerius JM, Wester M, Cuypers HT, et al. New hepatitis B virus mutant form in a blood donor that is undetectable in several hepatitis B surface antigen screening assays. *Transfusion*,1998,38:56-59.
- 5 Kohno H, Inoue T, Tsuda F, et al. Mutations in the envelope gene of hepatitis B virus variants co-occurring with antibody to surface antigen in sera from patients with chronic hepatitis B. *J Gen Virol*,1996,77 (Pt 8):1825-1831.
- 6 Wang YM, Ng WC, Lo SK. Detection of pre-S/S gene mutants in chronic hepatitis B carriers with concurrent hepatitis B surface antibody and hepatitis B surface antigen. *J Gastroenterol*,1999,34:600-606.
- 7 Kfoury Baz EM, Zheng J, Mazuruk K, et al. Characterization of a novel hepatitis B virus mutant: demonstration of mutation-induced hepatitis B virus surface antigen group specific "a" determinant conformation change and its application in diagnostic assays. *Transfus Med*,2001,11:355-362.
- 8 Weinberger KM, Zoulek C, Bauer T, et al. A novel deletion mutant of hepatitis B virus surface antigen. *J Med Virol*,1999,58:105-110.
- 9 Fiordalisi G, Ghiotto F, Castelnovo F, et al. Analysis of the hepatitis B virus genome and immune response in HBsAg, anti-HBs positive chronic hepatitis. *J Hepatol*,1994,20:487-493.
- 10 Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet*,1990,336:325-329.
- 11 Harrison TJ, Hopes EA, Oon CJ, et al. Independent emergence of a vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *J Hepatol*,1991,13(Suppl 4):S105-107.
- 12 McMahon G, Ehrlich PH, Moustafa ZA, et al. Genetic alterations in the gene encoding the major HBsAg: DNA and immunological analysis of recurrent HBsAg derived from monoclonal antibody-treated liver transplant patients. *Hepatology*,1992,15:757-766.
- 13 Lee KM, Kim YS, Ko YY, et al. Emergence of vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus with multiple surface gene mutations in a Korean child. *J Korean Med Sci*,2001,16:359-362.
- 14 Heijink RA, van Bergen P, van Roosmalen MH, et al. Anti-HBs after hepatitis B immunization with plasma-derived and recombinant DNA-derived vaccines: binding to mutant HBsAg. *Vaccine*, 2001,19:3671-3680.
- 15 Carman WF, Jacyna MR, Hadziyannis S, et al. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet*,1989,2:588-591.
- 16 Okamoto H, Yano K, Nozaki Y, et al. Mutations within the S gene of hepatitis B virus transmitted from mothers to babies immunized with hepatitis B immune globulin and vaccine. *Pediatr Res*,1992,32:264-268.
- 17 梁宝铎. 乙型肝炎血清学标志间非特异性交叉反应的研究. *中华医学检验杂志*,1995,18:234.
- 18 Ismail AA. A radical approach is needed to eliminate interference from endogenous antibodies in immunoassays. *Clin Chem*, 2005,51:25-26.
- 19 Snyder JA, Rogers MW, King MS, et al. The impact of hemolysis on Ortho-Clinical Diagnostic's ECI and Roche's elecsys immunoassay systems. *Clin Chim Acta*,2004,348:181-187.
- 20 Coursaget P, Yvonnet B, Bourdil C, et al. HBsAg positive reactivity in man not due to hepatitis B virus. *Lancet*,1987,2:1354-1358.
- 21 赵世祯, 赵慧玲, 赵翠林, 等. HBV2 血清模式回顾调查. *临床肝胆病杂志*,1992,8:188.
- 22 张永新. 肝炎恢复期乙型肝炎抗体阳性血清的乙型肝炎病毒 DNA. *中华内科杂志*,1992,31:629.
- 23 Kobayashi H, Tsuzuki M, Koshimizu K, et al. Susceptibility of hepatitis B virus to disinfectants or heat. *J Clin Microbiol*, 1984, 20:214-216.
- 24 Kaneko S, Miller RH. Characterization of primers for optimal amplification of hepatitis B virus DNA in the polymerase chain reaction assay. *J Virol Methods*,1990,29:225-229.
- 25 Ulrich PP, Bhat RA, Seto B, et al. Enzymatic amplification of hepatitis B virus DNA in serum compared with infectivity testing in chimpanzees. *J Infect Dis*,1989,160:37-43.

(收稿日期:2008-03-25)

(本文编辑:温少芳)

张晓明. HBsAg 与抗-HBs 共存现象的解释[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志:电子版*, 2009,3(3): 334-337.