

乙型肝炎病毒 DNA 定量值与 HBeAg、抗-HBe 的相关性分析

窦亚玲 程歆琦 李永哲 韩建华 倪安平

【摘要】 目的 探讨乙型肝炎(乙肝)病毒 DNA 的拷贝数(HBV DNA)与 HBeAg、抗-HBe的相关性。方法 对 883 例乙肝患者采用美国雅培公司 AXSYM 全自动酶免疫分析仪及配套试剂,进行微粒子酶免分析(MEIA)法检测 HBeAg、抗-HBe和 Roche COBAS AMPLICOR 定量 PCR 仪及 COBAS AMPLICOR HBV MONITOR™ 试剂盒内标法检测患者的 HBV DNA,并进行相关性分析。结果 (1)HBV DNA 与 HBeAg 呈线性正相关($r = 0.505, P < 0.01$ Mean: HBV DNA: 7.12×10^{12} 拷贝/ml; HBeAg: 218.31 S/CO)。DNA 含量 10^4 拷贝/ml 对应 HBeAg: 104 S/CO; DNA 含量在 $10^5 \sim 10^8$ 拷贝/ml, HBeAg: 112 S/CO; DNA 含量 $10^9 \sim 10^{15}$ 拷贝/ml, HBeAg: 252 S/CO。(2)HBV DNA 与抗-HBe无线性正相关($r = -0.052, P = 0.477 > 0.05$ Mean: HBV DNA 8.0×10^{10} 拷贝/ml, 抗-HBe: 0.18 S/CO)。结论 HBV DNA 与 HBeAg 呈线性正相关, HBeAg > 100 S/CO, HBV DNA > 10^4 拷贝/ml, 病毒复制活跃。HBV DNA 与抗-HBe无线性正相关性, HBeAg 阴性、抗-HBe阳性, 病毒复制有所下降, 但病毒载量仍较高, 不可忽略其传染性。

【关键词】 乙型肝炎病毒 DNA; 乙型肝炎 e 抗原; 乙型肝炎 e 抗体

Study on the correlation among quantification of HBV-DNA and HBeAg, anti-HBe in hepatitis B carriers
DOU Ya-ling, CHENG Xin-qi, LI Yong-zhe, HAN Jian-hua, NI An-ping. Department of Clinical Labs, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Science, Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

【Abstract】 **Objective** To better understand the duplication of hepatitis B virus (HBV) in order to improve clinical diagnoses and treatments via quantitative measurement of HBV-DNA and comparison of correlation of HBV-DNA with HBeAg and anti-HBe. **Methods** For 883 hepatitis B patients with positive HBsAg, HBV-DNA was measured by COBAS AMPLICOR HBV MONITOR™ reagent and COBAS AMPLICOR quantitative PCR instrument. Microparticle enzyme immunoassay analysis (MEIA) was then carried out with fully automatic enzyme immunoassay analysis instrument made by Abbott AxSYM from the U.S. to measure HBeAg and anti-HBe. Correlation was analysed by SPSS. **Results** (1) Positive correlation between 690 HBV-DNA positive and HBeAg positive with $r = 0.505 (P < 0.01)$ was found with mean values as: HBV-DNA: 7.12×10^{12} copies/ml; HBeAg: 218.31 S/CO. HBV-DNA: 10^4 copies/ml, HBeAg: 104 S/CO; HBV-DNA: $10^5 \sim 10^8$ copies/ml, HBeAg: 112 S/CO; HBV-DNA: $10^9 \sim 10^{15}$ copies/ml, HBeAg: 252 S/CO. (2) No correlation was found between 193 HBV-DNA and anti-HBe + with $r = -0.052 (P = 0.477 > 0.05)$ with Mean: HBV-DNA: 8.0×10^{10} copies/ml anti-HBe: 0.18 S/CO. **Conclusion** HBV-DNA and HBeAg appeared to have had linear correlation, showing that HBeAg > 100 S/CO, HBV-DNA > 10^4 copies/ml and hepatitis B virus were reproduced. However, HBV-DNA did not show linear correlation with anti-HBe as HBeAg negative and anti-HBe positive, the level of hepatitis B viral replication decrease slightly. But the virus load is still high. Infectivity can not neglect.

【Key words】 Hepatitis B virus DNA; HBeAg; Anti-HBe

既往研究显示乙型肝炎(乙肝)病毒(HBV)e 抗原(HBeAg)阳性表明 HBV 处于活动性复制期,提示具有强传染性。抗-HBe 出现表明 HBV 病毒复制下

降。本研究与以往不同的是通过定量 PCR 内标法检测 HBV DNA 拷贝数与美国雅培公司 AXSYM 全自动酶免疫分析仪及配套试剂定量检测 HBeAg、抗-HBe,并进行相关性比较,探讨 HBV 复制情况,为乙肝诊治提供参考。

作者单位:100730 北京,中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院检验科

对象与方法

1. 对象:收集协和和医院2003-2005年883例慢性乙肝患者,年龄在15~65岁,化验时未经治疗。研究对象诊断标准依据2000年中华医学会传染病与寄生虫病学会肝病学会联合修订的病毒性肝炎防治方案并参考2005年12月由中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学分会联合制订的《慢性乙型肝炎防治指南》。

2. 仪器和试剂:COBAS AMPLICOR HBV MONITOR™试剂盒并用COBAS AMPLICOR定量PCR仪检测HBV DNA;美国雅培公司AXSYM全自动酶免疫分析仪(MEIA)及配套试剂检测HBV血清标志物(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc IgG)。

3. 方法:空腹条件下取静脉血3ml,4℃、3000 r/min离心15 min,分离血清,并于-80℃条件下保存待测。严格按照试剂说明书进行操作。①每次检测HBV血清标志物均采用测标本前做质控,测完标本,实验结束前再做质控,如标本量>60例,实验中加做质控。每个标本在3小时内完成。②COBAS AMPLICOR为内标法测HBV DNA,同时对检测标本的HBV DNA及HBV定量标准DNA(HBVQS)进行PCR扩增,HBVQS是无传染性的线性质粒,它具有与HBV靶基因相同的引物结合区,但它的探针结合区是独特的,利用这一特性,可将HBVQS扩增产物和HBV DNA扩增产物彼此区分。将已知拷贝数的HBVQS参入到每个待测定标本中,并和HBV标本经过同样的标本处理、PCR扩增、杂交和检测过程。通过对HBVQS和靶HBV信号比较,进行HBV DNA定量检测。Roche本身阴性质控可以监测假阳性,内标QS可以监测假阴性。每次检测均依次按阴性、低阳、高阳质控,标本,低阳质控的顺序检测HBV DNA。上述实验,经质量控制,结果才算有效。确保实验质量。

4. 统计学分析:使用SPSS 11.0软件进行分析,HBV DNA与HBeAg、抗-HBe的相关性采用线性相关分析,因抗-HBe的检测为抑制率的检测,0<抗-HBe<1为阳性,抗-HBe越低,抗体越强。分别将抗-HBe、1-抗-HBe,与HBV DNA进行线性相关分析。

结 果

1. HBV检测结果:883例慢性乙肝患者中,有

690例HBsAg阳性、抗-HBs阴性、HBeAg阳性、抗-HBe阴性、抗-HBc IgG阳性;有193例HBsAg阳性、抗-HBs阴性、HBeAg阴性、抗-HBe阳性、抗-HBc IgG阳性。DNA含量10⁴拷贝/ml对应HBeAg为104 S/CO;DNA含量在10⁵~10⁸拷贝/ml,HBeAg为112 S/CO;DNA含量10⁹~10¹⁵拷贝/ml,HBeAg为252 S/CO(表1、图1)。

表1 HBV DNA与HBeAg、抗-HBe的相关分析

HBV DNA(拷贝/ml)	HBeAg 阳性	抗-HBe
10 ²	1(9)	2(0.078)
10 ³	2(58)	21(0.120)
10 ⁴	7(104)	19(0.235)
10 ⁵ ~10 ⁸	156(112)	101(0.156)
10 ⁹ ~10 ¹⁵	524(252)	50(0.227)

注:括号外数据为例数,括号内数据为HBeAg阳性和抗-HBe的平均含量S/CO

2. HBV DNA与HBeAg的相关性分析:690例HBV DNA阳性与HBeAg阳性呈线性正相关, $r = 0.505, P < 0.01$ Mean:HBV DNA:7.12×10¹²拷贝/ml,HBeAg:218.31 S/CO;193例HBV DNA阳性与抗-HBe阳性无相关性, $r = -0.052, P = 0.477 > 0.05$, Mean:8.0×10¹⁰拷贝/ml,抗-HBe:0.18 S/CO;HBV DNA与1-抗-HBe也无相关性 $r = 0.052, P = 0.477 > 0.05$ 。HBeAg阳性比抗-HBe阳性组HBV DNA平均含量高10²拷贝/ml,HBeAg阳性组患者HBV DNA含量明显高于抗-HBe阳性组。

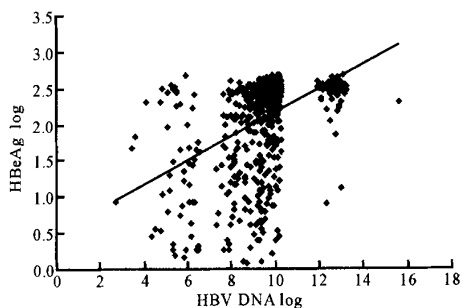


图1 HBV DNA与HBeAg的相关性分析

讨 论

一般认为,HBeAg阳性表示HBV活动性复制,提示完整病毒颗粒的存在,是传染性强的标志。本研究采用COBAS AMPLICOR HBV MONITOR™试剂盒并用COBAS AMPLICOR定量PCR仪对HBV DNA定量测试。有文献曾对COBAS

AMPLICOR 定量 PCR 与其他 PCR 方法进行比对,证实 COBAS AMPLICOR 定量 PCR 仪更敏感和准确^[1]。本实验结果显示 HBeAg 与 HBV DNA 含量呈线性正相关,进一步证实了既往认为 HBeAg 阳性表明病毒复制活跃,传染性强的结论是可靠的;但 $r = 0.505, P < 0.01$ 从散点图可知,存在一定程度的偶然。从 HBV DNA 与 HBeAg 阳性、抗-HBe 阳性的相关分析(表 1)可以看出 HBeAg 阳性, DNA 的拷贝数在 10^4 与 $10^5 \sim 10^8$ 时, HBeAg 的平均含量 S/CO 相差不大,均在 100 S/CO 以上,而当 DNA 的拷贝/ml 在 $10^9 \sim 10^{15}$, HBeAg 的平均含量为 252 S/CO,有差别。从总的趋势看, HBeAg 高低与 HBV DNA 病毒载量多少仍呈正相关。HBeAg 的检测方法简单、快捷。在没有条件使用 PCR 方法进行 HBV DNA 定量检测的情况下, HBeAg 阳性不失为判断 HBV 活性及传染性的指标^[2,3]。

以往报道 HBeAg 阴性, 抗-HBe 阳性, 病毒复制下降, 传染性降低。而本研究中使用的定量 PCR 方法仍然在抗-HBe 阳性患者体内检测到大量 HBV DNA, 拷贝数虽较 HBeAg 阳性低 10^2 拷贝/ml, 但仍较高。抗-HBe 与 HBV DNA 无预期相关性, 说明病毒未完全停止复制, 复制水平仍较高, 而多数患者处于活动期^[4]。但不排除可能有 HBV 前 C 区基因变异, 这种变异毒株丧失了分泌 HBeAg 的能力, 从而使 HBeAg 表达缺失^[5,6], 使患者 HBeAg 阴性而抗-HBe 阳性, 但病毒复制不受影响, 也有报道部分重型肝炎 HBeAg 阴性, HBV DNA 仍较高的原因, 除了 T1896 变异外, 还存在 T1862 变异。前 C1862 突变对 e 抗原前体蛋白合成虽无影响, 但可使 e 抗原前体在分泌过程中受阻^[7]。还有文献报道,

HBeAg 阴性, 血清 HBV DNA 低于最低检测限, 肝组织 HBV DNA 仍处于一定水平^[8]。故不能认为 HBeAg 阴性, 抗-HBe 阳性, 患者已进入恢复期; 建议有条件的患者, 应定期查 HBV DNA 及肝功能, 监测乙肝的进展情况, 以指导治疗。

参 考 文 献

- 1 Dai CY, Yu ML, Chen SC, et al. Clinical evaluation of the COBAS amplicor HBV monitor test for measuring serum HBV DNA and comparison with the quantiplex branched DNA signal amplification assay in Taiwan. *J Clin Pathol*, 2004, 57:141-145.
- 2 Hussain AB, Karamat KA, Anwar M, et al. Correlation of HBV DNA PCR and HBeAg in hepatitis B carriers. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2004, 14:18-20.
- 3 Xie Y, Zhao H, Dai WS, et al. HBV DNA level and antigen concentration in evaluating liver damage of patients with chronic hepatitis B. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2003, 2:418-422.
- 4 Ljunggren KK, Nordenfelt E, Kidd A. Correlation of HBeAg/anti-HBe, ALT levels, and HBV DNA PCR results in HBsAg-positive patients. *J Med Virol*, 1993, 39:297-302.
- 5 Peng XM, Huang GM, Li JG, et al. High level of hepatitis B virus DNA after HBeAg-to-anti-HBe seroconversion is related to coexistence of mutations in its precore and basal core promoter. *World J Gastroenterol*, 2005, 28:3131-3134.
- 6 万同己. HBV-DNA 与 HBV M 含量的关系及预后分析. *中国医药报*, 2003. 9.
- 7 郭亚兵, 侯金林, 骆抗先, 等. 重型乙型肝炎 e 抗原阴性患者前 C 变异株及其体外翻译. *中华肝脏病杂志*, 2001, 9:42.
- 8 吕卉, 马立宪, 徐皖苏, 等. 定量检测慢性乙型肝炎患者肝组织乙型肝炎病毒 DNA 的临床价值. *中华肝脏病杂志*, 2003, 11:173-175.

(收稿日期:2006-01-05)

(本文编辑:尹廉)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊 2006 年投稿须知

为提高本刊刊出文章的时效性, 缩短文稿的刊出时滞, 避免在邮寄过程中的丢失, 本刊编辑部决定, 请作者投稿前仔细阅读本刊的稿约并予以执行, 同时作者可选择两种方式投稿:

①凡采取纸质形式邮寄方式作者务必提供有效的 Email 地址及方便联系的电话, 本刊编辑部将根据情况采用 Email 或电话与作者联系。

②本刊欢迎采用 Email 方式投稿, 但以电子版方式投稿后请电话通知本刊编辑部, 同时最好在寄单位推荐信时邮寄一份纸质版稿件。

本刊 Email: lxbonly@public3.bta.net.cn

电话: 010-61739449

本刊编辑部