

乙型肝炎X抗原和抗-HBx的血清流行病学调查

吴在川¹ 蒋豫图¹ 张习坦¹ 陈万荣¹ 阎惠萍² 汪爱勤³ 王志明⁴ 田琦琦⁴

提要 对437例乙型肝炎和肝癌病人进行了HBxAg和抗-HBx的血清流行病学调查。结果表明HBxAg阳性率为3.66% (16/437), 抗-HBx阳性率为2.97% (13/437); HBxAg主要出现在HBsAg、HBeAg和抗-HBc阳性, 而抗-HBe为阴性的血清中, 它与抗-HBs的关系不密切; 抗-HBx主要出现在HBeAg和抗-HBc阳性, 而HBsAg和抗-HBe为阴性的血清中, 它与抗-HBs的关系亦不密切。上述结果说明HBxAg/抗-HBx系统的出现与体内乙型肝炎的病毒复制有关, 同时也说明抗-HBx不是保护性抗体。

关键词 乙型肝炎X抗原 抗体 血清流行病学

1985年, Moriarty和Kay等分别在真核细胞和原核细胞中成功地表达了乙型肝炎X抗原(HBxAg) [1, 2], 并在乙型肝炎患者血清中检测到抗-HBx抗体。这说明两个问题: 一是HBV DNA中确实存在一称为X的基因; 二是机体对X基因的表达产物能产生免疫反应。近几年来, 国内外对HBxAg/抗-HBx系统进行了许多血清学方面的研究, 并获得了一些很有意义的结果。但以往的研究, 收集的病例数往往较少, 且大都不经过统计分析, 因而对结果的准确性如何, 难以把握, 为更加精确地反映HBV感染后HBxAg/抗-HBx的出现情况, 我们共调查了437例乙型肝炎病人及肝癌患者, 现将结果报告如下。

材料与方法

一、研究对象: 437例乙型肝炎及肝癌患者分别来自北京市第二传染病院、石家庄解放军第260医院和西安第四军医大学。乙型肝炎按1984年南宁病毒性肝炎会议标准进行诊断分组, 所有肝癌病人血清中, 乙型肝炎五项指标至少有一项为阳性。

二、检测方法:

1. HBxAg: ELISA夹心法, 详细方法另文报道。基本过程为包被抗-HBx单克隆抗体, 加待测血清后再加酶标抗-HBx单克隆抗体, 以 $P/N \geq 2.1$, 且OD值大于0.1判为阳性。

2. 抗-HBx: ELISA竞争法, 详细方法另文报道。基本过程为包被基因工程HBxAg后, 同时加待测血清和酶标抗-HBx单克隆抗体, 计算抑制率, 以抑制率 $\geq 50\%$ 判为阳性。上述方法所用试剂均为本所生产。

3. HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc: 检测均按常规方法进行, 试剂为本院诊断试剂厂生产。

三、统计分析方法: 配对计数资料的 χ^2 检验。

结 果

一、HBxAg和抗-HBx阳性率: 437例乙型肝炎及肝癌患者, 共检出HBxAg阳性16例,

1 军事医学科学院微生物流行病学研究所, 北京, 邮政编码100850

2 北京市第二传染病医院

3 第四军医大学

4 解放军260医院

阳性率为3.66%，抗-HB_x阳性13例，阳性率为2.97%，HB_xAg和抗-HB_x的总阳性率为6.63%（HB_xAg和抗-HB_x无同时阳性者）。

二、HB_xAg和抗-HB_x与HB_sAg的关系：HB_sAg阳性组HB_xAg阳性率（4.38%）与HB_sAg阴性组HB_xAg阳性率（0%），差别有显著性；而HB_sAg阳性组抗-HB_x阳性率（2.74%）与HB_sAg阴性组抗-HB_x阳性率（4.17%）亦有显著差别（表1），说明HB_xAg多出现在HB_sAg阳性血清，而抗-HB_x多出现在HB_sAg阴性血清中。

表1 HB_xAg和抗-HB_x与HB_sAg的关系

HB _s Ag	HB _x Ag		抗-HB _x	
	+	-	+	-
+	16	349	10	355
-	0	72	3	69
χ^2	348.00		344.14	
P	<0.0005		<0.0005	

三、HB_xAg和抗-HB_x与抗-HB_s的关系：表2的结果说明，血清抗-HB_s是否阳性与HB_xAg和抗-HB_x的阳性率无关。

表2 HB_xAg和抗-HB_x与抗-HB_s的关系

抗-HB _s	HB _x Ag		抗-HB _x	
	+	-	+	-
+	0	14	0	14
-	16	407	13	410
χ^2	0.03		0.00	
P	>0.5		1.00	

四、HB_xAg和抗-HB_x与HB_eAg的关系：HB_eAg阳性组HB_xAg阳性率（5.56%），显著高于HB_eAg阴性组HB_xAg阳性率（2.89%）；而HB_eAg阳性组抗-HB_x阳性率（7.14%），亦显著高于HB_eAg阴性组的抗-HB_x阳性率（1.29%），说明HB_xAg和抗-HB_x主要出现在HB_eAg阳性血清中（表3）。

五、HB_xAg和抗-HB_x与抗-HB_e的关系

表3 HB_xAg和抗-HB_x与HB_eAg的关系

HB _e Ag	HB _x Ag		抗-HB _x	
	+	-	+	-
+	7	119	9	117
-	9	302	4	307
χ^2	92.82		103.67	
P	<0.0005		<0.0005	

抗-HB_e阳性组HB_xAg阳性率（2.63%）显著低于抗-HB_e阴性组HB_xAg阳性率（3.88%）；而抗-HB_e阳性组抗-HB_x阳性率（0%）亦显著低于抗-HB_e阴性组的抗-HB_x阳性率（3.60%），说明HB_xAg和抗-HB_x主要出现在抗-HB_e阴性血清中（表4）。

表4 HB_xAg和抗-HB_x与抗-HB_e的关系

抗-HB _e	HB _x Ag		抗-HB _x	
	+	-	+	-
+	2	74	0	76
-	14	317	13	348
χ^2	39.56		43.19	
P	<0.0005		<0.0005	

六、HB_xAg和抗-HB_x与抗-HB_c的关系：抗-HB_c阳性组HB_xAg阳性率（3.75%），显著高于抗-HB_c阴性组HB_xAg阳性率（2.70%），而抗-HB_c阳性组抗-HB_x阳性率（3.25%）亦显著高于抗-HB_c阴性组抗-HB_x阳性率（0%），说明HB_xAg和抗-HB_x主要出现在抗-HB_c阳性血清中（表5）。

表5 HB_xAg和抗-HB_x与抗-HB_c的关系

抗-HB _c	HB _x Ag		抗-HB _x	
	+	-	+	-
+	15	385	13	387
-	1	36	0	37
χ^2	380.02		385.00	
P	<0.0005		<0.0005	

讨 论

乙型肝炎及肝癌患者血清中HBxAg和抗-HBx阳性率,不同作者报道的结果差别很大,HBxAg阳性率范围为8.2%~50%[3,4],抗-HBx阳性率范围为0%~68%[5,6],我们的结果是HBxAg阳性率为3.66%,抗-HBx阳性率为2.97%。造成这种差异的原因可能有两个方面:一是不同作者的检测方法不一致,有的用免疫印迹的方法,有的用免疫沉淀的方法,有的用ELISA,上述方法的敏感性和特异性各不相同。而且有的用抗-HBx多克隆抗体,有的用抗-HBx合成多肽血清,有的用抗-HBx单克隆抗体,这样对实验结果势必也会产生一定影响。第二种可能原因是,一般认为HBxAg的表达量比较低,且只能在HBV感染后的某一阶段表达,这样由于临床血清标本的采取时间不同,亦可能影响检出率。

本研究的结果表明,血清HBxAg主要出现在HBsAg和HBeAg阳性血清中,而HBeAg阳性一般认为是病毒复制的指标,所以HBxAg阳性提示体内多伴有病毒复制,从而提示HBxAg阳性血清具有传染性,这与Feitelson等人的结果是一致的[4]。但由于HBxAg的阳性率比较低,因而用HBxAg来代替HBeAg作为体内HBV的复制指标是不适宜的,因本研究中HBeAg阳性率为28.83%(126/437),远远高于HBxAg阳性率(3.66%)。不过在判断HBV感染后的血清是否具有传染性时,HBxAg可作为一个辅助指标,即HBeAg阴性血清中如果HBxAg为阳性,这样的血清亦应视为具有传染性,而采取适当的防护措施。

本研究的结果表明,抗-HBx阳性多伴有HBeAg和抗-HBc阳性,这说明了两个问题:一是抗-HBx抗体不是保护性抗体,抗-HBx的出现并不说明机体已从HBV感染中康复;二是抗-HBx的出现并不意味着体内HBV复制的消失,某些抗-HBx阳性血清仍可能具有传染性。

Seroepidemiological Study of Hepatitis B Virus X Antigen (HBxAg) and Anti-HBx Antibodies in Patients with Hepatitis B Wu Zaichuan, et al., Institute of Microbiology and Epidemiology, AMMS, Beijing

A total of 437 patients with hepatitis B were tested for serum [HBxAg and anti-HBx in a seroepidemiological study. It was shown that the HBxAg positivity rate was 3.66% (16/437), the anti-HBx positivity rate was 2.97% (13/437). HBxAg was most frequently present in HBsAg, HBeAg, and anti-HBc positive, but anti-HBe negative sera. Anti-HBx was most frequently present in HBeAg and anti-HBc positive, but HBsAg and anti-HBe negative sera. Both the presence of HBxAg and anti-HBx antibodies showed no significant relationship with the presence of serum anti-HBs antibodies. These results indicated that serum HBxAg/anti-HBx system was related to the replications of HBV in the HBV infected human body, and anti-HBx were not protective antibody.

Key words Hepatitis B virus X antigen Antibody Seroepidemiology

参 考 文 献

1. Moriarty AM, et al. Antibodies to peptides detect new hepatitis B antigen: serological correlation with hepatocellular carcinoma. Science 1985; 227: 429.
2. Kay A, et al. The HBV X gene expressed in E. coli recognized by sera from hepatitis patients. EMBO J 1985; 4: 1287.
3. 金灵,等.肝病患者血清中乙型肝炎病毒HBxAg和抗-HBx的检测.中华医学检验杂志1990; 13: 280.
4. Feitelson MA, et al. X antigen/antibody markers in hepadnavirus infections: presence and significance of hepadnavirus X gene product in serum. Gastroenterology 1990; 98(4): 1071.
5. Abraham R, et al. Antibodies to hepatitis B virus X protein in sera of patients with acute and chronic active hepatitis. Med Microbiol Immunol 1989; 178: 187.
6. 梁小浣,等.免疫印迹技术检测血清HBc/HBe和HBx抗体及其在肝癌中的价值.中华微生物和免疫学杂志1989; 9(1): 58.

(1991年10月26日收稿,1992年1月21日修回)