

# 乙肝表面抗原大蛋白与HBV DNA的比较及其与ALT的关系

杨延敏, 王洪笑, 王桂利, 崔亚利, 梁萍

杨延敏, 王洪笑, 王桂利, 崔亚利, 梁萍, 北京丰台医院 北京市 100071

通讯作者: 杨延敏, 100071, 北京市丰台区, 北京丰台医院检验科. yyanmin2005@yahoo.com.cn

收稿日期: 2006-07-13 接受日期: 2006-07-19

## Comparison between hepatitis B virus large protein and DNA and its association with alanine aminotransferase level

Yan-Min Yang, Hong-Xiao Wang, Gui-Li Wang, Ya-Li Cui, Ping Liang

Yan-Min Yang, Hong-Xiao Wang, Gui-Li Wang, Ya-Li Cui, Ping Liang, Beijing Fengtai Hospital, Beijing 100071, China

Correspondence to: Yan-Min Yang, Department of Laboratory Medicine, Beijing Fengtai Hospital, Beijing 100071, China. yyanmin2005@yahoo.com.cn

Received: 2006-07-13 Accepted: 2006-07-19

### Abstract

**AIM:** To explore the clinical significance of hepatitis B virus large protein (HBV-LP) in the diagnosis of viral replication.

**METHODS:** Serum samples were collected from 177 patients with HBV infection. HBV-LP, HBV preS1 and HBV markers were examined using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). HBV DNA was quantitatively detected by real-time polymerase chain reaction. The level of alanine aminotransferase was obtained by an automated biochemistry analyzer.

**RESULTS:** No significant difference was found between the detectable rates of HBV DNA and HBV-LP in patient with the same HBV markers. The positive rates of HBV-LP and HBV DNA in HBeAg-positive patients were higher than those of HBeAg negative ones (95.45% vs 44.36%,  $P < 0.05$ ; 93.18% vs 41.35%,  $P < 0.05$ ). There was significant difference between the detectable rates of HBV DNA and HBV preS1 in patients with the same HBV markers ( $P < 0.05$ ). The average level of ALT in HBV-LP-positive patients was higher than that of HBV-LP-negative ones.

**CONCLUSION:** There is a perfect correlation between the positive rate of HBV-LP and HBV DNA, and HBV-LP is a reliable serological marker that can reflect the replication of HBV as well as liver function.

**Key Words:** Hepatitis B virus large protein; HBV DNA; Alanine aminotransferase

Yang YM, Wang HX, Wang GL, Cui YL, Liang P. Comparison between hepatitis B virus large protein and DNA and its association with alanine aminotransferase level. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(27):2733-2736

### 摘要

**目的:** 检测不同模式乙肝患者血清中乙肝表面抗原大蛋白(HBV-LP)、乙肝前S1, HBV DNA以及ALT, 比较HBV-LP以及乙肝前S1的检出与HBV DNA及ALT之间的关系, 探讨HBV-LP用于乙肝患者临床诊断的意义。

**方法:** 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)检测177例HBV患者血清HBV-LP和乙肝前S1, 荧光定量PCR方法检测患者HBV DNA, 全自动生化分析仪检测ALT。

**结果:** 相同乙肝模式患者血清HBV-LP与HBV DNA检出率无显著差异; HBeAg阳性患者血清中HBV-LP与HBV DNA阳性率均明显高于HBeAg阴性患者(95.45% vs 44.36%,  $P < 0.05$ ; 93.18% vs 41.35%,  $P < 0.05$ ); 相同乙肝模式患者血清乙肝前S1的检出低于HBV DNA的检出, 两者差异显著( $P < 0.05$ ); HBV-LP阳性患者的ALT明显高于HBV-LP阴性患者。

**结论:** 乙肝表面抗原大蛋白与HBV DNA有较高的符合率, 是反映乙肝患者体内病毒复制情况的可靠指标; 而且乙肝表面抗原大蛋白阳性患者ALT较阴性患者高, 表明HBV-LP同时也反映了乙肝病情的活动情况。

**关键词:** 乙肝病毒表面抗原大蛋白; HBV DNA; 丙氨酸转氨酶

杨延敏, 王洪笑, 王桂利, 崔亚利, 梁萍. 乙肝表面抗原大蛋白与HBV DNA的比较及其与ALT的关系. 世界华人消化杂志

### ■背景资料

近年来临床将乙肝前S1指标多用于乙肝患者的检测, 但是应用结果表明乙肝前S1指标与HBV DNA的相关性不高。

### ■研发前沿

乙肝表面抗原大蛋白(HBV-LP)在乙肝病毒侵入、组装成熟过程中起到非常关键的作用, 与HBV DNA复制水平密切相关, 而且HBV-LP的过量表达是导致肝细胞凋亡以及病变的主要原因。

## ■相关报道

解放军302医院在HBV-LP与HBV DNA的相关性上进行了研究, 浙江湖州中心医院对HBV-LP在抗病毒治疗患者中的检测意义进行了研究。

2006;14(27):2733-2736

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2733.asp>

## 0 引言

乙型肝炎是我国发病率较高的传染病, 已经成为危害广大人民群众健康的社会公众性问题<sup>[1]</sup>, 实验室的诊断对于判断病毒复制程度、监测抗病毒治疗效果以及评估预后效果等的作用至关重要。长期以来, 临床上检测病毒及其复制情况的方法主要有酶联免疫法测HBV血清标志物和PCR法测定HBV DNA, HBV DNA是检测HBV自身, HBV血清标志物则是检测人体对HBV的体液免疫反应状态<sup>[2]</sup>。近年来随着对乙肝表面抗原大蛋白中前S区抗原在乙肝发病机制、感染与复制等方面研究的深入, 研究者们逐渐认识到乙肝表面抗原前S区具有越来越重要的临床意义<sup>[3-5]</sup>。研究人员发现, HBV表面大蛋白(HBV-LP)在空间上具有两种不同的跨膜构象, 作为HBV的包装蛋白, 内侧可以和HBV核壳体膜结合, 外侧可与易感细胞受体结合, 是HBV颗粒成熟包装的关键<sup>[3]</sup>。由于单独的前S区抗原作为乙肝表面抗原大蛋白的一部分, 无法模拟其复杂的拓扑结构, 通过此种方法制作的mAb只具有线性表位但是失去了构象型表位。这样针对低级结构抗原制作出的mAb在实际应用中便可能导致漏检。我们使用北京热景生物技术有限公司研制的HBV-LP酶免定量试剂盒研究乙肝表面抗原大蛋白检测用于临床的意义, 该试剂盒包被针对构象型前S区的高亲和力、高特异性的单抗来检测HBV-LP。

## 1 材料和方法

1.1 材料 血清标本均来自2005-06/2005-10, 北京丰台医院门诊或是住院患者, 共计177例, 其中男92例, 女85例, 年龄15-81(平均47.3)岁, 所有标本均于-20℃保存以备用。Roche公司生产LightCycler自动荧光PCR仪; 日本奥林巴斯AU-640全自动生化分析仪; 高速台式离心机(Sigma公司); 恒温加热器(美国Type17600Dr Bath); 酶标仪(DENLEY DRAGON MK2); 洗板机(DENLEY DRAGON WellWash4)。乙肝表面抗原大蛋白、乙肝两对半以及乙肝前S1检测采用酶联免疫方法, 乙肝表面抗原大蛋白酶免定量试剂由北京热景生物技术有限公司提供; 乙肝两对半检测为上海实业科华生物技术有限公司的酶联免疫法试剂, 其中HBsAg检测试剂盒

为中国药品生物制品检定所批检产品; 乙肝前S1试剂购自上海阿尔法生物技术有限公司。

1.2 方法 HBV DNA检测采用荧光定量方法, 检测试剂盒购自深圳匹基生物工程有限公司, 灵敏度为 $5.0 \times 10^2$  copies/mL, 取 $\geq 1 \times 10^3$  copies/mL为阳性, 阴性时取实测拷贝值, 低于灵敏度以下作零拷贝处理。肝功能检测, 血清ALT测定采用全自动生化分析仪, ALT $>666.8$  nkat/L视为异常。

统计学处理 计量资料采用 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

2.1 不同乙肝两对半模式患者血清HBV-LP, HBV DNA以及乙肝前S1检出情况比较 相同乙肝两对半模式组中HBV-LP的阳性率与HBV DNA的阳性率经过 $\chi^2$ 验证没有显著性差异( $P>0.05$ ); 在所有HBsAg阳性患者中乙肝表面抗原大蛋白的阳性率明显高于乙肝前S1的阳性率, 经过 $\chi^2$ 验证均有显著性差异( $P<0.05$ ); 不同的乙肝两对半模式组中乙肝表面抗原大蛋白的阳性率经过 $\chi^2$ 验证组间均有显著性差异( $P<0.05$ , 表1)。

2.2 HBeAg阳性和阴性患者中HBV-LP, HBV DNA以及乙肝前S1的检出情况比较 在HBeAg阳性中乙肝表面抗原大蛋白的阳性率明显高于和HBeAg阴性组, 经过 $\chi^2$ 验证两者有显著性差异( $P<0.05$ , 表2)。

2.3 HBV-LP与ALT之间的关系 HBV-LP阳性患者转氨酶(ALT)水平明显高于与HBV-LP阴性患者, 经过 $t$ 检验有显著性差异( $P<0.05$ , 表3)。

## 3 讨论

酶联免疫法(ELISA)一直是临床上用于乙肝病毒感染的血清检测手段, 传统认为乙肝两对半中HBeAg阳性表明HBV复制活跃、传染性较强<sup>[2]</sup>。我们的研究显示, 在44例HBeAg阳性患者中HBV-LP阳性率(95.45%)与HBV DNA的阳性率(93.18%)一致, 经过 $\chi^2$ 验证无显著差异; 该组中乙肝前S1的阳性率(56.82%)明显低于HBV-LP和HBV DNA的阳性率。结果表明, HBV-LP与HBV DNA的检出具有良好的一致性, 能够准确的反映出乙肝患者体内病毒的复制情况, 同时结果还表明HBV-LP的检出由于使用针对构象型前S区的mAb, 因而其检出率明显高于目前临床上使用乙肝前S1指标<sup>[6]</sup>。过去临床上认为乙肝患者出现HBeAg阴转是HBV复制减弱、传染性降低和预后良好的象征, 但是我们的研究显示,

## ■创新盘点

本研究阐述了HBV-LP反映HBeAg阴性患者病毒复制水平的临床意义。

表 1 不同乙肝模式患者中HBV-LP, HBV DNA与乙肝前S1检测比较

模式	HBV M <i>n</i>	HBV DNA		HBV-LP		乙肝前S1	
		阳性	阳性率(%)	阳性	阳性率(%)	阳性	阳性率(%)
HBsAg(+)HBeAg(+)HBcAb(+)	35	34	97.14	33	94.29	22	62.86
HBsAg(+)HBeAg(+)	9	7	77.78	9	100	3	33.33
HBsAg(+)HBeAb(+)HBcAb(+)	63	45	71.43	48	76.19	14	22.22
HBsAg(+)HBcAb	23	10	43.48	11	47.83	4	17.39
HBsAb(+)HBeAb(+)HBcAb(+)	30	0	0	0	0	2	6.67
HBsAb(+)HBcAb(+)	17	0	0	0	0	0	0
合计	177	96	54.24	101	57.06	45	25.42

## ■应用要点

HBV-LP在临床的广泛应用, 可以更加真实的了解患者的病情, 指导治疗。

表 2 HBeAg阳性和阴性中HBV-LP, HBV DNA以及乙肝前S1的检测比较

	HBV DNA		HBV-LP		乙肝前S1	
	阳性	阳性率(%)	阳性	阳性率(%)	阳性	阳性率(%)
44例HBeAg阳性	41	93.18 <sup>a</sup>	42	95.45 <sup>a</sup>	25	56.82
133例HBeAg阴性	55	41.35 <sup>a</sup>	59	44.36 <sup>a</sup>	20	15.04
合计	96	54.24 <sup>a</sup>	101	57.06 <sup>a</sup>	42	25.42

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 乙肝前S1组。

在133例HBeAg阴性患者中HBV DNA与HBV-LP的阳性率分别为41.35%和44.16%, 可能是免疫清除不全或是HBV基因前C区变异所致<sup>[7]</sup>, 多为慢性乙肝, 而且此类患者发生肝硬化、肝癌的风险较大。转氨酶(ALT)是判断肝内炎症活动度的可靠指标, 临床上通常将血清转氨酶水平变化作为乙肝患者病情转归的一个重要指标。我们的研究显示, HBV-LP阳性的ALT水平明显高于与阴性患者( $P < 0.05$ ), 说明HBV-LP阳性患者较阴性患者肝组织损伤严重, 这与HBV-LP阳性代表存在HBV复制相符合, 同时国外研究表明, 乙肝表面抗原大蛋白是导致肝细胞病变及凋亡的主要原因<sup>[8-9]</sup>, 这个结果表明, HBV-LP可用于观察临床疗效和估计预后。

目前HBV DNA的检测是HBV复制最直接的指标, 但此方法对实验室条件要求严格, 不易推广, 特别是广大基层医疗单位还难以开展。乙肝两对半的血清免疫学标志物, 可反映乙肝患者的病情和传染性, 现已作为常规检查项目开展, 不过由于其方法的灵敏度、特异性的限制以及HBV为逃避宿主的免疫反应常发生变异, 导致检测结果的失真。而使用酶联免疫定量方法检测HBV-LP与HBV DNA的检测有良好一致性, 是反映HBV复制活跃的可靠指标, 可以做为HBV感染、复制和乙肝患者诊断、治疗和预后

表 3 HBV-LP与ALT检出的关系

HBV-LP	<i>n</i>	ALT (nkat/L)
阳性	99	1133.56 ± 716.81 <sup>a</sup>
阴性	78	516.77 ± 283.39

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs HBV-LP阴性患者。

的重要标志物, 具有较高的临床应用价值, 适于在广大基层医院开展。

## 4 参考文献

- 1 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床. 第2版. 北京, 人民卫生出版社, 2001
- 2 谢志贤, 谭爱国, 何美懿, 董莹. 血清中乙型肝炎5项标志表现模式与乙型肝炎病毒-DNA含量的关系. 中华医院感染学杂志 2002; 12: 81-83
- 3 Bruss V, Vieluf K. Functions of the Internal Pre-S Domain of the Large Surface Protein in Hepatitis B Virus Particle Morphogenesis. *J Virol* 1995; 69: 6652-6657
- 4 Bruss V. Envelopment of the hepatitis B virus nucleocapsid. *Virus Res* 2004; 106: 199-209
- 5 Lambert C, Mann S, Prange R. Assessment of determinants affecting the dual topology of hepadnaviral large envelope proteins. *Journal of General Virology* 2004; 85: 1221-1225
- 6 孙颖, 辛绍杰, 雷厉, 侯俊, 貌盼勇. 乙肝病毒外膜蛋白检测对于判定HBV DNA复制的意义. 世界华人消化杂志 2006; 14: 354-357
- 7 Hamasaki K, Nakata K, Nagayama Y, Ohtsuru A, Daikoku M, Taniguchi K, Tsutsumi T, Sato Y,

## ■名词解释

乙肝表面抗原大蛋白: 是乙肝病毒包膜蛋白中的一种, 和病毒的复制密切相关, 由HBV基因中的S, preS1以及preS2基因共同表达。

- Kato Y, Nagataki S. Changes in the prevalence of HBeAg-negative mutant hepatitis B virus during the course of chronic hepatitis B. *Hepatology* 1994; 20: 8-14
- 8 Foo NC, Ahn BY, Ma X, Hyun W, Yen TS. Cellular Vacuolization and Apoptosis Induced by Hepatitis B Virus Large Surface Protein. *Hepatology* 2002; 36: 1400-1407
- 9 Roingeard P, Sureau C. Ultrastructural analysis of hepatitis B virus in HepG2-transfected cells with special emphasis on subviral filament morphogenesis. *Hepatology* 1998; 28: 1128-1133

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

## • 会议纪要 •

### 第六届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会 暨《消化道恶性梗阻的动脉内灌药联合内支架治疗应用 技术》国家级继续医学教育学习班会议纪要

**本刊讯** 第六届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会于2006-09-15/09-18在浙江省杭州市之江饭店会议中心隆重举行。本次会议由上海同仁医院与浙江省中医药大学第一医院联合举办。《中华放射学杂志》、《中华消化内镜杂志》、《世界华人消化杂志》和《介入放射学杂志》共同协办。卫生部科技教育司、上海市卫生局以及浙江省卫生厅等相关领导参加了会议开幕仪式,并分别就卫生部“十年百项”技术推广、国家级继续医学教育、上海市重大医学成果转化等项目背景作了介绍,对推广成果规范提出了新的要求。肖湘生、李麟荪、杨仁杰、李彦豪、吴云林、龚彪、李宁等50余位国内著名介入放射学、消化内镜以及外科学方面专家参加了会议专题演讲及沙龙研讨。来自北京、上海、浙江、河北、四川、黑龙江、江苏、安徽、甘肃、江西、内蒙古、福建、云南、甘肃、辽宁、湖南17个省市自治区的320名代表报名参加了会议。到会参加研讨会暨学习班的代表中,高级技术职称170名,中级技术职称121名,初级技术职称28人,分别占总人数的54.2%, 38.5%和7.3%。本次会议通过由专家专题演讲、录象演播、现场操作演示以及沙龙研讨专家与代表互动等多种形式着重介绍消化道恶性病变消化内镜、介入放射学、外科以及其他综合治疗的新技术与新方法。参加会议的代表们学习积极性极高,求知欲望十分强烈,会场认真的学习气氛使专家演讲的激情也欲罢不能。尽管中午课程都在临近1点结束,下午更是延迟到傍晚6点30分之后,但会场仍每每座无虚席。而在晚上举行的消化道支架技术研讨沙龙气氛则变得更为热烈。参会专家与代表围绕消化道管腔内支架治疗应用技术以及出现的问题亮出各自观点进行激烈的讨论,一些专家列举实际案例就消化道内支架治疗中的热点问题针锋相对的质疑与辩论。直至晚上10点40分主持人断然终止研讨议程时满场代表仍意犹未尽。专题演讲和研讨结束后,由介入放射和消化内镜相关专家分别进行了食管支架、肠道支架、PTCD和ERCP胆道支架、内镜操作技术以及消化道肿瘤血管介入的现场操作演示。由于观摩演示的展示厅偏小,因而显得尤其拥挤。许多代表观看演示直至傍晚6点结束。此次会议学术气氛相当浓厚。在紧凑有序的专题演讲间隙,不少代表踊跃通过手机短信进行提问,演讲专家也不厌其烦的通过投影仪现场认真解答。会后许多专家和代表普遍感慨参加此会受益非浅,认为大会为不同学科间相互学术交流和研讨搭建了一个沟通平台。并建议今后多举行类似的研讨沙龙和短信答疑,以能带动更多有相关经验者参与互动交流。不少代表表态:如获下届会议通知,一定积极参加。

第六届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会主题内容“消化道恶性梗阻的动脉内灌药联合内支架治疗应用技术”是卫生部第二轮面向农村和基层推广适宜技术“十年百项”计划项目和上海市重大医学成果转化项目。该项目开展以来已先后在上海、河北邢台、宁夏银川、黑龙江哈尔滨、江苏南京举办五届全国研讨会并在上海、江苏沐阳、甘肃兰州等地举办地区性继续教育学习班。因其内容涉及肿瘤内科诊治、消化内镜操作及介入放射学技术等边缘学科高新技术,对消化道恶性梗阻性病变治疗的实用性强、临床疗效好,故深受相关专业从业医师的普遍欢迎。此次会议的圆满结束,为消化道恶性病变介入治疗技术的进一步推广应用起到积极的推动作用。

我们将不断进取,进一步总结经验,继续积极筹备相关内容的研讨会议,为我国消化道病变介入诊疗技术的发展和提高搭建一个有一定质量和水平的交流平台。(茅爱武编委 上海同仁医院介入诊疗中心)