

慢性HBV感染者复发期和免疫清除期在不同年龄阶段的临床病毒学特征

吴殿磊, 徐光华, 冯继红, 陈延平, 刘娜

吴殿磊, 延安大学附属医院感染病科 延安大学医学院 陕西省延安市 716000

徐光华, 冯继红, 陈延平, 刘娜, 延安大学附属医院感染病科 陕西省延安市 716000

作者贡献分布: 此课题由徐光华设计; 研究过程由冯继红、吴殿磊、刘娜及陈延平操作完成; 数据分析由吴殿磊完成; 本论文写作由吴殿磊完成。

通讯作者: 徐光华, 教授, 716000, 陕西省延安市, 延安大学附属医院感染病科. yaxugh@yahoo.com.cn

电话: 0911-2881196

收稿日期: 2011-03-12 修回日期: 2011-05-06

接受日期: 2011-05-17 在线出版日期: 2011-05-28

Clinical and virological characteristics of patients with chronic hepatitis B during immune clearance or reactivation

Dian-Lei Wu, Guang-Hua Xu, Ji-Hong Feng, Yan-Ping Chen, Na Liu

Dian-Lei Wu, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Medical College of Yan'an University; Yan'an 716000, Shaanxi Province, China
Guang-Hua Xu, Ji-Hong Feng, Yan-Ping Chen, Na Liu, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Guang-Hua Xu, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi Province, China. yaxugh@yahoo.com.cn

Received: 2011-03-12 Revised: 2011-05-06

Accepted: 2011-05-17 Published online: 2011-05-28

Abstract

AIM: To investigate the clinical and virological characteristics of patients with chronic hepatitis B (CHB) during the immune clearance or reactivation phases.

METHODS: Five hundred and seventy CHB patients during the immune clearance or reactivation phases who had a disease history of more than 12 mo were selected from Yan'an region in China. These patients were divided into three age groups (<20, 20-40, >40). Serum levels of HBV DNA and HBeAg were measured by real-time fluorescence quantitative polymerase chain

reaction (FQ-PCR) and time-resolved fluoroimmunoassay (TRFIA), respectively. Serum level of anine aminotransferase (ALT) was also measured.

RESULTS: Patients (166/270) during the reactivation phase were mostly aged above 40 years (166/270) and more likely to be males ($P = 0.000$, 0.002). Cases with an ALT level two times less than the normal value accounted for considerable proportions in patients during the reactivation phase (12.59%, 45.93%). Patients during the immune clearance were distributed mainly in the 20-40 age group (153/300). Of 300 patients during the immune clearance phase who were followed up for more than 50 mo, 193 achieved spontaneous HBeAg seroconversion. Younger patients achieved HBeAg seroconversion in a shorter time than older ones ($P = 0.001$, 0.004).

CONCLUSION: There are significantly different clinical and virological characteristics among patients during immune clearance or reactivation in different age groups.

Key Words: Chronic hepatitis B virus infection; Immune clearance; Reactivation; Clinical and virological characteristics

Wu DL, Xu GH, Feng JH, Chen YP, Liu N. Clinical and virological characteristics of patients with chronic hepatitis B during immune clearance or reactivation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(15): 1639-1643

摘要

目的: 研讨慢性乙型肝炎在不同年龄阶段免疫耐受期和复发期临床病毒学特征。

方法: 随机选取免疫清除期和复发期慢性乙型肝炎患者570(免疫清除期患者300例和复发期患者270例)。按年龄分为: <20岁组, 20-40岁组, >40岁组。用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)及时间分辨荧光免疫分析(TRFIA)技术检测其血清中HBV DNA、HBeAg含量, 用速率法检测ALT水平。同时对患者肝脏进行

■背景资料

关于HBV临床病毒学特征研究的学术文章较多, 但用HBV临床病毒学定量指标, 分不同年龄阶段, 对免疫清除期和复发期患者进行分析, 尚未见详细报道。

■同行评议者

杨江华, 副教授, 安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

■研究前沿

慢性乙型肝炎抗病毒治疗ALT升高的标准和时机存在争议,免疫清除期和复发期这两类患者在特定情况下需要抗病毒治疗,本课题涉及的临床基础研究为进一步研究治疗标准有一定意义。

B型超声探查。

结果: 复发期患者主要在>40岁组(166/270),其比例显著高于其他组,而且,男性比女性比例明显高($P = 0.000, 0.002$)。在270例复发期患者中,ALT水平低于2倍正常值水平的患者占有相当的比例(12.59%, 45.93%)。免疫清除期患者主要分布于20-40岁组(153/300),对300例免疫清除期患者随访10-50 mo,结果显示193例患者实现了有效的血清转换(HBeAg-antiHBe),血清转换主要发生在20-40岁组($P = 0.003, 0.002$),而且越年轻转换时间越短($P = 0.001, 0.004$)。

结论: 在不同的年龄阶段,免疫耐受期和复发期存在完全不同的临床病毒学特征。

关键词: 慢性乙型肝炎; 免疫清除; 复发; 临床病毒学特征

吴殿磊, 徐光华, 冯继红, 陈延平, 刘娜. 慢性HBV感染者复发期和免疫清除期在不同年龄阶段的临床病毒学特征. 世界华人消化杂志 2011; 19(15): 1639-1643

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1639.asp>

0 引言

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染自然史一般分为4个期^[1,2]免疫耐受期、免疫清除期、非活动携带状态和复发期。免疫耐受期,HBV DNA水平较高,HBeAg阳性表达,ALT水平在正常范围。免疫清除期,ALT水平持续或者间断高于正常值上限,HBV DNA和HBeAg值仍较高。稳定期也称非活动携带状态,HBeAb阳性表达,HBV DNA阴性,ALT水平正常。复发期,ALT超出正常范围,HBV DNA升高,有时还伴随HBeAg阳转。据报道^[1,3],年龄在HBV慢性感染过程中起重要作用,因此,我们在不同年龄阶段从HBV慢性感染史的角度,通过HBV定量、HBV-M(HBV血清标志物)定量、ALT及B超等指标,研究慢性乙型肝炎免疫清除期和复发期HBV临床病毒学特征,希望这些资料数据对对不同年龄慢性乙型肝炎的临床预后判断能有所帮助。

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2005-06/2010-06延安大学附属医院感染科门诊免疫清除和复发患者570例,其中女268例,男302例。患者按年龄分为3组,即:<20岁组、20-40岁组、>40岁组。ALT水平持续或间断升高并高于正常值上限4倍以上的患者不纳入研究范围,ALT一过性升高者(如:劳累、

表 1 HBeAg和HBV DNA检测诊断标准

诊断水平	HBV DNA(copies/mL)	HBeAg(DRU/mL)
阴性	<10 ³	<0.03
阳性	>10 ³	>0.03
低水平升高	10 ³ -10 ⁵	0.12-0.5
中等水平升高	10 ⁵ -10 ⁸	0.5-2.0
高水平升高	>10 ⁸	2.0-8.0

表 2 慢性乙型肝炎自然史临床诊断标准(HBV DNA取对数)

自然史	HBV DNA (copies/mL)	HBeAg (DRU/mL)	ALT(U/L)	B超或CT
免疫耐受期	>5	>0.03	<40	正常或不正常
免疫清除期	>3	>0.03	>40	正常或不正常
稳定期	<3	<0.03	<40	正常或不正常
复发期	>3	<0.03	>40/<40	正常或不正常

熬夜、饮酒、使用肝脏损害药物等)也排除在外。所有入选病例未进行过抗病毒治疗。无合并其他肝炎病毒感染。诊断符合2005-12北京公布的《乙型肝炎防治指南》中的诊断标准。随访观察时间为10-60 mo。美国PE公司Gene Amp7500定量基因检测系统和1235 Auto DELFIA全自动时间分辨荧光免疫分析系统定量检测HBV DNA和HBV-M;日立7600全自动生化分析仪检测ALT等生化指标。HBV核酸荧光检测试剂盒,由中山大学达安基因诊断中心提供;时间分辨荧光免疫分析乙型肝炎血清标志物定量检测试剂盒,由苏州新波生物技术有限公司提供;ALT相关试剂,由北京九强生物技术有限公司提供。

1.2 方法 取患者当日空腹血,分为3管,分别作HBV DNA定量,乙型肝炎血清标志物定量,ALT检测。操作严格按说明书进行。根据参考文献[1]、试剂说明和结合本实验室的具体情况规定检测诊断标准,检测诊断标准见表1,2。HBV DNA和HBeAg检测灵敏度分别为: 10⁶ copies/L和0.003 DRU/mL。ALT正常值上限为40 IU/L。

统计学处理 所有数据以mean±SD表示。用SPSS13.0统计软件进行卡方(chi-square test)、*t*检验直线相关和线性回归分析。

2 结果

2.1 检测结果构成 免疫清除患者在各年龄组分

表 3 570例患者在不同年龄阶段, HBV临床检测基本特征

年龄组	自然史	HBV DNA (copies/mL)	HBeAg (DRU/mL)	ALT(U/L)	HCC/LC伴B超 或CT异常 ^a	男/女
<20岁	免疫清除期	6.46 ± 0.62	1.15 ± 0.272	84.70 ± 31.46	0	25/28
	复发期	6.05 ± 0.113	<0.03	90.63 ± 23.45	2	3/5
20-40岁	免疫清除期	6.64 ± 0.62	1.22 ± 0.33	91.40 ± 38.30	2	74/79
	复发期	6.61 ± 0.73	<0.03	71.38 ± 32.75	4	58/38
>40岁	免疫清除期	6.77 ± 0.56	1.28 ± 0.21	87.50 ± 30.97	3	41/53
	复发期	6.61 ± 0.68	<0.03	76.69 ± 28.80	9	101/65

HCC: 肝细胞癌; LC: 肝硬化.

■创新盘点

本研究在慢性HBV感染自然史的背景下, 用HBV临床病毒学定量指标分不同年龄阶段, 分别阐明免疫清除期和复发期检测结果的构成状况, 并对应其自然史进行临床分析, 以期寻找较合适的治疗时机.

表 4 免疫清除患者血清转换随访结果 ($n = 300$)

年龄组	血清转换前		血清转换		合计 n (%)	血清转换 平均时间(mo)
	男	女	男	女		
<20岁	25	79	21	55	40(75.5) ^b	8.87 ± 2.74 ^b
20-40岁	28	41	19	25	106(69.3) ^b	9.52 ± 3.23 ^b
>40岁	74	53	51	22	47(50.0)	12.31 ± 5.98

^b $P < 0.01$ vs >40岁组.

布为: <20岁组53例; 20-40岁组153例; >40岁组94例. 在20-40岁组, 免疫清除患者占51%, 高于其他2组比例. 在不同年龄组, 免疫清除患者无明显性别差异. 复发期患者在各年龄组分布为: <20岁组8例; 20-40岁组96例; >40岁组166例. 复发期患者主要在>40岁组, 且男性明显多于女性(>40岁组: $P = 0.000$; 20-40岁组: $P = 0.026$; <20岁组: $P = 0.538$, 表3).

2.2 免疫清除期患者随访结果 300例免疫耐受期患者随访10-60 mo. 嘱咐其尽可能避免肝脏损害的活动(如: 劳累、熬夜、饮酒, 使用肝脏损害药物等). 随访检测包括: HBV DNA、HBV-M、ALT和B超或CT检测, 每3-6 mo进行1次. 结果显示, 193例患者实现了有效的血清转换(HBeAg到 anti-HBe). 血清转换主要发生在20-40岁组($P = 0.003$, 0.002). 转换时间为: 5.3-33.7 mo, 不同年龄组转换时间均值分别为: 8.87 mo ± 2.74 mo (<20岁组); 9.52 mo ± 3.23 mo(20-40岁组); 12.31 mo ± 5.98 mo(>40岁组), 各组间有显著差异. 年龄越大转换时间越长, 无性别差异(表4).

2.3 复发患者ALT水平和HBV DNA载量 在ALT水平上限1-2倍内的复发患者仍然较多(12.59%, 45.93%). 在ALT水平<40 U/L组、40-80 U/L组、>80 U/L组, HBV DNA载量均值分别为: 6.01 ± 0.6 copies/mL、6.54 ± 0.68 copies/mL、6.85 ±

表 5 复发期患者ALT水平和HBV DNA载量 ($n = 270$)

ALT(U/L)	n (%)	HBV DNA(copies/mL)
<40组	12.59(34/270)	6.01 ± 0.67 ^b
40-80组	45.93(124/270)	6.54 ± 0.68 ^d
>80组	41.48(112/270)	6.85 ± 0.61

^b $P < 0.01$ vs ALT 40-80组和>80 U/L组; ^d $P < 0.01$ vs ALT>80 U/L组.

0.61 copies/mL, 有显著差异($P = 0.000$, 0.000、0.000). 同时在HBV DNA和ALT之间存在正相关($r = 0.480$, $P = 0.000$)和线性回归关系($b = 0.01$, $R^2 = 0.23$, $P = 0.000$, 图1, 表5).

3 讨论

在20-40岁组, 免疫清除患者比例明显高于其他组, 我们以往的研究结果显示^[4]免疫耐受的患者主要分布在<20岁组, 大多数情况下, 随着青少年年龄的增长, 他们自身的免疫系统逐渐发育成熟, 开始清除机体HBV(机体从免疫耐受期进入免疫清除期), 这是他们获得免疫清除能力的主要原因. HBeAg的清除及有效地血清转换, 无论是自发的还是抗病毒治疗形成的, 对于其预后都非常有^[5-13]. 随访300例免疫清除患者显示有相当比例患者(193/300)实现了安全有效地血清

■应用要点

研究发现,免疫清除患者主要在20-40岁组,年龄越大越不易实现血清转换,而复发期的患者主要分布于40岁以上的人群。复发和HCC/LC患者男性明显多于女性。这为不断完善慢性乙型肝炎防治策略提供了宝贵的临床病毒学资料。

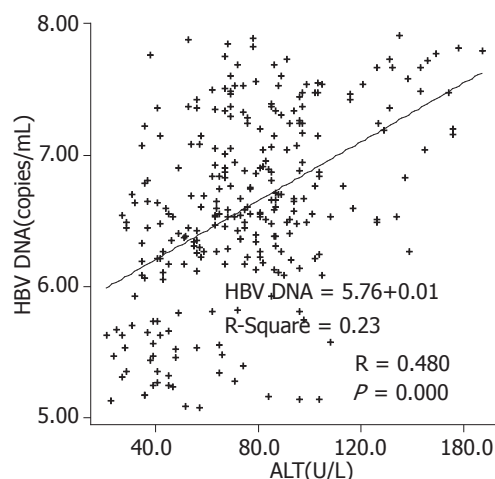


图1 HBV DNA对数值和ALT间存在正相关和线性回归关系。

转换,而且年龄越大越不易发生转换。这同先前的报道稍有差异^[14]。也许对免疫清除患者抗病毒治疗标准,在不同年龄阶段应该有所调整。

复发期的患者主要分布于40岁以上的人群。而且肝癌有9例(9/13)在>40岁组,明显多于其他组。复发和肝癌患者男性明显多于女性。也许男性的一些不良习惯(如:饮酒,熬夜娱乐等)是导致这一结果的原因,这一推测符合先前的一些相关报道^[15,16]。数据显示,HBV DNA(对数值)和ALT之间存在正相关和线性回归关系,这提示复发期肝细胞损害与HBV DNA载量明显相关。同时数据显示复发患者之间特点也存在差异,患者间ALT水平有较大差别,有的甚至在正常范围。但是长时间持续低水平HBV攻击机体,对他们的预后仍然不利。也许这些患者需要更频繁的随访(随访包括:HBV DNA载量,HBsAg定量,甲胎蛋白,ALT、B超或CT每3-6 mo复查1次)。鉴于复发期患者的不同特点,采取个体化抗病毒治疗标准也许更好。

据报道几个HBV基因突变(如:基本核心启动子T1762/A1764和前核心T1896位点突变等)与HBsAg阴性的慢性乙型肝炎(包括复发患者)及肝癌明显相关^[17-21],这些突变多发生在多年HBV感染之后。这些突变应该是病毒逃逸机体免疫的策略,同时也许是HBV复发的病毒学原因。

结果显示在不同的年龄阶段,免疫耐受期和复发期存在完全不同的临床病毒学特征。在HBV自然史中,年龄和患者患病的时间应该是重要因素。这两类患者在特定情况下需要抗病毒治疗,他们抗病毒治疗ALT升高的标准和时机是否也应该采取个体化方案?这需要进一步研究。

4 参考文献

- 1 Lok AS. Chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2002; 346: 1682-1683
- 2 Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 395-403
- 3 Lin CL, Liao LY, Liu CJ, Yu MW, Chen PJ, Lai MY, Chen DS, Kao JH. Hepatitis B viral factors in HBeAg-negative carriers with persistently normal serum alanine aminotransferase levels. *Hepatology* 2007; 45: 1193-1198
- 4 吴殿磊, 徐光华, 冯继红, 樊霞. 二十岁以下慢性HBV感染者HBV DNA与HBsAg的定量关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 909-912
- 5 Fattovich G, Giustina G, Schalm SW, Hadziyannis S, Sanchez-Tapias J, Almasio P, Christensen E, Krosgaard K, Degos F, Carneiro de Moura M. Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in western European patients with cirrhosis type B. The EUROHEP Study Group on Hepatitis B Virus and Cirrhosis. *Hepatology* 1995; 21: 77-82
- 6 Niederau C, Heintges T, Lange S, Goldmann G, Niederau CM, Mohr L, Häussinger D. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996; 334: 1422-1427
- 7 de Jongh FE, Janssen HL, de Man RA, Hop WC, Schalm SW, van Blankenstein M. Survival and prognostic indicators in hepatitis B surface antigen-positive cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1992; 103: 1630-1635
- 8 Yu MW, Hsu FC, Sheen IS, Chu CM, Lin DY, Chen CJ, Liaw YF. Prospective study of hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis in asymptomatic chronic hepatitis B virus carriers. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 1039-1047
- 9 Fattovich G, Brollo L, Giustina G, Noventa F, Pontisso P, Alberti A, Realdi G, Ruol A. Natural history and prognostic factors for chronic hepatitis type B. *Gut* 1991; 32: 294-298
- 10 Fattovich G, Giustina G, Realdi G, Corrocher R, Schalm SW. Long-term outcome of hepatitis B e antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1997; 26: 1338-1342
- 11 Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu CM, Liaw YF. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1999; 29: 971-975
- 12 Lau DT, Everhart J, Kleiner DE, Park Y, Vergalla J, Schmid P, Hoofnagle JH. Long-term follow-up of patients with chronic hepatitis B treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1997; 113: 1660-1667
- 13 Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, Tanwandee T, Tao QM, Shue K, Keene ON, Dixon JS, Gray DF, Sabbat J. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 1521-1531
- 14 Chen YC, Chu CM, Liaw YF. Age-specific prognosis following spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 435-444
- 15 Villa E, Rubbiani L, Barchi T, Ferretti I, Grisendi A, De Palma M, Bellentani S, Manenti F. Susceptibility of chronic symptomless HBsAg carriers to ethanol-induced hepatic damage. *Lancet* 1982; 2: 1243-1244
- 16 Chevillotte G, Durbec JP, Gerolami A, Berthezene P, Bidart JM, Camatte R. Interaction between hepatitis

- b virus and alcohol consumption in liver cirrhosis. An epidemiologic study. *Gastroenterology* 1983; 85: 141-145
- 17 Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Gastroenterology* 2003; 124: 327-334
- 18 Lin CL, Liao LY, Wang CS, Chen PJ, Lai MY, Chen DS, Kao JH. Basal core-promoter mutant of hepatitis B virus and progression of liver disease in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Liver Int* 2005; 25: 564-570
- 19 Liu CJ, Chen BF, Chen PJ, Lai MY, Huang WL, Kao JH, Chen DS. Role of hepatitis B viral load and basal core promoter mutation in hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *J Infect Dis* 2006; 193: 1258-1265
- 20 Liu CJ, Chen BF, Chen PJ, Lai MY, Huang WL, Kao JH, Chen DS. Role of hepatitis B virus precore/core promoter mutations and serum viral load on non-cirrhotic hepatocellular carcinoma: a case-control study. *J Infect Dis* 2006; 194: 594-599
- 21 Chen BF, Liu CJ, Jow GM, Chen PJ, Kao JH, Chen DS. High prevalence and mapping of pre-S deletion in hepatitis B virus carriers with progressive liver diseases. *Gastroenterology* 2006; 130: 1153-1168

■同行评价

本研究内容较为新颖, 对HBV感染者临床预后判断具有指导意义。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则¹ $P<0.05$, ² $P<0.01$; 第3套为³ $P<0.05$, ⁴ $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。