

HBsAg 定量检测在慢性乙型肝炎聚乙二醇干扰素 α -2a 治疗监测中的应用*

黄伟平, 徐春雪(广东省河源市和平县人民医院检验科 517200)

【摘要】 目的 评估血清乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)作为生物标志物预测聚乙二醇干扰素 α -2a(PEG-IFN α -2a)治疗慢性乙型肝炎患者(CHB)持续病毒学应答(SVR)的临床价值。方法 57 例 CHB 患者经 PEG-IFN α -2a 治疗 48 周后再随访 24 周。定期检测患者不同时期的 HBsAg。结果 基线时 SVR 的阳性预测因素为低水平的 HBsAg($3.72 \log_{10}$ IU/mL, $P=0.032$)和乙型肝炎病毒 DNA(HBV-DNA)($3.96 \log_{10}$ IU/mL, $P=0.035$)。治疗 48 周时获得 SVR 的患者 HBsAg 减少量明显高于无应答者($P=0.005$);治疗 12 周时,HBV-DNA 减少量大于或等于 $2 \log_{10}$ IU/mL 且伴 HBsAg 下降对 SVR 的阳性预测值(PPV)为 80%(95%CI:51.91%~95.43%),而 HBV-DNA 减少量小于 $2 \log_{10}$ IU/mL 且 HBsAg 无降低则对 SVR 的阴性预测值(NPV)为 85.71%(95%CI:42.23%~97.63%)。结论 血清 HBsAg 定量联合 HBV-DNA 检测在 PEG-IFN α -2a 治疗早期即可有效预测 CHB 患者的 SVR。

【关键词】 慢性乙型肝炎; 乙型肝炎病毒表面抗原; 聚乙二醇干扰素 α -2a; 抗病毒治疗

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.16.026 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)16-2254-02

慢性乙型肝炎(CHB)难以治愈,抗病毒治疗后仍可复发,对核苷类药物无效的乙型肝炎(乙肝)病毒 e 抗原(HBeAg)阴性患者尚无终止治疗的临床标准^[1]。近年来,乙肝病毒表面抗原(HBsAg)的定量评价成为慢性 HBV 感染的研究热点^[2]。有观点认为血清 HBsAg 减少是 HBV 感染者自发或治疗诱导清除的良好结局^[3]。血清 HBsAg 可作为预测治疗应答的生物标志物^[2]。有学者提出,将血清 HBsAg 和乙肝病毒 DNA(HBV-DNA)联合检测作为判定 HBeAg 阴性的 CHB 患者尽早终止聚乙二醇干扰素 α -2a(PEG-IFN α -2a)治疗的标准,但其临床有效性尚缺乏深入研究^[1]。本研究拟在观察治疗前后 HBsAg 和 HBV-DNA 的动力学、血清学和病毒学应答变化基础上,评估血清 HBsAg 定量检测作为预测 CHB 患者 PEG-IFN α -2a 治疗早期持续性病毒学应答(SVR)生物标志物的临床有效性,为 HBsAg 作为 CHB 患者治疗效果评估工具提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照 2005 年中华医学会肝病学会,中华医学会感染病分会制定的《慢性乙肝防治指南》^[4],将 2011 年 6 月至 2012 年 8 月经本院诊断为 CHB 的患者 57 例作为研究对象,其中男 46 例,女 11 例;年龄中位数为 34 岁。所有研究对象均同时符合以下入组条件:年龄 18 周岁以上;首次接受抗乙肝病毒治疗;丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平介于正常上限的 1~10 倍;血清 HBV-DNA $>2 000$ IU/mL;如为女性患者则要求未孕。剔除标准:合并有肝硬化或肝癌,或合并感染 HCV、HDV 和 HIV 等其他一种或多种病毒的患者。

1.2 治疗和随访 所有入组对象经 PEG-IFN α -2a 皮下注射治疗 48 周(每周 1 次,每次 180 μ g)后,再随访 24 周。本研究将治疗应答终点定义为治疗第 48 周时 HBV-DNA $<2 000$ IU/mL;将随访第 24 周时 HBV-DNA $<2 000$ IU/mL 定义为 SVR;将治疗第 48 周时 HBV-DNA $<2 000$ IU/mL 但随访期间 HBV-DNA $>2 000$ IU/mL 定义为复发;将治疗第 48 周时 HBV-DNA $>2 000$ IU/mL 定义为治疗无应答;将生物化学应答定义为治疗终点和随访终点 ALT 水平均正常;将血清学应

答定义为治疗和随访终点 HBeAg 减少、乙肝病毒 e 抗体(HBeAb)阴性、HBsAg 减少。病毒学应答预测参考 Rijckborst 等^[1]提出的 PARC 规则。

1.3 实验室检测 采集患者治疗前、治疗第 4、12、24、48 周和随访第 24 周空腹静脉血,采用雅培 C8000 全自动生化分析仪检测 ALT、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)等生化指标;使用罗氏公司诊断试剂检测 HBsAg 和 HBeAg^[5];采用实时定量 RT-PCR 法检测 HBV-DNA(罗氏公司,检测下限 20 IU/mL)。

1.4 统计学方法 所有数据统计分析均使用 SPSS16.0 统计软件完成。连续性变量计算其中位数和四分位数区间(IQR),连续性变量组间比较采用 Mann-Whitney U 检验,分类变量和率的比较采用 χ^2 检验或 Fisher's 精确概率计算法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 如表 1 所示,57 例患者中,ALT 水平中位数为 78 IU/mL(IQR:38.5~133 IU/mL);HBV-DNA 中位数为 $4.9 \log_{10}$ IU/mL(IQR:3.6~6.4 \log_{10} IU/mL);HBsAg 水平中位数为 $4.1 \log_{10}$ IU/mL(IQR:3.7~4.4 \log_{10} IU/mL)。39 例(68%)的 HBeAb 为阴性。单变量分析结果表明,SVR 不但与 HBsAg 基线水平关联($P=0.032$),还与 HBV-DNA 基线水平有关($P=0.033$)。见表 1。

2.2 病毒学应答 57 例患者中,37 例(64.9%)在治疗终点有病毒学应答,其中 22 例(38.6%)获得 SVR。在治疗 1~12 周内,获得 SVR 患者血清 HBV-DNA 平均降低量明显高于非 SVR 患者[(3.6 ± 1.2) \log_{10} IU/mL 和 (1.8 ± 1.7) \log_{10} IU/mL],差异有统计学意义($P=0.003$)。SVR 与复发患者 HBV-DNA 的变化特征类似,但是在治疗 12 周时,SVR 患者 HBV-DNA 水平明显低于复发者。

2.3 血清 HBsAg 动力学 总体上,血清 HBsAg 水平在治疗期内显著降低(平均降低 0.48 \log_{10} IU/mL, $P=0.003$)。获得 SVR 者血清 HBsAg 水平降低尤为显著,在 12、24、48 周的降低量分别达到(0.5 ± 1.0)、(0.6 ± 1.0)、(1.0 ± 1.3) \log_{10} IU/mL。与此相反,未获得 SVR 患者治疗期间血清 HBsAg 的

平均降低量仅为(0.04±0.5) log₁₀ IU/mL,与基线水平相比无明显变化。获得 SVR 患者血清 HBsAg 的动力学特征与复发患者相比明显不同,而且复发患者与无应答患者的血清 HBsAg 动力学特征相似。

2.4 血清学应答 在 18 例 HBeAg 阳性患者中,在治疗终点

和随访终点分别有 3 例(16.7%)和 4 例(22.2%)发生血清学转化为 HBeAb 阳性。在所有接受治疗的患者中,在治疗终点和随访终点分别有 1 例(1.7%)和 3 例(5.2%)发生血清学转化为抗-HBs 阳性。

表 1 57 名慢性乙肝患者按 SVR 分组的基线特征比较

组别	n	ALT(IU/mL)	HBsAg (log ₁₀ IU/mL)	HBV-DNA(log ₁₀ IU/mL)	HBeAg 阴性[n(%)]	HBeAb 阴性[n(%)]
全部	57	78(38.5~133)	4.1(3.7~4.4)	4.9(3.6~6.4)	18(32)	39(68)
SVR+	22	60(28.7~110)	3.7(3.1~4.1)	3.9(3.5~5.5)	3(14)	19(86)
SVR-	16	83.5(40.5~203.5)	4.1(3.0~4.3)	5.8(4.3~6.8)	4(25)	12(75)
P		0.153	0.032	0.033	0.425	0.425

注:表中年龄、ALT、HBsAg 和 HBV-DNA 均以中位数(四分位数间距)表示;SVR+表示获得持续病毒学应答;SVR-表示无持续病毒学应答。

2.5 生物化学应答 获得 SVR 患者与无应答者治疗期间 ALT 水平明显不同。获得 SVR 的患者 ALT 水平首先在治疗 12 周内显著升高,而后在随访期间逐渐降低(图 1)。

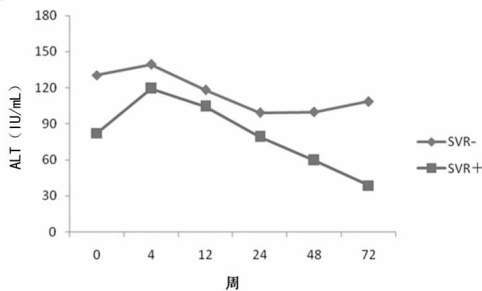


图 1 治疗和随访期间不同病毒学应答患者的血清 ALT 动态变化

2.6 病毒学应答预测 本 CHB 患者治疗 12 周时若 HBsAg 降低且 HBV-DNA 降低大于或等于 2 log₁₀ IU/mL 时获得 SVR 的阳性预测值(PPV)为 80% (95% CI: 51.91%~95.43%),而 HBsAg 不降低且 HBV-DNA 降低小于 2 log₁₀ IU/mL 时获得 SVR 的阴性预测值(NPV)为 85.71% (95% CI: 42.23%~97.63%)。

3 讨论

本研究评估了 HBsAg 联合 HBV-DNA 定量检测在 CHB 患者 PEG-IFN α -2a 治疗 48 周的临床有效性。研究认为,血清 HBsAg 水平与临床关联主要是其与肝脏中共价闭合环状 DNA(cccDNA)的转录数量和活性相关^[2,6-7]。因而 HBsAg 也可考虑作为 CHB 抗病毒治疗过程中免疫控制的生物标记物^[6]。虽然 HBV-DNA 降低可直接反映病毒复制下降,但血清 HBsAg 降低则预示着细胞内 cccDNA 转录活性降低和 DNA 组装的信使 RNA 翻译减少^[7-8]。研究表明,在慢性 HBV 感染过程中血清 HBsAg 和 HBV-DNA 水平不尽相同^[9]。在免疫耐受阶段,血清 HBsAg 和 HBV-DNA 达到最高水平^[7]。HBeAg 血清学转化后,患者的 HBsAg 水平从免疫清除阶段开始逐步缓慢降低。血清 HBsAg 和 HBV-DNA 水平在无活性携带状态下可达到最低,且此时 HBsAg/HBV-DNA 比值较高^[7-8]。血清 HBsAg 和 HBV-DNA 水平还可受 HBV 基因型影响,不同基因型其水平相异。有研究认为,对感染 D 型 HBV 的 CHB 患者,只要联合 HBsAg<1 500 IU/mL 和 HBV-DNA <2 000 IU/mL 可鉴别其是否为真性无活性携带者,其 PPV 和 NPV 分别为 87.9%和 96.7%^[10]。无活性携带状态可降低多数患者的肝硬化和肝细胞癌风险。本研究将 SVR 定义为经

PEG-IFN α -2a 治疗 48 周后血清 HBV-DNA 水平降低至低于 2 000 IU/mL 且治疗后至少维持 24 周。抗病毒治疗的耐受性对于尽可能早识别弱治疗应答和高复发风险患者至关重要,可避免对恶化患者的不必要治疗。

患者对干扰素治疗的应答反应受宿主和病毒因素的影响。以往研究发现,HBeAg 阳性患者的 HBsAg 基线水平低于 10 000 IU/mL 可获得更高的干扰素治疗应答率^[11]。本研究中,分析基线数据也发现低血清 HBsAg 和 HBV-DNA 水平与 SVR 有关。与核苷类药物相比,干扰素治疗降低血清 HBsAg 水平的效果更为显著^[8]。治疗指南将 PEG-IFN 列为一线药物,主要是因为其与核苷类药物相比可获得更高的持续应答率。然而,PEG-IFN 治疗的一个主要缺陷是治疗 48 周后复发风险较高。由于缺少干扰素治疗应答的临床预测标记物,基于现有研究结果,血清 HBsAg 作为干扰素免疫条件效果的可能标记物,可帮助制订和优化个性化治疗方案。前期研究发现,治疗过程中血清 HBsAg 水平下降可能是预测 PEG-IFN α -2a 治疗应答的重要标记物^[3]。本研究中,治疗期间 HBsAg 平均降低了 0.48 log₁₀ IU/mL,而且获得 SVR 患者的 HBsAg 动力学变化特征与无应答者相比差异显著,后者的血清 HBsAg 在治疗期间几乎无明显变化,尽管血清 HBV-DNA 水平有大幅降低。本研究另一个较为重要的发现是,与获得 SVR 患者相比,治疗期间达到病毒学应答而后期复发患者的 HBsAg 的下降模式明显不同。复发患者治疗期间 HBsAg 下降幅度低于 SVR 患者,其 HBsAg 降低特点与无应答患者的基本相同。综合研究结果均支持将 HBsAg 作为 HBV 感染免疫控制的理想生物标记物。Rijckborst 等^[1]认为,PEG-IFN α -2a 治疗 12 周时 HBsAg 和 HBV-DNA 水平对感染 D 型 HBV 而 HBeAg 阴性的 CHD 患者 SVR 的阴性预测值达到 100%,即所有该类患者经 PEG-IFN α -2a 治疗 48 或 96 周,无人能获得 SVR。本研究的结果与此不同,可能主要是由于本研究对于患者的纳入标准较前述研究宽松有关,也可能是因为未对入组 CHD 患者感染的 HBV 病毒进行基因分型。

综上所述,早期血清 HBsAg 定量检测单独或联合 HBV-DNA 水平监测可有效预测 CHB 患者对 PEG-IFN α -2a 治疗的病毒学应答,可为临床医生评估治疗效果和优化治疗方案提供决策参考。

参考文献

[1] Rijckborst V, Hansen BE, Ferenci P, et al. Validation of a stopping rule at week 12 using HBsAg and HBV DNA for HBeAg-negative patients treated (下转第 2257 页)

临床早期发现糖尿病肾病需要观测的指标,临床常用的尿微量蛋白检测是 UmAlb。清蛋白(Alb)是可通过肾小球滤过膜的一种最小蛋白质,正常情况下由于存在肾小球滤过膜的电荷选择屏障,尿中含量极微或难以检出。而当肾小球滤过膜的电荷选择屏障受到损害,Alb 的滤过量大于肾小管重吸收时,尿中 Alb 水平升高,因此,UmAlb 可作为临床上肾小球滤过膜受损的重要标志。

Hcy 被确定为心脑血管疾病的独立危险因素已得到了广泛的认同。Hcy 作为一种致病物质,可能在 DN 的病理进展中扮演了重要的角色。既往有多项的研究表明,糖尿病与同型半胱氨酸之间存在着不同程度相互作用关系,并证实 DM 患者中血浆 Hcy 水平显著高于对照组^[6-7]。有研究认为,高 Hcy 血症与糖尿病微血管并发症有关,随着 DN 病情的不断恶化,Hcy 含量逐渐增高^[8]。本研究已经证实了 DN 患者中 Hcy 水平明显升高。高 Hcy 如何参与 DN 的微血管病变,目前机制尚未完全阐述清楚,可能存在如下的几个因素^[9]:(1)氧化应激反应;(2)内皮细胞的损伤;(3)炎性反应;(4)甲基化反应。因此,在 DN 中,高 Hcy 水平增加了血管病变发生的危险性。糖尿病患者并发 DN 时,肾功能的损害影响了 Hcy 的代谢,从而引起高 Hcy 血症。另外,高 Hcy 又能促进糖尿病患者 Um-Alb 的进展^[10]。可以预见,通过积极防治高 Hcy 血症,可以延缓 DN 的进展。

叶酸是机体细胞生长所需的必需物质,而叶酸在还原酶等物质作用下合成四氢叶酸类辅酶,参与体内核酸和氨基酸的合成。同时叶酸也可参与蛋氨酸循环,生成蛋氨酸用于细胞甲基化反应及蛋白质合成。由此可见,补充外源性叶酸可促进体内同型半胱氨酸的甲基化,从而降低血浆 Hcy 水平。

综上所述,糖尿病早期肾病与 Hcy 水平之间有着密切的关系,本研究最初选取东莞市茶山镇社区范围内 303 例糖尿病患者,经过 Hcy 及 UmAlb 筛查,排除血浆 Hcy 正常和 UmAlb 阴性的患者,最终 216 例出现糖尿病早期肾损害患者纳入研究。结果表明,运用叶酸对早期糖尿病肾病患者进行治疗,能有效的降低 Hcy 水平,同时降低 UmAlb 水平,具有良好的效果。加上叶酸价格便宜,容易在社区得到普遍应用,值得推广。

另外本研究还存在一定的局限性:首先,样本选取来源于单一社区,属于单中心样本分析,其意义尚需大样本予以证实。

其次,本研究的结果分析单纯从实验室指标进行推断,叶酸干预对 UmAlb 的影响作用有待进一步临床验证。最后,叶酸干预的剂量、远期效果及停药后有无反复尚需继续深入探讨。

参考文献

- [1] Fanapour PC, Yug B, Kochar M S. Hyperhomocysteinemia: an additional cardiovascular risk factor [J]. WMJ, 1998, 98(1): 51-54.
- [2] 黎莉. 尿微量蛋白检测的临床应用及意义[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(9): 93.
- [3] 智喜梅, 梁奕铨, 肖亦斌, 等. 同型半胱氨酸与 2 型糖尿病并发早期肾病的关系[J]. 中国糖尿病杂志, 2002, 10(1): 18-21.
- [4] 陆宏红, 李明珍, 华江. 高同型半胱氨酸血症与 2 型糖尿病慢性并发症的关系[J]. 中国糖尿病杂志, 2003, 11(5): 357-360.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会. 空腹血糖受损下限诊断切割点的建议[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(28): 1947-1950.
- [6] 陈惠, 涂文军, 王屹, 等. 2 型糖尿病患者血清同型半胱氨酸水平分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(19): 2394-2395.
- [7] 林明相, 赵玲敏. 3 项指标联合检测在 2 型糖尿病早期肾损害的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(18): 2315-2317.
- [8] Ozemen B, Ozemen D, Turgan N, et al. Association between homocysteinemia and renal function in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Ann Clin Lab Sci, 2002, 32(2): 279-286.
- [9] 关悦. 同型半胱氨酸与糖尿病肾病的相关性研究[J]. 医学研究生学报, 2011, 2(5): 547-549.
- [10] Errakonda PR, Paladugu R, Bitla AR, et al. Effect of a single Hemodialysis session on endothelial dysfunction [J]. T Nephrol, 2011, 24(1): 83-90.

(收稿日期: 2014-02-04 修回日期: 2014-05-19)

(上接第 2255 页)

with peginterferon alfa-2a [J]. J Hepatol, 2012, 56(5): 1006-1011.

- [2] Chan HL, Thompson A, Martinot-Peignoux M, et al. Hepatitis B surface antigen quantification: why and how to use it in 2011—a core group report [J]. J Hepatol, 2011, 55(5): 1121-1131.
- [3] Lok AS, Memahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009 [J]. Hepatology, 2009, 50(3): 661-662.
- [4] 中华医学会肝病学会. 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南 [J]. 中华传染病杂志, 2005, 23(6): 421-431.
- [5] 吴文清, 黄志基. 罗氏电化学发光检测系统乙型肝炎表面抗原定量检测方法学评价及性能验证 [J]. 检验医学与临床, 2013, 10(11): 1407-1408.
- [6] Sonneveld MJ, Zoutendijk R, Janssen HL. Hepatitis B surface antigen monitoring and management of chronic hepatitis B [J]. J Viral Hepat, 2011, 18(7): 449-457.

- [7] Liaw YF. Clinical utility of hepatitis B surface antigen quantitation in patients with chronic hepatitis B: a review [J]. Hepatology, 2011, 53(6): 2121-2129.
- [8] Brunetto MR. A new role for an old marker, HBsAg [J]. J Hepatol, 2010, 52(4): 475-477.
- [9] 杨秀清, 高蕾, 彭颖, 等. 乙型肝炎患者 HBV DNA 定量与血清标志物的关系分析 [J]. 检验医学与临床, 2009, 6(16): 1332-1333, 1335.
- [10] Brunetto MR, Oliveri F, Colombatto P, et al. Hepatitis B surface antigen serum levels help to distinguish active from inactive hepatitis B virus genotype D carriers [J]. Gastroenterology, 2010, 139(2): 483-490.
- [11] Chan HL, Wong VW, Chim AM, et al. Serum HBsAg quantification to predict response to peginterferon therapy of e antigen positive chronic hepatitis B [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2010, 32(11/12): 1323-1331.

(收稿日期: 2013-10-29 修回日期: 2014-01-04)