

• 临床研究 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.17.027

经 NAs 长期治疗的慢性乙型肝炎患者 HBV RNA 的水平及其临床意义

刘 艳,李东风,王 娟[△]

山东省菏泽市巨野县人民医院检验科,山东菏泽 274900

摘要:目的 探讨经核苷类似物(NAs)长期治疗的慢性乙型肝炎(CHB)患者乙型肝炎病毒(HBV) RNA 的水平及其临床意义。方法 选取 2023 年 6 月至 2024 年 2 月在该院接受 NAs 治疗 2 年及以上的 81 例 CHB 患者作为研究对象。对所有患者进行 HBV RNA、HBV DNA 定量检测。比较不同 HBV DNA 水平患者 HBV RNA 定量水平;比较不同乙型肝炎 E 抗原(HBeAg)水平患者 HBV RNA 定量水平;比较不同乙型肝炎表面抗原(HBsAg)水平患者 HBV RNA 定量水平;分析年龄、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、HBeAg、HBsAg、HBV DNA 与 HBV RNA 定量水平的相关性。结果 HBV DNA >10 IU/mL 组(45 例)和 HBV DNA <10 IU/mL 组(36 例)HBV RNA 定量水平分别为 3.31(2.31, 3.95)、0(0.00, 2.31), HBV DNA >10 IU/mL 组明显高于 HBV DNA <10 IU/mL 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。HBeAg 阳性组(37 例)和 HBeAg 阴性组(44 例)HBV RNA 定量水平分别为 3.37(2.31, 3.66)、2.11(0.00, 2.48), HBeAg 阳性组 HBV RNA 定量水平明显高于 HBeAg 阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$)。HBsAg <200 IU/mL 组(9 例)、200 IU/mL $<$ HBsAg $<2\ 000$ IU/mL 组(35 例)、HBsAg $\geq 2\ 000$ IU/mL 组(37 例)HBV RNA 定量水平分别为 0.00(0.00, 2.03)、2.25(0.00, 2.75)、3.21(2.29, 4.33), 3 组间 HBV RNA 定量水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。HBV RNA 定量水平与 HBsAg、HBeAg 及 HBV DNA 水平均呈显著正相关($r=0.513, 0.321, 0.508, P<0.05$)。结论 CHB 患者中 HBV RNA 水平与 HBV DNA、HBsAg、HBeAg 水平关系密切,当 HBV DNA 低于检测下限时,应该进一步检测血清中的 HBV RNA 水平。

关键词:慢性乙型肝炎; 乙型肝炎病毒; 核苷类似物; RNA; DNA; 乙型肝炎表面抗原

中图分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)17-2598-04

Level and clinical significance of HBV RNA in patients with chronic hepatitis B treated by NAs for a long time

LIU Yan, LI Dongfeng, WANG Juan[△]

Department of Clinical Laboratory, Juye County People's Hospital,
Heze, Shandong 274900, China

Abstract: **Objective** To investigate the level and clinical significance of hepatitis B virus (HBV) RNA in patients with chronic hepatitis B (CHB) who have undergone long-term nucleoside analogues (NAs) treatment. **Methods** A total of 81 patients with CHB who received NAs treatment in Juye County People's Hospital for 2 years or more from June 2023 to February 2024 were selected as the study subjects. Quantitative testing of HBV RNA and HBV DNA were performed on all patients. The quantitative levels of HBV RNA in patients with different levels of HBV DNA were compared. The quantitative levels of HBV RNA in patients with different levels of hepatitis B E antigen (HBeAg) were compared. The quantitative levels of HBV RNA in patients with different hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels were compared. The correlation between age, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), HBeAg, HBsAg, HBV DNA and HBV RNA quantitative levels were analyzed. **Results** The quantitative levels of HBV RNA in the group with HBV DNA >10 IU/mL (45 cases) and the group with HBV DNA <10 IU/mL (36 cases) were 3.31 (2.31, 3.95) and 0.00 (0.00, 2.31) respectively, which in the group with HBV DNA >10 IU/mL was significantly higher than that in the group with HBV DNA <10 IU/mL, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The quantitative levels of HBV RNA in the HBeAg positive group (37 cases) and the HBeAg negative group (44 cases) were 3.37 (2.31, 3.66) and 2.11 (0.00, 2.48) respectively, the quantitative level of HBV RNA in the HBeAg positive group was significantly higher than those in the HBeAg negative group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The quantitative levels of HBV RNA in the HBsAg $<$

200 IU/mL group (9 cases), 200 IU/mL < HBsAg < 2 000 IU/mL group (35 cases), HBsAg $\geq$ 2 000 IU/mL group (37 cases) were 0.00 (0.00, 2.03), 2.25 (0.00, 2.75), and 3.21 (2.29, 4.33) respectively, the differences in HBV RNA quantitative levels among the three groups were statistically significant ($P < 0.05$). The quantitative level of HBV RNA correlated significantly positively with the levels of HBsAg, HBeAg and HBV DNA ($r = 0.513, 0.321, 0.508, P < 0.05$). **Conclusion** The expression level of HBV RNA in CHB patients relates closely to the levels of HBV DNA, HBsAg and HBeAg. When HBV DNA is below the detection limit, further detection of the level of HBV RNA in serum should be carried out.

Key words: chronic hepatitis B; hepatitis B virus; nucleoside analogues; RNA; DNA; hepatitis B surface antigen

慢性乙型肝炎(CHB)由乙型肝炎病毒(HBV)引起,是严重威胁中国人健康的慢性疾病。HBV 慢性感染是乙型肝炎患者转为肝硬化、肝癌的重要危险因素^[1]。CHB 患者一般长期接受核苷类似物(NAs)和干扰素的治疗,但多数情况下不能完全治愈。CHB 的发生和病情进展主要与 HBV 共价闭合环状 DNA (cccDNA)有关^[2]。cccDNA 存在于肝脏组织内,需要进行有创的肝组织穿刺才能检测,因此无法广泛开展该检测。既往研究报道,外周血中 HBV RNA 来源于肝组织 cccDNA,可以反映 HBV 的转录活性^[3]。因此,本研究通过分析长期接受 NAs 治疗的 CHB 患者血清中的 HBV RNA、HBV DNA、乙型肝炎 E 抗原(HBeAg)、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)及丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)指标,重点探讨 HBV RNA 在 CHB 患者接受 NAs 治疗过程中的应用价值,旨在为临床治疗 CHB 提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2023 年 6 月至 2024 年 2 月在本院接受 NAs 治疗 2 年及以上的 81 例 CHB 患者作为研究对象,其中男 62 例,女 19 例;平均(42.8 $\pm$ 10.7)岁。纳入标准:符合 CHB 的诊疗标准;均接受核苷类似物恩替卡韦及水飞蓟宾葡甲胺片治疗,治疗时间 $\geq$ 2 年。排除标准:其他肝炎病毒引起的肝炎;酒精性肝炎等肝脏疾病患者。

1.2 方法 采集所有研究对象外周静脉血 3 mL,以 3 500 r/min 离心 20 min 分离血清。HBV DNA 定量检测采用天隆科技有限公司的 HBV 定量超敏检测试剂盒,提取试剂、仪器及扩增仪器均为该公司配套产品,检测方法为实时荧光定量聚合酶链反应,检测下限为 10 IU/mL。HBV RNA 定量检测由济南艾迪康医学检验中心完成,检测方法为实时荧光定量聚合酶链反应,检测下限为 100 copies/mL。采用罗氏 cobas e 601 电化学发光分析仪检测 HBeAg、HBsAg 水平。采用罗氏 Cobas 8000 C702 全自动生化分析仪检测 ALT、AST 水平。

1.3 观察指标 比较不同 HBV DNA 水平患者 HBV RNA 定量水平;比较不同 HBeAg 水平患者 HBV RNA 定量水平;比较不同 HBsAg 水平患者 HBV RNA 定量水平;分析年龄、性别、ALT、AST、

HBeAg、HBsAg、HBV DNA 与 HBV RNA 定量水平的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件进行数据处理与统计分析。不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验;采用 Spearman 相关分析年龄、ALT、AST、HBeAg、HBsAg、HBV DNA 与 HBV RNA 定量水平的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同 HBV DNA 水平患者 HBV RNA 定量水平比较 根据 HBV DNA 水平,将 81 例患者分为 HBV DNA > 10 IU/mL 组(45 例)和 HBV DNA < 10 IU/mL 组(36 例),两组 HBV RNA 定量水平分别为 3.31 (2.31, 3.95)、0.00 (0.00, 2.31), HBV DNA > 10 IU/mL 组明显高于 HBV DNA < 10 IU/mL 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HBV DNA < 10 IU/mL 组 36 例患者中,有 17 例患者可以检测出 HBV RNA 水平。

2.2 不同 HBeAg 水平患者 HBV RNA 定量水平比较 根据 HBeAg 表达情况,将 81 例患者分为 HBeAg 阳性组(37 例)和 HBeAg 阴性组(44 例),两组 HBV RNA 定量水平分别为 3.37 (2.31, 3.66)、2.11 (0.00, 2.48), HBeAg 阳性组 HBV RNA 定量水平明显高于 HBeAg 阴性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 HBeAg 阴性组 44 例患者中,有 24 例可以检测出 HBV RNA 水平。

2.3 不同 HBsAg 水平患者 HBV RNA 定量水平比较 根据 HBsAg 水平,将 81 例患者分为 HBsAg < 200 IU/mL 组(9 例)、200 IU/mL < HBsAg < 2 000 IU/mL 组(35 例)、HBsAg $\geq$ 2 000 IU/mL 组(37 例),3 组 HBV RNA 定量水平分别为 0.00 (0.00, 2.03)、2.25 (0.00, 2.75)、3.21 (2.29 ~ 4.33),3 组间 HBV RNA 定量水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 HBV RNA 水平与其他指标的相关性分析 HBV RNA 定量水平与 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 水平均呈显著正相关($P < 0.05$),而 HBV RNA 定量水平与年龄及 ALT、AST 水平与无相关($P >$

0.05)。见表 1。

表 1 HBV RNA 与各指标的相关性分析

	年龄	ALT	AST	HBeAg	HBsAg	HBV DNA
HBV RNA	-0.185	0.204	0.121	0.513	0.321	0.508
P	0.119	0.086	0.312	<0.001	0.006	<0.001

3 讨 论

cccDNA 是 HBV 不断增殖的主要核心,HBV pgRNA 是其主要的转录体。pgRNA 被核心抗原的核衣壳包裹,通过多种途径从肝细胞中释放出来,然后进入外周血^[4]。大量研究证实,HBV pgRNA 可反映 cccDNA 的转录活性,临床上检测的外周血 HBV RNA 其实是一种混合体,其主要为 HBV pgRNA。NAs 是一种强效、高耐药屏障的抗病毒药物,但无法直接抑制和清除 cccDNA。HBV DNA 是反映 HBV 感染最直接、最特异的指标。HBV DNA 阳性说明机体内 HBV 复制比较活跃,传染性较强,而 HBV DNA 阴性可能说明 HBV 静默,传染性较弱。HBeAg 源于 HBV 的核心,为病毒复制的标志。HBV DNA 阳性说明病毒活跃性较强,患者具有较强的传染性。HBsAg 来源于肝细胞的 HBV cccDNA,其水平可以反映 cccDNA 的活性。当 CHB 患者在长期接受 NAs 治疗后,血清中 HBV DNA 及 HBeAg 水平会逐渐降低,甚至低于检测下限。HBsAg 水平也会逐渐降低,血清中肝功能指标如 ALT、AST 等都表达正常。但这时是否停止药物治疗,停止药物治疗后是否会存在高复发率的情况目前尚无定论。所以临床急需一种新的标志物,用于监测长期接受 NAs 治疗 CHB 患者肝内病毒活跃情况。

本研究发现在 HBV DNA 阴性患者中,仍有相当比例患者的 RNA 阳性,这与 CAREY 等^[5]的研究结果一致。说明即使 HBV DNA 低于检测下限,体内仍有 HBV 的转录表达。2018 年美国肝病学会和欧洲肝病学会组成的乙型肝炎治疗终点工作组也肯定了 HBV RNA 在 HBV DNA 阴性患者中的监测价值。同样,也有研究指出 HBV RNA 是 CHB 患者 HBV DNA 水平低于检测下限时能够反映其 cccDNA 活性的标志物^[6]。另有研究表明,HBV DNA 和 HBV RNA 均阴性的患者停药 4 年后的复发率远低于 HBV DNA 和 HBV RNA 任意一项阳性患者^[7],说明 HBV RNA 在 NAs 停药方面具有一定指导价值。因此,临床应该在 HBV DNA 阴性时,继续检测 HBV RNA 水平来判断体内病毒活跃情况。本研究发现 HBeAg 阳性组 HBV RNA 定量水平明显高于 HBeAg 阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$)。说明 HBeAg 的水平可以影响 HBV RNA 的表达,这与 WANG 等^[8]的研究结果一致。既往也有研究采用多因素 Logistic 回归分析发现,HBV RNA 水平是 HBeAg 转阴的影响因素^[9]。CHB 患者接受 NAs 治

疗后会出现 HBV DNA 转阴和血清 HBeAg 转阴的情况,而血清 HBeAg 转阴是 CHB 患者比较满意的治疗终点,也有望会发生血清 HBsAg 转阴。但在血清 HBeAg 阴性患者中,仍存在 HBV RNA 检出阳性的情况,说明即使血清 HBeAg 转阴后,HBV 复制能力减弱,也有部分患者存在 HBV RNA,肝内 cccDNA 仍存在低水平的转录。在 NAs 抗病毒治疗的患者中 HBV RNA 的持续存在可能是 HBeAg 血清转阴率低的原因^[10]。HBsAg 既来源于 cccDNA 的转录和翻译,也可来源于整合到人类基因组中的 S 基因的表达,所以并不能完全准确反映 cccDNA 的活性,因此,HBV RNA 比 HBsAg 能更准确反映 cccDNA 的活性。

本研究发现 HBsAg 水平与 HBV RNA 水平呈正相关($P<0.05$),这与王春妍等^[11]的研究结果相似,这表明 HBsAg 水平越低,HBV RNA 水平越低,从而也预示着肝内 HBV cccDNA 的转录状态不活跃。目前,HBsAg 的消失,有或者没有产生 HBsAb,仍可以作为乙型肝炎患者抗病毒治疗的停药标准。乙型肝炎患者治愈最终目标也是 HBsAg 的消失,清除表面抗原可以降低 CHB 发展为肝硬化和肝癌的概率^[12]。但是,临床治疗过程中 HBsAg 的消失往往很难实现。因此,可以通过定期对血清 HBV RNA 进行定量来评估患者的用药情况。欧洲肝脏研究协会临床实践指南指出,血清 HBV RNA 被认为可以用于评估乙型肝炎患者停药后 HBsAg 的转阴情况,以及预测 NAs 治疗停药是否安全。一项随访研究显示,停药时血清 HBV RNA $<1\ 000$ copies/mL 的患者停药后累计 6 年 HBsAg 的清除率高于 HBV RNA $\geq 1\ 000$ copies/mL 的患者^[14]。

综上所述,长期接受 NAs 治疗的 CHB 患者,当 HBV DNA 阴性或低于检测下限时,应该进一步检测血清中的 HBV RNA 水平来判断体内 HBV 的感染情况。HBV RNA 是血清 HBeAg 及 HBsAg 转阴的关键影响因素。因此,可以将 HBV RNA 低于检测下限作为 CHB 患者治疗中的病毒学反映指标。只有当 HBV DNA 和 HBV RNA 二者均低于检测下限时,才预示着肝内 cccDNA 消失或者转录不表达,才能够说明 NAs 治疗已经阻止乙型肝炎患者肝病病情进展。未来,血清 HBV RNA 可作为 CHB 患者经抗病毒治疗实现血清 HBV DNA 消失后,反映抗病毒疗效和肝组织内 cccDNA 活性或状态的补充指标。本研究只是初步分析了 CHB 患者经长期 NAs 治疗后 HBV RNA 的定量水平与其他指标的相关性。后期将会纳入更多的病例,对不同治疗阶段的长期接受 NAs 治疗的 CHB 患者进行对比分析,并重点分析 HBsAg 阴转而 HBV RNA 阳性患者,以期探讨 HBV RNA 在疾病治疗过程中的应用价值。

参考文献

[1] ZHANG W H,ZHANG D Z,DOU X G,et al. Onsensus on pegylated interferon alpha in treatment of chronic hepatitis B[J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi,2017,25(9): 678-686.

[2] KAO J H,HU T H,JIA J D,et al. East Asia expert opinion on treatment initiation for chronic hepatitis B[J]. Aliment Pharmacol Ther,2020,52(10):1540-1550.

[3] 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2019,12(27):938-939.

[4] DENG R,LIU S,SHEN S,et al. Circulating HBV RNA: from biology to clinical applications [J]. Hepatology, 2022,76(5):1520-1530.

[5] CAREY I, GERSCH J, WANG B O, et al. Pregenomic HBV RNA and hepatitis B core-related antigen predict outcomes in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients suppressed on nucleos (T) ide analogue therapy[J]. Hepatology,2020,72(1):42-57.

[6] LIU S,ZHOU B, VALDES J D, et al. Serum hepatitis B virus RNA;a new potential biomarker for chronic hepatitis B virus infection[J]. Hepatology, 2019, 69 (4): 1816-1827.

[7] FAN R,ZHOU B,XU M,et al. Association between negative results from tests for HBV DNA and RNA and durability of response after discontinuation of nucleos(t)ide analogue therapy[J]. Clin Gastroenterol Hepatol,2020,18 (3):719-727.

[8] WANG J,DU M,HUANG H X,et al. Reply to:"serum HBV pgRNA as a clinical marker for cccDNA activity": consistent loss of serum HBV RNA might predict the " para-functional cure" of chronic hepatitis B[J]. J Hepatol,2017,66(2):462-463.

[9] ZHU Y,LUO Y, GUO F, et al. Predictive value of serum HBV RNA for therapeutic effect of entecavir in patients with chronic hepatitis B[J]. J South Med Univ,2022, 42 (8):1250-1255.

[10] 饶希,施欢欢,吴振平,等. 长期核苷酸类似物治疗的慢性乙型肝炎患者血清 HBV pgRNA 与抗原状态变化的相关性研究[J]. 中华肝脏病杂志,2021,29(8):766-770.

[11] 王春妍,曹宇,冯永美,等. 经 NAs 长期治疗后 HBV DNA 低于检测下限乙型肝炎肝硬化患者的 HBV RNA 水平分析及其意义[J]. 中华肝脏病杂志,2022,30(7): 758-762.

[12] GUNER R,KARAHOCAGIL M,BUYUKBERBER M, et al. Correlation between intrahepatic hepatitis B virus cccDNA levels and other activity markers in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B infection[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2011,23(12):1185-1191.

[13] European Association for the Study of the Liver, European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 clinical practice guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol,2017,67(2):370-398.

[14] XIA M Y,C H,WU Y B, et al. Serum hepatitis B virus RNA level is associated with biochemical relapse in patients with chronic hepatitis B infection who discontinue nucleos(t)ide analogue treatment[J]. Aliment Pharmacol Ther,2021,54(5):709-714.

(收稿日期:2024-03-26 修回日期:2024-05-18)

(上接第 2597 页)

[9] 赵思文,王琳,刘真,等. 充气温毯联合液体加温技术预防老年患者围术期低体温的效果[J]. 国际老年医学杂志, 2023,44(2):191-195.

[10] 王伟强,景瑞. 输液加温仪对预防老年盆底功能障碍围手术期患者低体温和应激反应的影响[J]. 血栓与止血学, 2022,28(2):243-245.

[11] 黄盼盼,程红,张迎红,等. 基于 4R 危机管理理论构建互联网+护理服务风险管理评价指标体系[J]. 护理学报, 2022,29(9):16-20.

[12] 张泽昊,杨敏利,冯园园,等. 4R 危机管理理论联合分级管理模式在手术室管理中的应用及对舒适度、不良事件发生的影响[J]. 中国医药导报,2023,20(8):171-175.

[13] 李晓佩,胡婷婷,涂慧慧,等. 围手术期非计划性低体温集束化护理在手术患者中的应用及对护士知信行的影响 [J]. 中华现代护理杂志,2021,27(36):4970-4973.

[14] 张小佳,高薇,廉爱玲,等. 无线连续性体温监测对老年股骨粗隆间骨折患者围手术期体温的影响[J]. 中华现代护理杂志,2022,28(30):4272-4275.

[15] 袁映红,宋慧敏,林英,等. 老年患者全髋关节置换术中低体温预防护理对围术期出血量、凝血功能及应激反应的影响[J]. 老年医学与保健,2023,29(1):100-104.

[16] 李晓英,张云飞,文京宁,等. Orem 自理模式护理对老年髋部骨折患者疾病认知水平及并发症的影响[J]. 海南医学,2021,32(22):2986-2989.

[17] 艾雅娟,韩旭,毕娜,等. 基于 4R 危机管理快速康复模式在老年脊柱结核术后并发认知障碍患者中的应用价值 [J]. 中国防痨杂志,2022,44(8):860-864.

[18] 刘淑正,杨立娜. 基于 4R 危机管理与多学科协作理论的监护室多重耐药院内感染防控效果观察[J]. 护理学报, 2020,27(7):30-33.

(收稿日期:2023-12-16 修回日期:2024-03-24)