

· 专题报道 ·

乙型肝炎病毒前 S1 抗原与 e 抗原、乙型肝炎病毒 DNA 的相关性分析

侯晓菁, 梁艳, 何凤春, 陈洁, 崔艳芳, 仲人前, 王皓*

(第二军医大学长征医院实验诊断科, 上海 200003)

[摘要] **目的:**探讨乙肝病毒(HBV)前 S1(Pre-S1)抗原与 e 抗原(HBeAg)、HBV DNA 含量的相关性,以评价 Pre-S1 抗原检测 HBV 复制的临床应用价值。**方法:**临床采集乙肝表面抗原阳性标本 363 例,以 ELISA 法检测 Pre-S1 抗原,时间分辨免疫荧光法检测 HBeAg,实时荧光定量 PCR(FQ-PCR)法检测 HBV DNA 含量,并对 Pre-S1 抗原、HBeAg 和 HBV DNA 检测结果进行相关性分析。**结果:**Pre-S1 抗原与 HBeAg 值之间存在关联性($\chi^2=94.4, P<0.01$),关联系数为 0.45;Pre-S1 抗原与 HBV DNA 亦有关联($\chi^2=198.58, P<0.01$),关联系数为 0.59。Pre-S1 抗原阳性率随 HBV DNA 含量的增加而增加。当 HBV DNA 拷贝数的对数值 >3 时,Pre-S1 抗原的诊断敏感度 84.5%,特异性 91.2%,准确性 87.0%,阳性预测值 94.1%,阳性似然比 9.6,优势比 56.8;HBeAg 诊断敏感度 50.4%,特异性 94.9%,准确性 67.2%,阳性预测值 94.2%,阳性似然比 9.8,优势比 18.9。**结论:**Pre-S1 抗原与 HBV DNA 具有相关性,Pre-S1 抗原较 HBeAg 能更敏感、更准确地反映 HBV 复制情况,三者联合检测互相补充,更有助于临床疾病的诊治。

[关键词] 肝炎病毒,乙型;前 S1 抗原;e 抗原;DNA**[中图分类号]** R 373.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)12-1306-03**Correlation analysis between HBV Pre-S1 antigen with HBeAg and HBV DNA**

HOU Xiao-jing, LIANG Yan, HE Feng-chun, CHEN Jie, CUI Yan-fang, ZHONG Ren-qian, WANG Hao* (Department of Laboratory Medicine, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To study the correlation between HBV Pre-S1 antigen, HBeAg levels and HBV DNA copies, so as to assess the clinical value of Pre-S1 in detection of HBV replication. **Methods:** A total of 363 HBsAg-positive samples were collected. The levels of Pre-S1 antigen, HBeAg and HBV DNA copies were determined by ELISA, time-resolved immuno-fluorescent method and real-time fluorescent quantitative PCR(FQ-PCR), respectively. The correlation between the determination results was analyzed. **Results:** Pre-S1 antigen level was correlated with the level of HBeAg ($\chi^2=94.4, P<0.01$), with the coefficient being 0.45; Pre-S1 antigen level was also correlated with HBV DNA ($\chi^2=198.58, P<0.01$), with the coefficient being 0.59. The positive rate of Pre-S1 increased with HBV DNA copies. When logarithm of HBV DNA copies was more than 3, the sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value(PPV), positive likelihood ratio(PLR) and odds ratio(OR) of Pre-S1 were 84.5%, 91.2%, 87.0%, 94.1%, 9.6, and 56.8 respectively; the numbers of HBeAg were 50.4%, 94.9%, 67.2%, 94.2%, 9.8 and 18.9, respectively. **Conclusion:** Pre-S1 antigen is correlated with HBV DNA and is more sensitive and accurate than HBeAg in reflecting HBV replication. The above 3 parameters can complement each other and the combination of them is more accurate in clinical diagnosis.

[KEY WORDS] hepatitis B virus; pre-S1 antigen; e antigen; DNA

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(12):1306-1308]

乙型肝炎(乙肝)是严重威胁人类健康的一种传染性疾病,我国为高发区,约有 1 亿人是乙肝病毒(HBV)携带者。目前以乙肝血清标志物检测作为 HBV 感染和诊断的依据,而血清 HBV DNA 阳性检出通常作为 HBV 复制的金标准^[1]。近年来出现的新的血清学标志物——前 S1(Pre-S1)抗原作为 HBV 的病毒学检测指标已应用于临床,本研究通过对 Pre-S1 抗原与 HBeAg、HBV DNA 检测结果的相关性分析,评价 Pre-S1 抗原在乙肝检测,尤其监测病毒复制方面的临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 标本来源 标本来自 2007 年 3~6 月第二军医大学长征医院门诊及住院的乙肝患者共计 363 例,血清乙肝表面抗原均为阳性,诊断符合 2000 年 9 月全国病毒性肝炎学术会议修订的诊断标准^[2],其中男性 286 例,女性 77 例,平均年龄(52±8)

[作者简介] 侯晓菁,技师。

* Corresponding author. E-mail: whoward@sh163.net

(34~65)岁。健康对照组 54 例,来自 2007 年 5~6 月在长征医院进行健康体检的志愿者,其中男性 31 例,女性 23 例,平均年龄(48±61)(30~60)岁,所有肝功能指标正常,各肝炎病毒学指标阴性。所有受试者空腹采集静脉血 5 ml,分离血清,-20℃保存待检。

1.2 标本检测

1.2.1 Pre-S1 抗原检测 采用 ELISA 双抗体夹心法,试剂由上海阿尔法生物技术有限公司提供,按试剂说明书操作,结果由 Bio-Rad550 酶标仪判读,光密度(D)值>cut-off 值判为阳性。

1.2.2 HBeAg 检测 由 Wallac 公司生产的 DELFIA1235 全自动时间分辨免疫荧光检测仪测定,试剂及定标液均为上海新波公司产品,测定值>30 Ncu/L判为阳性。

1.2.3 HBV DNA 检测 采用 FQ-PCR 法,仪器为美国 ABI7500 型实时荧光定量 PCR 仪,检测试剂由广州中山大学达安基因检测有限公司提供,按试剂说明书操作。

1.3 诊断效能指标的计算分析 各诊断效能指标的计算公式分别为:敏感度=真阳性/(真阳性+假阴性),特异度=真阴性/(假阳性+真阴性),准确性=(真阳性+真阴性)/病例总数,阳性预测值(PPV)=真阳性/(真阳性+假阳性),阳性似然比(PLR)=敏感度/(1-特异度),优势比(OR)=(真阳性×真阴性)/(假阳性×假阴性)。

1.4 统计学处理 采用统计学软件包 SPSS 11.0 进行统计分析,各变量间的关联性分析采用行×列表的 χ^2 检验及 Pearson 列联系数分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Pre-S1 抗原与 HBeAg、HBV DNA 检测结果的关联性分析 在 363 例乙肝患者中,Pre-S1 抗原与 HBeAg 均阳性有 111 例,均阴性有 150 例,经 χ^2 检验分析显示,Pre-S1 抗原与 HBeAg 存在关联性($\chi^2=94.4, P<0.01$),关联系数 0.45;Pre-S1 抗原与 HBV DNA 亦有关联($\chi^2=198.58, P<0.01$),关联系数 0.59。检测结果见表 1。

2.2 HBeAg 与 Pre-S1 抗原、HBV DNA 的关联性分析 在 HBeAg 阳性组中,Pre-S1 抗原的阳性率为 91.7%,而在 HBeAg 阴性组中,Pre-S1 的阳性率仅为 38%,两者相比,差异有统计学意义($P<$

0.01)。但在 HBeAg 阴性组中,HBV DNA 的阳性率为 46.3%,结果见表 2。

表 1 Pre-S1 抗原与 HBeAg、HBV DNA 关联性分析

Tab 1 Correlation analysis between Pre-S1 with HBeAg and HBV DNA

Pre-S1	N	HBeAg		HBV DNA	
		+	-	+	-
+	203	111	92	191	12
-	160	10	150	35	125
Total	363	121	242	226	137

表 2 HBeAg 与 Pre-S1 抗原、HBV DNA 关联性分析

Tab 2 Correlation analysis between HBeAg with Pre-S1 and HBV DNA

HBeAg	N	Pre-S1		HBV DNA	
		+	-	+	-
+	121	111	10	114	7
-	242	92	150	112	130
Total	363	203	160	226	137

2.3 Pre-S1 抗原与 HBV DNA 含量的关联性分析 Pre-S1 抗原阳性率与 HBV DNA 的含量存在关联性($\chi^2=202.37, P<0.01$),且随 HBV DNA 含量的增加而增加,见表 3。

表 3 Pre-S1 抗原与 HBV DNA 含量的关联性分析

Tab 3 Correlation analysis between Pre-S1 and HBV DNA copies

Log(copy) of HBV DNA	N	Pre-S1 antigen	
		Positive case(n)	Positive rate(%)
<3	137	12	8.8
3-5	101	79	78.2
5-7	95	83	87.4
7-8	21	20	95.2
>8	9	9	100
Total	363	203	55.9

2.4 Pre-S1 抗原与 HBeAg 诊断 HBV 复制的效能评价 当 HBV DNA 拷贝数的对数值>3 时,Pre-S1 抗原的诊断敏感度为 84.5%,特异性为 91.2%,准确性 87.0%,阳性预测值(PPV) 94.1%,阳性似然比(PLR)为 9.6,优势比(OR)为 56.8;HBeAg 的诊断敏感度 50.4%,特异性 94.9%,准确性 67.2%,阳性预测值 94.2%,阳性似然比 9.8,优势比 18.9,结果见表 4。

表 4 Pre-S1 抗原与 HBeAg 诊断 HBV 复制的效能评价
Tab 4 Efficacy of Pre-S1 and HBeAg
in detection of HBV replication

Group	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)	PPV (%)	PLR	OR
Pre-S1	84.5	91.2	87.0	94.1	9.6	56.8
HBeAg	50.4	94.9	67.2	94.2	9.8	18.9

3 讨论

HBV 基因组表面抗原(HBsAg)编码区(S区)由 S、Pre-S1、Pre-S2 基因组成,分别编码 S、Pre-S1、Pre-S2 等 3 种蛋白成分,构成 HBV 的外膜,其中 Pre-S1 蛋白与 HBV 的组装、分泌和入侵肝细胞密切相关^[3],近年来已成为一种新的 HBV 检测标志物^[4]。

本研究通过检测 363 例乙肝患者的 Pre-S1 抗原、HBeAg 及 HBV DNA,发现:(1)Pre-S1 抗原与 HBeAg 存在显著关联性($P < 0.01$),关联系数 0.45,与文献报道相似,可作为判断病毒在宿主体内活动指标之一^[5];但与 HBV DNA 的关联性更密切,关联系数可达 0.59。(2)HBeAg 阴性组中,HBV DNA 的阳性率为 46.3%,Pre-S1 抗原的阳性率为 38%,说明 HBeAg 转阴,病毒复制仍可存在,其原因可能是 HBV 为逃避宿主的免疫反应而发生变异,导致 HBeAg 阴性,但这并不意味着 HBV 的消除或复制水平的减低^[6]。Pre-S1 抗原抗体系统的消长会影响 HBV 感染的预后,而 HBV 感染和复制是引起慢性乙肝的主要原因^[7]。因此,对于 HBeAg 阴性的患者需要进一步检查 Pre-S1 抗原和 HBV DNA 来判断是否存在 HBV 复制。(3)Pre-S1 抗原阳性率与 HBV DNA 含量显著相关,并随 HBV DNA 含量的增加而增加,表明 Pre-S1 抗原阳性可能间接地反映 HBV 的高拷贝复制在乙肝的诊断和治疗中具有重要意义^[8]。(4)以 HBV DNA 拷贝数的对数值大于 3 作为 HBV 复制的阳性标准,Pre-S1 抗原的诊断敏感度为 84.5%,特异性 91.2%,准确性 87.0%;HBeAg 敏感度 50.4%,特异性 94.9%,准确性 67.2%,可见 Pre-S1 抗原的诊断敏感度和准确性明显优于 HBeAg,而特异性与 HBeAg 相似。此外,二者阳性预测值和阳性似然比相仿,表明二者诊断效能均较高。但值得注意的是,Pre-S1 抗原的优势比明显高于 HBeAg。OR 值是循证检验医学中

常用的评价指标,表示暴露因素存在与不存在时优势的比值。一般来说,OR>1 表示有暴露因素的人患某病机会或危险性大于非暴露者,OR 值越大则疾病与暴露因素的关系越大。因此本组资料显示 Pre-S1 抗原阳性与 HBV 复制的关系更大,表明 Pre-S1 抗原与 HBeAg 相比较,在 HBV 复制的诊断方面更具有临床应用价值。

综上所述,血清 Pre-S1 抗原与 HBV DNA 的存在和复制密切相关,Pre-S1 可敏感反映乙肝病毒的复制情况,尤其可反映 HBeAg 阴性的乙肝患者仍存在病毒复制。在急性乙型肝炎患者中,Pre-S1 抗原先于 HBV DNA 阴转,提示疾病预后良好^[9]。尽管 Pre-S1 抗原和 HBV DNA 有很好的相关性,但仍有部分标本 Pre-S1 抗原阳性而 HBV DNA 阴性。由于 HBV 变异性强,联合检测 HBeAg、HBV DNA 及 Pre-S1 抗原等指标能更全面地反映临床 HBV 的复制、传染性及抗病毒治疗效果。

[参考文献]

[1] 夏邦世,沈忠海,马红松,等.慢性乙型肝炎患者 HBV 前 S1 抗原及 HBV-M 和 HBV DNA 与肝功能的关系[J].中华检验医学杂志,2004,27:575-576.

[2] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会.病毒性肝炎防治方案[J].中华肝脏病杂志,2000,8:324-329.

[3] Hu W G, Wei J, Yang X X, et al. Expression of overlapping PreS1 fragment recombinant proteins for the determination of immunogenic domains in HbsAg PreS1 region[J]. Acta Biochim Biophys Sin,2004,36:397-404.

[4] 李步荣,李丽华,李妙羨.乙肝病毒 PreS1 抗原的临床应用[J].第四军医大学学报,2007,28:442-444.

[5] 耿春浩,付艳丽,唐喜玲,等.HBeAg、HBV DNA、前 S1 抗原相关性分析及其临床意义[J].临床肝胆病杂志,2002,18:217-218.

[6] 崔红花,王晶莹,谢 风.HBVPreS1 抗原和 HBV DNA 的监测及临床评价[J].中国实验诊断学,2007,11:482-485.

[7] Santantonio T, Mazzola M, Lacovazzi T, et al. Long-term follow-up of patients with anti HBe/HBV DNA-positive chronic hepatitis B treated for 12 months with lamivudine[J]. J Hepatol, 2000,32:300-306.

[8] 赵世良,汤俊明,张小莉.乙型肝炎病毒前 S1 抗原检测的意义[J].临床检验杂志,2005,23:111.

[9] 闵福援,孙桂珍,王 健,等.前 S1 蛋白在乙型肝炎诊断及判断预后中的作用[J].中华检验医学杂志,2004,27:224-226.

[收稿日期] 2007-09-27 [修回日期] 2007-10-10

[本文编辑] 邓晓群