



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2020.08.005

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.08.005>

· 综述与讲座 ·

乙型肝炎病毒新型标志物的临床意义解读

蒋莹莹 郑素军

[关键词] 乙型肝炎,慢性; 乙型肝炎病毒; 肝炎病毒核心抗原,乙型; 肝炎病毒核心相关抗原,乙型

中华医学会感染病学分会和肝病学会于 2019 年 12 月联合发布了 2019 年版《慢性乙型肝炎防治指南》(简称本指南)^[1]。与 2015 年版《慢性乙型肝炎防治指南》相比,本指南在实验室检查部分新增了乙型肝炎病毒(HBV)核心抗体(抗-HBc)、HBV RNA、HBV 核心相关抗原(HBcrAg)等 HBV 新型标志物的检测,本文将对这 3 种标志物的临床意义进行深入解读。

一、抗-HBc 定量

HBV 核心抗原(HBcAg)由 HBV PreC/C 区基因编码,具有较强免疫原性,刺激机体后可产生抗-HBc,可分为免疫球蛋白(Ig)M、IgA、IgG、IgE 等类型。其中 IgM 型抗体是 HBcAg 刺激机体免疫系统产生的特异性抗体,阳性常提示急性感染或慢性肝炎急性发作。而在慢性乙型肝炎(CHB)患者体内 IgG 型抗-HBc 可长期存在^[2]。目前新型双抗原夹心免疫测定法常用于抗-HBc 水平定量检测,随着该检测方法的应用推广,抗-HBc 水平定量的临床意义备受关注。

在 HBV 感染自然史中,CHB 患者自然病程可分为免疫耐受期(慢性 HBV 携带状态)、免疫清除期[HBV e 抗原(HBeAg)阳性 CHB]、免疫控制期[非活动性 HBV 表面抗原(HBsAg)携带状态]、再活动期(HBeAg 阴性 CHB)。血清抗-HBc 水平与宿主免疫状态相关,CHB 患者免疫清除期和再活动期抗-HBc 定量水平明显高于免疫耐受期和低复制期。Song 等^[3]研究发现 CHB 患者抗-HBc 水平与 ALT 呈正相关,ALT 异常患者抗-HBc 水平显著高于 ALT 正常患者。有研究结果发现抗-HBc 水平与肝纤维化分期也有一定关系:无论 HBeAg 状态如何,S0-1 组患者抗-HBc 水平明显低

于 S2-4 组,且抗-HBc 水平与纤维化评分呈正相关^[4]。

一项 Meta 分析结果显示,在 ALT 正常的 CHB 患者中,约 20% 有明显的肝脏纤维化^[5]。对 HBV DNA 阳性、ALT 正常的患者,若肝脏组织活检结果提示有明显肝脏炎症或纤维化,本指南建议启动抗病毒治疗。由于肝脏穿刺活检是有创操作,寻找无创标志物评估 CHB 患者肝脏炎症及纤维化分期对制定抗病毒治疗决策至关重要。为了评估 ALT < 2 倍正常上限的 CHB 患者肝脏炎症/纤维化程度,Wu 等^[6]纳入了性别、年龄、PLT 计数、ALT、AST、碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰转氨酶(GGT)、白蛋白(ALB)、凝血酶原活动度(PTA)、HBsAg、HBV DNA、抗-HBc、肝脏硬度测定(LSM)等指标,最终发现抗-HBc 水平、AST、LSM 与肝脏炎症及纤维化有明显相关性。基于此 3 项指标建立了一种无创诊断模型,对抗病毒治疗决策具有一定指导意义。

此外,较高抗-HBc 水平可作为干扰素和核苷(酸)类似物(NAs)治疗反应较好的预测指标。Hou 等^[7]研究了抗-HBc 水平对 HBeAg 阳性患者接受聚乙二醇干扰素(Peg-IFN)治疗反应的预测价值,结果发现基线抗-HBc 水平是唯一与血清学应答(治疗停药后 24 周出现 HBeAg 血清学转换)、病毒学应答(治疗停药后 24 周 HBV DNA < 200 IU/ml)和联合应答(治疗停药后 24 周出现 HBeAg 丢失、HBV DNA < 2 000 IU/ml)独立相关的指标。该研究还发现,基线抗-HBc ≥ 30 000 IU/ml 的患者具有更高的应答率(包括血清学应答、病毒学应答和联合应答)、HBV DNA 抑制率及更好的炎症控制。Fan 等^[8]回顾性分析了使用 Peg-IFN(231 例)或 NAs(560 例)治疗的 CHB 患者,在该研究试验结束时,Peg-IFN 和 NAs 治疗队列中分别有 99 例(42.9%)和 137 例(24.5%)患者实现了 HBeAg 血清学转换。除治疗方案外(Peg-IFN 或 NAs),基线抗-HBc 水平是影响 HBeAg 血清学转换的最佳独立预测因子。未发生 HBeAg 血清学转换患者的基线抗-HBc 水平显著低于发生 HBeAg 血清学转换的患者。此外,Cai 等^[9]也发

基金项目:国家十三五重大科技专项(2017ZX10302201-004、2017ZX10202203-006)

作者单位:100069 北京,首都医科大学附属北京佑安医院疑难肝病及人工肝中心 肝衰竭与人工肝治疗研究北京市重点实验室

通讯作者:郑素军, E-mail: zhengsujun003@126.com

现基线血清 HBcAb 水平能较好地预测高病毒载量 NAs 经治患者 HBeAg 血清学转换。

抗-HBc 水平还可用于预测抗 HBV 治疗停药后复发情况。Wu 等^[10]研究发现抗-HBc 水平可作为 HBsAg 清除后复发的潜在预测指标,停药时抗-HBc 水平较基线有更好的预测价值。多因素分析结果显示,停药时高抗-HBc 水平(截点值为 2.338 6 lg IU/ml)与低复发率显著相关。此外,Chi 等^[11]和 Tseng 等^[12]研究结果均发现在停止 NAs 治疗的 CHB 感染患者中,治疗结束时血清总抗-HBc 水平与临床复发风险相关。

二、HBV RNA 定量

1996 年德国学者首次发现 HBV 感染者血清中存在 HBV RNA,后期研究发现血清中可检测到的 RNA 为前基因组 RNA(pgRNA)^[13]。pgRNA 是由共价闭环状 DNA(cccDNA)转录形成的 3.5 kb mRNA^[14]。目前研究认为通过测定血清中 HBV-pgRNA 载量,可在一定程度上反映 cccDNA 活性,预测 HBeAg 血清学转换、抗病毒治疗效果及停药后 HBV 病毒复发情况^[15-17]。

在一项 CHB 自然史研究中,Wang 等^[18]发现血清 HBV RNA 和肝脏内 cccDNA 水平具有显著的相关性($r=0.596, P<0.001$);然而将患者分为免疫耐受期、免疫清除期和再活动期时,各期患者之间的相关性均消失;CHB 患者经过 NAs 抗病毒治疗后,血清 HBV RNA 与 cccDNA 拷贝数也无显著相关性。由此可见,血清 HBV RNA 和 cccDNA 之间的相关性可能受抗病毒治疗、CHB 分期等影响,还需大样本研究进一步验证。

HBV RNA 可用于评价干扰素及 NAs 抗病毒治疗疗效。Jia 等^[15]研究了 61 例 HBeAg 阳性的 CHB 患者经干扰素治疗后的 HBV RNA 水平,结果发现 61 例患者中有 22 例(36.1%)在治疗结束后 24 周发生 HBeAg 血清学转换,后者基线 HBV RNA 水平明显低于未发生 HBeAg 血清学转换者。此外,基线 HBV RNA $\leq 200\,000$ copies/ml 和 12 周时 HBV RNA $\leq 3\,000$ copies/ml 的患者,其治疗结束后 24 周发生 HBeAg 血清学转化率(92.9%)显著高于其他患者(12.5%)。同样,van Bömmel 等^[19]研究也发现血清 HBV RNA 是 Peg-IFN 治疗后 HBeAg 血清学转换的早期预测因子。Luo 等^[17]研究纳入口服恩替卡韦抗病毒治疗的 30 例 CHB 患者,结果显示,经过 24 周抗病毒治疗后,其中 HBV DNA 检测不到组患者血清 HBV RNA 显著降低。进一步分析结果发现,基线 HBV RNA 对于是否发生 HBeAg 血清学转换具有良好的预测价值。

血清 HBV RNA 可能也是指导 NAs 安全停药的良好指标^[20]。在一项对 36 例接受 NAs 治疗患者的研究

发现,治疗结束后 3 个月时的血清 HBV DNA 与 HBV RNA 滴度与停药后 HBV DNA 反弹密切相关。在另一项 33 例停止 NAs 抗病毒治疗患者的研究中发现,治疗结束时所有 HBV RNA 阳性的患者均出现了病毒反弹,而仅有 25% HBV RNA 阴性患者发生反弹。由此可见,HBV RNA 可作为监测 NAS 安全停药的潜在预测性生物标志物。

三、HBcrAg

HBcrAg 包括 HBcAg、HBeAg 和一种 22 kDa 前核心蛋白(P22cr)。HBcAg 是病毒衣壳的结构成分,由 HBV 前基因组 RNA 翻译而来。HBeAg 是一种非结构性免疫调节分泌蛋白,由 HBV 前核心 mRNA 翻译产生。P22cr 也由前核心 mRNA 翻译而来,具有未剪切的信号序列。化学发光酶免疫分析法是目前检测血清 HBcrAg 水平的主要方法。HBcrAg 水平在慢性 HBV 感染自然史的 4 个分期中具有明显变化。有研究结果显示 HBeAg 阳性患者的 HBcrAg 水平明显高于 HBeAg 阴性患者,且免疫耐受期患者血清 HBcrAg 水平显著高于免疫清除期^[21-22]。前者可能是由于 HBeAg 血清转化后 HBeAg 产生减少导致,而后者则表明免疫清除期产生的免疫控制可能更强烈。HBcrAg 水平能否反映机体免疫清除活性值得进一步研究。79% HBsAg 自行清除患者血清 HBcrAg 检测不到。研究表明,HBcrAg 可预测干扰素和 NAs 抗病毒治疗的疗效。Ma 等^[23]对 HBcrAg 用于干扰素治疗 HBeAg 阳性 CHB 患者发生 HBeAg 血清学转换的预测价值进行了研究,结果发现治疗 24 周 HBcrAg $< 19\,565$ kU/ml,治疗结束后 12 周 HBcrAg $< 34\,225$ kU/ml,从基线到治疗结束时 HBcrAg 下降 ≥ 0.565 lg kU/ml,用于预测治疗结束后 24 周发生 HBeAg 血清学转换的阴性预测值均为 100.00%,但阳性预测值分别为 30.77%、26.67%、25.00%。Sonneveld 等^[24]纳入经 NAs 治疗的 196 例 HBeAg 阳性 CHB 患者,结果发现发生 HBeAg 血清学转换患者基线 HBcrAg 水平显著低于未发生患者。发生血清学转换时高水平 HBcrAg 是复发的独立预测因子,当 HBcrAg < 4.90 lg U/ml 时,患者均无复发;当 HBcrAg > 5.70 lg U/ml 时,61% 患者出现 HBeAg 复发。

HBcrAg 水平可用于预测 NAs 抗病毒治疗停药后复发情况。有研究结果表明,治疗结束时 HBcrAg 水平 > 3.7 lg IU/ml 可预测停药后 1 年内的病毒学复发^[25]。Matsumoto 等^[26]在对 126 例停药患者进行回顾性研究发现,停药时较高水平的 HBcrAg 是复发的重要预测因素。2014 年日本肝病学会指南将 HBcrAg 水平用于确定低复发风险的患者,HBcrAg 的截点值定

为 3.0 lg IU/ml^[27]。但是该标准是否适用于不同国家的不同人群还需要更广泛的临床验证。

HBcrAg 还被证明与肝细胞癌 (HCC) 的发展有关, 可用于预测 HCC 的发生或复发^[28]。一项长达 10 年的随访研究发现, 对于初治患者, HBcrAg 预测 HCC 发病率优于 HBV DNA 和 HBeAg, 且 HBcrAg > 2.9 lg U/ml 是 HCC 发生的独立预测因子^[29]; 对经治患者, 在 NAs 治疗 2 年后 HBcrAg 仍然阳性是 HCC 的独立危险因素^[30]。近年有研究结果发现, HBcrAg 水平对肝癌术后复发也有较好预测价值。在一项纳入 55 例接受肝癌切除术患者的研究中发现, 肝癌诊断时 HBcrAg > 4.8 lg U/ml 患者 2 年内肝癌复发的风险比为 8.96^[31]。

四、总结

随着干扰素及 NAs 抗病毒药物的广泛使用, 临床医生面临的问题与挑战更多, 新型乙型病毒性肝炎标志物的出现为如何判断患者肝脏纤维化进展风险并确定治疗时机和治疗方案、如何检测治疗效果、如何确定停药时机以降低复发风险这些问题提供了可能答案。通过检测这些 HBV 相关标志物, 可能实现及时预测和评估 CHB 患者治疗后临床结局, 监测 HBV cccDNA 的数量和转录状态, 预测停药后 HBV 病毒复发, 对于指导制定和调整诊疗方案, 通过个体化精准治疗以追求最佳疗效均有重要意义。但也应注意这些新型指标在临床大规模应用前, 一些检测方法还需要标准化, 其临床意义也需要进一步通过大样本、多中心的临床研究来加以确认和验证。

参 考 文 献

- [1] 王贵强, 王福生, 庄辉, 等. 慢性乙型肝炎防治指南 (2019 年版) [J]. 肝脏, 2019, 24(12): 1335-1356.
- [2] Grob P, Jilg W, Bornhak H, et al. Serological pattern "anti-HBc alone": report on a workshop [J]. J Med Virol, 2000, 62(4): 450-455.
- [3] Song LW, Liu PG, Liu CJ, et al. Quantitative hepatitis B core antibody levels in the natural history of hepatitis B virus infection [J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21(2): 197-203.
- [4] Li MR, Zheng HW, Ma SM, et al. Correlations between serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B core antibody titers and liver fibrosis in treatment-naïve CHB patients [J]. J Chin Med Assoc, 2018, 81(12): 1052-1059.
- [5] Chao DT, Lim JK, Ayoub WS, et al. Systematic review with meta-analysis: the proportion of chronic hepatitis B patients with normal alanine transaminas 40 IU/L and significant hepatic fibrosis [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2014, 39(4): 349-358.
- [6] Wu Z, Dong X, Wang G, et al. Clinical noninvasive markers for Antivir Ther decision in chronic hepatitis B with alanine aminotransferase less than two times upper limit of normal [J]. J Viral Hepat, 2019, 26(2): 287-296.
- [7] Hou FQ, Song LW, Yuan Q, et al. Quantitative hepatitis B core antibody level is a new predictor for treatment response in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients receiving peginterferon [J]. Theranostics, 2015, 5(3): 218-226.
- [8] Fan R, Sun J, Yuan Q, et al. Baseline quantitative hepatitis B core antibody titre alone strongly predicts HBeAg seroconversion across chronic hepatitis B patients treated with peginterferon or nucleos(t)ide analogues [J]. Gut, 2016, 65(2): 313-320.
- [9] Cai S, Li Z, Yu T, et al. Serum hepatitis B core antibody levels predict HBeAg seroconversion in chronic hepatitis B patients with high viral load treated with nucleos(t)ide analogues [J]. Infect Drug Resist, 2018, 11: 469-477.
- [10] Wu Y, Wang X, Lin X, et al. Quantitative of serum hepatitis B core antibody is a potential predictor of recurrence after interferon-induced hepatitis B surface antigen clearance [J]. J Microbiol Immunol Infection, 2019, S1684-1182(19)30145-8.
- [11] Chi H, Li Z, Hansen BE, et al. Serum Level of Antibodies Against Hepatitis B Core Protein Is Associated With Clinical Relapse After Discontinuation of Nucleos(t)ide Analogue Therapy [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2019, 17(1): 182-191, e181.
- [12] Tseng CH, Hsu YC, Chang CY, et al. Quantification of serum hepatitis B core antibody to predict off-entecavir relapse in patients with chronic hepatitis B [J]. J Formos Med Assoc, 2018, 117(10): 915-921.
- [13] Wang J, Shen T, Huang X, et al. Serum hepatitis B virus RNA is encapsidated pregenome RNA that may be associated with persistence of viral infection and rebound [J]. J Hepatol, 2016, 65(4): 700-710.
- [14] Tong S, Revill P. Overview of hepatitis B viral replication and genetic variability [J]. J Hepatol, 2016, 64(1 Suppl): S4-S16.
- [15] Jia W, Zhu MQ, Qi X, et al. Serum hepatitis B virus RNA levels as a predictor of HBeAg seroconversion during treatment with peginterferon alfa-2a [J]. Virol J, 2019, 16(1): 61.
- [16] Huang YW, Takahashi S, Tsuge M, et al. On-treatment low serum HBV RNA level predicts initial virological response in chronic hepatitis B patients receiving nucleoside analogue therapy [J]. Antivir Ther, 2015, 20(4): 369-375.
- [17] Luo H, Zhang XX, Cao LH, et al. Serum hepatitis B virus RNA is a predictor of HBeAg seroconversion and virological response with entecavir treatment in chronic hepatitis B patients [J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(6): 719-728.
- [18] Wang J, Yu Y, Li G, et al. Natural history of serum HBV-RNA in chronic HBV infection [J]. J Viral Hepat, 2018, 25(9): 1038-1047.
- [19] van Bömmel F, van Bömmel A, Krauel A, et al. Serum HBV RNA as a Predictor of Peginterferon Alfa-2a Response in Patients With HBeAg-Positive Chronic Hepatitis B [J]. J Infect Dis, 2018, 218(7): 1066-1074.
- [20] Tsuge M, Murakami E, Imamura M, et al. Serum HBV RNA and HBeAg are useful markers for the safe discontinuation of nucleotide analogue treatments in chronic hepatitis B patients [J]. J Gastroenterol, 2013, 48(10): 1188-1204.
- [21] Seto WK, Wong DK, Fung J, et al. Linearized hepatitis B surface antigen and hepatitis B core-related antigen in the natural history of chronic hepatitis B [J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(11): 1173-1180.
- [22] Maasoumy B, Wiegand SB, Jaroszewicz J, et al. Hepatitis B core-related antigen (HBcrAg) levels in the natural history of hepatitis B virus infection in a large European cohort predominantly infected with genotypes A and D [J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21(6): 606, e1-10.
- [23] Ma H, Yang RF, Li XH, et al. HBcrAg Identifies Patients Failing to Achieve HBeAg Seroconversion Treated with Pegylated Interferon Alfa-2b [J]. Chin Med J (Engl), 2016, 129(18): 2212-2219.
- [24] Sonneveld MJ, van Oord GW, van Campenhout MJ, et al. Relationship between hepatitis B core-related antigen levels and sustained HBeAg seroconversion in patients treated with nucleos(t)ide analogues [J]. J Viral Hepat, 2019, 26(7): 828-834.
- [25] Jung KS, Park JY, Chon YE, et al. Clinical outcomes and predictors for relapse after cessation of oral antiviral treatment in chronic hepatitis B patients [J]. J Gastroenterol, 2016, 51(8): 830-839.
- [26] Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, et al. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B [J]. Hepatol Res, 2012, 42(2): 139-149.
- [27] Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society of Hepatology. JSH Guidelines for the Management of Hepatitis B Virus Infection [J]. Hepatol Res, 2014, 44 Suppl S1: 1-58.
- [28] Baudi I, Inoue T, Tanaka Y. Novel Biomarkers of Hepatitis B and Hepatocellular Carcinoma: Clinical Significance of HBcrAg and M2BPGI [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 949.
- [29] Tada T, Kumada T, Toyoda H, et al. HBcrAg predicts hepatocellular carcinoma development: An analysis using time-dependent receiver operating characteristics [J]. J Hepatol, 2016, 65(1): 48-56.
- [30] Honda M, Shirasaki T, Terashima T, et al. Hepatitis B Virus (HBV) Core-Related Antigen During Nucleos(t)ide Analog Therapy Is Related to Intra-hepatic HBV Replication and Development of Hepatocellular Carcinoma [J]. J Infect Dis, 2016, 213(7): 1096-1106.
- [31] Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, et al. HBcrAg is a predictor of post-treatment recurrence of hepatocellular carcinoma during Antivir Ther [J]. Liver Int, 2010, 30(10): 1461-1470.

(收稿时间: 2020-05-26)

(本文编辑: 余晓曼)