

doi:10.11816/cn.ni.2024-231837



· 论 著 ·

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

# 慢性 HBV 感染者 HBV RNA 与乙肝病毒学标志物及肝功能指标的相关性

张晓晶, 华乐, 金巧菲, 王琛, 刘寿荣

(浙江中医药大学附属杭州市西溪医院肝病科, 浙江 杭州 310023)

**摘要:** **目的** 探讨慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染者的疾病自然进程中血清 HBV RNA 与乙肝病毒学标志物及肝功能炎症指标的相关性。**方法** 选取 2022 年 6 月—2023 年 6 月于浙江中医药大学附属杭州市西溪医院门诊及住院部就诊的慢性 HBV 感染者 221 例,均未经抗病毒治疗,包括乙肝 E 抗原(HBeAg)阳性的患者 168 例和 HBeAg 阴性患者 53 例,通过检测血清 HBV RNA 定量,观察其不同疾病自然进程中的变化,并分析其与 HBV DNA、乙肝表面抗原(HBsAg)、HBeAg、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、谷酰转氨酶(GGT)的相关性。**结果** HBeAg 阳性患者 HBV RNA、HBV DNA、HBsAg、HBeAg、ALT、AST、GGT 均高于 HBeAg 阴性患者,但 HBeAg 阳性组白蛋白水平低于 HBeAg 阴性组( $P < 0.05$ );HBeAg 阳性组中,血清 HBV RNA 与 HBV DNA( $r = 0.710$ )、HBsAg( $r = 0.526$ )、HBeAg( $r = 0.373$ )呈正相关;在 HBeAg 阴性组中,血清 HBV RNA 与 HBV DNA( $r = 0.843$ )、HBsAg( $r = 0.566$ )、ALT( $r = 0.610$ )、AST( $r = 0.626$ )、GGT( $r = 0.464$ )呈正相关。**结论** 血清 HBV RNA 与 HBV DNA、HBsAg 具有相关性,且在 HBeAg 阳性和 HBeAg 阴性患者中均存在;血清 HBV RNA 与 ALT、AST、GGT 具有中等程度的相关性,但这种相关性只在 HBeAg 阴性患者中存在。患者的抗 HBV 免疫应答可通过清除感染肝细胞来有效地抑制 HBV 的复制,而患者的免疫应答则更多的与肝组织的炎症损伤有关。

**关键词:** 慢性乙型肝炎; HBV RNA; HBV DNA; 乙肝表面抗原; 免疫应答

中图分类号: R512.6<sup>+</sup>2 文献标识码: A 文章编号: 1005-4529(2024)11-1616-05

## Correlation of HBV RNA with hepatitis B virological markers and liver function indexes in chronic HBV-infected patients

ZHANG Xiao-jing, HUA Le, JIN Qiao-fei, WANG Chen, LIU Shou-rong

(Hangzhou Xixi Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou, Zhejiang 310023, China)

**Abstract:** **OBJECTIVE** To investigate the correlation between serum HBV RNA and hepatitis B virological markers and liver function inflammatory indexes in the natural course of disease in chronic hepatitis B virus (HBV) infected patients. **METHODS** A total of 221 patients with chronic HBV infection admitted to the outpatient department and inpatient department of Hangzhou Xixi Hospital affiliated to Zhejiang Chinese Medicine University from Jun. 2022 to Jun. 2023 were selected, and none of these patients received anti-iviral treatment, including 168 patients with HBeAg-positive and 53 patients with HBeAg-negative, and quantitative serum HBV RNA was detected to observe its changes in the natural course of different diseases, and its correlation with HBV DNA, HBsAg, HBeAg, ALT, AST and GGT was analyzed. **RESULTS** The HBV RNA, HBV DNA, HBsAg, HBeAg, ALT,

收稿日期: 2023-12-17; 修回日期: 2024-02-05

基金项目: 国家“十三五”艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治专项基金资助项目(2017ZX10302201-001)

杭州市生物医药和健康产业发展扶持科技专项基金资助项目(2021WJCY366)

通讯作者: 刘寿荣, E-mail: 44324670@qq.com

作者简介: 张晓晶(1989—), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 乙肝新型标志物

引用本文: 张晓晶, 华乐, 金巧菲, 等. 慢性 HBV 感染者 HBV RNA 与乙肝病毒学标志物及肝功能指标的相关性[J]. 中华医院感染学杂志, 2024, 34(11): 1616-1620. doi:10.11816/cn.ni.2024-231837

AST and GGT of HBeAg-positive patients were significantly higher than those of HBeAg-negative patients, while the albumin level of HBeAg-positive group was lower than that of HBeAg-negative group ( $P < 0.05$ ). Serum HBV RNA was positively correlated with HBV DNA ( $r = 0.710$ ), HBsAg ( $r = 0.526$ ) and HBeAg ( $r = 0.373$ ) in the HBeAg positive group. In HBeAg negative group, serum HBV RNA was positively correlated with HBV DNA ( $r = 0.843$ ), HBsAg ( $r = 0.566$ ), ALT ( $r = 0.610$ ), AST ( $r = 0.626$ ), and GGT ( $r = 0.464$ ). **CONCLUSION** Serum HBV RNA was strongly and moderately correlated with HBV DNA and HBsAg, which was presented in both HBeAg-positive and HBeAg-negative patients. Serum HBV RNA was moderately correlated with ALT, AST and GGT, but this correlation was only presented in HBeAg-negative patients. The patient's anti-HBV immune response could effectively inhibit HBV replication by clearing the infected hepatocytes, whereas the patient's immune response was more related to the inflammatory damage of the liver tissue.

**Key words:** Chronic hepatitis B; HBV RNA; HBV DNA; Hepatitis B surface antigen; Immune response

慢性乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染疾病进展是病毒与宿主免疫互相博弈的结果,但临床上由于缺乏简便、可靠的宿主抗 HBV 特异性免疫评价指标,因此人们至今对宿主免疫因素在慢性 HBV 感染疾病进程中的动态变化及其在疾病进展分期中的作用仍缺乏了解。乙肝三系、HBV DNA 是确定乙型病毒性肝炎的传统、重要方法,在疾病进展分期中也起到一定的作用,但在评估预测血清学转换、抗病毒疗效及预后等方面具有一定的局限。血清 HBV RNA 是共价闭合环状 DNA(Covalently closed circular DNA, cccDNA)的直接转录体,能精确地反映肝细胞中 cccDNA 的存在状态,是近几年研究的热点<sup>[1-3]</sup>。HBV RNA 将为慢性乙型肝炎(Chronic hepatitis B, CHB)患者体内病毒复制的状态、疾病进展分期及其治疗效能及预后提供更直接的证据<sup>[4]</sup>。本研究为回顾性研究,是对慢性 HBV 感染者血清 HBV RNA 在不同乙型肝炎 e 抗原(Hepatitis Be antigen, HBeAg)状态下的感染特征以及与乙肝病毒学标志物及肝功能炎症指标之间的相关性进行分析,为临床诊治提供参考。

## 1 对象与方法

**1.1 对象** 选取浙江中医药大学附属杭州市西溪医院 2022 年 6 月至 2023 年 6 月门诊及住院部收治的慢性 HBV 感染且未经抗 HBV 治疗的 221 例患者的临床资料,其中包括 HBeAg 阳性患者 168 例以及 HBeAg 阴性患者 53 例。本研究获得浙江中医药大学附属杭州市西溪医院伦理委员会批准[批件号:2022 年(科)伦审第 19 号]。

**1.2 病例定义** 纳入标准:诊断符合 2022 年中华医学会肝病学会分会制定的《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[5]</sup>。HBeAg 阳性组患者包括指南中的 HBeAg 阳性 HBV 感染者和 HBeAg 阳性 CHB; HBeAg 阴性组患者包括 HBeAg 阴性慢性 HBV 感染者和

HBeAg 阴性 CHB;均签署知情同意书。排除标准:合并药物性肝损伤、自身免疫性肝病、其他病毒性肝炎以及酒精性或非酒精性脂肪肝等其他肝脏疾病;合并肝癌及其他器官肿瘤患者;合并肝硬化及有严重心肺肾及糖尿病等患者;妊娠期及哺乳期妇女。

### 1.3 方法

**1.3.1 资料收集** 收集患者的年龄、性别等一般资料及 HBV 血清病毒学标志物和肝功能指标等。

**1.3.2 实验室检测** 常规消毒,抽取患者 12 ml 血液,进行以下项目检测,于 2~5 °C 冰箱保存一周后销毁。乙肝表面抗原(Hepatitis B surface antigen, HBsAg)、HBeAg 采用 Alinityi 全自动化学发光免疫分析仪(美国雅培)检测,HBsAg 定量检测下限为 0.05 IU/ml, HBeAg 定量检测下限为 1 S/CO。采用乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒(湖南圣湘生物科技有限公司),在 ABI7500 荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems 公司)上采用实时荧光定量聚合酶链式反应法检测血清 HBV DNA 水平,HBV DNA < 30IU/ml 为阴性。采用 Beckman Coulter AU5831 全自动生化分析仪及其试剂(德国贝克曼)检测血清丙氨酸转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(Aspartate aminotransferase, AST)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(Gamma-glutamyltransferase, GGT)和白蛋白(Albumin, Ab)等,ALT 正常范围为 9~50 U/L, AST 正常范围为 15~40 U/L, GGT 正常范围为 10~60 U/L, Ab 正常范围为 40~55 g/L。采用乙型肝炎病毒核酸测定的试剂盒(上海仁度生物科技股份有限公司,国械注准 20213400174)检测血清 HBV RNA,使用 RNA 捕获探针法,本检测主要分为核酸捕获以及实时荧光核酸恒温扩增检测。HBV RNA < 50 拷贝/ml 为阴性。

**1.4 统计分析** 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用  $t$  检验;非正态分布的计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,采

用秩和检验;计数资料以例数或百分比表示,采用  $\chi^2$  检验;HBV RNA、HBV DNA、HBsAg、HBeAg 均值采用 lg 对数值表示,两变量间相关性分析采用 Pearson 相关分析; $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者基本情况 HBV RNA 在 HBeAg 阳性组

表 1 221 例未经治疗的慢性 HBV 感染者临床资料及各项指标的检测结果

Table 1 Clinical data and detection results of various indicators of 221 untreated chronic HBV infected individuals

临床资料	HBeAg 阳性组 (n=168)	HBeAg 阴性组 (n=53)	统计量	P 值
性别(例)				
男	105	34	0.047	0.829
女	63	19		
年龄(岁)	35.95±11.95	46.96±10.89	-5.972	<0.001
检出 HBV RNA(例)	168	42	13.609	<0.001
检出 HBV DNA(例)	168	44	11.775	<0.001
HBV RNA(IgU/ml)	7.13(6.14,7.70)	2.48(2.00,3.65)	16.722	<0.001
HBV DNA(IgIU/ml)	7.45(6.76,7.94)	3.57(2.10,5.10)	13.330	<0.001
qHBsAg(IgIU/ml)	4.02(3.57,4.50)	2.72(1.81,3.19)	8.266	<0.001
HBeAg(IgS/CO)	2.82(2.11,3.10)	—	—	—
ALT 异常(例)	133	17	-0.914	0.362
AST 异常(例)	136	19	-0.173	0.863
GGT 异常(例)	86	9	0.976	0.331
ALT(U/L)	209.50(57.25,456.75)	28.00(18.00,101.50)	2.269	0.024
AST(U/L)	113.00(50.00,249.50)	30.00(22.00,81.50)	2.237	0.026
GGT(U/L)	61.00(29.25,121.00)	24.00(17.50,42.50)	5.550	<0.001
Ab(g/L)	39.30(35.75,42.28)	43.40(39.15,45.10)	-4.213	<0.001

2.2 不同 HBeAg 状态下慢性 HBV 感染者的血清 HBV RNA 与病毒学标志物及肝功能指标的相关性分析 在 HBeAg 阳性组中,血清 HBV RNA 与 HBV DNA ( $r = 0.710, P < 0.001$ )、HBsAg ( $r = 0.526, P < 0.001$ )、HBeAg ( $r = 0.373, P < 0.001$ ) 均具有不同程度的正相关,见图 1;在 HBeAg 阴性组

中检出率为 100.00%,在 HBeAg 阴性组中检出率为 79.25%。两组患者在性别方面比较,差异无统计学意义( $P = 0.829$ )。HBeAg 阳性组患者的年龄小于 HBeAg 阴性组 ( $t = -5.972, P < 0.001$ )。HBeAg 阳性组患者的 ALT、AST 和 GGT 水平均高于 HBeAg 阴性组,Ab 水平均低于 HBeAg 阴性组( $P < 0.05$ ),见表 1。

中,剔除 11 例未检出血清 HBV RNA 患者,共纳入 42 例患者,这些患者血清 HBV RNA 与 HBV DNA ( $r = 0.843, P < 0.001$ )、HBsAg ( $r = 0.566, P < 0.001$ )、ALT( $r = 0.610, P < 0.001$ )、AST( $r = 0.626, P < 0.001$ )、GGT( $r = 0.464, P < 0.001$ ) 具有较强及中等程度的正相关,见图 2。

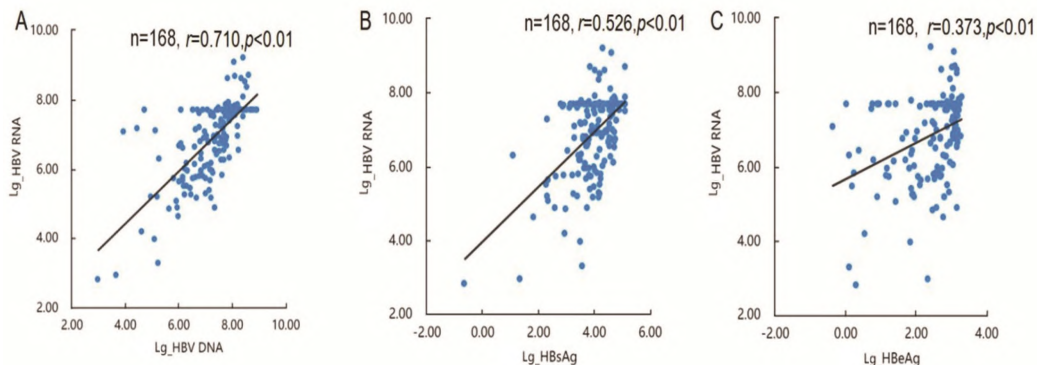


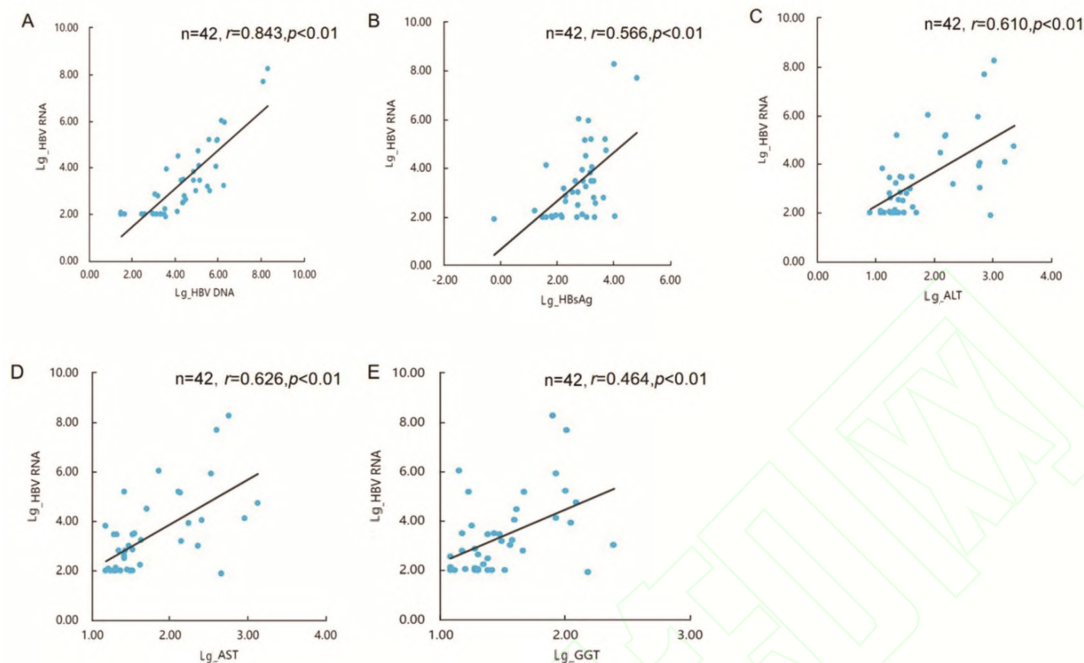
图 1 血清 HBV RNA 与病毒学标志物的相关性分析(HBeAg 阳性组)

Figure 1 Correlation analysis between serum HBV RNA and virological markers (HBeAg positive group)

## 3 讨论

CHB 患者治疗结束时较低的 HBV RNA 水平

与停药后获得持续的应答和 HBsAg 清除显著相关<sup>[6-7]</sup>。鲁凤民等<sup>[8]</sup>证实了血清 HBV RNA 的水平能反映cccDNA 的转录活性和存在水平,相较于传



注:因 HBeAg 阴性组患者中有 11 例患者 HBV RNA 阴性,故予去除。

图 2 血清 HBV RNA 与病毒学标志物及肝脏炎症指标的相关性分析(HBeAg 阴性组)

Figure 2 Correlation analysis of serum HBV RNA with virological markers and liver inflammation indicators (HBeAg negative group)

统的血清学标志物,血清 HBV RNA 水平可以更好地反映肝内病毒转录活性,故其能作为慢性 HBV 感染者管理的新型血清学标志物<sup>[9-10]</sup>。

CHB 是一种具有不同阶段的动态感染,其反映了 HBV 与机体宿主之间复杂的免疫相互作用过程<sup>[11-12]</sup>。一方面宿主的抗 HBV 特异性免疫可通过清除感染的肝细胞来控制感染;另一方面,病毒可通过持续表达过量的 HBV 来削弱和耗竭宿主的特异性抗病毒的细胞免疫,使之不能有效地清除感染肝细胞<sup>[13]</sup>。在临床上,HBeAg 的阴转往往代表了 CHB 感染的部分免疫控制。本研究也表明了 HBeAg 阳性组患者的血清 HBV RNA 水平比 HBeAg 阴性组高。HBV RNA 有区分 HBV 不同感染阶段的潜力,Liu 等<sup>[14]</sup>研究发现在慢性 HBV 感染的自然过程中血清 HBV RNA 水平不断变化,在不同时期 HBV 病毒表现出不同的复制水平,在 HBeAg 阳性 HBV 感染者中最高,在 HBeAg 阴性 HBV 感染者中最低,与 HBeAg 阳性患者相比,HBeAg 阴性的患者血清 HBV RNA 明显降低,且在 HBeAg 阴性的患者中,HBV RNA 的升高对鉴别 HBeAg 阴性 CHB 和 HBV 感染者比 HBV DNA 联合 HBsAg 更具优势;Wang 等<sup>[15]</sup>研究通过进一步分析 HBeAg 阳性 CHB 和 HBeAg 阴性 CHB 的

HBV RNA 的组成和水平,发现导致这两组人群差异主要来自于宿主的免疫因素,而不是病毒复制情况。

本研究提示血清 HBV RNA 与肝功能指标的相关性只在 HBeAg 阴性患者中存在,而血清 HBV RNA 与 HBV DNA、HBsAg 具有较强及中等程度的相关性,这种相关性在 HBeAg 阳性及 HBeAg 阴性患者中均存在;HBeAg 阳性患者血清 HBV RNA 与 ALT、AST、GGT 不存在相关性,HBeAg 阴性患者血清 HBV RNA 与 ALT、AST、GGT 均具有中等程度的相关性,本研究结果与既往研究<sup>[16]</sup>结果一致,可能提示了机体免疫在 HBeAg 阳性期,尤其是高病毒载量时可以通过攻击感染肝细胞来有效控制 HBV 的复制,但当 HBeAg 阴转后,人体已无法有效地抑制 HBV 的复制,且已逐渐造成了肝脏的损伤。说明患者的抗 HBV 免疫应答可以通过清除感染肝细胞来有效地抑制 HBV 的复制,而患者的免疫应答则可能更多的与肝组织的炎症损伤有关。这与 CHB 的发病机制一致,其发病主要通过 HBV 来诱导人类白细胞抗原(Human leukocyte antigen, HLA)和 T 淋巴细胞双识别的免疫损伤,和机体对 HBV 的免疫反应有关,而不是 HBV 的直接损伤<sup>[17-18]</sup>。随着年龄的增长,患者针对 HBV 的功能



性特异性免疫细胞数量下降、免疫耗竭分子的表达升高<sup>[19-21]</sup>。本研究结果表明在 HBeAg 阳性组中,病毒学标志物及肝功能指标水平均显著高于 HBeAg 阴性组,但白蛋白水平低于 HBeAg 阴性组。这提示患者在 HBeAg 阳性转为 HBeAg 阴性的过程中,可能是宿主的抗 HBV 免疫在清除感染、控制 HBV 的复制,导致血清病毒学指标及肝功能炎症指标均下降,但可能同时会带来患者肝组织的病理损伤,故刺激反映肝脏合成功能的血清白蛋白合成增多<sup>[22]</sup>。处于“免疫耐受期”的 CHB 患者体内就已经存在 HBV 特异性的细胞免疫反应,而且进入“免疫清除期”的成人 CHB 患者其体内炎症相关细胞及炎症因子的水平也会更高<sup>[23]</sup>。此时患者肝组织内广泛存在着感染乙肝病毒的肝细胞,无论是特异性免疫的细胞杀伤作用还是炎症带来的非特异性细胞杀伤作用,均会带来 HBV DNA 水平的下降。这支持了本研究中 HBeAg 阳性组患者的炎症相关指标与病毒载量间负相关关系的结果。对慢性 HBV 感染者进行 HBV RNA、乙肝病毒学标志物、肝功能的检测可从不同层面反映乙肝病毒感染状况和复制情况,对 CHB 的诊疗具有很重要的指导价值。

**利益冲突:**所有作者声明均不存在利益冲突。

## 参考文献

- [1] Liu S, Zhou B, Valdes JD, *et al.* Serum hepatitis B virus RNA: a new potential biomarker for chronic hepatitis B virus infection[J]. *Hepatology*, 2019, 69(4): 1816-1827.
- [2] Wang J, Shen T, Huang XB, *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.
- [3] Hong XP, Hu JM. Serum HBV RNA composition dynamics as a marker for intrahepatic HBV cccDNA turnover[J]. *J Med Virol*, 2020, 92(8): 935-937.
- [4] Wang J, Du M, Huang HX, *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.
- [5] 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(2022年版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2022, 30(12): 1309-1331.
- [6] Fan R, Peng J, Xie Q, *et al.* Combining hepatitis B virus RNA and hepatitis B core-related antigen: guidance for safely stopping nucleos(t)ide analogues in hepatitis B e antigen-positive patients with chronic hepatitis B[J]. *J Infect Dis*, 2020, 222(4): 611-618.
- [7] Seto WK, Liu KS, Mak LY, *et al.* Role of serum HBV RNA and hepatitis B surface antigen levels in identifying Asian patients with chronic hepatitis B suitable for entecavir cessation[J]. *Gut*, 2021, 70(4): 775-783.
- [8] 鲁凤民, 王杰, 庄辉. HBV RNA 病毒样颗粒的潜在临床意义[J]. *中华肝脏病杂志*, 2016, 24(9): 641-642.
- [9] Giersch K, Allweiss L, Volz T, *et al.* Serum HBV pgRNA as a clinical marker for cccDNA activity[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(2): 460-462.
- [10] Wang XM, Chi XM, Wu RH, *et al.* Serum HBV RNA correlated with intrahepatic cccDNA more strongly than other HBV markers during peg-interferon treatment[J]. *Virol J*, 2021, 18(1): 4.
- [11] Zhang C, Li JS, Cheng YQ, *et al.* Single-cell RNA sequencing reveals intrahepatic and peripheral immune characteristics related to disease phases in HBV-infected patients[J]. *Gut*, 2023, 72(1): 153-167.
- [12] Wang WT, Zhao XQ, Li GP, *et al.* Immune response pattern varies with the natural history of chronic hepatitis B[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(16): 1950-1963.
- [13] 王雷姝, 曾婉嘉, 李德瑶, 等. 乙型肝炎病毒蛋白对宿主免疫的影响及其临床意义[J]. *中华肝脏病杂志*, 2021, 29(7): 625-630.
- [14] Liu YY, Jiang M, Xue JY, *et al.* Serum HBV RNA quantification: useful for monitoring natural history of chronic hepatitis B infection[J]. *BMC Gastroenterol*, 2019, 19(1): 53.
- [15] 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.
- [16] 邢同京, 赵坤宇, 李文涛, 等. 慢性 HBV 感染者病毒 DNA 水平与患者肝组织炎症损伤程度的相关性研究[J]. *中华肝脏病杂志*, 2023, 31(9): 954-960.
- [17] 张定凤. 乙型肝炎的发病机理及临床[M]. 重庆: 重庆出版社, 1992: 123-125.
- [18] Zhang Z, Zhang J-Y, Wang L-F, *et al.* Immunopathogenesis and prognostic immune markers of chronic hepatitis B virus infection[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 27: 223-230.
- [19] Kennedy PTF, Sandalova E, Jo J, *et al.* Preserved T-cell function in children and young adults with immune-tolerant chronic hepatitis B[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(3): 637-645.
- [20] Montanari NR, Ramirez R, Aggarwal A, *et al.* Multi-parametric analysis of human livers reveals variation in intrahepatic inflammation across phases of chronic hepatitis B infection[J]. *J Hepatol*, 2022, 77(2): 332-343.
- [21] Pallett LJ, Burton AR, Amin OE, *et al.* Longevity and replenishment of human liver-resident memory T cells and mononuclear phagocytes[J]. *J Exp Med*, 2020, 217(9): e20200050.
- [22] Uchida T, Imamura M, Hayes CN, *et al.* HBV with precore and basal core promoter mutations exhibits a high replication phenotype and causes ER stress-mediated cell death in humanized liver chimeric mice[J]. *Hepatology*, 2023, 78(3): 929-942.
- [23] Bertoletti A, Kennedy PT. The immune tolerant phase of chronic HBV infection: new perspectives on an old concept[J]. *Cell Mol Immunol*, 2015, 12(3): 258-263.