

- 2 Webster NR, Galley HF. Immunomodulation in the critically ill[J]. Br J Anaesth, 2009, 103(1): 70-81
 - 3 Kurosawa S, Kato M. Anesthetics, immune cells, and immune responses[J]. J Anesth, 2008, 22(3): 263-277
 - 4 Huang Y, Lu Y, Zhang L, et al. Perineural dexmedetomidine attenuates inflammation in rat sciatic nerve via the NF- κ B pathway[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(3): 4049-4059
 - 5 Kuhn EW, Choi YH, Schfinherr M, et al. Intraoperative stress in cardiac surgery: attendings versus residents[J]. J Surg Res, 2013, 182(2): e43-49
 - 6 Mahle WT, Matthews E, Kanter KR, et al. Inflammatory response after neonatal cardiac surgery and its relationship to clinical outcomes[J]. Ann Thorac Surg, 2014, 97(3): 950-956
 - 7 Qiao H, Sanders RD, Ma D, et al. Sedation improves early outcome in severely septic Sprague Dawley rats[J]. Crit Care, 2009, 13(4): R136
 - 8 Hofer S, Steppan J, Wagner T, et al. Central sympatholytics prolong survival in experimental sepsis[J]. Crit Care, 2009, 13(1): R11
 - 9 Chen C, Zhang Z, Chen K, et al. Dexmedetomidine regulates inflammatory molecules contributing to ventilator-induced lung injury in dogs [J]. J Surg Res, 2014, 187(1): 211-218
 - 10 Kang SH, Kim YS, Hong TH, et al. Effects of dexmedetomidine on inflammatory responses in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy[J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2013, 57(4): 480-487
 - 11 Dieckmann D, Plottner H, Berchtold S, et al. Ex vivo isolation and characterization of CD4⁺ CD25⁺ T cells with regulatory properties from human blood[J]. J Exp Med, 2001, 193(11): 1303-1310
 - 12 Lin W, Amy L. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4⁺ T reg cells[J]. J Exp Med, 2006, 203(7): 1701-1711
 - 13 Korn T. Which type of inflammation can be controlled by Foxp3 + Tregs? [J]. Acta Neuropathol, 2013, 126(4): 523-524
 - 14 Li Y, Zheng SG. The secret of FOXP3 downregulation in the inflammation condition[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2012, 5(7): 624-625
 - 15 CSU W, Land Q, Chen M, et al. Adoptive transfer of induced - Treg cells effectively attenuates murine airway allergic inflammation[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e40314
- (收稿日期: 2014-04-04)
(修回日期: 2014-04-12)

慢性乙型肝炎患者血清定量 HBsAg 与 HBV-DNA 及肝功能指标间相关性的分析

蔡文品 朱丰村 赵 春

摘 要 目的 探讨慢性乙型肝炎患者血清 HBsAg 定量检测结果分布状况及其与 HBV-DNA 和肝功能指标的相关性。**方法** 选取 177 例 HBV-DNA 阳性的慢性乙型肝炎患者, 分为乙型肝炎病毒 e 抗原 (HBeAg) 阳性组 115 例、HBeAg 阴性组 62 例, 电化学发光免疫分析法 (ECLIA) 定量检测 HBsAg 含量, 实时荧光定量 PCR 法 (FQ-PCR) 检测 HBV-DNA, 贝克曼 AU6800 全自动生化分析仪连续监测法检测肝功能指标 (ALT、AST、ALP、 γ -GT)。统计分析组间 HBsAg 与 HBV-DNA 含量的差异性, 各组内血清 HBsAg 与 HBV-DNA 及肝功能指标间的相关性。**结果** 数据以中位数与四分位数表示, HBeAg 阳性组与阴性组中 HBsAg 与 HBV-DNA 含量 (对数转换后表示) 分别为 4678.5IU/ml (2806, 6128.7)、2770.0IU/ml (1228, 5440); 5.56 (3.86, 7.54)、3.66 (3.16, 4.59), 存在统计学差异 ($P < 0.05$)。HBeAg 阳性组中 HBsAg 与 HBV-DNA 总体存在相关性 ($r = 0.537, P < 0.01$), 在 HBV-DNA 处于 $10^3 \sim 10^5$ 、 $10^5 \sim 10^7$ 、 $> 10^7$ IU/ml 复制量时两者相关系数分别为 0.205、0.443、0.712 (P 均 < 0.05)。HBeAg 阴性组 HBsAg 与 HBV-DNA 间相关系数为 0.22, $P = 0.083$; 在 HBV-DNA $\leq 10^4$ IU/ml 与 $> 10^4$ IU/ml 复制量时两者相关系数分别为 0.03 和 0.08; 在 ALT、AST 升高与正常时两者相关系数分别为 0.23 和 0.17。两组定量 HBsAg 与主要肝功能指标 ALT、AST、ALP、 γ -GT 均不存在相关性。**结论** HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者血清 HBsAg 含量可反映 HBV-DNA 复制程度, 可辅助衡量肝脏炎症状况。

关键词 定量 HBsAg HBV-DNA 相关性 慢性乙型肝炎 乙型肝炎病毒 e 抗原
[中图分类号] R8 [文献标识码] A

Correlations between Quantitative HBsAg and HBV-DNA, and Liver Function Markers in the Chronical Hepatitis B. Cai Wenpin, Zhu Fengcun, Zhao Chun, The Laboratory Department of Wenzhou Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhejiang 325000, China

基金项目: 温州市科技局科技计划项目 (Y20120271)

作者单位: 325000 温州市中医院检验科

通讯作者: 蔡文品, 电子信箱: cwp1820@163.com

Abstract Objective To observe the distribution of the serum quantitative HBsAg (qHBsAg) and the correlations with HBV - DNA, liver function markers (including ALT, AST, ALP, γ - GT) in the chronic hepatitis B. **Methods** Totally 177 hepatitis B patients with positive HBV - DNA were divided into HBeAg positive (HBeAg +) group and HBeAg negative (HBeAg -) group, with 115 and 62 respectively. The qHBsAg, HBV - DNA and liver function markers were detected by electrochemiluminescence assay (ECLIA), FQ - PCR, continuous monitoring method respectively. The difference of qHBsAg and HBV - DNA in the two groups and the correlations between qHBsAg and HBV - DNA, liver function markers were statistically analyzed. **Results** The data were showed by medium and four fraction. qHBsAg and HBV - DNA (transformed logarithmic 10) were 4678.5 IU/ml (2806, 6128.7), 2770.0 IU/ml (1228, 5440); 5.56 (3.86, 7.54), 3.66 (3.16, 4.59), respectively in the HBeAg + and HBeAg - group, and there was significant difference between two groups. For all HBeAg + patients the correlation between qHBsAg and HBV - DNA was positive, $r = 0.537$ ($P < 0.01$). When the HBV - DNA were $10^3 - 10^5$ IU/ml, $10^5 - 10^7$ IU/ml, $> 10^7$ IU/ml, the coefficient of correlation were 0.205 ($P < 0.05$), 0.443 ($P < 0.05$), 0.712 ($P < 0.05$) respectively. For all HBeAg - patients the coefficient of correlation between qHBsAg and HBV - DNA was 0.22 ($P = 0.083$). When the HBV - DNA were $\leq 10^4$ IU/ml and $> 10^4$ IU/ml, the coefficient of correlation between qHBsAg and HBV - DNA were 0.03 and 0.08. The correlations between qHBsAg and liver function markers were not significant in the two groups. **Conclusion** qHBsAg detection can reflect the duplicate of HBV - DNA in the HBeAg + chronic hepatitis B, and can assistly judge liver inflammation.

Key words Quantitative HBsAg; HBV - DNA; Correlation; Chronic hepatitis B; HBeAg

近年来乙肝两对半的定量检测分析在临床得到广泛的开展,其中 HBsAg 临床意义的相关研究最为热门,慢性乙型肝炎患者血清 HBsAg 含量与 HBV - DNA 相关性的研究是其中重要的内容,目前国内外的研究得出的结果并不一致,在众多研究中存在较为突出的问题是研究对象选择比较混乱而且没有将 HBeAg 阳性与阴性患者分组进行统计分析,此外不以 HBV - DNA 不同复制程度进行分组研究^[1-5]。为此本研究以 HBeAg 状态来分组,通过 HBsAg 含量与 HBV - DNA 及肝功能指标的相关性研究明确血清 HBsAg 含量在监测慢性乙型肝炎病情时的价值,为建立个体化医疗提供一定的实验基础。

材料与方法

1. 标本来源:以中华医学会肝病学会与中华医学会感染病学分会制定的 2010 年版《慢性乙型肝炎防治指南》^[6] 为诊断标准。收集笔者医院 2012 年 10 月 ~ 2013 年 6 月间慢性乙型肝炎患者 177 例,其中住院患者 79 例,门诊患者 98 例,所有病例分为 HBeAg 阳性组与 HBeAg 阴性组。阳性组 115 例,男性 72 例,女性 43 例,年龄中位数 30 岁,乙型肝炎血清学模式为 HBsAg + HBeAg + HBeAb + (大三阳) 96 例,HBsAg + HBeAg + 19 例;阴性组 62 例,其中男性 38 例,女性 24 例,年龄中位数 38.5 岁,乙型肝炎血清学模式为 HBsAg + HBeAb + HBeAb + (小三阳) 39 例,HBsAg + HBeAb + 23 例。所有纳入研究的患者经温州市中医院伦理委员会审核,家属均签字知情同意。

2. 相关指标检测方法:(1) 定量 HBsAg 采用电化学发光免疫分析法 (electrochemiluminescence assay, ECLIA) 检测;仪器为罗氏 E170 全自动电化学发光免疫分析仪,校准品、试剂以及辅助试剂与耗材均为罗氏公司配套的,所有材料均在保

质期内,保存符合要求。(2) HBV - DNA 采用实时荧光定量 PCR 法检测;仪器为 SLAN - 96P,试剂购自湖南圣湘生物科技有限公司,结果以 > 500 IU/ml 为阳性。(3) 肝功能指标的检测:丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、 γ - 谷氨酰转氨酶 (γ - GT) 采用连续监测法,仪器为贝克曼 AU6800 全自动生化分析仪,试剂由日本和光纯药株式会社提供。

3. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 软件进行分析。HBV - DNA 以对数转换后的数值来进行统计分析,由于各指标数据处于偏态分布,结果以中位数表示。组间比较采用 Mann - Whitney U 法,相关分析采用 Spearman 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

慢性乙型肝炎 117 例患者基本信息与 HBeAg 阳性组及阴性组间的比较,详见表 1。(1) HBeAg 阳性组中,HBsAg 与 lgDNA、ALT、AST、ALP、 γ - GT 的相关系数 r 与 P 值分别为 0.537、0.00;0.029、0.763;0.063、0.508;0.08、0.056;0.134、0.157。(2) HBeAg 阳性组中,HBV - DNA 在 $10^3 \sim 10^5$ 、 $10^5 \sim 10^7$ 和 $> 10^7$ IU/ml 复制量时 HBsAg 与 lgDNA 的相关系数分别为 0.205、0.443、0.712 (P 均 < 0.05)。(3) HBeAg 阴性组中,HBsAg 与年龄、lgDN、ALT、AST、ALP、 γ - GT 的相关系数 r 与 P 值分别为 0.007、0.956;0.222、0.083;0.168、0.245;0.088、0.508;0.026、0.845;0.212、0.107。(4) HBeAg 阴性组中,在 HBV - DNA $\leq 10^4$ IU/ml 与 $> 10^4$ IU/ml 复制量时 HBsAg 与 lgDNA、ALT、AST、ALP、 γ - GT 相关性,详见表 2。(5) HBeAg 阴性组中,在 ALT、AST 升高与正常时,HBsAg 与 lgDNA、ALT、AST、ALP、 γ - GT 相关性,详见表 3。

表 1 慢性乙型肝炎患者基本临床信息及 HBeAg 阳性组与阴性组间的比较

组别	<i>n</i>	男/女	年龄 (岁)	HBsAg (COI)	HBeAg (COI)	HBeAb (COI)	IgDNA	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	γ-GT (U/L)
HBeAg 阳性组	115	72/43	30.0	4678.5	559.53	2.20	5.56	47	34	83	26
HBeAg 阴性组	62	38/24	38.5	2770.0	0.45	0.15	3.66	33	28	78	32
<i>Z</i>			4.22	3.06	11.09	10.86	5.74	2.80	2.10	1.39	0.13
<i>P</i>			0.00	0.002	0.00	0.00	0.00	0.005	0.035	0.165	0.89

表 2 不同 HBV - DNA 复制量时 HBeAg 阴性患者 HBsAg 与 IgDNA 及肝功能指标的相关系数

HBV - DNA	HBsAg				
	IgDNA	ALT	AST	ALP	γ-GT
≤10 ⁴ IU/ml	0.03	0.16	0.14	0.09	0.27
>10 ⁴ IU/ml	0.08	0.24	0.07	0.08	0.32

表 3 不同 ALT、AST 水平时 HBeAg 阴性患者 HBsAg 与 IgDNA 及肝功能指标的相关性

ALT、AST	HBsAg				
	IgDNA	ALT	AST	ALP	γ-GT
正常	0.17	0.11	0.06	0.01	0.21
升高	0.23	0.31	0.48*	0.14	0.12

* *P* < 0.05

讨 论

乙型肝炎病毒表面抗原 (HBsAg) 是一种跨膜糖蛋白,是 HBV 外膜蛋白重要组成部分,是血清学检测 HBV 感染的最早诊断指标。近年来随着检测技术的发展,HBsAg 定量检测已在临床上广泛开展,其临床应用新价值得到极大的拓展。FQ - PCR 法检测 HBV - DNA 是进行临床基因诊断 HBV 感染非常有效的手段,因为该方法实际检测的是 HBV 病毒本身,能更准确、更灵敏地反映体内 HBV 复制程度。由于 FQ - PCR 检测方法对实验的设备、环境、人员都具有较高的要求,一定程度上限制了临床应用的广泛性,定量 HBsAg 检测是否具有 HBV - DNA 的替代临床价值呢?

本研究结果表明,HBeAg⁺慢性乙型肝炎患者 HBV - DNA 显著高于 HBeAg⁻慢性乙型肝炎患者,提示 HBV - DNA 与 HBeAg 有关联,不同的 HBeAg 反映的是机体免疫系统状态,与机体免疫系统对病毒控制程度密切相关;而 HBeAg⁺患者的 HBsAg 也显著高于 HBeAg⁻患者,因此在进行 HBsAg 与 HBV - DNA 相关性分析时必须将不同 HBeAg 状态的患者分开研究。一些研究认为 HBeAg 是慢性乙型肝炎患者体内免疫耐受的调节因子,HBeAg 阳性状态时机体免疫系统主要指 HBV 特异性 T 淋巴细胞及相关细胞因子

通常不对 HBV 发起免疫抑制与清除作用,具体机制尚不清楚。

本实验得到的结果表明,HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者血清定量 HBsAg 与 HBV - DNA 间存在显著的相关性,总体上相关系数达到 0.537,这与 Su 等^[3]的研究结果一致,而且对于 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎来说,HBV - DNA 复制量不同时他们的相关性不同,复制程度越高 HBsAg 与 HBV - DNA 相关性越好。在笔者的实验中 HBV - DNA > 10⁷ IU/ml 的患者两者相关性达到了 0.712,而 HBV - DNA 处于 10³ ~ 10⁵ IU/ml 复制量时相关系数只有 0.205。在 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者中 HBsAg 与 HBV - DNA 间总体上不存在相关性,与 Thompson 等^[4]研究结论不一致,他们认为在 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎 HBsAg 与 HBV - DNA 间存在较弱的相关性。笔者进一步研究表明,在不同 HBV - DNA 复制情况下 HBV - DNA ≤ 10⁴ IU/ml 与 HBV - DNA > 10⁴ IU/ml 时 HBsAg 与 HBV - DNA 间不存在相关性,相关系数分别只有 0.03 和 0.08;此外在不同转氨酶水平下既 ALT、AST 升高与正常时 HBsAg 与 HBV - DNA 间也不存在相关性,这与郑专等^[7]认为在 AST 升高的 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎血清 HBsAg 与 HBV - DNA 存在一定的正相关性不符,可能与本文所选 HBeAg 阴性标本偏少有一定关系。

理论上来说 HBsAg 的转译模板前 S1、前 se/s 基因和 HBV - DNA 的复制模板前基因组 mRNA 均源自 cccDNA,两者间应存在一定的相关性,但在笔者的实验中 e 抗原阴性慢性乙肝患者血清定量 HBsAg 与 HBV - DNA 间不存在这种关系,两者的复制程度不同步,HBV - DNA 复制的抑制并不一定导致 HBsAg 合成的抑制,可能的原因是宿主免疫对病毒复制与 HBsAg 合成通路的作用机制不同,HBV 复制需要前基因组 RNA 包入病毒核心颗粒中实现“衣壳化”,HBeAg 阴性阶段在强大免疫力的压制下,肝细胞内抑制因子优先抑制“衣壳化”过程,使病毒复制减少,而 HBsAg 的合成并不受影响。此外在 HBeAg 阴性阶

段的一定比例的病毒基因与宿主基因整合,整合的序列不是完整的基因复制模板,而病毒 S 基因仍完整存在于整合基因中,HBsAg 可以正常合成。而在 HBeAg 阳性阶段上述这两种情况不存在或者存在程度较轻。血清定量 HBsAg 与肝功能主要指标 ALT、AST、ALP、 γ -GT 相关分析中显示 HBeAg 阳性或阴性状态下均不存在相关性,只在 HBeAg 阴性患者转氨酶升高时 AST 与 HBsAg 存在较弱的正相关($r = 0.48$)。这些都说明了肝细胞中 HBV 复制程度的高低与肝细胞的严重状况并不存在直接关系,HBV 的复制并不直接造成肝细胞的损伤,而是在肝细胞免疫系统抑制病毒的过程中间接损伤了自身细胞,导致肝脏炎症性反应的发生,这在陈继梅等^[8]相关研究中得到证实。

本研究结果揭示了定量 HBsAg 在慢性乙型肝炎患者不同 HBeAg 状态下与 HBV-DNA 及主要肝功能指标间的相关性,表明在 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者血清定量 HBsAg 与 HBV-DNA 间存在较好的相关性,可反映 DNA 复制的程度,尤其是在 HBV-DNA 高水平复制时 HBsAg 含量可作为 HBV-DNA 的替代指标应用于临床,而在 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎患者中定量 HBsAg 与 HBV-DNA 间不存在的相关性。

参考文献

- 1 李文兴,李山,秦雪,等. 乙型肝炎患者 HBV-DNA 载量与肝功能及乙型肝炎病毒表面抗原定量的关系[J]. 内科,2008,3(2):164-166
- 2 方红龙,吴金明,江宏峰,等. 慢性乙型肝炎患者外周血 HBsAg 与 HBV DNA 相关性分析[J]. 实用肝脏病杂志,2011,14(2):108-109
- 3 Su TH,Hsu CS,Chen CL,*et al.* Serum hepatitis B surface antigen concentration correlates with HBV DNA level in patients with chronic hepatitis B[J]. *Antivir Ther*,2010,15:1133-1139
- 4 Thompson AJ,Nguyen T,Iser D,*et al.* Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers[J]. *Hepatology*,2010,51:1933-1944
- 5 Wiegand J,Wedemeyer H,Finger A,*et al.* A decline in hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) predicts clearance, but does not correlate with quantitative HBeAg or HBV DNA levels[J]. *Antivir Ther*,2008,13:547-554
- 6 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(2010 年版)[J]. 中国预防医学杂志,2011,12(1):1-15
- 7 郑专,杨俊杰. e 抗原阴性慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 载量与 HBsAg 以及 AST 含量关系的研究[J]. 中国卫生检验杂志,2011,21(10):2474-2475
- 8 陈继梅,吕亮,丁雪芳. 慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 载量与肝功能指标关系的研究[J]. 中华全科医学,2012,10(4):457-460
(收稿日期:2014-03-11)
(修回日期:2014-04-16)

人合体滋养细胞微粒对孕鼠血管内皮的影响

顾航超 陈 宇 黄亚娟

摘 要 **目的** 研究人合体滋养细胞微粒(syncytiotrophoblast microparticles,STBM)对 SD 孕鼠血管内皮的影响,从而探讨子痫前期可能的发病机制。**方法** 选取 2013 年 8~10 月在上海交通大学附属第六人民医院住院行选择性剖宫产的 10 例子痫前期患者的胎盘,采用机械打碎法体外制备合体滋养细胞微粒。将孕鼠随机分为两组,于孕 7.5、10.5 及 13.5 天分别经尾静脉注入合体滋养细胞微粒及生理盐水,自孕 10.5 天起隔日大鼠无创血压测量分析系统测量血压,并于 17.5 天取血检测血中一氧化氮(nitric oxide,NO)及内皮素(endotelin,ET)含量。**结果** 实验组孕鼠于 10.5 天起血压逐渐增高,而对照组血压无明显改变。同时实验组孕鼠血一氧化氮水平($47.256 \pm 6.708 \mu\text{mol/L}$)明显低于对照组($61.287 \pm 9.725 \mu\text{mol/L}$)($P < 0.01$),而内皮素水平($91.209 \pm 16.918 \text{ng/L}$)明显高于对照组($56.624 \pm 9.337 \text{ng/L}$)($P < 0.01$)。**结论** STBM 可以损伤孕鼠血管内皮,使其调节血管舒缩功能受损,从而导致孕鼠血压升高,提示其可能是子痫前期内皮细胞功能紊乱的原因。

关键词 人合体滋养细胞微粒 子痫前期 孕鼠 血管内皮

[中图分类号] R714 [文献标识码] A

Human Syncytiotrophoblast Microparticles Induce the Dysfunction of Endothelial Cells in Pregnant Rat. Gu Hangchao, Chen Yu, Huang

作者单位:200233 上海交通大学附属第六人民医院

通讯作者:黄亚娟,硕士生导师,主任医师,电子信箱:huangyajuan2006@163.com