

- [9] 赵仁云,郑竹宏,丁玉婷,等.栀子厚朴汤对失眠模型小鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响[J].国际药学研究杂志,2018,45(6):436-442.
- [10] 邢佳,董斐,张迎,等.慢性失眠症诊断与团体心理行为治疗的研究进展[J].中国全科医学,2019,22(30):3762-3767.
- [11] LIN-STEPHENS S. Visual stimuli in narrative-based interventions for adult anxiety: a systematic review[J]. Anxiety Stress Coping, 2020,33(3):281-298.
- [12] DENG W, HU D, XU S, et al. The efficacy of virtual reality exposure therapy for PTSD symptoms: A systematic review and meta-analysis[J]. Journal of Affective Disorders, 2019, 257:698-709.
- [13] DELLAZZO L, STEPHANE P, BAHIG S, et al. Comprehensive review on virtual reality for the treatment of violence: Implications for youth with schizophrenia[J]. NPJ Schizophr, 2019, 5(1):11.
- [14] FANG Q, AIKEN C A, FANG C, et al. Effects of exergaming on physical and cognitive functions in individuals with autism spectrum disorder: A systematic review[J]. Games Health J, 2019,8(2):74-84.
- [15] ZHONG W G, XIN D, LI J W, et al. Virtual reality hypnosis improves sleep quality of first-line medical staff responding to COVID-19[J]. Journal of Translational Science, 2021,7(2):1-4.
- [16] 徐鸥,齐培,祝绮莎.认知行为疗法联合虚拟现实技术治疗青少年失眠症患者的效果研究[J].中国全科医学,2022,25(11):1378-1382.

收稿日期:2024-01-15

(本文编辑:吴迪汉)

乙型肝炎病毒感染患者 HBV pgRNA 变化及其影响因素分析

胡兰兰,左中宝,张晓晶,武瑞,武静,刘寿荣,徐爱芳

【关键词】 慢性乙型肝炎;慢性乙型肝炎前基因组 RNA;乙肝 E 抗原

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.05.025

【中图分类号】 R512.6² 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)05-0648-03

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染导致的慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是一个全球重大公共卫生问题^[1]。HBV 感染患者发生肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的风险大大增加^[2]。肝细胞中的 HBV 共价环状闭合 DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)作为 HBV RNA 编码的最重要模板,不仅是病毒复制的开始,也是持续感染和复发的关键因素。目前的治疗方法对 cccDNA 的影响较小,且 cccDNA 的长期存在是 HBV 难以被治愈的重要原因^[3]。cccDNA 水平是抗病毒治疗的最佳预后指标^[4],但 cccDNA 在肝组织分布不均以及侵入性检查的危害性,其在临床应用上一直受限^[5]。HBV 前基因组 RNA(pregenomic RNA, pgRNA)不仅是 cccDNA 的直接转录产物,而且可以编码 HBV 聚合酶,将 pgRNA 转化为 rcDNA,然后修复 rcDNA 以形成 HBV cccDNA。HBV pgRNA 的逆转录过程被抑制后,血清中的 HBV DNA 水平下降,而 cccDNA 水平下降较少。低于检

测下限的 HBV DNA 仅仅表明逆转录过程受到抑制,而 cccDNA 可能仍然表达^[6]。理论上,一旦抗病毒治疗停止,即使是肝细胞中一个具有复制能力的 cccDNA 也会导致复发。因此,除了 HBV DNA,有必要对 cccDNA 进行追踪以评估 HBV 患者的预后,而 pgRNA 是一个反应 cccDNA 的良好指标。此外,核苷类药物只能阻断 pgRNA 的逆转录,而不会影响 pgRNA 产生^[7-8]。本研究拟探讨 HBV 感染患者 HBV pgRNA 变化及其影响因素,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2023 年 5—7 月杭州市西溪医院收治的 CHB 患者 195 例,入选标准:(1)年龄≥18 岁;(2)CHB、肝硬化和 HCC 的诊断均符合《慢性乙型肝炎防治指南 2022 年版》^[9]。排除标准:(1)妊娠状态或处于哺乳期女性;(2)合并有其他病毒性感染者,如人类免疫缺陷病毒(HIV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒(HDV),或存在自身免疫性肝病;(3)近半年内接受免疫抑制剂、皮质醇类固醇药物治疗者。本研究获得杭州市第六人民医院(杭州市西溪医院)伦理委员会批准(杭西医伦审 2023 研第 033

基金项目: 杭州市医药卫生科技项目(ZD20230090)

作者单位: 310023 杭州,杭州市西溪医院

通信作者: 徐爱芳,Email: 13616500869@163.com

号),所有研究对象均知情同意且签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血常规、生化及病毒学指标检测 血小板计数(PLT)、白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)和血红蛋白(HB)检测采用迈瑞 BC-7500CRP 全自动血液分析仪检测。丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、血清总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)、总胆红素(TBiL)、血糖(GLU)、尿素氮(BUN)、肌酐(CREA)、尿酸(URIC)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、肾小球滤过率(GFR)检测使用 Beckman CoulterAU5831 全自动生化分析仪检测。乙肝表面抗原(HBsAg)和乙肝E抗原(HBeAg)的检测在美国雅培 Alinityi 全自动化学发光免疫分析仪上完成。其中 HBsAg 定量 < 0.05 IU/ml 为阴性,HBeAg < 1 S/CO 为阴性。HBVDNA 的检测采用圣湘乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒完成,HBV DNA < 10 IU/ml 为阴性。

1.2.2 HBV pgRNA 检测 采用北京热景乙型肝炎病毒 RNA(HBV-RNA)测定试剂盒(PCR-荧光探针法),操作参照文献[10-11]。

1.3 统计方法 数据采用 R 软件(版本 4.0.2)分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差或 $M(P25,P75)$ 表示,符合正态分布采用 t 检验,非正态分布采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料采用 χ^2 检验。使用 Logistic 分析影响因素。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 195 例患者中男 142 例,女 53 例;平均年龄(47.6 $\pm$ 11.7)岁;确诊肝硬化/肝癌 41 例;140 例接受了抗病毒治疗;HBV DNA 阳性 72 例;HBsAg ≥ 250 IU/ml 120 例;HBV pgRNA 阳性 53 例。根据 HBeAg 情况分为 HBeAg 阴性组和 HBeAg 阳性组,两组年龄、是否接受治疗,HBsAg、HBV pgRNA、PLT、GFR 和 CREA 水平差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 1。

表 1 乙肝 E 抗原阴性组和乙肝 E 抗原阳性组单因素分析

因素	乙肝 E 抗原阴性组($n=142$)	乙肝 E 抗原阳性组($n=53$)	$\chi^2(t)[Z]$ 值	P 值
性别(男/女,例)	109/33	33/20	3.41	> 0.05
年龄(岁)	50.3 $\pm$ 10.7	40.5 $\pm$ 11.5	(30.85)	< 0.05
疾病[CHB/肝硬化(肝癌),例]	110/32	44/9	0.42	> 0.05
接受治疗(未治疗/治疗,例)	48/94	7/46	7.11	< 0.05
HBV DNA 水平(阴性/阳性,例)	95/47	28/25	2.70	> 0.05
乙肝表面抗原(例)	0.05 ~ 250 IU/ml 64 > 250 IU/ml 78	11 42	8.60	< 0.05
HBV 前基因组 RNA(阴性/阳性,例)	127/15	15/38	69.80	< 0.05
血小板计数($\times 10^9/L$)	162.20 $\pm$ 54.93	184.15 $\pm$ 75.93	(4.91)	< 0.05
白细胞计数($\times 10^9/L$)	5.21(4.18, 5.92)	4.87(4.05, 6.17)	[0.10]	> 0.05
红细胞计数($\times 10^{12}/L$)	4.69(4.34, 5.15)	4.67(4.28, 5.11)	[0.60]	> 0.05
血红蛋白(g/L)	146.50(134.25, 155.00)	141.00(130.00, 155.00)	[0.90]	> 0.05
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	23.00(17.25, 32.00)	29.00(16.00, 39.00)	[1.60]	> 0.05
天冬氨酸氨基转移酶(U/L)	25(21, 31)	26(21, 34)	[0.80]	> 0.05
碱性磷酸酶(U/L)	80(65, 97)	81(69, 104)	[1.00]	> 0.05
血清总蛋白(g/L)	74.00(70.43, 76.57)	72.80(68.90, 75.60)	[2.10]	> 0.05
清蛋白(g/L)	44.10(41.32, 46.20)	43.20(39.50, 46.00)	[0.80]	> 0.05
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.16(0.97, 1.35)	1.10(0.96, 1.27)	[1.30]	> 0.05
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.47(2.01, 3.02)	2.58(2.15, 3.24)	[2.00]	> 0.05
γ -谷氨酰转移酶(U/L)	24.50(18.00, 40.75)	23.00(17.00, 50.00)	[0.00]	> 0.05
肾小球滤过率(ml/min)	98.0(89.0, 110.0)	105.0(93.5, 120.5)	[5.82]	< 0.05
总胆红素(μ mol/L)	14.68(11.75, 19.49)	13.13(10.39, 18.31)	[2.61]	> 0.05
血糖(mmol/L)	5.30(4.99, 5.75)	5.14(4.86, 5.69)	[1.30]	> 0.05
尿素氮(mmol/L)	5.20(4.50, 6.00)	5.20(4.62, 5.73)	[0.30]	> 0.05
肌酐(μ mol/L)	74(65, 82)	68(56, 81)	[4.22]	< 0.05
尿酸(μ mol/L)	339.55(268.60, 384.98)	325.75(255.38, 393.53)	[0.44]	> 0.05
三酰甘油(mmol/L)	1.06(0.75, 1.48)	1.09(0.81, 1.46)	[0.11]	> 0.05
总胆固醇(mmol/L)	4.06(3.54, 4.72)	4.12(3.57, 4.98)	[1.12]	> 0.05

2.2 HBV pgRNA 影响因素分析 Logistic 模型分析发现,HBV DNA 阳性($OR=7.96, 95\%CI: 7.83 \sim 8.08, P < 0.05$)与 HBeAg 阳性($OR=30.33, 95\%CI: 29.86 \sim 30.81, P < 0.05$)均为 CHB 患者 HBV pgRNA 阳性的独立危险因素。

3 讨论

2022 版《慢性乙型肝炎防治指南》^[10]提出让更多的 CHB 患者接受治疗。本研究 195 例 CHB 患者,既包括治疗和未治疗者,也包括一些 CHB、肝硬化和肝癌患者。本研究结果表明,在矫正了其他变量的影响下,HBV DNA 阳性以及 HBeAg 阳性是 HBV pgRNA 阳性的独立危险因素。

HBV DNA 阳性是 HBV pgRNA 阳性的独立危险因素,这与之前研究得出结论一致^[12]。从 HBV DNA 的来源来看,血清中的 HBV DNA 主要来源于 HBV pgRNA 的逆转录,因此 HBV DNA 越高也预示着 HBV pgRNA 越高。本研究 55 例患者未接受治疗,未治疗人群 HBV DNA 平均比 pgRNA 高 1.09 个 log 值,而这也与既往的研究一致^[13]。140 例在治疗患者 HBV DNA 平均比 pgRNA 低 0.57 个 log 值,这也与既往的研究一致^[13]。本研究发现,在未治疗人群中 pgRNA 是要低于 HBV DNA 的,而治疗后的患者 pgRNA 高于 HBV DNA。

HBeAg 阳性也是 pgRNA 阳性的独立危险因素,这也与其他研究人员得出的结论一致^[12,14-15]。本研究中 HBeAg 阳性患者中检测到 HBV pgRNA 构成比显著高于 HBeAg 阴性患者。从分子角度来看,HBeAg 来源于 HBV cccDNA 转录的前 C 信使核糖核酸(Pre-C mRNA, P-C mRNA)^[12]。一定条件下,P-C mRNA 与 pgRNA 可以按照一定比例转化。处于活动期的患者肝脏中存在高负荷的 HBV cccDNA 和高度的 HBV 病毒表达。HBV pgRNA 分布差异是由于 HBeAg 阳性患者的 cccDNA 转录活性高于 HBeAg 阴性患者导致。

综上所述,HBV DNA 阳性及 HBeAg 阳性是 HBV pgRNA 阳性的独立危险因素,在 CHB 扩大治疗的背景下,应该在传统的病毒学指标上加做 HBV pgRNA 来了解患者治疗进展情况。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] GBD HEPATITIS B COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of hepatitis B, 1990-2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(9): 796-829.
- [2] JENG W J, PAPATHEODORIDIS G V, LOK A S F. Hepatitis B [J]. *Lancet* (London, England), 2023, 401(10381): 1039-1052.
- [3] SHEN S, XIE Z L, CAI D W, et al. Biogenesis and molecular characteristics of serum hepatitis B virus RNA[J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(10): e1008945.
- [4] MU D, YUAN F C, CHEN Y, et al. Baseline value of intrahepatic HBV DNA over cccDNA predicts patient's response to interferon therapy[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5937.
- [5] DONG J W, YING J, QIU X Y, et al. Advanced strategies for eliminating the cccDNA of HBV[J]. *Dig Dis Sci*, 2018, 63(1): 7-15.
- [6] LEVRERO M, TESTONI B, ZOULIM F. HBV cure: Why, how, when[J]. *Curr Opin Virol*, 2016, 18: 135-143.
- [7] RAFTERY N, STEVENSON N J. Advances in anti-viral immune defence: Revealing the importance of the IFN JAK/STAT pathway[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(14): 2525-2535.
- [8] SHEN F, LI Y M, WANG Y, et al. Hepatitis B virus sensitivity to interferon- α in hepatocytes is more associated with cellular interferon response than with viral genotype[J]. *Hepatology*, 2018, 67(4): 1237-1252.
- [9] 尤红,王福生,李太生,等.慢性乙型肝炎防治指南(2022 年版)[J]. *实用肝脏病杂志*, 2023, 26(3): 457-478.
- [10] LU F M, WANG J, CHEN X M, et al. Potential use of serum HBV RNA in antiviral therapy for chronic hepatitis B in the era of nucleos(t)ide analogs[J]. *Front Med*, 2017, 11(4): 502-508.
- [11] WANG J, SHEN T, HUANG X B, 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.
- [12] YAN H Z, HUANG Z H, GUO X G, et al. A study on pregenomic RNA and factors related to hepatitis B virus infection based on real world[J]. *Front Public Health*, 2022, 10: 856103.
- [13] MAK L Y, CLOHERTY G, WONG D K, et al. HBV RNA profiles in patients with chronic hepatitis B under different disease phases and antiviral therapy[J]. *Hepatology*, 2021, 73(6): 2167-2179.
- [14] LIU Y Y, JIANG M, XUE J Y, 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 M L, LIAO J, YE F, et al. Distribution and factors associated with serum HBV pregenomic RNA levels in Chinese chronic hepatitis B patients[J]. *J Med Virol*, 2021, 93(6): 3688-3696.

收稿日期:2024-01-25

(本文编辑:钟美春)