

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.24.017

文章编号: 1005-8982(2020)24-0086-05

慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 载量与血清 microRNA-122、ALT 的相关性研究

杜波, 高小丽, 白雪梅

(榆林市中医医院 检验科, 陕西 榆林 719000)

摘要: 目的 探讨慢性乙型肝炎(CHB)患者HBV-DNA载量与血清microRNA-122(miR-122)、丙氨酸转氨酶(ALT)的相关性,为进一步指导CHB患者的临床诊治提供科学依据。**方法** 回顾性分析2017年1月—2019年3月榆林市中医医院收治的200例CHB患者作为研究对象。采用RT-PCR法检测miR-122和HBV-DNA载量,采用肝功能检测试剂盒检测血清ALT含量,采用双抗体夹心法检测血清乙型肝炎e抗原(HBeAg)、乙型肝炎表面抗原(HBsAg),ELISA竞争法检测血清乙型肝炎e抗体(HBeAb)、乙型肝炎核心抗体(HBcAb)和乙型肝炎表面抗体(HBsAb)。分析慢性乙型肝炎HBV-DNA载量与血清miR-122、ALT含量的关系。**结果** 模式1、2和3的患者HBV-DNA载量较模式4患者高($P < 0.05$),模式1的患者血清ALT含量较其他模式患者高($P < 0.05$)。低病毒载量组患者血清ALT阳性率最低($P < 0.05$)。超高病毒载量组患者miR-122相对表达量较其他载量组患者高($P < 0.05$)。经Pearson相关性分析,HBV-DNA载量与ALT和miR-122均呈正相关($r = 1.024$ 和 0.946 , $P < 0.05$)。**结论** CHB患者血清HBV-DNA载量与血清miR-122、ALT均呈正相关,三者联合检测可以相互补充,提高诊断的准确性,为临床诊治CHB患者提供更科学的依据。

关键词: 肝炎,乙型,慢性;HBV-DNA/核糖核酸酶类;丙氨酸转氨酶

中图分类号: R512.62

文献标识码: A

Correlation of HBV-DNA load with serum microRNA-122 and ALT in patients with chronic hepatitis B

Bo Du, Xiao-li Gao, Xue-mei Bai

(Department of Laboratory Medicine, Yulin Traditional Chinese Medicine Hospital,
Yulin, Shaanxi 719000, China)

Abstract: Objective To explore the correlation of HBV-DNA load with serum microRNA-122 and ALT in patients with chronic hepatitis B (CHB), and to provide scientific basis for clinical diagnosis and treatment of CHB. **Methods** The clinical data of 200 patients with CHB treated in our hospital were retrospectively analyzed. Serum microRNA-122, HBV-DNA load, serum ALT and serum HBeAg, HBsAg, HBeAb, HBcAb, HBsAb were detected. Spearman correlation coefficient was used to analyze the correlation of serum HBV-DNA load with microRNA-122 and serum ALT in patients with CHB. **Results** The HBV-DNA load in CHB patients (pattern 1), those with early HBV infection or chronic HBV carriers (pattern 2), and those with acute HBV infection or chronic HBsAg carriers (pattern 3) was higher than that in those with acute or chronic infection (pattern 4) ($P < 0.05$). The serum ALT level in patients of pattern 1 was higher than that in patients of other patterns ($P < 0.05$). The serum ALT positive rate was the lowest in those with HBV-DNA load $< 5.00 \times 10^2$ copies/ml ($P < 0.05$). The expression

收稿日期: 2020-06-21

[通信作者] 高小丽, E-mail: 416141338@qq.com

level of microRNA-122 in those with HBV-DNA $>1 \times 10^7$ copies/ml was the highest ($P < 0.05$). The Pearson correlation analysis showed that the HBV-DNA load was positively correlated with both ALT and microRNA-122 level ($r = 1.024, 0.946; P < 0.05$). **Conclusions** There is a certain correlation of HBV-DNA load with serum microRNA-122 and ALT level in CHB patients. The combined detection of the three can complement one another, improve the accuracy of diagnosis, and provide more scientific basis for clinical diagnosis and treatment of CHB.

Keywords: chronic hepatitis B; microRNA-122; HBV-DNA; liver function

慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 是全球性疾病, 每年导致约 100 万人死亡^[1]。乙型肝炎病毒脱氧核糖酸 (hepatitis B virus deoxyribonucleic acid, HBV-DNA) 的载量水平、丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 水平和组织学表现是 HBV 治疗时应考虑的因素^[2]。活动性病毒感染扫描是通过定量 HBV-DNA 来检测的, 但这种检测是基于分子的, 而且费用昂贵, 考虑到乙肝病毒的分布, 特别是在发展中国家, 一种廉价的实验室测试可以作为 HBV-DNA 分子检测的替代^[3-4]。乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 是一种 DNA 病毒, 具有环状和部分双链的基因组, 乙型肝炎病毒表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg) 是 HBV 包膜上表面抗原, HBsAg 检测可作为乙型肝炎的初步诊断指标^[5]。miRNA 对妊娠和肝损伤十分敏感, 有研究指出可通过 CHB 患者治疗前后血清 microRNA-122 (miR-122) 变化预测干扰素的疗效^[6]。本研究为进一步指导临床治疗 CHB 患者, 对 CHB 患者血清 miR-122、HBV-DNA 载量及 ALT 水平的相关性进行了分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 1 月—2019 年 3 月榆林市中医医院收治的 200 例 CHB 患者作为研究对象。其中, 男性 121 例, 女性 79 例; 年龄 16 ~ 78 岁, 平均 (35.42 ± 4.18) 岁; 病程 1 ~ 18 年, 平均 (9.17 ± 2.45) 年。纳入标准: ①患者符合《慢性乙型肝炎防治指南》^[7] 中 CHB 的诊断标准, 并经过临床确诊; ②年龄 16 ~ 78 岁, 病理、临床及随访资料完整; ③纳入前均未接受过任何治疗; ④本研究已通过医院伦理委员会批准, 患者签署知情同意书。排除标准: ①酒精、药物等导致的肝损伤患者; ②其他器官严重病变患者; ③存在资料缺失者; ④肿瘤患者; ⑤妊娠期或哺乳期妇女; ⑥存在意识、精神障碍, 无法进行语言沟通者。

1.2 方法

检测患者血清 ALT 含量、miR-122 水平, 分

析 HBV-DNA 载量与血清 miR-122、ALT 含量的相关性。研究对象均取空腹肘静脉血 5 ml, 置于真空采血管中, 3 000 r/min 离心 3 min, 分离血清保存至 -80°C 冰箱待检。采用 RT-PCR 检测血清 miR-122 水平和 HBV-DNA, 利用肝功能检测试剂盒检测 ALT 含量, 采用双抗体夹心法检测血清乙型肝炎 e 抗原 (hepatitis B e antigen, HBeAg)、乙型肝炎表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg), ELISA 竞争法检测血清乙型肝炎 e 抗体 (hepatitis B e antibody, HBeAb)、乙型肝炎核心抗体 (hepatitis B core antibody, HBcAb) 和乙型肝炎表面抗体 (hepatitis B surface antibody, HBsAb), 所有操作严格按照试剂盒说明书进行。血清标志物结果: HBsAg ≥ 300 S/N 为阳性, HBsAb >10 mIU/ml 为阳性, HBeAg >1.0 S/CO 为阳性, HBeAb <1.0 S/CO 为阳性, HBcAb <1.0 S/CO 为阳性。依据血清标志物检测对照表进行分组。模式 1: 慢性肝炎患者; 模式 2: 早期乙肝感染或慢性携带者; 模式 3: 急性乙肝感染期或慢性乙肝表面抗原携带者; 模式 4: 急性或慢性乙肝感染者; 模式 5: 感染过乙肝病毒或急性乙肝病毒感染; 模式 6: 曾感染过乙肝病毒或处于急性感染恢复期; 模式 7: 既往感染过乙肝, 急性感染康复, HBeAb 浓度较低; 模式 8: 既往感染过乙肝, 具有保护性抗体; 模式 9: 既往感染过乙肝, 急性感染康复, 具有保护性抗体; 模式 10: 慢性乙肝表面抗原携带者或急性感染恢复期者; 模式 11: 接种乙肝疫苗后, 乙肝病毒感染已经康复且已产生免疫力者; 模式 12: 急性乙肝恢复或慢性携带者^[8]。ALT ≤ 40 u/L 定义为正常, ALT $>40 \sim 80$ u/L 定义为轻度异常, ALT >80 u/L 定义为异常。HBV-DNA 分组: HBV-DNA $<5.00 \times 10^2$ copies/ml 作为低病毒载量组, HBV-DNA 在 $5.00 \times 10^2 \sim 5.00 \times 10^5$ copies/ml 作为中病毒载量组, HBV-DNA 在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ copies/ml 作为高病毒载量组, HBV-DNA $>1 \times 10^7$ copies/ml 作为超高病毒载量组, 分别有 91 例、46 例、25 例及 38 例。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计学软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用方差分析, 进一步的两两比较用 LSD-*t* 检验; 计数资料以率 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验; 相关性分析用 Pearson 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CHB 患者不同血清模式的 ALT 和 HBV-DNA 载量比较

模式 1、2、3 和 4 中患者 HBV-DNA 载量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 24.820, P = 0.000$); 模式 1、2 和 3 的患者 HBV-DNA 载量较模式 4 患者高 ($P < 0.05$)。各模式患者血清 ALT 含量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 38.140, P = 0.000$); 模式 1 的患者血清 ALT 含量较其他模式患者高 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同 HBV-DNA 组患者血清 ALT 阳性率比较

不同 HBV-DNA 组患者血清 ALT 阳性率比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.124, P = 0.000$), 低病毒载量组最低 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同 HBV-DNA 组患者 miR-122 相对表达量比较

低病毒载量组、中病毒载量组、高病毒载量组和超高病毒载量组患者 miR-122 相对表达量分别为 (5.31 ± 3.19)、(10.76 ± 2.23)、(15.57 ± 1.62) 及 (20.46 ± 2.28), 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 37.240, P = 0.000$), miR-122 相对表达量随 HBV-DNA 载量增高而逐渐上升。

2.4 相关性分析

经 Pearson 相关性分析, HBV-DNA 载量与 ALT 和 miR-122 均呈正相关 ($r = 1.024$ 和 $0.946, P = 0.027$ 和 0.031)。

表 1 CHB 患者不同血清模式的 ALT 和 HBV-DNA 载量比较

模式	n	血清标志物					HBV-DNA/ (copies/ml)	ALT/ (u/L)
		HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HbCAb		
1	51	+	-	+	-	+	6.42 ± 1.59	88.91 ± 13.27
2	81	+	-	+	-	-	6.48 ± 1.52	24.46 ± 10.42
3	32	+	-	-	-	+	4.76 ± 1.73	55.68 ± 43.18
4	8	+	-	-	+	+	3.90 ± 1.38	40.27 ± 32.31
5	6	-	-	-	-	+	0.00 ± 0.00	62.27 ± 21.32
6	7	-	-	-	+	+	0.00 ± 0.00	36.35 ± 23.24
7	3	-	-	-	+	-	0.00 ± 0.00	21.29 ± 17.51
8	3	-	+	-	-	+	0.00 ± 0.00	11.38 ± 4.52
9	1	-	+	-	+	+	0.00 ± 0.00	28.54 ± 11.49
10	2	+	-	-	+	-	0.00 ± 0.00	36.36 ± 2.14
11	5	-	+	-	-	-	0.00 ± 0.00	23.07 ± 2.32
12	1	+	-	+	+	+	0.00 ± 0.00	11.52 ± 4.34

表 2 不同 HBV-DNA 组患者血清 ALT 阳性率比较 例 (%)

组别	n	ALT			
		0 ~ 40 u/L	>40 ~ 80 u/L	>80 u/L	阳性
低病毒载量组	91	66 (72.53)	21 (23.08)	4 (4.40)	25 (27.47)
中病毒载量组	46	29 (63.04)	13 (28.26)	4 (8.70)	17 (36.96)
高病毒载量组	25	7 (28.00)	7 (28.00)	11 (44.00)	18 (72.00)
超高病毒载量组	38	19 (50.00)	8 (21.05)	11 (28.95)	19 (50.00)

3 讨论

CHB 是临床上常见的传染病,是感染 HBV 所致,该病在我国发病率较高,为 6% ~ 10%,且呈不断上升的趋势^[9]。目前,乙型肝炎已成为全球卫生政策的焦点。继 2014 年世界卫生大会通过关于病毒性肝炎的决议之后,该组织于 2015 年 3 月发布了关于 CHB 的指导方针以及 2016 年 6 月的“全球卫生部门病毒性肝炎战略”^[10-11]。这些文件描述了到 2030 年消除病毒性肝炎对公众健康构成的威胁的目标,包括从 2016 年开始,将病毒性肝炎病死率降低 65%,但目前只有不到 1% 的病毒性肝炎患者正在接受治疗^[12-13]。主要原因为 HBV 是 CHB 的病原体,其症状和表现复杂,导致 CHB 的准确诊断非常困难^[14]。

HBV-DNA 是反映 HBV 复制活跃程度及传染性的最直接指标,也是观察抗病毒药物疗效、预后和指导抗病毒药物应用的重要指标之一,HBV-DNA 定量的检测从根本上突破了免疫学方法等间接方法的局限性,通过直接检测病毒核酸水平,可真实的反映患者体内的病毒水平^[15]。在本研究中模式 1 ~ 4 患者均检测到 HBV-DNA 载量,其中模式 1、2 患者 HBV-DNA 载量最高,且 4 种模式 HBV-DNA 载量比较有差异;而在模式 8 ~ 12 中,12 例患者血清 HBV-DNA 载量检测均为阴性,本研究结果说明单独检测 HBV-M 载量容易出现假阴性或者假阳性,血清 ALT 含量和血清 HBV-DNA 载量的相关性与 HBV-M 载量无关。与覃小梅等^[16]研究中提到的 HBV-M 对病毒复制、疗效观察帮助不大结果相似。

随着医疗技术的不断发展,临床上对于 HBV 的诊断方法增多,比如 HBV 基因检测、核酸检测等。HBV-DNA 是反映体内 HBV 感染、复制和传染性强弱的标准,HBeAg 也是说明体内病毒复制的良好指标^[17]。血清 ALT 与肝细胞受损有直接关系,是体现肝细胞受损的直接指标。多指标联合检测更有助于 CHB 的诊断^[18]。在本研究中低病毒载量组患者 ALT 阳性最低,各病毒载量组患者 ALT 阳性率有差异,HBV-DNA 载量与 ALT 含量呈正相关,结果表明在一定范围内 HBV-DNA 载量越高,HBV 感染复制率越高,ALT 阳性率越高,患者肝脏损伤加重。

miRNA 是非编码 RNA 转录后调节靶基因,其不仅在细胞发育中、分化和生理功能中起着重要作用,而且在肿瘤、病毒感染和其他密切相关疾病的发展中

也具有重要意义^[19]。此外,miR 分子在某些疾病评估中越来越被认为是一种诊断和预后指标。有研究发现,miRNAs 可调节多种肝功能,报告了 miRNAs 在与 HBV 感染相关的肿瘤诊断中的作用^[20]。miR-122 是肝脏中最丰富的 miRNA 类型,miR-122 的变化不仅与 CHB 的发病相关,而且与肝损伤相关^[21]。在本研究中,miR-122 相对表达量随着 HBV-DNA 载量增高而逐渐上升,与 HBV-DNA 载量呈正相关,miR-122 可抑制 HBV 的复制,提示 miR-122 可能与 CHB 和肝癌的发生有关。

综上所述,CHB 患者血清 miR-122 和 HBV-DNA 及肝功能之间存在一定相关性,三者联合检测可以相互补充,提高诊断的准确性,为临床诊治 CHB 患者提供科学依据。

参 考 文 献:

- [1] 沈敏,林明强,冯奇桃,等. HBV 相关慢加亚急性肝衰竭患者中 Th17 细胞、Treg 细胞的变化及其与肝功能和 HBV-DNA 载量间的研究 [J]. 海南医学, 2016, 27(5): 692-696.
- [2] LI M H, ZHANG L, ZHANG D, et al. Plasmacytoid dendritic cell function and cytokine network profiles in patients with acute or chronic hepatitis b virus infection[J]. Chinese Medical Journal, 2018, 131(1): 43-49.
- [3] 鲍腾,胡庆刚,叶珺,等. HBsAg 水平在慢性 HBV 感染者疾病进展中的动态监测价值 [J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(8): 1475-1478.
- [4] 马建和,徐飞,王雅杰. HBV 前 S 基因突变与 HBV 感染者慢加急性肝衰竭的相关研究 [J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(10): 1460-1463.
- [5] 应盛,董飞波,孙毅,等. COBAS TaqMan 系统检测血清 HBV-DNA 的临床价值探讨 [J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(2): 305-308.
- [6] LI Q, LU C, LI W X, et al. Globulin-platelet model predicts significant fibrosis and cirrhosis in CHB patients with high HBV DNA and mildly elevated alanine transaminase levels[J]. Clinical & Experimental Medicine, 2017, 18(9): 1-8.
- [7] 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(12): 1620-1623.
- [8] 吴著球,张学东. 58331 例乙肝五项标志物定量检测不同模式分布分析 [J]. 现代预防医学, 2016, 43(9):1691-1694.
- [9] 刘蕾,赵鹏,邢雪梅,等. 乙型肝炎后肝硬化患者血清 AFP-L3、GP-73、CEA 与 HBV-DNA 载量的关系及在肝硬化分级诊断中的价值 [J]. 检验医学与临床, 2018, 15(3): 320-322.
- [10] 戴明佳,冷雪君,颜学兵.《2015 年世界卫生组织慢性乙型肝炎病毒感染预防、关怀和治疗指南》解读:慢性乙型肝炎的抗病毒治疗策略比较 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(7): 1004-1007.

- [11] 崔富强. 中国建国以来病毒性肝炎的防控成就 [J]. 国际病毒学杂志, 2019, 26(5): 289-292.
- [12] 张莉娟, 刘炳华, 马翠华, 等. 《2018 年世界卫生组织慢性 HCV 感染的管理和治疗指南》摘译 [J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(10): 2121-2123.
- [13] 郭芙蓉, 吐尔地·卡孜, 吴超, 等. 2012-2016 年病毒性肝炎发病及死亡趋势分析 [J]. 中国地方病防治杂志, 2017, 32(6): 672-673.
- [14] YANG N, FENG J, ZHOU T C, et al. Relationship between serum quantitative HBsAg and HBV DNA levels in chronic hepatitis B patients[J]. Journal of Medical Virology, 2018, 90(7): 1240-1245.
- [15] 郑怡娟, 余雪平, 郭如意, 等. 慢性 HBV 感染者 HBsAg/HBV DNA 比率的检测及其临床意义 [J]. 中国人兽共患病学报, 2016, 32(6): 558-563.
- [16] 覃小梅, 范宸颖, 李双杰, 等. 慢性乙型肝炎患儿 HBV DNA 载量与肝脏病理、肝功能、肝纤维化血清学指标的相关性分析 [J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(3): 472-475.
- [17] 赵冬凤. 慢性乙肝病毒携带者 ALT、AST 及 HBeAg 与血清 HBV DNA 含量的关系 [J]. 临床检验杂志 (电子版), 2017, 6(1): 11-13.
- [18] 李萍英, 杨永耿, 陆伦根, 等. microRNA 在慢性乙型肝炎肝纤维化中的诊断价值 [J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(12): 2412-2415.
- [19] 陈霖, 李沛然, 黄雨欣, 等. 慢性乙型肝炎 microRNA 诊断标志物及其与乙型肝炎病毒复制相关性研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2016, 30(5): 417-420.
- [20] 黄惠强, 邓燕君, 刘新霞. miR-122 在非酒精性脂肪肝病中的诊断价值 [J]. 热带医学杂志, 2017, 17(2): 201-204.
- [21] 张轩, 党秀敏, 肖倩, 等. 氧化苦参碱对乙肝病毒的抑制作用及对 miR-122 表达的影响 [J]. 实用医学杂志, 2017, 33(9): 1402-1404.

(李科 编辑)

本文引用格式: 杜波, 高小丽, 白雪梅. 慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 载量与血清 microRNA-122、ALT 的相关性研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(24): 86-90.