

Research on the Progress of Various Detection Methods and Techniques of Chronic Hepatitis B

Wei Wang Jihong An*

Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China
Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

Abstract

Hepatitis B virus (HBV) infection is a global epidemic. According to statistics, nearly 2 billion people in the world have been infected with HBV, and 250 million people are chronic carriers. China is a high incidence of HBV, nearly 90 million chronic HBV carriers, chronic hepatitis B infection is due to the presence of HBV CCC DNA in the nucleus of the infected liver. However, the clinical diagnosis is still dominated by laboratory examination, and imaging detection is of great value in the assessment of the degree and disease of liver fibrosis and prognosis. In recent years, studies have shown that detection of HBV cccDNA can provide reliable virological indicators for safe drug withdrawal and clinical cure of the disease, but the precision detection technology and stability need to be further studied. In this paper, the recent advances in the detection methods and techniques of chronic hepatitis B are reviewed.

Keywords

chronic Hepatitis B; detection methods and techniques; research on the progress

慢性乙型肝炎各类检测方法及技术的研究进展

王伟 安纪红*

内蒙古医科大学, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000
内蒙古自治区人民医院, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

摘要

乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus, HBV) 感染呈全球流行趋势, 据统计全世界有将近 20 亿人曾经感染 HBV, 慢性携带者更是高达 2.5 亿人。中国是 HBV 的一个高发国家, 有近 9000 万慢性 HBV 携带者, 乙型肝炎感染慢性化是由于被感染的肝细胞核内 HBV ccc DNA 的存在。但是在临床诊断上依旧以实验室检查为主, 影像学检测对肝纤维化程度以及疾病的评估和预后判断有重要的价值。近几年研究显示检测 HBV cccDNA 可对疾病的安全停药以及临床治愈提出可靠的病毒学指标, 但精准检测技术以及稳定性有待进一步深入研究加以明确。论文就近年来有关慢性乙型肝炎的检测方法及技术的研究进展进行综述。

关键词

慢性乙型肝炎; 检测方法及技术; 研究进展

1 血清学标志物检测

实验室血清学标志物水平检测是临床诊断慢乙肝的重要方法, 血清学检测包括天冬氨酸转氨酶 (AST)、蛋白组学、唐组学、血小板计数以及血液中代谢纤维化程度的标志物等, 其中常用的血清学标志物检测包括乙型肝炎表面抗原 (HBsAg)、抗 HBs、乙肝病毒 e 抗原 (HBeAg)、抗 HBe、核心抗体 (抗 HBc) 以及 HBV DNA 等, 检测血清学标志物的方法有酶联免疫吸附法、化学发光法等; 血清标志物检测可用于慢性乙型肝炎的抗病毒疗效的评价, 并且可反映慢乙肝的自然发展史。目前应用较多的检测是血清 HBsAg、

HBeAg 的定量检测以及 HBV DNA 的定量检测。有研究表明^[1] 乙肝表面抗原定量值在慢性 HBV 感染的不同阶段体现出不同的水平, 慢性乙型肝炎的携带组水平最高, 肝硬化组水平定量值最低, 并且其数值会随着 HBV 感染的时间长久和病情的进展而有所下降。并且研究发现 e 抗原阳性的患者表面抗原与 HBV DNA 的相关性要高于 e 抗原阴性患者。另有研究显示^[2] 血清表面抗原水平对肝脏纤维化进展有显著的预测价值, 且 e 抗原阳性患者血清表面抗原水平及 HBV DNA 载量与肝组织病理学分期和分级呈正相关。有研究显示^[3] “大三阳”即 HBs Ag (+)、HBe Ag (+)、抗 HBc (+) 组, HBV DNA 阳性率可达 95%; “小三阳”即 HBs Ag (+)、抗 HBe 阳性、抗

HBc (+), HBV DNA 的阳性率仅为 45.28%。因此, 乙肝病毒进入机体后, 不是所有人都会发病, 机体调动免疫机能对病毒进行自我消灭, 病毒感染的时间以及程度取决于自身的免疫力。现有的 HBV DNA 是目前直接的并且可靠的可以反映乙肝病毒复制以及其活动情况的检测手段, 但是只有血清学检测并不能明确肝脏病变情况以及掌握停药时机, 需要依靠其他方法了解病情变化程度。

2 无创诊断的方法

慢性乙型肝炎后肝硬化程度的诊断对判断预后具有重要的价值, 需及时对肝纤维化程度做出诊断并且评估疾病的预后。目前肝穿刺活检是肝纤维化诊断的金标准, 但有费用高并且有创等缺点, 使其普及受到限制, 近年来无创诊断得到更多的应用, 包括血清学检测和影像学检测, 影像学检测包括彩色超声、CT、MRI 以及肝脏瞬时弹性成像等。影像学检测可明确有无肝硬化以及有无占位, 目前认为肝脏瞬时弹性成像可准确的评估和预测肝纤维化, 有研究表明^[4]不同肝纤维化分期患者超声弹性成像组织弥散定量分析检测不同的应变均值以及复杂度等比较均有统计学意义, 且超声弹性成像与肝纤维化分期呈正相关, 被认为肝脏瞬时弹性成像能较好的用于慢性病毒性肝纤维化的诊断。

3 有创的诊断方法

目前肝穿刺活检是肝纤维化诊断的金标准, 有研究证实^[5]乙型肝炎感染慢性化是由于被感染肝细胞内 HBV cccDNA 的持续存在, 共价闭合环状 DNA 通过 HBV 病毒复制进入宿主细胞核, 是 HBV 复制不可缺少的关键因素, HBV 感染经临床治愈后仍可发生病毒复发。因此抑制或者根除 ccc DNA 可获得显著的临床效果。HBV ccc DNA 的检测建立于上世纪 80 年代。最先用 DNA 电泳以及 Southern blot 杂交技术证实慢乙肝患者肝组织内存在超螺旋 DNA 分子, 该方法是检测 HBV ccc DNA 的经典检测方法, 但其成本高、耗时长, 限制了其在临床中的应用。近 20 年, 国内外报道了其他的一些检测方法, 包括实时荧光定量、选择性荧光定量、竞争性荧光定量以及原位杂交等, 但是仍存在不足。近几年, 研究发现滚环复制法具有很强的扩增能力, 并且只能扩增环状 DNA 模板, 该技术首次检测了乙型肝炎病毒 ccc DNA 的

全序列。另有研究学者^[6]采用实时荧光定量 PCR 检测慢乙肝患者肝组织中的 ccc DNA, 结果显示处于感染不同阶段的乙肝患者肝组织中的 ccc DNA 水平处于 3 个数量级变化。现有学者采用不降解质粒的 ATP 依赖的 DNA 酶 + 滚环扩增 + 荧光定量 PCR 技术对慢乙肝患者石蜡包埋处理肝组织进行 ccc DNA 定量检测, 结果显示较传统的方法灵敏度、重复性以及稳定性高^[7]。研究显示血清 HBV RNA 可很好的反映肝组织 cccDNA 的活性, 由此建议将传统的基于病毒 DNA 检测的病毒学应答重定义为血清 HBV DNA 和 HBV RNA 持续低于下限, 并以此作为可能安全停药的病毒学指标^[7]。

4 总结与展望

目前的检测技术均无法精准的评估用药的疗效以及预后, 需要更为先进的技术对 HBV cccDNA 进行精准检测, 从而评估治疗效果, 找到可能的安全停药点以及临床治愈指标, 为患者尽可能的进行精准治疗, 并且控制病情发展, 降低肝硬化、肝癌等发病率, 进而推广 HBV cccDNA 精准检测技术的应用。

参考文献

- [1] 符晓莉, 王磊, 刘峰. 乙型肝炎病毒感染不同阶段血清 HBsAg 定量值及其与 HBV DNA 水平和年龄的相关性 [J]. 山东大学学报 (医学版), 2013, 51(05): 94-98.
- [2] 张占卿, 陆伟, 王雁冰, 等. 血清 HBsAg 和 HBV DNA 预测慢性乙型肝炎肝组织病理状态的评价 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2014, 23(05): 554-559.
- [3] 周洁. 乙肝血清学标志物定量和 HBV DNA 定量联合检测在乙肝病毒感染诊断中的应用 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(46): 132.
- [4] 周立峰, 丛淑珍, 裴书芳. 超声弹性成像组织弥散定量分析与综合评分对慢性肝炎肝纤维化的诊断价值研究 [J]. 中国全科医学, 2015, 18(06): 724-728.
- [5] Hou Jinlin, Wang Guiqiang, Wang Fusheng, et al. Guideline of Prevention and Treatment for Chronic Hepatitis B (2015 Update). 2017, 5(4): 297-318.
- [6] Norah A. Terrault, Anna S.F. Lok, Brian J. McMahon, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. 2018, 67(4): 1560-1599.
- [7] 施恬树, 曹佳莉, 杨艺楠, 等. HBV cccDNA 检测方法的研究进展 [J]. 科学通报, 2020, 65(16): 1529-1545.