

HCV 与 HBV 共感染影响血清 HBV 核酸与表面抗原水平

张 萍¹, 刘文培¹, 林应标², 代国知², 郭旺源², 江杨华², 唐 萍¹, 张 健¹, 瞿小旺¹, 罗迪贤^{1*}

(1. 南华大学附属郴州医院转化医学研究所, 湖南 郴州 423000; 2. 郴州市第一人民医院
检验医学中心, 湖南 郴州 423000)

摘要: 分析和评估 HCV 与 HBV 共感染对 HBV 临床指征的影响。采集 152 例有静脉吸毒史 HBV 感染者血浆, 其中 HBV/HCV 共感染组 52 例, HBV 单感染组 100 例。检测分析包括 ALT 和 AST、HBV 表面抗原(HBsAg)、e 抗原、e 抗体、HBV DNA 及 anti-HCV IgG 与 HCV RNA。结果显示, 两组样本的 ALT 和 AST 水平无显著差异($P=0.097$, $P=0.184$); HBV/HCV 共感染组 HBsAg 水平显著低于 HBV 单感染组 HBsAg 水平($P=0.020$); 共感染组 HBV DNA 阳性率显著低于 HBV 单感染组 HBV DNA 阳性率($P=0.004$), 且共感染组中 HBV DNA 载量也显著低于 HBV 单感染组 HBV DNA 载量($P=0.031$)。进一步分析发现: 在 HBV 单感染患者中的 HBV DNA 和 HBsAg 具有良好的正相关关系($r=0.752$, $P<0.001$), 但在 HBV/HCV 共感染患者中相关性减弱($r=0.387$, $P=0.042$)。本研究显示 HCV 共感染可能与 HBV 存在竞争关系, 从而影响 HBV 病毒复制水平及表面抗原分泌。

关键词: 乙型肝炎病毒; 丙型肝炎病毒; 共感染; 表面抗原; 病毒载量

中图分类号: R512.6

文献标识码: A

HCV coinfection with HBV impact the level of nucleic acid and HBsAg of HBV in serum

ZHANG Ping¹, LIU Wenpei¹, LIN Yingbiao², DAI Guozhi², GUO Wangyuan², JIANG Yanghua²,
TANG Ping¹, ZHANG Jian¹, QU Xiaowang¹, LUO Dixian^{1*}

(1. Translational Medicine Institute, the First People's Hospital of Chenzhou, University of South China, Chenzhou 423000, Hunan, China; 2. Department of Laboratory Medicine, the First People's Hospital of Chenzhou, Chenzhou 423000, Hunan, China)

Abstract: To analyze and evaluate the effect of HCV coinfection on clinical indicators of HBV-infected patients. 152 individuals with HBV infection from intravenous drug users were enrolled. 52 individuals were HBV/HCV co-infected and 100 individuals were mono-HBV infection. Serum ALT and AST, HBsAg, HBeAg, anti-HBe, HBV DNA and anti-HCV IgG, HCV RNA were measured. The results showed that there was no significant difference in ALT and AST levels between the two groups ($P=0.097$, $P=0.184$); The positive rate of HBV DNA in the co-infection group was lower ($P=0.004$) compared with mono-HBV infection, and the HBsAg level and HBV DNA load in co-infection group were lower than those of mono-HBV infection ($P=0.020$, $P=0.031$); there was a positive correlation between HBV DNA and HBsAg in mono-HBV infected individuals ($r=0.752$, $P<0.001$), but the correlation is weakened in coinfecting individuals ($r=0.387$, $P=0.042$). The results of this study suggested HCV coinfection significantly impact HBV replication and HBsAg secretion, which may indicate that HCV coinfection interfere with HBV replication.

Key words: hepatitis B virus; hepatitis C virus; coinfection; HBsAg; viral load

乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)和丙型

肝炎病毒(Hepatitis C virus, HCV)是慢性传染性肝病最主要的病原, 全球有超过 3.5 亿人感染了 HBV, 而 HCV 感染者人数约为 0.7 亿。HBV 和 HCV 传播途径相似, 因此具有较高的共感染比例^[1]。在慢性 HCV 感染患者中约 2% ~ 10% 为 (Hepatitis B surface antigen, HBsAg) 阳性, 而在慢性

收稿日期: 2019-08-14; 修回日期: 2019-10-16

基金项目: 湖南省临床医疗技术创新引导项目 (2018SK50301, 2018SK50304, 2018SK50308)。

* 通信作者, E-mail: luodixian_2@163.com.

HBV 患者中约 5% ~ 20% 抗 HCV 抗体为阳性^[2-3]。并且由于隐匿性 HBV 感染通常不被考虑在内,双重 HBV/HCV 感染的患病率很可能被低估。静脉吸毒是 HBV 和 HCV 感染的主要危险因素,因此在吸毒人群当中,HCV 和 HBV 感染率高于一般人群,且共感染的情况却更为普遍^[4]。并且随着吸毒年限的延长,共感染率会明显增加,因肝病致死的人数比例也更高^[5]。Sagnelli E 等^[6]的研究表明,相对于 HCV 单感染而言,在静脉吸毒人群中 HBV/HCV 共感染者有较高水平的 HCV 自发清除率。但 HCV 共感染,对静脉吸毒的乙肝患者的影响鲜有研究,因此本研究初步分析了 HBV/HCV 共感染与 HBV 单感染患者 HBV 相关临床指征的异同,以期对静脉吸毒者的临床治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2014 ~ 2015 年从郴州市美沙酮门诊中具有静脉吸毒史的患者血样。采集过程由经专门培训的医护人员进行,并对患者进行包括年龄、吸毒方式及时间的问卷调查,该研究在伦理委员会和患者知情同意下进行。本研究共选取了 HBV 慢性感染样本 152 例。所有诊断符合中华医学会感染病学分会和肝病学会制订的《慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)》和《丙型肝炎防治指南(2015 年更新版)》。慢性乙型肝炎的诊断依据:HBsAg 和 (或) HBV DNA 阳性 6 个月以上。慢性丙型肝炎的诊断依据:HCV 感染超过 6 个月,或有 6 月以前的流行病学史,抗-HCV IgG 及 HCV RNA 阳性。所有病例通过问卷调查得知均没有接受抗病毒治疗或最近 6 个月没有接受抗病毒治疗,并通过 ELISA 检测到均无 HIV、梅毒、HDV 感染。

1.2 血清学检测

血清 HBsAg、HBeAg 和 anti-HBe 采用时间分辨免疫荧光法进行定量检测,仪器与试剂均购于苏州新

波生物技术有限公司;anti-HCV IgG、anti-HDV IgG、抗梅毒抗体及 anti-HIV IgG(北京万泰生物药业股份有限公司)采用 ELISA 法进行定性检测;ALT 和 AST 采用西门子全自动生化分析仪(ADVIA2400)检测。

1.3 HBV 与 HCV 核酸检测及病毒核酸定量

HCV 和 HBV 定性检测采用普通巢式 PCR 进行,以确定核酸是阴性还是阳性。HCV 基因型测定:将 5'-UTR 段(含部分 HCV Core)基因进行 PCR 扩增,然后胶回收扩增的基因片段送公司(南京金斯瑞生物科技有限公司)进行测序,将所测得核苷酸序列在 PubMed(局部序列比对基本检索工具)中进行比对确定基因型。HBV DNA 病毒载量检测采用 PCR-荧光探针法(湖南圣湘生物科技有限公司试剂盒),HCV RNA 病毒载量检测采用嵌合荧光法(北京宝日医生物技术有限公司试剂盒)均由实时荧光定量 PCR 仪检测。所有的操作严格按照试剂盒说明书和仪器的 SOP 文件进行操作。

1.4 统计学处理

所用数据使用 SPSS 18.0 和 Graphpad Prism 7.0 统计分析软件进行统计分析。计量资料非正态分布以中位数和四分位间距表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 秩和检验;计数资料组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义;两组间的相关性使用 spearman 相关分析。

2 结果

2.1 不同感染患者的临床基本信息

在 152 例纳入的具有静脉吸毒史的病例中,100 例为 HBV 单感染(HBsAg 阳性),52 例为 HBV/HCV 共感染(HBsAg, anti-HCV IgG 和 HCV RNA 均为阳性)。HBV 单感染组年龄较 HBV/HCV 共感染组小($P < 0.001$)。两组在性别、肝功能 ALT 和 AST 均无统计学差异。本研究所收集的共感染样本中,HCV 基因型以 6a 型为主,其次为 3 型(表 1)。

表 1 两组患者基本临床特征及共感染患者中 HCV 基因型的分布

指标	HBV	HBV/HCV	U/ χ^2	P
年龄(岁)	31.0(26.0 ~ 34.0)	39.5(32.5 ~ 46.0)	1089.5	$P < 0.001$
男/女(例)	94/6	48/3	0.001	0.977
ALT(U/L)	26.7(17.5 ~ 43.3)	34.1(24.5 ~ 46.7)	1464	0.097
AST(U/L)	23.1(17.7 ~ 32.5)	26.9(19.6 ~ 35.3)	1530	0.184
HCV 基因型别				
6a/3a/3b/		20/3/12		
1b/2a/ND		5/2/10		

ND:未检出

2.2 HBV/HCV 共感染组血清 HBsAg 水平低于 HBV 单感染组

在 HBV 单感染患者 ($n=100$) 中,血清 HBsAg 水平是 2.3×10^3 ($2.1 \times 10^2 \sim 7.9 \times 10^3$) IU/mL,而在 HBV/HCV 共感染患者 ($n=52$) 中 HBsAg 水平是 1.4×10^3 ($4.5 \times 10 \sim 2.8 \times 10^3$) IU/mL。HBV/HCV 共感染患者血清中 HBsAg 水平明显低于 HBV 单感染患者 ($U=1978, P=0.020$) (图 1)。

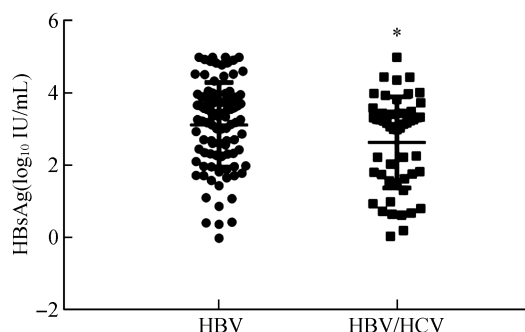


图 1 两组患者血清 HBsAg 水平的比较
与 HBV 单感染组比较, * $P < 0.05$

2.3 HBV/HCV 共感染组 HBV DNA 阳性率及载量低于 HBV 单感染组

100 例 HBV 单感染患者中 HBV DNA 阳性样本为 49 例,阳性率为 49%,52 例 HBV/HCV 共感染患者中 HBV DNA 样本为 13 例,阳性率为 25%,共感染组中的 HBV DNA 阳性率明显低于 HBV 单感染组 ($\chi^2=8.159, P=0.004$) (图 2A)。进一步分析患者 HBV DNA 病毒载量发现,单感染患者中 HBV DNA 水平是 4.0×10^3 ($2.6 \times 10^2 \sim 1.3 \times 10^6$) IU/mL,而在 HBV/HCV 共感染患者中 HBV DNA 水平是 3.2×10^2 ($5.0 \times 10 \sim 6.8 \times 10^4$) IU/mL。HBV/HCV 共感染患者中 HBV DNA 水平比 HBV 单感染患者组低 ($U=738, P=0.031$) (图 2B)。

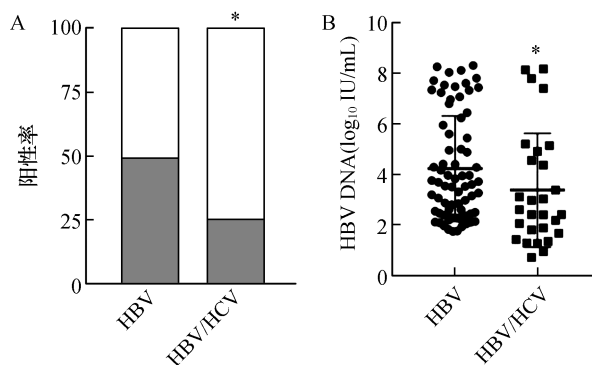


图 2 两组患者 HBV DNA 阳性率及 HBV DNA 水平的比较
A: 两组患者 HBV DNA 阳性率的比较 (阴影部分为阳性),
与 HBV 单感染组比较, * $P < 0.01$;
B: 两组患者 HBV DNA 水平的比较,与 HBV 单感染组比较, * $P < 0.05$

2.4 HBV 单感染与 HBV/HCV 共感染患者中 HCV RNA 与 HBsAg、HBV DNA 的相关分析

在 HBV 单感染组中,HBsAg 水平与 HBV DNA 水平之间存在明显的正相关关系 ($r=0.752, P < 0.001$) (图 3A),而在 HBV/HCV 共感染患者中,HBsAg 水平与 HBV DNA 水平之间相关性减弱 ($r=0.387, P=0.042$) (图 3B)。在 52 例 HBV/HCV 共感染患者中,HCV RNA 水平与 HBsAg 和 HBV DNA 水平之间均不具有相关性 ($r=-0.026, P=0.852$) ($r=-0.219, P=0.272$) (图 3C、D)。

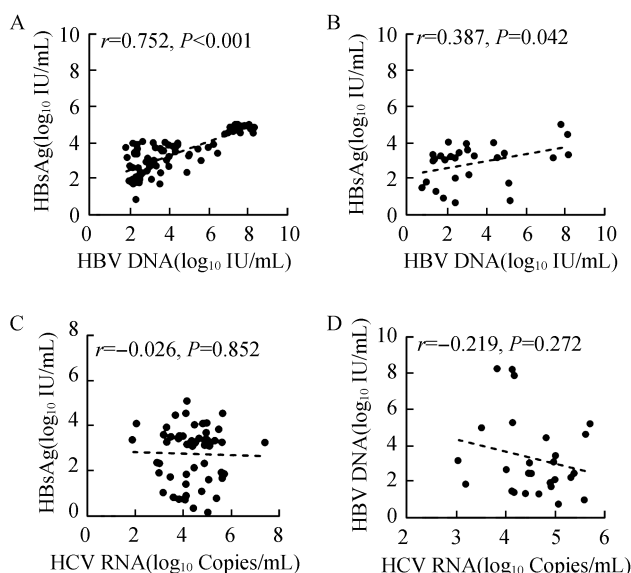


图 3 HBV 单感染和 HBV/HCV 共感染患者中 HBV DNA 与 HBsAg 的相关性分析以及 HBV/HCV 共感染患者中 HCV RNA 与 HBsAg 和 HBV DNA 的相关性分析

A: HBV 单感染患者中 HBV DNA 与 HBsAg 的相关性分析;
B: HBV/HCV 共感染患者中 HBV DNA 与 HBsAg 的相关性分析;
C: HBV/HCV 共感染患者中 HCV RNA 与 HBsAg 的相关性分析;
D: HBV/HCV 共感染患者中 HCV RNA 与 HBV DNA 的相关性分析

2.5 HBV 单感染与 HBV/HCV 共感染患者中 HBeAg 和 HBeAb 的比较

在 HBV 单感染患者中 HBeAg 的阳性率为 16%,HBV/HCV 共感染患者 HBeAg 的阳性率为 7.7%,相对于 HBV 单感染患者而言有下降的趋势 ($\chi^2=2.066, P=0.151$) (图 4A)。在 HBV 单感染患者外周血中 HBeAb 的水平为 3.75 (0.14 ~ 19.50) PEI U/mL,HBV/HCV 共感染患者外周血中 HBeAb 的水平为 4.00 (0.10 ~ 17.93) PEI U/mL,两组间比较,差异无显著性 ($U=2561.5, P=0.880$) (图 4B)。

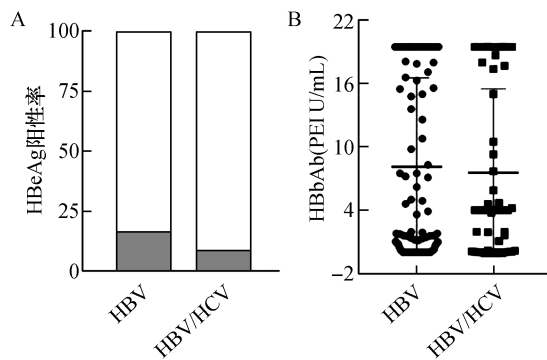


图4 两组患者 HBeAg 阳性率和 HBeAb 水平的比较

A: 两组患者 HBeAg 阳性率的比较(阴影部分为阳性);

B: 两组患者 HBeAb 水平的比较

3 讨论

本研究结果显示:与 HBV 单一感染患者相比, HBV/HCV 共感染患者年龄较大,这与另一项前瞻性队列研究中的情况一致^[7]。HBV/HCV 合并感染患者通常经围产期感染 HBV,而 HCV 感染主要通过输血传播,这在老年人群中更为常见。两组患者中都是以男性患者居多,主要与静脉吸毒人员中男性占据更高的比例有关。HBV/HCV 共感染患者进展为肝硬化,肝功能失代偿或 HCC 的风险高于 HBV 或 HCV 单一感染患者^[8-9]。有数据表明当两种病毒在肝细胞中共存时,可在致癌过程中起协同作用^[10]。在张宁等^[11]的研究中,共感染患者血清 ALT 及 AST 水平均明显高于单纯 HBV 感染患者。然而,本研究所收集样本的临床信息显示,HBV/HCV 共感染患者与 HBV 单感染患者相比两组样本的 ALT、AST 水平并无显著差异,且处在正常值范围。可能是由于本研究的两组患者在入组时均无明显的临床症状。我国流行的 HCV 有 1、2、3 和 6 四种基因型,北方主要流行基因型为 1b 和 2a 型,近年来 3 型和 6 型在华南、西南地区有快速传播的趋势。陈兵等^[12]研究同样发现静脉吸毒人群 HCV 感染者基因型分布具有地域性差异,在本研究所收集的均具有静脉吸毒史人群的 HBV/HCV 共感染样本中,HCV 基因型以 6a 和 3b 型为主,该结果与四川大学严丽波等^[13]的研究相符。

本研究的结果显示,HBV/HCV 共感染的患者 HBsAg 水平和 DNA 载量都显著低于 HBV 单感染患者,表明 HCV 感染可能与 HBV 感染存在竞争关系,部分相关研究同样支持这一设想^[14-15]。Wiegand SB 的研究也表明:与接受核苷类似物(NA)治疗的

HBV 单一感染患者相比,HBV/HCV 共感染患者 HBsAg 水平较低,且与低复制型 HBsAg 携带者相当^[16]。HBV/HCV 共感染可引起肝脏的坏死性炎症并可通过作用于 HCV 核心蛋白而降低 HBV-DNA 聚合酶活性^[17]。因此,HBV 感染者在发生急性 HCV 感染后,可发生自发的 HBeAg 血清转化和 HBsAg 清除^[18]。HBV 单感染患者 HBsAg 的丢失通常预后良好。但在 HBsAg 清除后,共感染患者的疾病进展风险依然存在,因为 cccDNA 在 HBsAg 清除后甚至在血清转化为抗-HBs 后仍然存在于肝脏中。

刘俊人等^[19]的研究表明,在合并 HBV/HCV 感染的患者中 HCV RNA 与 HBsAg 水平之间存在弱的负相关性,本研究显示在 HBV 单感染的患者中 HBV DNA 和 HBsAg 存在良好的相关性,然而在 HBV/HCV 共感染患者中相关性减弱,而且 HCV RNA 也与 HBsAg 不具有明显关联。提示在较健康的状态下,HCV 仍可能在一定程度上干扰 HBV DNA 复制。

本研究分析的两组队列都表现出比较低的 HBeAg 阳性率,而且两者之间的 HBeAg 阳性率无统计学差异。表明在共感染患者中 HCV RNA 尚未明显影响 HBeAg 的水平。两组患者中 HBeAb 的水平也无统计学差异,则表明 HCV RNA 未影响 HBeAg 血清转换后抗-HBe 的产生。

既往研究表明:与 HBV 单感染患者相比,HCV/HBV 共感染的患者更易发生严重的肝脏损害,肝硬化和 HCC 的发生率也显著升高^[9-10]。目前临床上,HBV 感染的治疗主要采用核苷类似物和干扰素,然而 HBV/HCV 共感染由于病毒的相互干扰,治疗也变得更为复杂。本研究发现 HBV/HCV 共感染组患者的 HBV DNA 阳性率、HBV DNA 载量以及 HBsAg 水平均显著低于 HBV 单感染组患者。这些结果提示:由于 HBV 和 HCV 同属肝源性病毒,病毒复制可能存在竞争关系,可能影响到病毒感染后最后的转归。本文研究对于 HBV/HCV 共感染静脉吸毒患者的治疗有一定的参考价值,尽管他们表现出低的 HBV DNA 载量以及 HBsAg 水平,但在治疗 HCV 感染的同时监测患者 HBV 病毒载量的水平以避免患者体内 HBV 发展为活跃的复制状态而给患者带来不利影响仍然十分必要。

参考文献:

- [1] KONSTANTINOU D, DEUTSCH M. The spectrum of HBV/HCV coinfection: epidemiology, clinical characteristics, viral interactions and management[J]. Ann Gastroenterol, 2015, 28(2): 221-8.

- [2] MEKKY MA, NASR AM, SALEH MA, et al. Virologic and histologic characterisation of dual hepatitis B and C co-infection in Egyptian patients[J]. Arab J Gastroenterol, 2013, 14(4): 143-7.
- [3] CHU CJ, LEE SD. Hepatitis B virus/hepatitis C virus coinfection: epidemiology, clinical features, viral interactions and treatment[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2008, 23(4): 512-20.
- [4] 李洪坪, 赵敖, 肖谭玲, 等. 佛山市顺德区首次美沙酮门诊吸毒人群 HIV、HBV、HCV 和梅毒感染状况调查[J]. 中国药物依赖性杂志, 2015, 24(2): 144-8.
- [5] KIELLAND KB, SKAUG K, AMUNDSEN EJ, et al. All-cause and liver-related mortality in hepatitis C infected drug users followed for 33 years: a controlled study[J]. J Hepatol, 2013, 58(1): 31-7.
- [6] SAGNELLI E, COPPALA N, PISSTURO M, et al. HBV superinfection in HCV chronic carriers: a disease that is frequently severe but associated with the eradication of HCV [J]. Hepatology, 2009, 49(4): 1090-7.
- [7] HUANG YT, JEN CL, YANG HI, et al. Lifetime risk and sex difference of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis B and C[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(27): 3643-50.
- [8] POL S, HAOUR G, FONTAINE H, et al. The negative impact of HBV/HCV coinfection on cirrhosis and its consequences[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2017, 46(11-12): 1054-60.
- [9] LI L, LAN X. Association between hepatitis B virus/hepatitis C virus infection and primary hepatocellular carcinoma risk: a meta-analysis based on Chinese population[J]. J Cancer Res Ther, 2016, 12(Supplement): C284-7.
- [10] CACCAMO G, SAFFIOTI F, RAIMONDO G. Hepatitis B virus and hepatitis C virus dual infection[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(40): 14559-67.
- [11] 张宁, 薛红元, 赵彩彦. HBV/HCV 重叠感染患者临床特点分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2017, 20(6): 697-700.
- [12] 陈兵, 马仲慧, 常浩, 等. 我国部分地区静脉吸毒人群 HCV 基因型分布的探讨[J]. 中国艾滋病性病, 2017, 23(8): 691-4.
- [13] YAN LB, RAO HY, MA YJ, et al. Hepatitis B virus infection in Chinese patients with hepatitis C virus infection: prevalence, clinical characteristics, viral interactions and host genotypes: a nationwide cross-sectional study[J]. BMJ Open, 2016, 6(10): e012016.
- [14] SATO S, FUJIYAMA S, TANAKA M, et al. Coinfection of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B infection[J]. J Hepatol, 1994, 21(2): 159-66.
- [15] FATTOVICH G, TAGGER A, BROLLO L, et al. Hepatitis C virus infection in chronic hepatitis B virus carriers [J]. J Infect Dis, 1991, 163(2): 400-2.
- [16] WIEGAND SB, JAROSZEWICZ J, POTTHOFF A, et al. Dominance of hepatitis C virus (HCV) is associated with lower quantitative hepatitis B surface antigen and higher serum interferon-gamma-induced protein 10 levels in HBV/HCV-coinfected patients [J]. Clin Microbiol Infect, 2015, 21(7): 710e1-9.
- [17] YU G, CHI X, WU R, et al. Replication inhibition of hepatitis B virus and hepatitis C virus in co-infected patients in chinese population[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0139015.
- [18] LIAW YF, LIN SM, SHEEN IS, et al. Acute hepatitis C virus superinfection followed by spontaneous HBeAg seroconversion and HBsAg elimination[J]. Infection, 1991, 19(4): 250-1.
- [19] YANG WT, WU LW, TSENG TC, et al. Hepatitis B surface antigen loss and hepatocellular carcinoma development in patients with dual hepatitis B and C infection [J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(10): e2995.

(本文编辑:蒋湘莲)