

## 乙型肝炎病毒前-S1 抗原研究进展

郑书琴 蔺淑梅 叶峰 张曦 吴列秀

乙型病毒性肝炎在我国发病率高,其快速诊断和治疗是临床研究的重要课题。随着医学的发展,对乙型肝炎病毒(HBV)感染的认识逐渐加深。过去临床筛查以HBV表面标志物为主,部分有条件的医院加查HBV DNA定量,从而对HBV是否复制、传染性及临床预后等进行监测。但由于HBV血清学指标在病程不同时期转换模式多样,尤其是HBV变异等原因,使临床诊断困难。随着科学的发展,HBV前-S1抗原检测的地位越来越重要,许多研究发现其在乙型肝炎早发现、早诊断、早治疗、疗效及预后等方面有重要意义,现就近年关于前-S1抗原的相关研究综述如下。

### 一、前-S1 抗原的免疫原性

在空间结构上,前-S1区域位于完整HBV病毒颗粒的表面,与病毒的装配和感染密切相关。研究发现前-S1(21~47 aa)肽段是HBV特异性结合肝细胞的主要位点,且前-S1序列中含有丰富的T细胞与B细胞表位,相当一部分位于21~47 aa区域,因而前-S1区段具有良好的免疫原性,参与宿主对病毒的免疫识别,在HBV感染早期就能诱导产生相应抗体。前-S1抗原是HBV外膜蛋白(S、前-S2和前-S1)成分之一,有研究发现HBV表面抗原HBsAg、抗-HBs共存与前-S区缺失突变之间的联系,发现前-S区突变形免疫选择,致HBV持续感染并可加速疾病的进程及恶化<sup>[1]</sup>,亦有研究表明其与肝癌发生相关。

Hellström等<sup>[2]</sup>通过对28例新生儿进行第三代重组乙肝疫苗接种研究,比较前-S1抗体与抗-HBs的产生,发现前-S1抗原有较强的免疫原性,能刺激机体免疫应答。疫苗中前-S1抗原氨基酸序列的存在明显提高了接种后抗-HBs的产生率。Skrastina等<sup>[3]</sup>研究验证了前-S1抗原区段在疫苗中的强免疫原性,可以激发体液免疫及细胞免疫,该区段缺失亦可致免疫选择,可能与肝损伤及疾病转归相关。

### 二、前-S1 抗原在 HBV 感染中的意义

前-S1抗原主要存在于Dane颗粒和管型颗粒中,是成熟病毒体的重要组成部分,病毒只要具有该区段,便具有感染性,其在病毒感染、装配、复制和刺激机体产生免疫反应等方面至关重要。

Chi等<sup>[4]</sup>研究发现,缺失前-S1抗原26~30氨基酸序列的病毒即丧失感染力,不能进入肝细胞,进一步证实其在HBV感染肝细胞中的决定性地位。Tang

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2010.04.016

基金项目:“十一五”重大传染病防治科技重大专项(2008ZX10202)

作者单位:710061 西安市,西安交通大学第一附属医院感染科

通讯作者:蔺淑梅,Email:lsmxjtu@126.com

等<sup>[5]</sup>利用前-S1 抗原作为 HBV 进入肝细胞的结合位点,建立了含有前-S1 片段的重组噬菌体,成功转染肝细胞,证实了前-S1 抗原在 HBV 进入肝细胞中的重要地位,同时该特性已被用于基因治疗。通过重组前-S 抗原不同区段研究发现,全长前-S 区具有不稳定性,其结构稳定性由前-S1-120 区段的完整折叠决定,构建稳定的前-S1 抗原结构,对阐明 HBV 的感染机制有重要作用<sup>[6]</sup>。

上述研究表明,前-S1 抗原在 HBV 感染肝细胞的过程中起着重要作用,更深入研究对进一步阐明乙型肝炎发病机制及寻找治疗方法上新突破有重要意义。

### 三、前-S1 抗原在 HBV 诊断中的意义

随着对前-S1 抗原在 HBV 感染及机体免疫反应方面的深入研究,发现前-S1 抗原的检测有重要临床意义,是目前已有诊断手段的有力补充。

熊杰等<sup>[7]</sup>对 2902 份血清研究发现,452 份前-S1 抗原阳性标本均为 HBsAg 阳性,且检出率随 HBsAg 滴度上升而升高,而在 HBsAg 阴性的血清中未检出。国内外研究通过酶联免疫吸附试验检测前-S1 抗原,结果显示与 HBV DNA 载量具有正相关性<sup>[8]</sup>。王苏平等<sup>[9]</sup>发现在 HBsAg 阳性的样品中行前-S1 抗原及 HBV DNA 检测,两者符合率达 90% 以上,尤其在急性肝炎两者符合率达 97.89%。

以上研究表明,前-S1 抗原的检测与现有检测手段有较好的相关性,并提示有早期诊断的价值,是目前乙型肝炎诊断的一项重要手段。有报道亚洲平均 50% 的 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎患者存在前-C 区突变,HBeAg 分泌减少而出现了 HBeAg 阴性,检测前-S1 抗原可检出因 HBV 变异及其他原因造成 HBeAg 阴性的患者。近年,郭继中等<sup>[10]</sup>研究比较前-S1 抗原、HBV DNA、HBeAg 反映 HBV 复制的临床应用价值,结果发现前-S1 抗原阳性率为 87.5%,HBV DNA 阳性率 71.1%,HBeAg 阳性率 37.1%,三者有显著性差异,提示前-S1 抗原的检测能更好反映 HBV 复制状态和传染性。但李文丽等<sup>[11]</sup>对前-S1 抗原和 HBV DNA 在 HBV 感染动态诊断价值的研究发现,在 HBV 感染早期前-S1 抗原价值优于 HBV DNA,次早期两者具有高度一致性,而感染恢复期前-S1 抗原判断价值不如 HBV DNA。

总之,前-S1 抗原与 HBV DNA 密切相关,其较 HBeAg 能更敏感反映 HBV 复制的情况,尤其可反映 HBeAg 阴性患者的 HBV 复制状况。前-S1 抗原出现在 HBV 感染最早期,可早期诊断 HBV 感染,亦有研究显示其价值具有动态性,故对前-S1 抗原还需进一步研究。

### 四、前-S1 抗体的研究及意义

随着对 HBV 前-S1 抗原的研究越来越多,其相应抗体也受到了更多关注,两者在乙型肝炎发病机制及治疗中均有重要的研究意义。

前-S1 抗原可刺激机体产生抗体,参与 HBV 的清除与中和。国外应用含前-S1 抗原的重组 HBV 表面抗原刺激小鼠产生抗体,将其用于疫苗,期望产生的前-S1 抗体与抗原结合,竞争肝细胞表面受体,阻断 HBV 进入肝细胞,进而减少甚至切断 HBV 对肝脏的侵害<sup>[12]</sup>。也有研究监测患者体内的前-S1 抗体,发现急性乙型肝炎患者体内前-S1 抗体阳性率高于慢性乙型肝炎患者<sup>[13]</sup>,对 11 例血清前-S1

抗体阳性患者进行临床随访研究发现,10例急性乙型肝炎中有6例患者在5~6个月内发生了HBsAg和HBV DNA清除,1例接受拉米夫定抗病毒治疗的慢性乙型肝炎患者体内发生了HBeAg血清学转换和HBV DNA清除。急性期前-S1抗体的出现是机体在短期内清除病毒的表现,而在慢性乙型肝炎中前-S1抗体存在同样提示疾病恢复及机体状态好转,前-S1抗体被认为是预示乙型肝炎患者康复的重要标志。在体外进行的前-S1抗体与抗原的中和反应,虽目前尚不能用于临床,但提示高亲和性的成熟的人源化抗体或许对抗病毒有一定作用<sup>[14]</sup>,认为前-S1抗体的存在可避免HBV感染。亦有研究显示患者体内前-S1抗体的存在可预测干扰素抗病毒治疗的疗效,在临床上可优化干扰素抗病毒治疗的对象选择<sup>[15]</sup>。

前-S1抗体的检测可望成为临床诊断、临床疗效观察及预后判断的新指标,对HBV前-S1抗原及抗体进一步研究可能揭示乙型肝炎发病机制,并对个体化治疗提供指导。

#### 五、前-S1抗原的检测方法

近年来,人们逐渐认识到前-S1抗原对乙型肝炎的诊断意义,如何准确及时的检测患者体内的前-S1抗原,将会充分发挥其临床价值。

目前前-S1抗原的检测主要采用酶联免疫吸附试验(ELISA),众多研究利用该法定性检测前-S1抗原,对前-S1抗原的意义得出了较为肯定的结论。但ELISA法灵敏度低,线性范围窄,酶标记物不稳定。近年应用双抗体夹心免疫荧光分析方法建立了时间分辨荧光免疫分析法(TRFIA)。有研究表明,TRFIA法阳性率高于ELISA法( $P < 0.01$ ),对17例用ELISA法检测前-S1抗原为阴性的标本,用TRFIA检测为阳性<sup>[16]</sup>。对这17例标本进行HBV DNA定量检测,其中11例标本HBV DNA阳性,另6例为阴性。证明其具有灵敏度高、重复性好、特异性强、检测范围宽等优点,正逐渐被各种研究所接受。

通过建立较好的方法检测前-S1抗原,为乙型肝炎发病机制、治疗方法、预后及疗效判断寻找更多的突破点。

综上所述,近年来前-S1抗原得到了更多重视。目前以慢性乙型肝炎患者前-S1抗原定性研究为主,定量研究较少,对于前-S1抗原在乙型肝炎患者体内的情况,与患者疾病状态及预后的相关性,有待进一步研究。另外,重型乙型肝炎发病机制复杂、病死率高,疾病状况受机体和病毒两方面因素影响,对患者体内前-S1抗原进一步研究,定量检测前-S1抗原可能更准确、敏感、及时地反映乙型肝炎患者机体的免疫状态及疗效,探寻HBV感染及疾病重症化的机制,这无论是对基础还是临床都非常必要。

#### 参 考 文 献

- 1 Huang X, Qin Y, Zhang P, et al. PreS deletion mutations of hepatitis B virus in chronically infected patients with simultaneous seropositivity for hepatitis-B surface antigen and anti-HBs antibodies. *J Med Virol*, 2010, 82(1): 23-31.
- 2 Hellström UB, Madalinski K, Sylvan SP. PreS1 epitope recognition in newborns after vaccination with the third-generation Sci-B-



- Vac vaccine and their relation to the antibody response to hepatitis B surface antigen. *Virology*, 2009, 6(7):1-7.
- 3 Skrastina D, Bulavaite A, Sominskaya I, et al. High immunogenicity of a hydrophilic component of the hepatitis B virus preS1 sequence exposed on the surface of three virus-like particle carriers. *Vaccine*, 2008, 26(16):1972-1981.
  - 4 Chi SW, Kim J, Yi GS, et al. Broadly neutralizing anti-HBV antibody binds to non-epitope regions of preS1. *FEBS Lett*, 2009, 583(18):3095-3100.
  - 5 Tang KH, Yusoff K, Tan WS. Display of Hepatitis B Virus PreS1 peptide on bacteriophage T7 and its potential in gene delivery into HepG2 cells. *J Virol Methods*, 2009, 159(2):194-199.
  - 6 Lian M, Zhou X, Chen B, et al. Identification of the critical regions in hepatitis B virus preS required for its stability. *J Pept Sci*, 2008, 14(3):307-312.
  - 7 熊杰, 朱敏, 王丰昌, 等. 前 S1 抗原与乙肝标志物检测的对比分析. *西南军医*, 2005, 7(1):18-19.
  - 8 骆荣, 陶宏坤. 乙肝病毒前 S1 蛋白相对滴度与 HBV-DNA 定量表达相关性研究. *数理医药学杂志*, 2008, 21(6):672-673.
  - 9 王苏平, 范建华. 乙型肝炎病毒前 S1 抗原的研究分析. *口岸卫生控制*, 2008, 13(4):22-23.
  - 10 郭继中, 胡志刚, 陈国千, 等. PreS1、HBV-DNA、HBsAg 反映乙肝病毒复制的临床应用研究. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2008, 17(11):907-908.
  - 11 李文丽, 蒲荣, 陈亚芹. 前 S1 抗原和 DNA 在 HBV 感染的动态价值. *中国医疗前沿*, 2009, 4(9):49-50.
  - 12 Qian B, Shen H, Liang W, et al. Immunogenicity of recombinant hepatitis B virus surface antigen fused with preS1 epitopes expressed in rice seeds. *Transgenic Res*, 2008, 17(4):621-631.
  - 13 Wei J, Wang YQ, Lu ZM, et al. Detection of anti-preS1 antibodies for recovery of hepatitis B patients by immunoassay. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(2):276-281.
  - 14 Yang GH, Yoon SO, Jang MH, et al. Affinity maturation of an anti-hepatitis B virus preS1 humanized antibody by phage display. *J Microbiol*, 2007, 45(6):528-533.
  - 15 Hellström UB, Lindh M, Krogsgaard K, et al. Demonstration of an association between detection of IgG antibody reactivity towards the C-terminal region of the preS1 protein of hepatitis B virus and the capacity to respond to interferon therapy in chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol*, 2008, 23(5):804-810.
  - 16 郭继中, 胡志刚, 陈国千, 等. TRFIA 与 ELISA 法检测乙型肝炎病毒前 S1 抗原对比分析. *中国中西医结合消化杂志*, 2007, 15(2):171-173.

(收稿日期:2010-03-24)

(本文编辑:孙荣华)

郑书琴, 蔺淑梅, 叶峰, 等. 乙型肝炎病毒前-S1 抗原研究进展[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志:电子版*, 2010, 4(4):451-454.