

乙肝病毒外膜大蛋白检测在临床诊断与治疗中的意义^{*}

何丽苇¹ 陈会欣¹

[摘要] 目的:对乙肝病毒血清学标志物 HBV-M(包括 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb),乙肝病毒外膜大蛋白(HBV-Lp),乙肝病毒前 S1 抗原(HBV-Pres1)和乙肝病毒脱氧核糖核酸(HBV-DNA)联合检测结果进行比较,观察乙肝病毒外膜大蛋白(HBV-Lp)检测在临床诊断治疗乙肝中的应用价值,寻求比现有常规检测更敏感、更准确的实验室乙肝检测方法。**方法:**将感染科 461 例标本分成 5 组进行比较分析:78 例乙肝表面抗原(吸收度 A 值 ≤ 1)阴性血清标本为 A 对照组;9 例 HBsAg 弱阳性(吸收度 A 值为 1~2)血清标本为 B 组;201 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 ≥ 2)且 HBV-DNA 含量 $\leq 5 \times 10^2$ IU/ml 的血清标本为 C 组;133 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 ≥ 2)且 HBV-DNA 含量 $5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^5$ IU/ml 的血清标本为 D 组;40 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 ≥ 2)且 HBV-DNA 含量 $> 5 \times 10^5$ IU/ml 的血清标本为 E 组。用酶联免疫吸附法检测 HBV-M,HBV-Lp 和 HBV-Pres1,PCR-荧光探针法定量检测 HBV-DNA。**结果:**A 组和 B 组未见 Pre-S1 和 HBV-LP 结果异常。C、D、E 组中 HBeAg 的阳性率依次为 0.99%,6.02%,77.50%;Pre-S1 的阳性率依次为 29.35%,42.86%,90.00%;HBV-LP 的阳性率依次为 38.31%,55.64%,95.00%,HBV-LP、HBeAg 和 Pre-S1 的阳性率可能性均随着 HBV-DNA 含量的增加而增大($P < 0.05$)。C、D、E 组中 HBeAg、Pre-S1 和 HBV-LP 的检出率分别为 10.96%,40.64%,50.53%,HBV-LP 的检出率明显高于 HBeAg 和 Pre-S1 的检出率($P < 0.05$)。通过对相同 HBV-DNA 含量组的 HBV-LP、HBeAg 和 Pre-S1 阳性率进行统计学 *t* 检验比较,可以看出 HBV-LP 的检出率明显高于 HBeAg 和 Pre-S1 的检出率($P < 0.05$)。C、D、E 组中 HBV-LP 的平均吸收度 A 值依次为 2.53,5.35,13.93。HBV-DNA 含量的增加伴随着有 HBV-LP 浓度的增加($P < 0.05$)。**结论:**HBV-LP 检测比 HBeAg 和 Pre-S1 检测敏感性强,被检出的可能性更大,漏检的可能性更小。HBV-LP 检测与 HBV-DNA 检测呈正相关性,HBV-LP 在 HBsAg 阳性而 HBV-DNA 检测阴性时有理想的检出率,可能会对乙型肝炎诊断治疗进行补充作用。

[关键词] 乙肝大蛋白;乙肝前 S1 抗原;乙肝脱氧核糖核酸;乙肝血清标志物

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.08.005

[中图分类号] **[文献标志码]** A

Clinical significance of hepatitis B virus large protein detection in clinical diagnosis and treatment

HE Liwei CHEN Huixin

(Department of Blood Transfusion, Wuhan NO. 1. Hospital, Wuhan, 430022, China)

Corresponding author: CHEN Huixin, E-mail: huixincheng2007@163.com

Abstract Objective: By comparing the result of serological markers for hepatitis B virus HBV-M(including HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb), hepatitis B virus large outer membrane protein(HBV-Lp), former S1 antigen hepatitis B virus(HBV Pres1)and hepatitis B virus DNA(HBV DNA), observe the value of hepatitis B virus large outer membrane protein(HBV-Lp)in the clinical diagnosis and treatment of viral hepatitis B, to seek a more sensitive and accurate method of laboratory testing than the existing conventional detection. **Method:** The 461 specimens from the Infectious Disease Department of the hospital were divided into five groups for comparison and analysis: 78 cases of serum specimens with HBsAg negative(absorbance A value is ≤ 1)for control group A; 9 cases of serum specimens with HBsAg weak positive(absorbance A value is 1-2)were in group B; 201 cases of serum specimens with HBsAg positive(absorbance A value is ≥ 2)and HBV-DNA content $\leq 5 \times 10^2$ IU/ml were in group C; 133 cases of serum specimens with HBsAg positive(absorbance A value is ≥ 2)and HBV-DNA content $5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^5$ IU/ml were in group D; 40 serum samples with HBsAg positive(absorbance A value is ≥ 2)and HBV-DNA content $> 5 \times 10^5$ IU/ml were group E. HBV-M, HBV-Lp and HBV-Pres1 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and HBV-DNA was quantitatively detected by PCR-fluorescence probe method. **Result:** No abnormalities of Pre-S1 and HBV-LP were found in groups A and B. The positive rates of HBeAg in the C, D and E groups were 0.99%, 6.02%, and 77.50%, respectively; the positive rates of Pre-S1 were 29.35%, 42.86%, and

^{*} 基金项目:武汉市卫生计生委医疗卫生科研资助项目(No:WX15B16)

¹ 武汉市第一医院输血科(武汉, 430022)

通信作者:陈会欣, E-mail: huixincheng2007@163.com

90.00%, respectively; the positive rate of HBV-LP was 38.31%, 55.64%, 95.00%. The positive possibility of HBV-LP, HBeAg and Pre-S1 increased with the increase of HBV-DNA content ($P < 0.05$). The detection rates of HBeAg, Pre-S1, and HBV-LP in the C, D, and E groups were 10.96%, 40.64%, and 50.53%, respectively. The detection rate of HBV-LP was significantly higher than that of HBeAg and Pre-S1 ($P < 0.05$). By comparing the HBV-LP, HBeAg, and Pre-S1 positive rates of the same HBV-DNA content group by statistical t test, it can be seen that the detection rate of HBV-LP is significantly higher than the detection rate of HBeAg and Pre-S1 ($P < 0.05$). The average absorbance A values of HBV-LP in the C, D, and E groups were 2.53, 5.35, and 13.93, respectively. The increase in HBV-DNA content was accompanied by an increase in HBV-LP concentrations ($P < 0.05$).

Conclusion: HBV-LP has a more sensitive and higher detection rate than HBeAg and Pre-s1. The detection of HBV-LP was positively correlated with the detection of HBV-DNA, HBV-LP had an ideal detection rate when HBsAg was positive and HBV-DNA was negative, which may complement the diagnosis and treatment of hepatitis B.

Key words HBV-LP; HBV Pres1; HBV-DNA; HBV-M

乙型肝炎是我国当前最为广泛流行的一种病毒疾病,有 7.18% 的人群为乙肝表面抗原携带者^[1],长期的慢性乙肝体内病毒对肝细胞的损害有造成肝纤维化或肝硬化的可能,少部分甚至会发展成肝癌^[2]。近年来随着人们对乙肝病毒外膜蛋白 S 区的深入研究,乙肝病毒外膜大蛋白(HBV-LP)已渐渐成为研究的热点,主蛋白(HBsAg)、中蛋白(由 HBsAg 和 HBV-Pres2 组成)、大蛋白(由 HBsAg、HBV-Pres2 和 HBV-Pres1 组成)是乙肝病毒的 3 种外膜蛋白,它们都是由 HBV 的 S 区基因编码而得^[3],乙肝大蛋白(HBV-LP)具有复杂的跨膜构象拓扑结构,可在病毒包膜外侧结合易感病毒受体,在病毒包膜内结合病毒核壳体膜,其含有的 PreS 蛋白对乙肝病毒具有反式激活增强作用,能介导 HBV 感染细胞,影响病毒复制,使预后不好^[4]。本研究对乙肝病毒血清学标志物 HBV-M (包括 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb),乙肝病毒外膜大蛋白(HBV-Lp),乙肝病毒前 S1 抗原(HBV-Pres1)和乙肝病毒脱氧核糖核酸(HBV-DNA)联合检测结果进行比较,观察 HBV-Lp 检测在临床诊断治疗乙肝中的应用价值,寻求比现有常规检测更敏感、更准确的实验室乙肝检测方法。

1 材料与方法

1.1 研究对象

采集来自我院 2016-01—2017-04 感染性疾病的 461 例患者血清,78 例乙肝表面抗原阴性(吸收度 A 值 < 1)血清标本为对照组 A;9 例 HBsAg 弱阳性(吸收度 A 值为 1~2)血清标本为 B 组;201 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 > 2)且 HBV-DNA 含量 $< 5 \times 10^2$ IU/ml 的血清标本为 C 组;133 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 > 2)且 HBV-DNA 含量 ($5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^5$) IU/ml 的血清标本为 D 组;40 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 > 2)且 HBV-DNA 含量 $> 5 \times 10^5$ IU/ml 的血清标本为 E 组。

1.2 仪器与试剂检测仪器

1.2.1 仪器 MB-580 酶标仪购自深圳市汇松科

技发展有限公司;BIO-PAD LFX-96 实时荧光定量 PCR 仪购自凯杰生物工程(深圳)有限公司;PW-999 酶标洗板仪购自深圳市汇松科技发展有限公司;离心机购自北京白洋医疗器械有限公司;微孔板脱水仪 BIOS-401 购自北京博奥赛斯有限公司。

1.2.2 试剂 HBV-Lp 购自北京热景生物技术有限公司;HBV-Pres1 购自上海阿尔法生物技术有限公司;HBV-M 购自上海科华生物工程股份有限公司。

1.3 检测方法

用酶联免疫吸附法检测 HBV-M, HBV-Lp 和 HBV-Pres1,用 PCR-荧光探针法定量检测 HBV-DNA。

1.4 统计方法

将实验数据输入到 Excel 表中,采用 SPSS 18.0 软件进行统计学处理。HBeAg、Pre-S1、HBV-LP 阳性率的差异比较采用 χ^2 检验;HBV-LP 平均吸收度 A 值在不同 HBV-DNA 含量组间的差异比较采用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

A 组和 B 组 HBeAg、Pre-S1 和 HBV-LP 均为阴性。C 组 HBV-LP 为阳性的标本数明显多于 HBeAg 为阳性的标本数和 Pre-S1 为阳性的标本数,结果比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 C 组 HBeAg、Pre-S1、HBV-LP 结果对比

检测项目	总例数	阳性例数	阳性率/%
HBeAg	201	2	1.00 ¹⁾
Pre-S1	201	59	29.35
HBV-LP	201	77	38.31

与 Pre-S1 和 HBV-LP 阳性率比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。

D 组 HBV-LP 为阳性的标本数明显多于 HBeAg 为阳性的标本数和 Pre-S1 为阳性的标本

数,结果比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 D 组 HBeAg、Pre-S1、HBV-LP 结果对比

检测项目	总例数	阳性例数	阳性率/%
HBeAg	133	8	6.02 ¹⁾
Pre-S1	133	57	42.86 ¹⁾
HBV-LP	133	74	55.64

与 HBV-LP 阳性率比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

E 组 HBV-LP 为阳性的标本数明显多于 HBeAg 为阳性的标本数和 Pre-S1 为阳性的标本数,结果比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 E 组 HBeAg、Pre-S1、HBV-LP 结果对比

检测项目	总例数	阳性例数	阳性率/%
HBeAg	40	31	77.5 ¹⁾
Pre-S1	40	36	90.0
HBV-LP	40	38	95.5

与 HBV-LP 阳性率比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

374 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 >2)标本中,HBV-LP 为阳性的标本数明显多于 HBeAg 为阳性的标本数和 Pre-S1 为阳性的标本数,结果比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 374 例 HBsAg 阳性标本 HBeAg、Pre-S1、HBV-LP 结果对比

检测项目	总例数	阳性例数	阳性率/%
HBeAg	374	41	10.96 ¹⁾
Pre-S1	374	152	40.64 ¹⁾
HBV-LP	374	189	50.53

与 HBV-LP 阳性率比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

374 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 >2)标本中,随着 HBV-DNA 含量的增加 HBeAg 的阳性率依次为 0.99%,6.02%,77.50%。HBeAg 阳性率和 HBV-DNA 的含量呈正相关性($P<0.05$),见表 5。

表 5 HBeAg 检测与 HBV-DNA 含量的比较

HBV-DNA 含量/ (IU · ml ⁻¹)	总例数	阳性例数	阳性率/%
$<5 \times 10^2$	201	2	1.00 ¹⁾
$5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^5$	133	8	6.02 ¹⁾
$>5 \times 10^5$	40	31	77.50

与 $>5 \times 10^5$ 含量组比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

374 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 >2)标本中,

随着 HBV-DNA 含量的增加 Pre-S1 的阳性率依次为 29.35%,42.86%,90.00%。Pre-S1 阳性率和 HBV-DNA 的含量呈正相关性($P<0.05$),见表 6。

表 6 Pre-S1 检测与 HBV-DNA 含量的比较分析

HBV-DNA 含量/ (IU · ml ⁻¹)	总例数	阳性例数	阳性率/%
$<5 \times 10^2$	201	59	29.35 ¹⁾
$5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^5$	133	57	42.86 ¹⁾
$>5 \times 10^5$	40	36	90.00

与 $>5 \times 10^5$ 含量组比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

374 例 HBsAg 阳性(吸收度 A 值 >2)标本中,随着 HBV-DNA 含量的增加 HBV-LP 的阳性率依次为 38.31%,55.64%,95.00%。HBV-LP 阳性率和 HBV-DNA 的含量呈正相关性($P<0.05$),见表 7。

表 7 HBV-LP 检测与 HBV-DNA 含量的比较分析

HBV-DNA 含量/ (IU · ml ⁻¹)	总例数	阳性例数	阳性率/%
$<5 \times 10^2$	201	77	38.31 ¹⁾
$5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^5$	133	74	55.64 ¹⁾
$>5 \times 10^5$	40	38	95.00

与 $>5 \times 10^5$ 含量组比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

HBV-DNA 含量与 HBV-LP 的吸收度 A 值的比较分析:C 组 HBV-LP 的平均吸收度 A 值为 2.53;D 组 HBV-LP 的平均吸收度 A 值为 5.35;40 例 E 组 HBV-LP 的吸收度 A 值为 13.93。可以看出 HBV-DNA 含量的增加伴随着 HBV-LP 浓度的增加,结果比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

目前临床常根据不同的乙肝两对半结果模式来判断患者传染性和病程,对乙肝进行抗病毒治疗时,非常重视血清 HBeAg 检测结果^[5],当检测出 HBeAg 阳性结果时,认为乙肝患者体内病毒复制旺盛,接触易被感染,一旦 HBeAg 由阳性转为阴性,即认为乙肝患者体内病毒复制减弱,病情缓解临床 HBeAg 阴性而伴有高水平的 HBV-DNA 的慢性乙型肝炎逐渐增多。我国慢性 HBV 感染者,尤其是肝硬化的患者中 HBeAg 阴性者高达 99% 以上^[6],有一些 HBV 基因会出现前 C 区域或核心启动因子发生变异的现象,这种变异现象会造成 HBeAg 合成出现障碍^[7],这部分慢性乙肝患者的 HBeAg 检测结果不能作为判断抗病毒疗效评价的指标。在本研究 D 组和 E 组,HBeAg 阳性率分别为 6.02%,77.50%,说明部分 HBeAg 转阴的患者体内不能完全排除 HBV 病毒复制和感染的可能,

HBeAg 转阴不能作为临床乙肝抗病毒药物治疗过程中疗效评价和停药的唯一标准,与上述参考文献结果一致^[7]。

编码前 S1 抗原的前 S1 区基因含有能识别肝脏细胞受体的基因序列,是乙肝病毒与肝脏细胞的结合点^[8],介导病毒侵袭人体肝细胞,也是检测乙肝病毒的一个指标。目前的 Pre-S1 抗原试剂盒都是根据其线性结构制备成单克隆抗体,其蛋白组分序列因易发生折叠、卷曲而出现暴露不全,难免会出现灵敏度不高,漏检现象,Pre-S1 检出率较低。编码 HBV-LP 的蛋白表位是双重拓扑结构^[9],根据其双重拓扑结构制备成的单克隆抗体亲和力高,灵敏度高,漏检率降低,HBV-LP 有较高的检出率。本研究结果显示,在 C、D、E 3 组中随着 HBV-DNA 含量的增加 Pre-S1 的阳性率依次为 29.35%,42.86%,90.00%;HBV-LP 的阳性率依次为 38.31%,55.64%,95.00%。HBV-LP 阳性标本数和 Pre-S1 阳性标本数均随着 HBV-DNA 的含量的增加而增多,呈正相关性($P < 0.05$)。在相同 HBV-DNA 含量组,HBV-LP 阳性标本数量明显多于 Pre-S1 阳性标本数量,差异有统计学意义($P < 0.05$),与程振波等^[10]研究结果相同。

临床以 HBV-DNA 的含量作为乙肝抗病毒治疗的金标准^[11],认为 HBV-DNA 阴性,表示乙肝病人体内病毒已无复制现象,可停止治疗用药。但近些年来,临床反应有一些患者血清 HBV-DNA 检查阴性,停止用药后病情却会出现复发现象,经肝脏细胞组织切片能检测出 cccHBV-DNA 的复制^[12]肝细胞具有前 S 蛋白的氨基酸 21~47 片段的结合点,如果病毒具有完整的前 S 蛋白的氨基酸 21~47 片段便可感染肝细胞,介导宿主的免疫应答,前 S 蛋白的这一功能使其能反式激活病毒复制。亚病毒颗粒虽不具有核衣壳蛋白及核酸 DNA,但其完整的外膜内含有具有反式激活病毒复制功能的前 S 蛋白,从而使亚病毒颗粒在病毒复制包装时发挥重要作用^[9]。抗病毒治疗的药物都只能抑制 DNA 的再复制,对病毒蛋白的继续表达无能为力,一段时间患者体内会继续存在有以病毒 DNA 为模板的转录和病毒蛋白的转译表达而生成的亚病毒颗粒,细胞内长期有亚病毒颗粒的存在会损害肝纤维组织,使肝细胞液化和凋亡,由于亚病毒颗粒的反式激活作用,病毒得于继续复制,最终引起疾病复发^[13]。在本研究,如表 8 所示,C 组 HBV-LP 的平均吸收度 A 值为 2.53;D 组 HBV-LP 的平均吸收度 A 值为 5.35;E 组 HBV-LP 的平均吸收度 A 值为 13.93。可以看出 HBV-DNA 含量的增加伴随着 HBV-LP 浓度的增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。从表 1 结果显示,C 组有 0.99% 的标本 HBeAg 检测阳性,29.35% 的标本

Pre-S1 检测阳性,38.31% 的标本 HBV-LP 检测阳性;从表 2 结果显示,D 组有 6.02% 的标本 HBeAg 检测阳性,42.86% 的标本 Pre-S1 检测阳性,55.64% 的标本 HBV-LP 检测阳性;从表 3 结果显示,E 组有 77.50% 的标本 HBeAg 检测阳性,90.00% 的标本 Pre-S1 检测阳性,95.00% 的标本 HBV-LP 检测阳性。在相同组,HBV-LP 为阳性的标本数明显多于 HBeAg 为阳性的标本数和 Pre-S1 为阳性的标本数,差异有统计学意义($P < 0.05$)。C 组有 77 例 HBV-LP 阳性标本,其阳性率为 38.31%。说明在 HBV-DNA 血清检测阴性时,患者体内有可能会存在病毒外膜,有反式激活病毒继续复制引起疾病复发的潜在危险。

总之,乙型肝炎是目前我国常见的一种病毒性传染病,其主要损害肝脏组织,长期的慢性乙肝有转化成肝硬化或者肝癌的隐患。乙肝病毒检查已作为输血和血液制品的必检项目,有必要尽可能的减少 HBV 漏检概率,找出灵敏、直接、简单的检测方法。对本研究最终检测结果进行比较分析得出以下结论:①可以将 HBV-LP 检测作为乙肝疗效监测的一项指标,其与 HBV-DNA 有很好的相关性,抗病毒治疗后 HBV-DNA 检测转阴时有必要进行 HBV-LP 检测,避免出现判断不准确提早停药而出现的病情反弹现象。②HBV-LP 比 HBeAg 和 Pre-S1 更能灵敏的反映患者体内病毒的复制情况,准确掌握乙肝疾病的活动状况,尤其是对进行抗病毒治疗的 e 抗原检测阴性的慢性乙肝患者进行 HBV-LP 检查,能更准确的反映实际病程,有助于制定更好的治疗方案。③HBV-LP 操作简单,相比较 HBV-DNA 检测费用更实惠,适合基层推广应用。

参考文献

- [1] 王金霞,赵玉良,马景臣. 乙型肝炎病毒基因型研究进展[J]. 实用预防医学杂志,2017,24(12):1539—1542.
- [2] Churin Y, Roderfeld M, Roeb E. Hepatitis B virus large surface protein: function and fame[J]. Hepatobiliary Surg Nutr,2015,4:1—10.
- [3] Li YW, Yang FC, Lu HQ, et al. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B surface protein[J]. World Gastroenterol,2016,22:1943—1952.
- [4] Hartmann-Stühler C, Prange R. Hepatitis B Virus Large Envelope Protein Interacts with γ 2-Adaptin, a Clathrin Adaptor-Related Protein[J]. J Virol,2001,75:5343—5351.
- [5] 谢冬英,林炳亮,徐启桓,等. 基线 HBeAg 水平对 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎阿德福韦酯治疗的预测价值[J]. 中华临床医师杂志,2010,4(8):1251—1255.
- [6] 李俊茜,庄辉,杜珩,等. 乙型肝炎 e 抗原阴性慢性乙型肝炎患者病毒基因型及丙氨酸转移酶水平分析[J]. 中华肝病杂志,2005,13(7):491—493.

DAPK 启动子区异常甲基化模式在白血病 诊断分型中的价值分析*

阮红刚¹ 赵铮¹ 许腊梅² 付潮鸿¹

[摘要] 目的:探讨抑癌基因 DAPK 启动子区异常甲基化模式作为潜在肿瘤标志物在白血病诊断分型中的价值。方法:采取亚硫酸氢盐测序法(BSP)对白血病细胞株和正常人外周血白细胞中抑癌基因 DAPK 启动子的异常甲基化模式进行分析;利用甲基化特异性 PCR 法(MSP)检验 DAPK 基因异常甲基化模式对于白血病诊断的效能。结果:Jurkat、U937、HL-60 3 种细胞株的甲基化水平和正常细胞株比较差异有统计学意义($\chi^2 = 90.736, P < 0.05$; $\chi^2 = 67.493, P < 0.05$; $\chi^2 = 753.284, P < 0.05$),提示肿瘤细胞的甲基化水平远高于正常细胞,且 HL-60 细胞株中的 DAPK 基因甲基化水平显著高于 Jurkat 和 U937 细胞株。ANLL 用 MSP 甲基化检测时特异度、准确度和灵敏度分别为 100%(61/61)、82.9%(87/105)和 58.7%(27/46),未发现白血病病理分型和 MSP 诊断之间的关系。结论:抑癌基因 DAPK 启动子区异常甲基化模式作为一种潜在肿瘤标志物,极大丰富了临床诊断白血病的方法,对于白血病的诊断分型有重要的临床意义。

[关键词] 白血病;抑癌基因;DNA 甲基化;DA PK 基因甲基化模式;启动子

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.08.006

[中图分类号] R733.1 **[文献标志码]** A

Analysis of the value of abnormal methylation pattern in the promoter region of DAPK in the diagnosis of leukemia

RUAN Honggang¹ ZHAO Zheng¹ XU Lamei² FU Chaohong¹

(¹Department of Clinical Laboratory, Dongfeng Hospital Attached to Hubei Medical College, Shiyan, 442000, China; ²Operation Room, Dongfeng Hospital Attached to Hubei Medical College)

Corresponding author: ZHAO Zheng, E-mail: zhaozheng780@163.com

Abstract Objective: To investigate the value of abnormal methylation pattern of DAPK promoter region in the promoter region of tumor suppressor gene as a potential tumor marker in the diagnosis of leukemia. **Method:** Take the sulfurous acid hydrogen salt sequencing(BSP)on leukemia cell lines and normal human peripheral blood leukocytes in inhibiting cancer gene DAPK promoter abnormal methylation patterns were analyzed; with a methylation specific PCR(MSP)inspection and DAPK gene methylation mode for performance diagnosis of leukemia. **Result:** Jurkat, U937, HL-60 three cell lines of methylation and significant difference compared with the normal cell lines ($\chi^2 = 90.736, P < 0.05$; $\chi^2 = 67.493, P < 0.05$; $\chi^2 = 753.284, P < 0.05$), indicating the level of methylation of tumor cells is much higher than normal cells, and HL 60 cell lines of DAPK gene methylation level was significantly higher than that of Jurkat and U937 cell lines. ANLL with MSP methylation detection specific degrees, accuracy and sensitivity was 100%(61/61), 82.9%(87/105) and 58.7%(27/46), leukemia are not found in the relationship

* 基金项目:2012 年度省教育厅科研计划项目(No:D20122404)

¹湖北医药学院附属东风医院检验科(湖北十堰,442000)

²湖北医药学院附属东风医院手术室

通信作者:赵铮, E-mail: zhaozheng780@163.com

- [7] Alexopoulou A, Karayiannis P. HBeAg negative variants and their role in the natural history of chronic hepatitis B virus infection[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20:7644-7652.
- [8] Toita R, Kawano T, Kang JH, et al. Applications of human hepatitis B virus preS domain in bio-and nano-technology [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21: 7400-7411.
- [9] Selzer L, Zlotnick A. Assembly and Release of Hepatitis B Virus[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2015, 5:a021394.
- [10] 程振波, 谭黎明, 李建英, 等. 乙型肝炎病毒感染患者血清 HBV-LP 检测意义及其与 Pre S1 抗原、HBV DNA 之间关系的研究[J]. 实用预防医学, 2016, 23(4): 487-489.
- [11] 候玲, 徐晚枫. 乙型肝炎(HBV)感染临床治愈后的长期预后[J]. 日本医学介绍, 2004, 25(11): 510-510.
- [12] 庄辉. HBsAg 消失或血清学转换是慢性乙型肝炎理想的治疗终点[J]. 中国病毒病杂志, 2017, 7(5): 324-327.
- [13] Jiang WC. Analysis on synchronous test of HBV-M and HBV-DNA in 650 patients with chronic hepatitis[J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2013, 22: 141-143.

(收稿日期:2017-11-24)