

基于核磁共振技术的乙型肝炎感染者血清脂蛋白亚类定量特征

黄庆霞¹, 易小璇¹, 惠儒¹

(1.复旦大学人类表型组研究院生命科学学院, 上海 200438;)

摘要: **目的** 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus, HBV) 感染是全球严重的公共卫生问题之一。既往研究发现 HBV 感染会引起宿主脂蛋白改变, 但脂蛋白亚类及其组分对 HBV 感染的应答规律未见报道。**方法** 该研究通过核磁共振技术定量分析 40 名 HBV 患者和 40 名对照人群的血清脂蛋白亚类及其组分, 探索慢性 HBV 感染引起的血清脂蛋白谱的变化特征。**结果** HBV 患者中大部分脂蛋白亚类及其组分显著低于对照人群。校正年龄、性别、高血压、糖尿病和心血管疾病后, 极低密度脂蛋白 (Very-low density lipoprotein, VLDL) 及其亚类 (VLDL1~VLDL3)、中间密度脂蛋白、小颗粒的高密度脂蛋白 (Small high-density lipoprotein, HDL4) 等依然是 HBV 感染的保护因素[优势比 (odds ratio, OR) < 1], 而 VLDL5 中的甘油三酯占总脂质的百分比是 HBV 感染的危险因素 (OR > 1)。进一步通过特征筛选获得 6 个脂蛋白亚类指标, 构建的区分 HBV 感染模型的 AUC 为 0.861。**结论** HBV 感染影响肝脏分泌的脂蛋白的代谢转化, 且脂蛋白亚类及其组分可用以区分 HBV 表面抗原阳性患者。

关键词: 脂蛋白亚类; 脂蛋白组分; 核磁共振氢谱; 乙型肝炎病毒;

中图分类号: R33.1

文献标识码: A

Quantitative characteristics of serum lipoprotein subfractions for hepatitis B virus infected patients based on nuclear magnetic resonance

Huang Qingxia¹, Yi Xiaoxuan¹, Tang Huiru¹

(1. Human Phenome Institute, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China;)

Abstract: **Objective** Hepatitis B virus (HBV) infection is one of the most serious public health problems in the world. Previous studies showed that HBV infection caused outstanding changes in host lipoproteins. However, there are no reports on such component changes of lipoprotein subfractions. This study aimed to quantify the HBV-caused changes in the serum lipoprotein subfractions and their components. **Methods** Serum lipoprotein subfractions and their components for 40 Hepatitis B surface antigen positive patients and 40 controls were quantified using proton

nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$), and the lipoprotein changes in chronic HBV patients against controls were investigated. **Results** HBsAg (+) population had significantly lower levels in most lipoprotein subfractions than HBsAg (-) population. After adjustments for age, gender, hypertension, diabetes mellitus and coronary heart disease, the levels of VLDL and subfractions (VLDL1 ~ VLDL3), intermediate-density lipoprotein (IDL), small high-density lipoprotein (HDL4) and their components were protective factors for HBV infection ($\text{OR} < 1$). In contrast, percentage of triglycerides in VLDL5 [VLDL5-(TG/LP)] was a risk factor for HBV infection ($\text{OR} > 1$). Six lipoprotein subfractions were obtained through feature screening, and the AUC of HBV infection diagnosis model was 0.861. **Conclusion** HBV infection caused significant changes in liver-excretion of lipoproteins and their circulation metabolism; the lipoprotein phenotypes can differentiate HBV-infected patients from controls.

Keywords: Lipoprotein; Lipoprotein subfractions; proton nuclear magnetic resonance; Hepatitis B virus;

乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus, HBV) 感染会引起慢性乙型肝炎, 持续存在的炎症可能进展为肝硬化甚至肝癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC) [1]。HBV 感染已被广泛认为是 HCC 的危险因素之一[2], 2016 年, 全球有 43.3% 的肝癌归因于 HBV, 东亚人群中 53.4% 的肝癌归因于 HBV, 甚至超过酒精和丙肝病毒等[3]。虽然乙肝疫苗的普遍应用使乙肝的发病率得到有效控制, 但 HBV 感染者的数量依然庞大。此外, HBV 感染的治愈还有很大挑战, 干扰素治疗短期有效, 但易复发; 核苷(酸)类似物治疗应用最广泛, 但治疗 3 年才将复发率降低至 30%[4]。

HBV 在宿主内的复制和表达依赖于宿主细胞的代谢, HBV 病毒复制必然伴随着宿主细胞代谢的改变[5]。我们发现 HBV 感染引起宿主血清中的脂质代谢异常[6]。而脂蛋白是脂质在血液中存在、转运及代谢的形式, 脂蛋白定量分析有助于了解血脂及其生物功能。一项基于 75 619 人的队列研究发现与乙型肝炎病毒表面抗原阴性 [hepatitis B surface antigen negative, HBsAg (-)] 人群相比, 乙型肝炎病毒表面抗原阳性 [HBsAg (+)] 人群更不易患非酒精性脂肪性肝病 (Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD), 在校正协变量后 HBsAg (+) 人群患 NAFLD 的风险比为 0.83 (0.73 - 0.94) [7]。细胞实验和人群研究均表明 HBV 感染会造成脂蛋白和其它脂质代谢显著改变[8-12]。HBV 感染能抑制 HepG2 细胞中的载脂蛋白 B (Apolipoprotein B, Apo B) [8]、Apo A5[9]和 Apo C3[10]的表达。基于 53 528 名受试者的研究[12]发现 HBV 感染与空腹血糖、血压、高密度脂蛋白中的胆固醇 (High-density lipoprotein cholesterol, HDL-C 或 HDL-CH)、甘油三酯 (Triglycerides, TG) 等代谢综合征的危险因素

负相关。与 870 个对照人群相比，322 个 HBV 感染者的 HDL-C、低密度脂蛋白中的胆固醇（Low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C 或 LDL-CH）和 TG 水平更低，且 HBV 病毒载量与 TG 负相关^[11]。在 60 名加纳受试者中，HBV 感染者的 TG、LDL、VLDL 以及心血管风险水平更高^[13]。但另一项研究发现 HBV 感染人群的血浆 TG 和胆固醇（cholesterol, CH）水平与健康组间无差异^[14]。而最近关于 HBV 感染与脂蛋白亚类的研究发现 HBV 感染的普通肝病患者中的脂蛋白颗粒数（Particle number, PN）如 VLDL-PN、IDL-PN、LDL5-PN 和 LDL6-PN 水平更高，LDL 亚类中的 LDL1-PN、LDL2-PN、LDL3-PN 和 LDL4-PN 更低^[15]。上述研究说明脂蛋白亚类对 HBV 感染的应答各不相同，需进一步研究 HBV 感染对宿主脂蛋白亚类及其组分的影响规律。

脂蛋白亚类及其组分的定量分析方法众多，各有优势。其中，超速离心法^[16]是脂蛋白检测的金标准方法，但该方法存在时间长、效率低等问题；凝胶电泳法^[17]可将脂蛋白分成不同直径的亚类，但分辨率和重现性均有局限；离子迁移率法^[18]可依据不同颗粒的半径区分脂蛋白亚类，但对干扰十分敏感。而且上述方法均不能充分提供脂蛋白亚类中各组分的定量信息。最近发展的 ¹H-NMR 分析方法快速、无损样品且具有良好的重现性，更重要的是可提供脂蛋白亚类及其组分的定量信息^[19]。因此，¹H-NMR 法已成为大队列人群研究的首选。

为此，本研究通过对 HBsAg (-) 和 HBsAg (+) 人群的血清脂蛋白亚类及其组分进行 ¹H-NMR 定量分析，研究 HBV 感染对宿主脂蛋白代谢的影响规律，为认识 HBV 感染的致病机制提供基础生物化学信息。

1 材料与amp;方法

1.1 研究对象

纳入 2017 年 3-6 月就诊于华中科技大学同济医学院附属同济医院心内科的患者。纳入标准：（1）纳入 HBsAg (+) 人群为 HBV 患者组（N=40）；（2）根据年龄、性别、冠心病史和糖尿病史按照 1:1 匹配 HBsAg (-) 人群作为对照组。排除标准：（1）恶性肿瘤患者；（2）使用他汀类或其他降脂药。本研究经华中科技大学同济医学院附属同济医院伦理委员会批准（文件号：NCT03239067），并取得每个参与者的知情同意。收集基线资料包括年龄、性别和疾病史等基础信息，使用 Hitachi 7600 全自动生化分析仪（Hitachi, Tokyo, Japan）和标准方法测量常规的血脂、血糖、肝肾功能等信息。

1.2 样品收集与前处理

使用不添加任何抗凝剂或促凝剂的真空采血管收集空腹静脉血，室温放置 30 min 后，4℃，1500×g 离心 10 分钟，将上清（血清）按 500μL/管转移至 1.5mL 冻存管中，经过液氮速冻后储存于-80℃冰箱，代谢组分析前通过干冰运输至检测平台。

将存储于-80℃冰箱中的血清样本置于室温解冻（约 30 分钟）后离心 10 分钟（4℃，

1500×g)。每个血清样分别取 320 μL 于新的 Eppendorf 管中,加入 320 μL 磷酸盐缓冲液(0.085 M, pH 7.4, 含 10% D₂O)后上下颠倒混匀 5 次,取 600μL 混合液于 5 mm 核磁管中上机检测。

1.3 基于 NMR 的脂蛋白分析

本研究在 Bruker 600 MHz NMR 谱仪 (Bruker Biospin, 德国)上,使用 NOESYGPPR1D 脉冲序列采集 ¹H-NMR 谱,使用 Bruker IVDr Lipoprotein Subclass Analysis B.I.LISA™ 软件包(Bruker Biospin)定量 112 个脂蛋白亚类指标^[20]。在此基础上,通过计算获得包括胆固醇酯和脂蛋白比值等在内的 184 个功能性脂蛋白指标,最终共定量 296 个脂蛋白亚类及其组分指标^[21, 22]。这些指标中除了常规的极低密度脂蛋白 (Very-low density lipoprotein, VLDL), 中间密度脂蛋白 (Intermediate-density lipoprotein, IDL)、低密度脂蛋白 (Low-density lipoprotein, LDL) 和高密度脂蛋白 (High-density lipoprotein, HDL) 总量外,根据密度大小将脂蛋白分为 15 个亚类,包括 5 个 VLDL 亚类 (VLDL1~VLDL5)、6 个 LDL 亚类 (LDL1~LDL6) 和 4 个 HDL 亚类 (HDL1~HDL4),同时还获得包括甘油三酯 (Triglycerides, TG)、总胆固醇 (Cholesterol, CH)、游离胆固醇 (Free cholesterol, FC)、胆固醇酯 (Cholesterol esters, CE) 和磷脂 (Phospholipids, PL) 在内的 5 种脂质、载脂蛋白 (Apo A1、Apo A2 和 Apo B) 和颗粒数 (Particle number, PN) 以及它们在各脂蛋白亚类中的含量。

1.4 统计分析

多变量统计分析通过正交偏最小二乘判别分析 (Orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 实现,数据的标准化使用 UV 标准化 (Unit-variance scaling, UV) 处理, OPLS-DA 模型的有效性验证采用 7-折交叉验证 (Cross-validation, CV) 和基于交叉验证的方差分析 (Analysis of variance in the cross-validated residuals, CV-ANOVA) 实现, p 值小于 0.05 为模型有效。多变量统计分析与作图使用 SIMCA-P+软件 (v12.0, Umetrics, 瑞典)。单变量统计分析通过卡方检验 (分类变量)、t 检验或 Wilcoxon 秩和检验 (连续变量) 实现,结果以数量 (百分比)、均值±标准差,或相对对照组的浓度变化率 = [HBsAg (+) 组浓度 - HBsAg (-) 组浓度] / HBsAg (-) 组浓度 * 100 表示, p 值小于 0.01 为差异有统计学意义。多元逻辑回归分析用于评估每个代谢指标每增加一个标准差 (Per SD) 的风险的优势比 (Odds ratio, OR), 以年龄、性别、糖尿病、高血压和冠心病为协变量进行校正, p 值小于 0.01 被认为有统计学意义。套索算法 (Least absolute shrinkage and selection operator, LASSO) 用于特征变量筛选,通过交叉验证法选取误差最小的λ值。多元逻辑回归分析用于构建诊断模型,受试者工作特征曲线 (Receiver operating characteristic curve, ROC) 及其曲

线下面积 (Area under the curve, AUC) 用于评估 HBV 感染诊断模型的诊断价值。以上统计分析和作图通过 R 程序 (v4.0.5, <https://www.r-project.org/>) 和 R studio 软件 (v1.2.5001) 实现。

2 结果

2.1 人群基础特征

本研究共纳入 40 例 HBsAg (-) 和 40 例 HBsAg (+) 人群, 其中有 5 例样本因乳糜血和溶血等原因导致脂蛋白定量不准而被剔除, 最终纳入 40 例 HBsAg (-) 和 35 例 HBsAg (+) 人群进行分析。HBsAg (-) 和 HBsAg (+) 人群的平均年龄分别为 57.75 和 58.66 岁, 男性比例分别为 60.00% 和 62.86% (表 1)。HBsAg (-) 和 HBsAg (+) 人群在年龄、性别、疾病史 (高血压史、糖尿病史、冠心病史)、丙氨酸氨基转移酶 (Alanine aminotransferase, ALT)、超敏 C 反应蛋白 (Hypersensitive C-reactive protein, hsCRP)、同型半胱氨酸 (Homocysteine, HCY)、肌酐 (Creatinine)、尿酸 (Uric acid, UA)、TG 和 HDL-C 等组成上无差异。但 HBsAg (+) 人群中的 CH 和 LDL-C 水平低于 HBsAg (-) 人群, 天门冬氨酸氨基转移酶 (Aspartate aminotransferase, AST) 水平高于 HBsAg (-) 人群 (表 1)。

表 1 HBsAg (-) 和 HBsAg (+) 人群的基线特征

Table 1 Baseline characteristics of HBsAg (+) and HBsAg (-) populations

Characteristics	HBsAg (-) (N = 40)	HBsAg (+) (N = 35)	p-value
Age (year)	57.75 ± 9.15	58.66 ± 9.08	0.669
Sex, male (n, %)	24 (60.00%)	22 (62.86%)	0.800
Hyperlipidemia (n, %)	2 (5.00%)	3 (8.57%)	0.877
Hypertension (n, %)	18 (45.00%)	18 (51.43%)	0.578
Diabetes (n, %)	11 (27.50%)	13 (37.14%)	0.372
CHD (n, %)	25 (62.50%)	26 (74.29%)	0.275
ALT (U/L)	22.20 ± 13.19	31.97 ± 34.24	0.310
AST (U/L)	24.75 ± 19.94	33.31 ± 26.31	0.030
hsCRP (mg/L)	8.52 ± 28.90	1.25 ± 2.92	0.735
HCY (μmol/L)	11.74 ± 6.27	13.24 ± 6.62	0.319
Creatinine (μmol/L)	75.23 ± 14.80	72.83 ± 16.86	0.514

Characteristics	HBsAg (-) (N = 40)	HBsAg (+) (N = 35)	<i>p</i> -value
UA ($\mu\text{mol/L}$)	329.69 \pm 95.37	314.88 \pm 97.70	0.509
Glucose (mmol/L)	6.71 \pm 4.47	6.76 \pm 3.63	0.729
CH (mmol/L)	4.14 \pm 0.77	3.68 \pm 0.90	0.017
TG (mmol/L)	1.70 \pm 1.10	1.44 \pm 0.76	0.339
HDL-C (mmol/L)	1.14 \pm 0.22	1.09 \pm 0.32	0.412
LDL-C (mmol/L)	2.41 \pm 0.75	2.07 \pm 0.57	0.032

Note: Data presented as mean \pm standard deviation (SD) or number (%). CHD:

Coronary heart disease; ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate

aminotransferase; hsCRP: Hypersensitive C-reactive protein; HCY: Homocysteine;

UA: Uric acid; CH: Cholesterol; TG: Triglycerides; HDL-C: High-density lipoprotein

cholesterol; LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol;

2.2 HBV 患者的血清脂蛋白谱

本研究在慢性乙肝患者血清中共定量 296 个脂蛋白亚类及其组分指标，其中 24 个指标因在各组中的缺失比例均高于 20%而剔除，最终共 272 个代谢指标纳入后续分析。OPLS-DA 得分图（图 1A）显示，HBsAg (-) 与 HBsAg (+) 两组间存在分离趋势，CV-ANOVA 检验的 *p* 值为 0.002 ($p < 0.05$)，模型的预测效能 Q^2 为 0.229，说明 HBsAg (-) 与 HBsAg (+) 两组间的血清脂蛋白亚类及其组分存在差异。进一步通过单变量统计分析发现有 42 个脂蛋白亚类及其组分指标在两组间的差异具有统计学意义 ($p < 0.01$ ，图 1B)。与 HBsAg (-) 人群相比，HBsAg (+) 人群中除了 VLDL5 中的 TG 占总脂质的百分比 [VLDL5-(TG/LP)] 和 LDL5 中的 FC 占总脂质的百分比 [LDL5-(FC/LP)] 更高外，其它指标如 Apo A2，总 VLDL、VLDL1、VLDL2 和 VLDL3 及其组分，IDL，总 HDL、HDL3 和 HDL4 及其组分，non-HDL 中的脂质组分等水平均更低 ($p < 0.01$ ，图 1B)。

2.3 HBV 感染相关的风险因素

不进行协变量校正时 (Model 1)，有 32 个脂蛋白亚类及其组分指标与 HBV 感染显著关联 (图 1C)。其中 Apo A2，总 VLDL、VLDL1、VLDL2 和 VLDL3 及其组分，IDL，HDL3 和 HDL4 及其组分，non-HDL 中的脂质组分是 HBV 感染的保护因素 ($OR < 1$ ， $p < 0.01$)，而 VLDL 中的游离胆固醇占总脂质的百分比 [VLDL-(FC/LP)] 则是 HBV 感染的危险因素

(OR > 1, $p < 0.01$)。在进一步校正年龄、性别、高血压、糖尿病和冠心病后 (Model 2), 还有 29 个脂蛋白亚类及其组分指标与 HBV 感染显著关联 (图 1C)。总 VLDL、VLDL1、VLDL2 和 VLDL3 及其组分, IDL, HDL4 及其组分, non-HDL 中的脂质组分依然是 HBV 感染的保护因素 (OR < 1, $p < 0.01$), 而 VLDL5 中的甘油三酯占总脂质的百分比 [VLDL5-(TG/LP)] 则是 HBV 感染的危险因素 (OR > 1, $p < 0.01$)。另外, 在校正协变量后, 总 VLDL 中的组分 (如 VLDL-CH, VLDL-FC, VLDL-PN 和 VLDL-Apo B) 和 VLDL5-(TG/LP) 与 HBV 感染的关联性增强 (OR 与校正协变量前相比更接近 0), 而 VLDL3-CE 和 VLDL-(FC/LP) 与 HBV 感染的关联性略减弱 (OR 与校正协变量前相比更接近 1, p 在 0.01~0.05 间)。除此之外, 校正协变量后与 HBV 感染显著关联的 29 个脂蛋白亚类及其组分指标中, 除 VLDL3-CH 外, 其余 28 个指标在 HBsAg (-) 和 HBsAg (+) 两组间的差异均具有统计学意义 (图 1D)。

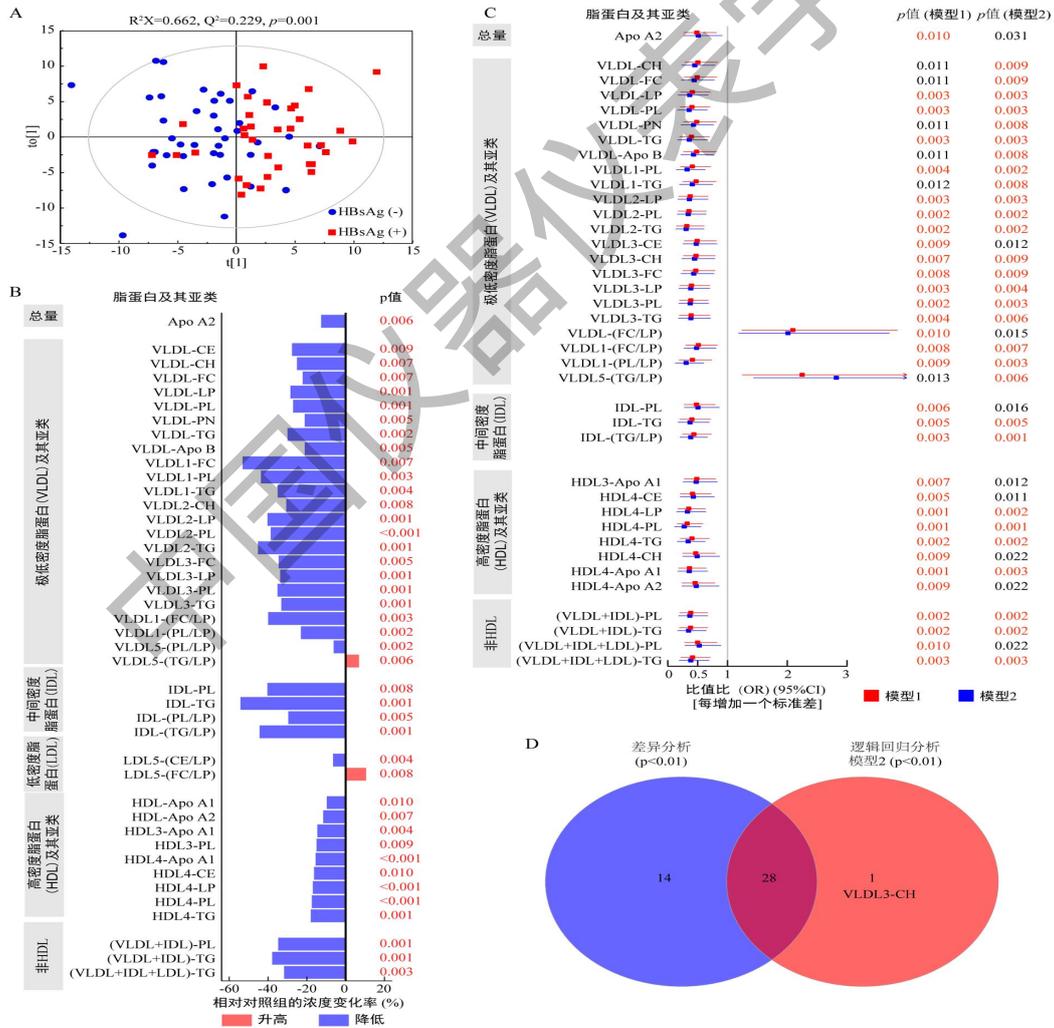


图 1 HBsAg (+) 和 HBsAg (-) 人群的血清脂蛋白的变化特征。

A: OPLS-DA 得分图; B: 42 个显著变化的血清脂蛋白 ($p < 0.01$), 蓝色表示在 HBsAg (+)

患者中低于对照组,红色表示在 HBsAg (+) 患者中高于对照组。相对对照组的浓度变化率 = $[\text{HBsAg (+) 组浓度} - \text{HBsAg (-) 组浓度}] / \text{HBsAg (-) 组浓度} * 100$ 。 C: 与 HBV 感染显著关联的脂蛋白。模型 1: 无任何协变量调整。模型 2: 调整含年龄、性别、是否有高血压、是否有糖尿病和是否有冠心病在内的 5 个协变量。 D: 差异分析和逻辑回归分析 (模型 2) 中均显示发生显著变化的脂蛋白。 VLDL: Very-low density lipoprotein, 极低密度脂蛋白; IDL: Intermediate-density lipoprotein, 中间密度脂蛋白; LDL: Low-density lipoprotein, 低密度脂蛋白; HDL: High-density lipoprotein, 高密度脂蛋白; TG: Triglycerides, 甘油三酯; CH: Cholesterol, 胆固醇; FC: Free cholesterol, 游离胆固醇; CE: Cholesterol esters, 胆固醇酯; PL: Phospholipids, 磷脂; PN: Particle number, 颗粒数。

2.5 血清脂蛋白可用于区分 HBV 患者

将上述 28 个脂蛋白亚类及其组分指标作为备选的特征变量,通过 LASSO 回归进行变量筛选后构建 HBV 患者的诊断模型。最终从 28 个脂蛋白亚类及其组分指标中筛选出 6 个指标作为特征变量,即 HDL4-PL, VLDL1-(PL/LP), VLDL1-(FC/LP), VLDL5-(TG/LP), (VLDL+IDL)-PL 和 (VLDL+IDL)-TG, 利用筛选出来的 6 个特征变量构建逻辑回归模型,绘制 ROC 曲线, AUC 为 0.861, 95%置信区间为 0.777-0.944 (图 2A)。而利用 5 个协变量 (年龄、性别、高血压、糖尿病和冠心病) 构建的模型的 AUC 为 0.577 (0.446-0.708), 同时结合 5 个协变量和 6 个脂蛋白特征变量构建的模型的 AUC 为 0.863, 95%置信区间为 0.780-0.946 (图 2A)。

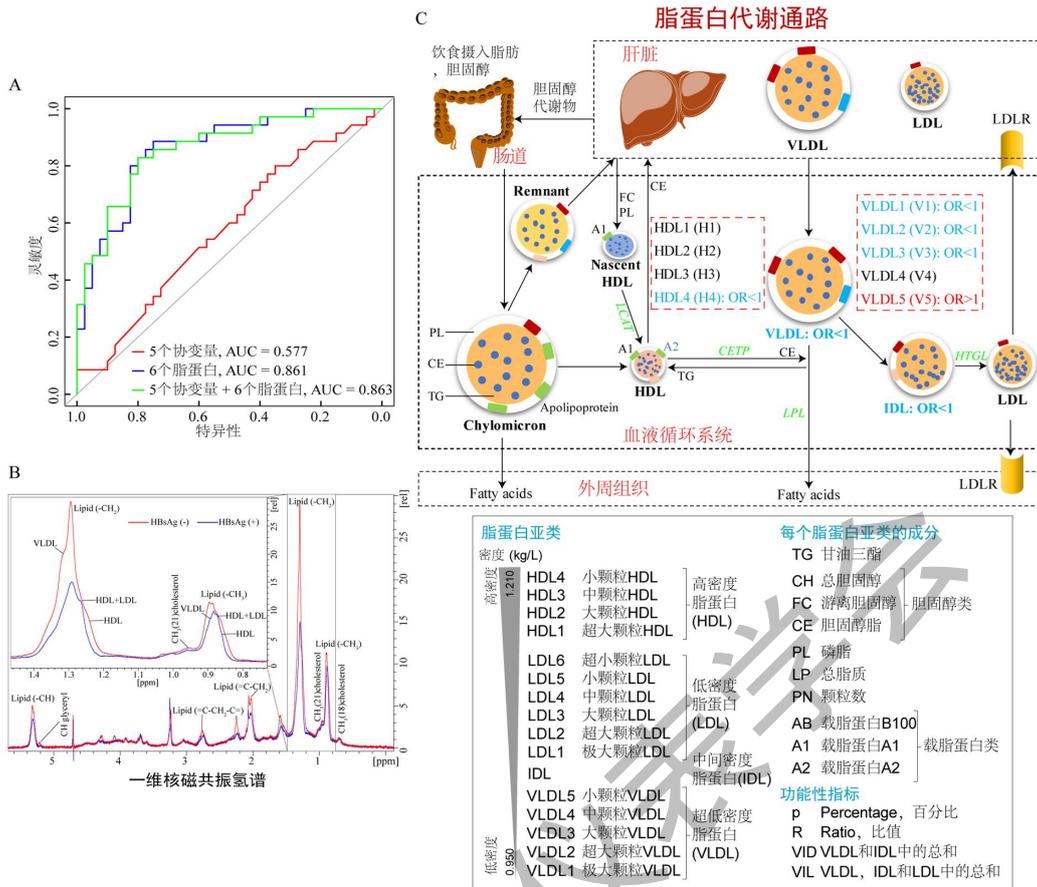


图2 血清脂蛋白能区分HBV患者

A: HBV 感染患者的受试者工作特征曲线及其曲线下面积 (AUC)。5 个协变量包括年龄、性别、是否有高血压、是否有糖尿病和是否有冠心病, 6 个脂蛋白包括 HDL4-PL, VLDL1-(PL/LP), VLDL1-(FC/LP), VLDL5-(TG/LP), (VLDL+IDL)-PL, (VLDL+IDL)-TG。

B: 脂蛋白及其亚类的一维核磁共振氢谱(¹H NMR)。红色线表示 HBsAg (-)对照组, 蓝色线表示 HBsAg (+) 患者组。

C: 与 HBV 感染显著关联的脂蛋白及其代谢通路。LCAT: Lecithin-cholesterol acyl transferase, 卵磷脂胆固醇酰基转移酶; CETP: Cholesterol ester transfer protein, 胆固醇酯转运蛋白; LPL: Lipoprotein lipase, 脂蛋白脂肪酶; HTGL: Hepatic triglyceride lipase, 肝甘油三酯脂肪酶; LDLR: Low-density lipoprotein receptor, 低密度脂蛋白受体。

3 讨论

本研究基于 NMR 脂蛋白分析方法定量分析了 HBsAg (-) 和 HBsAg (+) 人群中 296 种脂蛋白亚类及其组分指标的水平, 发现大部分脂蛋白亚类及其组分在 HBsAg (+) 人群中更低 (图 1B 和图 2B)。校正年龄、性别、高血压、糖尿病和冠心病后, 总 VLDL、VLDL1~VLDL3 及其组分, IDL, HDL4 及其组分, non-HDL 中的脂质组分依然是 HBV 感染的保护因素, 而 VLDL5 中的甘油三酯占总脂质的百分比 [VLDL5-(TG/LP)] 则是 HBV 感染的危险

因素。进一步通过 LASSO 回归筛选出 6 个脂蛋白亚类及其组分指标用于构建 HBV 感染诊断模型，AUC 为 0.861。

HBV 感染会导致宿主循环系统脂蛋白中的脂质水平下降，也会影响宿主的胆固醇代谢（图 2B-C）。研究发现 HBV 感染会导致宿主脂肪酸氧化增加，脂滴减少^[23]，且 HBV 感染导致患者血清中 HDL、LDL 和 VLDL 的合成下降^[24]。基于 100 对 HBV 感染和对照人群的脂质轮廓分析表明，HBV 感染人群的总胆固醇、甘油二酯、HDL-C、VLDL-C、LDL-C 和总脂质的含量均显著降低^[25]。而 HBV 感染者血清中的 VLDL、IDL 和 LDL 含量的减少可能与 Apo B 合成减少有关^[8]。本研究也发现大部分脂蛋白亚类及其组分在 HBsAg (+) 人群中含量更低。另外，在嵌合人肝脏的小鼠中发现 HBV 感染引起胆固醇代谢相关的基因上调^[26]，本研究发现 HBsAg (+) 人群中总 VLDL、VLDL1~VLDL3 和 HDL4 中的胆固醇类（如 CE、CH 和 FC）含量更低，而 LDL5 中的游离胆固醇占总脂质的百分比 [LDL5-(FC/LP)] 含量更高，提示 HBV 感染可能引起宿主的胆固醇代谢失调。

此外，同一类脂蛋白的不同亚类间的变化趋势不同。HBV 感染的普通肝病患者的 IDL、LDL5 和 LDL6 的颗粒数 (PN) 比正常对照组更低，而 LDL1~LDL4 的 PN 更高^[15]。类似地，本研究发现与 HBsAg (-) 人群相比，VLDL1~VLDL3 中脂质组分的含量在 HBsAg (+) 人群中更低，但 VLDL4~VLDL5 中的脂质组分无差异；HDL3~HDL4 中的脂质组分在 HBsAg (+) 人群中更低，但 HDL1~HDL2 中的脂质组分并无差异。不同的是，本研究中的 IDL 和 LDL 的 PN 在两组间无差异，即使校正年龄、性别、高血压、糖尿病和冠心病后也无统计学意义，仅在总 VLDL 中发现 PN (VLDL-PN) 的含量更低。

4 结论

本研究基于 NMR 脂蛋白定量技术分析了 HBV 患者的血清脂蛋白谱，发现大部分脂蛋白亚类及其组分水平在 HBsAg (+) 人群中更低，且总 VLDL、VLDL1~VLDL3 及其组分，IDL，HDL4 及其组分，non-HDL 中的脂质组分是独立于年龄、性别、高血压、糖尿病和冠心病外的 HBV 感染的保护因素，而 VLDL5-(TG/LP) 则是 HBV 感染的危险因素。此外，脂蛋白亚类及其组分可用以区分 HBV 引起的表面抗原阳性患者。这些发现可进一步为认识 HBV 感染的致病机制提供基础生物化学信息。

参考文献:

[1] Chinese Society of Infectious Diseases C M A, Chinese Society of Hepatology C M A. The

- guidelines of prevention and treatment for chronic hepatitis B (2019 version) [J]. Chinese journal of hepatology, 2019, 27(12): 938-961.
- [2]Mcglynn K A, Petrick J L, El-serag H B. Epidemiology of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2021, 73: 4-13.
- [3]Liu Z, Jiang Y, Yuan H, et al. The trends in incidence of primary liver cancer caused by specific etiologies: Results from the Global Burden of Disease Study 2016 and implications for liver cancer prevention [J]. Journal of Hepatology, 2019, 70(4): 674-683.
- [4]Nguyen M H, Wong G, Gane E, et al. Hepatitis B virus: Advances in prevention, diagnosis, and therapy [J]. Clin Microbiol Rev, 2020, 33(2).
- [5]Iddo B-Y, Shaul Y, Amir S. Hepatocyte metabolic signalling pathways and regulation of hepatitis B virus expression [J]. Liver Int, 2011, 31(3): 282-290.
- [6]Huang Q X, Lei H H, Ding L F, et al. Stimulated phospholipid synthesis is key for hepatitis B virus replications [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 12989.
- [7]Joo E J, Chang Y, Yeom J S, et al. Hepatitis B virus infection and decreased risk of nonalcoholic fatty liver disease: A cohort study [J]. Hepatology, 2017, 65(3): 828-835.
- [8]Wang F B, Zhu C L, Liu X H, et al. HBV inhibits apoB production via the suppression of MTP expression [J]. Lipids Health Dis, 2011, 10: 207.
- [9]Zhu C, Gao G, Song H, et al. Hepatitis B virus inhibits apolipoprotein A5 expression through its core gene [J]. Lipids Health Dis, 2016, 15: 178.
- [10]Zhu C, Zhu H, Song H, et al. Hepatitis B virus inhibits the in vivo and in vitro synthesis and secretion of apolipoprotein C3 [J]. Lipids in Health and Disease, 2017, 16: 213.
- [11]Hsu C S, Liu C H, Wang C C, et al. Impact of hepatitis B virus infection on metabolic profiles and modifying factors [J]. Journal of Viral Hepatitis, 2012, 19(2): E48-E57.
- [12]Jan C F, Chen C J, Chiu Y H, et al. A population-based study investigating the association between metabolic syndrome and hepatitis B/C infection (Keelung Community-based Integrated Screening Study No. 10) [J]. International Journal of Obesity, 2006, 30(5): 794-799.
- [13]Quaye O, Amuzu B G, Aday S M, et al. Effect of Hepatitis B Virus (HBV) Infection on Lipid Profile in Ghanaian Patients [J]. Virology : research and treatment, 2019, 10: 1178122X19827606.

- [14]Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Differences and similarities in early atherosclerosis between patients with non-alcoholic steatohepatitis and chronic hepatitis B and C [J]. *J Hepatol*, 2007, 46(6): 1126-1132.
- [15]Zuo D, An H H, Li J H, et al. The application value of lipoprotein particle numbers in the diagnosis of HBV-related hepatocellular carcinoma with BCLC stage 0-A [J]. *J Pers Med*, 2021, 11(11): 1143.
- [16] Kulkarni K R. Cholesterol profile measurement by vertical auto profile method [J]. *Clin Lab Med*, 2006, 26(4): 787-802.
- [17]Radikova Z, Penesova A, Vlcek M, et al. Lipoprotein profiling in early multiple sclerosis patients: effect of chronic inflammation? [J]. *Lipids Health Dis*, 2020, 19(1): 49.
- [18]Kaufman S L. Analysis of biomolecules using electrospray and nanoparticle methods: The gas-phase electrophoretic mobility molecular analyzer (GEMMA) [J]. *Journal of Aerosol Science*, 1998, 29(5-6): 537-552.
- [19]Clouet-foraison N, Gaie-levrel F, Gillery P, et al. Advanced lipoprotein testing for cardiovascular diseases risk assessment: a review of the novel approaches in lipoprotein profiling [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(10): 1453-1464.
- [20]Jimenez B, Holmes E, Heude C, et al. Quantitative lipoprotein subclass and low molecular weight metabolite analysis in human serum and plasma by ¹H NMR spectroscopy in a multilaboratory trial [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(20): 11962-11971.
- [21]Li J, Huang Q, Wang Y, et al. Circulating lipoproteins mediate the association between cardiovascular risk factors and cognitive decline: A community-based cohort study [J]. *Phenomics*, 2023.
- [22]Chen Y M, Zheng Y, Yu Y, et al. Blood molecular markers associated with COVID-19 immunopathology and multi-organ damage [J]. *EMBO J*, 2020: e105896.
- [23]Yasumoto J, Kasai H, Yoshimura K, et al. Hepatitis B virus prevents excessive viral production via reduction of cell death-inducing DFF45-like effectors [J]. *J Gen Virol*, 2017, 98(7): 1762-1773.
- [24]Zhang J, Ling N, Lei Y, et al. Multifaceted interaction between hepatitis B virus infection and lipid metabolism in hepatocytes: A potential target of antiviral therapy for chronic hepatitis B [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 636897.

- [25]Arain S Q, Talpur F N, Channa N A, et al. Serum lipids as an indicator for the alteration of liver function in patients with hepatitis B [J]. Lipids Health Dis, 2018, 17: 36.
- [26]Oehler N, Volz T, Bhadra O D, et al. Binding of hepatitis B virus to its cellular receptor alters the expression profile of genes of bile acid metabolism [J]. Hepatology, 2014, 60(5): 1483-1493.

中国仪器仪表表学会