论著

慢性乙肝病毒感染者乙肝表面抗原清除与肝癌发生风险的队列研究

Clearance of Hepatitis B Surface Antigen and Risk of Hepatocellular Carcinoma in a Cohort Chronically Infected with Hepatitis B Virus

Josephine Simonetti,[1] Lisa Bulkow,[2] Brian J. McMahon,[1,2] Chriss Homan,[1] Mary Snowball,[1] Susan Negus,[1] James Williams,[1] and Stephen E. Livingston[1]

成军 译校

一些慢性乙肝病毒 (HBV) 感染的个体最终缺失了乙型肝炎表面抗原 (HBsAg)。在少数失去 HBsAg 的患者中被证实发生肝细胞癌 (HCC)。HBsAg 缺失相关的因素及缺失后 HCC 的发病率均未被清楚的阐述过。我们设计了一个前瞻性的队列研究，以 1,271 例慢性乙肝病毒感染的阿拉斯加州当地居民为研究对象，平均随访了 19.6 年，以确定 HBsAg 缺失相关的因素及缺失后发展为 HCC 的风险。发生 HBsAg 缺失 158 例，HBsAg 清除的速度是每年 0.7%。较大的年龄而不是性别与 HBsAg 的清除相关，并且 HBsAg 的清除并不与这个人群中所发现的任何 HBV 基因型 (A,B,C,D 及 F) 有关。随访者在 HBsAg 缺失后平均被随访了 108.9 个月。6 例患者 (2 例肝硬化，4 例没有肝硬化) 在 HBsAg 清除后平均 7.3 年 (范围 2.0-15.5 年) 的时间发展为 HCC。HBsAg 清除后 HCC 的发生率为每年 36.8/100,000 (95% CI 13.5-80)，显著低于 HBsAg 阳性患者的 HCC 发生率 (每年 195.7/100,000 [95% CI 141.1-264.5; $P<0.001$])。在 HBsAg 清除后平均 3.6 年，在 28 例 (18%) 患者的血清中检测到 HBV DNA。结论：HBsAg 清除的慢性乙肝患者会发生 HCC，即使没有肝硬化也可发生。应该定期应用肝脏超声对这些患者进行早期 HCC 的监测追踪。(HEPATOLOGY 2010;51:1531-1537.)

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是重要的全球性的健康问题，据估计，有 3.5 亿到 4 亿人慢性感染此病毒 [1]。围产期或儿童早期感染是 HBV 传播的主要途径。在急性 HBV 感染后，许多人获得了对此病毒的完全免疫清除，产生终身免疫。然而，高达 90% 的婴儿、30% 的 5 岁以下的儿童，并有 5%-10% 的成人发展成为慢性感染 [2]。慢性 HBV 感染通过乙肝表面抗原 (HBsAg) 在血清中存在至少 6 个月而被确认，并且有几个特征性的临床阶段：免疫耐受、免疫活跃或清除及不活跃阶段 [3]。

免疫耐受阶段通常为围产期感染后，以乙肝 e 抗原 (HBeAg) 阳性、高水平 HBV DNA、正常的谷丙转氨酶 (ALT) 以及肝脏没有或轻微炎症为特征。免疫清除阶段是以高水平的 HBV DNA、升高的 ALT 水平及肝脏炎症活动为特征。最初，那些在免疫清除阶段 HBeAg 阳性者，大多最终清除 HBeAg 并产生抗 -HBe。少数清除了 HBeAg 的慢性乙型肝炎患者，将持续性或间断性的出现 ALT 和 HBV DNA 升高。

那些清除了 HBeAg 的大多数人将发展成为非活动性的 HBsAg 阶段。这个阶段的特征是 HBeAg 的消失、抗 -HBe 的产生、正常的 ALT 水平、低或检测不到的 HBV DNA 以及肝脏的坏死及纤维化的改善和消退 [3,4]。

一些已经发展到非活动性阶段的患者，将会失

Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; anti-HBe, antibody to hepatitis B e antigen; anti-HBs, antibody to hepatitis B surface antigen; HBeAg, hepatitis B e antigen; HBsAg, hepatitis B surface antigen; HBV, hepatitis B virus; HCC, hepatocellular carcinoma; PCR, polymerase chain reaction.

From the 1Liver Disease & Hepatitis Program, Alaska Native Tribal Health Consortium, Anchorage, AK; and the 2Arctic Investigations Program, National Center for Preparedness, Detection and Control of Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Anchorage, AK.

Received June 1, 2009; accepted October 24, 2009.

Supported by Liver Disease and Hepatitis Program, Alaska Native Tribal Health Consortium, Anchorage, and Native American Research Centers for Health (grant 1 U26 94 00005).

Address reprint requests to: Brian J. McMahon, M.D., M.A.C.P., Liver Disease and Hepatitis Program, Alaska Native Tribal Health Consortium, 4315 Diplomacy Drive, Anchorage, AK 99508. E-mail: bdm9@cdc.gov; fax: 907-729-3429.

Copyright © 2009 by the American Association for the Study of Liver Diseases.

Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

DOI 10.1002/hep.23464

Potential conflict of interest: Nothing to report.

去 HBsAg，并且也许会在 HBsAg 阳性许多年以后，产生 HBsAg 的抗体 (抗 -HBs)。这种自发性 HBsAg 的缺失已经被报道过：在 HBV 慢性感染的患者中每年有 0.5%-1% 的几率 [5,6]。虽然，这种现象已经被详细的描述过，这个发生率的相关因素 (如年龄、性别及 HBV 基因型) 都未被阐明，并且我们几乎不知道这些因素与 HBsAg 的清除有何相关性。

乙肝病毒基因组序列内的变异性被公认是调节慢性 HBV 感染过程及结果的一个因素 [7]。对世界不同区域的乙肝病毒进行全面分析，分离确定了 8 个基因型 (A-H)，这些基因型有独特的地理分布，基因型之间有 8% 的序列差异 [8]。

疾病进展的显著性差异已经在某些基因型之间表现出来。例如：基因型 C 在台湾、中国及日本与肝细胞癌 (HCC) 的发展有关 [9-11]。实际上，基因型 Bj 或 B1 在日本和中国预示着较低风险的严重结局；而在台湾，基因型 Ba 与年轻人发展成为 HCC 有显著的相关性 [9]。在东亚以外，有关 HBV 基因型与疾病进展的临床表现的信息还很匮乏。这是因为主要的研究来自于亚洲，而那里基因型 B 和 C 是主要的 [12]。

阿拉斯加州本土居民有很高的 HBV 感染流行。应用乙肝疫苗对婴儿进行常规免疫，并且在 20 世纪 80 年代中期大规模的免疫接种，几乎已经停止了这种病毒在这个人群中的传播。然而，对于乙肝病毒血清检测调查及筛查行动已经确定了大约 1,500 例慢性感染者，并被随访了 20 年以上 [13]。在这个人群中进行乙肝病毒基因型研究，发现存在乙型肝炎病毒的 8 个基因型中的 5 个 (A,B,C,D,F)。此外，阐述了在这个人群中，HBV 基因型的不同与 HBV 感染的结果不同。例如：基因型 F 及 C 的感染与 HCC 有关，且基因型 C 的感染与 HBeAg 延迟清除有关 [14]。我们在此报道了这个基于队列研究的 HBV 感染人群的近 20 年的随访结果，以明确 HBsAg 清除相关的因素是否为 HBV 基因型、年龄及性别这些因素。

患者及方法

患者

1983 年至 1987 年期间，乙肝疫苗接种的大范围运动中，我们用慢性乙肝病毒标记物筛查了大量的人口，确定了 1,536 名慢性乙肝病毒感染的阿拉斯加州本地居民。从那以后，1,271 名患者同意参与到本研究中，并被随访了平均 19.6 年。

自 1982 年，每半年联系一次 HBsAg 阳性携带者，并且提醒他们去当地的医疗机构，并且抽血送到阿拉斯加州在安克雷奇的医疗机构中心进行检测。1982 年至 2000 年期间，每 6 个月进行血清 HBsAg 检测以证实携带状态。另外，在 2001 年，离心机被放到所有乡村诊所后，ALT 及谷草转氨酶被加到了血液检测项目中。当检测到个体的两个连续的样本抗原阴性时，即认为该个体已经清除了 HBsAg。

本研究被阿拉斯加州的安克雷奇地区在印度的健康服务会议的伦理委员会及亚特兰大的佐治亚州疾病控制与预防中心批准。随后的追踪由当地的健康委员会来执行，包括阿拉斯加本地部落健康联合会、中南部基金会以及育空 - 库斯克奎姆健康公司。所有存活的患者同意实验室检测并且同意储存血清以便以后的乙肝病毒血清标记及 HBV DNA 的检测。伦理委员会允许使用来自于已故患者的信息。

实验室检测

在阿拉斯加州当地医疗中心的临床实验室，使用商业用途的酶联免疫检测方法 (Abbott Laboratories, Irving, TX) 检测 HBsAg、抗 -HBs 及乙肝核心抗原抗体 (抗 -HBc)。1982 年至 2000 年使用酶联免疫方法 (Abbott Laboratories) 检测 HBeAg 及抗 -HBe。2001 年至 2006 年期间，使用一步法乙肝“e”抗原检测试纸验证 HBeAg，每一份标本的抗 -HBe 状态使用 Maxi 方法：根据产品指南使用抗 -HBe 快速试验 (IND Diagnostic Inc., Delta, British Columbia, Canada)。这两个测试都应用先前雅培公司的酶联免疫试剂盒测试过的血清验证有效，才进行血清的检测。

HBV 病毒载量测定

采用实时定量多聚酶链反应 (PCR) 检测储存血清中的乙肝病毒载量，该检测方法的低限为 100 拷贝 /mL(20 IU/mL)。简单的说，应用小型全自动核酸分离纯化系统及总核酸提取试剂盒 I，根据产品说明书 (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) 从储存的血清标本中提取 HBV DNA。随后，一个 118 bp 的核心基因片段被扩增，通过一套 HBV DNA 扩增的标准与检测样本平行比较得出 HBV 病毒载量 [15]。

HBV 基因型检测

应用储存的血清，通过 PCR 及直接对 S 基因进行测序 , 我们能够对本队列研究参与者的 1,271 份血清中的 1,157 份 (91%) 的血清进行基因分型。根据描

述进行 DNA 提取、巢氏 PCR、DNA 测序及基因分型 [12]。

统计分析

不同 HBV 基因型 HBsAg 缺失者比例的比较，采用卡方检验或随机化检验做列联表分析。另外，应用 logistic 回归对多种因素进行调整。血清学转换的时间以最后一次 HBsAg 阳性和第一次 HBsAg 阴性的中点时间计算。49 名患者因乙肝进行治疗。来自于这些患者的数据在治疗开始就被剔除。接受治疗的一名患者后来 HBsAg 转阴，但是未考虑将其纳入分析。采用 log-rank 检验及 Cox 回归评估基因型与 HBsAg 缺失时间的关系。

结果

基因型与 HBsAg 缺失

我们随访了 1,271 例慢性 HBV 感染者平均 19.6 年 (24,913 人年)。最初 HBsAg 阳性结果的中位年龄是 20.9 岁，至 2007 年 1 月 1 日，中位年龄为 45.4 岁。1,271 名乙肝病毒携带者同意参与这项研究，158(12.5%) 名患者在 20 年的随访中 HBsAg 转为阴性。清除了 HBsAg 的患者中，126(80%) 名产生了抗 -HBs。在清除 HBsAg 的患者中，储存的血清标本中有足够 DNA 做基因型检测的有 129 份 (81.6%)。持续 HBsAg 阳性患者的基因型分布和清除了 HBsAg 患者的基因型分布如表 1。不同基因型的 HBsAg 清除者比例的范围从基因型 B 的 6.7% 到基因型 F 的 12.6%。在去除一名基因型 H 者后，总体上各基因型 HBsAg 转阴者的比例无明显差异 (P=0.464)。

总体上，每年的 HBsAg 清除率为 0.67%(表 1)。这个比率在不能获取基因型的携带者中 (1.86%) 比可获取基因型者中 (0.59% [P<0.001]) 明显升高。在获得基因分型的携带者中，年 HBsAg 清除率在各基因型中的差异不显著 (P=0.526)。

根据年龄及性别调整后，各基因型的 HBsAg 缺失情况

基因型与 HBsAg 缺失年龄之间的关系的分析结果如表 2。HBsAg 缺失在 HBsAg 第一次阳性年龄≥ 20 岁的患者中最常见 (P=0.002)。根据第一次 HBsAg 阳性的年龄调整后，各基因型中 HBsAg 缺失比例无显著差异 (P=0.209)。

不同性别间 HBsAg 缺失比例无显著差异 (P=0.262) (表 2)。在根据性别调整后，各基因型中 HBsAg 缺失比例无显著差异 (P=0.435)。

表 1.　1,271 例慢性乙肝病毒感染者随访 20 年，基因型及 HBsAg 的缺失

基因型	例数 / 总例数 (% HBsAg 清除)	每年清除率 *
A	14/151(9.3%)	0.47%
B	3/45(6.7%)	0.35%
C	5/74(6.8%)	0.29%
D	77/655(11.8%)	0.65%
F	29/231(12.6%)	0.59%
H	1/1(100%)	9.45%
能得到基因型的例数	129/1,157(11.1%)	0.59%
不能得到基因型的例数	29/114(25.4%)	1.86%
总数	158/1271(12.4%)	0.67%

*P<0.001，没有得到基因型的患者对比基因分型的患者。

各基因型的 HBsAg 血清转换者检测到 HBV DNA 的情况

在第一次 HBsAg 阴性后中位时间 3.6 年 (最短 - 最长时间：0-29 年) 检测 HBV DNA。在 28(17.7%) 例患者中检测到 HBV DNA。HBV DNA 水平的范围为 28-2340 IU/mL。各基因型的 HBsAg 缺失患者血清中检测到 HBV DNA 的比例无显著差异 (P=0.906) (表 3)。

HBeAg 最初的状态及基因型与 HBsAg 缺失的关系

初始 HBeAg 阳性的患者比 HBeAg 阴性的患者 HBsAg 缺失明显的减少 (P<0.001)。这种区别在根据基因型调整后持续存在 (P<0.001)。反常的是，HBeAg 状态及基因型之间有统计学显著性 (P=0.038)，特别是基因型 A 之间的区别。感染基因型 A 的患者中，初始 HBeAg 阳性者比那些初始抗 -HBe 阳性者更可能清除 HBsAg(表 4)。

HBsAg 缺失后肝癌的发展

158 名 HBsAg 清除的患者被随访了平均 8.6 年。6 名患者在 HBsAg 清除平均 7.3 年 (2.0-15.5 年) 后发展为肝癌 (表 5)。在 HBsAg 缺失后的患者中肝癌的发生比例为每年 36.8/100,000 (95% CI 13.5-80)。在我们的队列研究中，HBsAg 阳性患者肝癌的发生比例为每年 195.7/100,000 (95% CI：141.1-264.5)，此肝癌发生比例比那些 HBsAg 清除了的患者的发生率明显升高 (P<0.001)。1 例患者丙肝抗体阳性，但是丙型肝炎病毒载量是阴性；另外 5 例患者丙肝抗体阴

表 2. 1,271 例慢性乙肝病毒感染者 HBsAg 缺失与基因型、性别及年龄 *

	第一次 HBsAg 检测阳性的年龄 †HBsAg 缺失例数 / 总例数		不同性别例数 / 总例数 (%)	
基因型	<20 岁	≥ 20 岁	女性	男性
A	3/66(4.5%)	11/85(12.9%)	5/58(8.6%)	9/93(9.7%)
B	0/5(0%)	3/40(7.5%)	1/22(4.5%)	2/23(8.7%)
C	0/32(0%)	5/42(11.9%)	4/42(9.5%)	1/32(3.1%)
D	29/329(8.8%)	48/326(14.7%)	39/276(14.1%)	38/379(10.0%)
F	16/153(10.5%)	13/78(16.7%)	12/91(13.2%)	17/140(12.1%)
H	0	1/1(100%)	0	1/1(100%)
总数	48/585(8.2%)	81/572(14.3%)	61/499(12.2%)	69/668(10.3%)

*1,157 例已知基因型，平均随访 20 年。

†P=0.992，≥ 20 岁患者与 <20 岁患者的 HBsAg 缺失的比较。

性。5 例患者提供了家族史，没有任何亲戚有肝癌相关的诊断。4 例肝癌患者检测血清 HBV DNA 均为阴性。2 例患者发现了肝硬化，而其他 4 例没有肝硬化，仅有轻度的炎症及门脉纤维化。在第一例肝癌发生后我们决定筛查所有的 HBsAg 缺失的患者，对那些 AFP 水平 >10 ng/mL 的病人每 6 个月进行一次肝脏超声检查。结果，6 例患者中 5 例发现了小肿瘤，并能手术切除，4 例肿瘤直径 <5 cm。3 例患者肝癌复发，并且在切除后 1-2 年死亡。2 例是无瘤长期生存。1 例患者在切除后 10 年 (79 岁) 死于慢性肺部疾病，并且在死亡时超声或甲胎蛋白都未显示肝癌的证据。另一例在切除后 13 年 (73 岁) 肝脏超声检测没有复发证据，仍然存活。

讨论

我们前瞻性的随访了以人口为基础的 1,271 名阿拉斯加州本地慢性乙肝病毒感染者 20 年，并且明确 HBsAg 清除的几率。那些清除了 HBsAg 的患者，我们在表面抗原清除后追踪了平均 8.6 年。我们认为这个队列代表了乙肝病毒感染者，因为包含了不同性别及所有年龄的患者。另外，还包括了目前世界上 8 个 HBV 基因型中的 5 个，使我们能够确定乙肝病毒基因型是否影响 HBsAg 的清除。我们发现年龄而不是性别与 HBsAg 的清除有关，因为年长的患者更易清除 HBsAg。这是合理的，因为年长者比年轻人更长时间处于慢性乙肝病毒非活动状态阶段。但是，我们没有找到任何 HBsAg 清除与乙肝病毒基因型有关的证据。由于这个队列相对年轻 (中位年龄 45 岁)，并且显示 HBsAg 清除在年长者中较高，因此在这样的队列中，年龄与乙肝病毒基因型可能相关。

以前一些前瞻性研究也报告了 HBsAg 清除的未治疗的慢性乙肝患者队列随访 [5,6,16-20](表 6)。所有这些研究都是基于临床的，而本研究是唯一的人口学基础上的研究。有一项研究 (不包括在表 6 中)，随访了治疗及未治疗的欧洲 HBsAg 阳性患者，并且发现 HBsAg 的年清除率在 196 例未治疗的患者中为 0.8%。

表 3. HBsAg 血清转换者中的 HBV DNA 水平与基因型

基因型	可检测到 HBV DNA 的例数	HBV DNA* (最小及最大值)	不同 HBV DNA 水平的例数 * <200	200+
A	3/14(21%)	132-1,313	2	1
B	0/3(0%)	-	-	-
C	1/4(25%)	514	-	1
D	14/76(18%)	28-638	8	6
F	7/28(25%)	46-2,340	6	1
H	0/1(0%)	-	-	-
总数	25/126(20%)	28-2,340	16	9

*HBV DNA 数据单位为 IU/mL。

表 4. 1,271 例慢性 HBV 感染者 *HBeAg 初始状态与 HBsAg 缺失

基因型	HBeAg 初始状态 HBeAg 阳性 †	HBeAg 阴性
A	5/34(15%)	9/116(8%)
B	0/6(0%)	3/38(8%)
C	0/36(0%)	5/38(13%)
D	21/305(7%)	56/350(16%)
F	12/126(10%)	17/105(16%)
H	0	1/1(100%)
总数	38/507(7%)	90/648(14%)

* 平均随访 20 年，1,157 例患者基因型已知，2 例不知道 HBeAg 状态。

†P<0.001，初始 HBeAg 阴性患者比初始 HBeAg 阳性患者更可能失去 HBsAg。

表 5. 阿拉斯加本地患者中清除 HBsAg 后发展为肝癌的患者

患者编号	乙肝病毒基因型	性别	HBsAg 阳性年数	HBsAg 清除时的年龄 (岁)	肝癌诊断时的年龄 (岁)	诊断时抗 -HBs/抗 -HBc 状态	诊断时 AFP 水平 (ng/mL)	HBV DNA (IU/mL)	肿瘤直径 / 病变数	未被累及的肝组织病理	肝硬化
1	A	女	2.9	34.2	43.8	+/-	26.4	未作	3.5 cm/1 个病变	肝硬化结节	是
2	A	男	18.0	74.3	76.7	+/+	202.0	未检出	4 cm/1 个病变	门脉炎症及纤维化	否
3	F	女	2.6	51.6	60.7	+/+	3,227	未检出	2.2 cm/1 个病变	门脉及小叶炎症	否
4	F	男	1.2	18.3	20.3	+/-	213,720	未作	整个右叶 / 多发病变	轻度门静脉炎症，没有纤维化	否
5	F	男	10.3	49.3	64.8	+/+	599	未检出	2.5 cm/1 个病变	肝硬化	是
6	F	男	7.0	64.3	69.8	+/+	4,565	未检出	2.2 cm/ 一个病变	门脉炎症及纤维化	否

在这个研究中，只有一例患者发展成为 HCC。这例患者丙肝病毒抗体也是阳性，不清楚这个患者是否接受了抗病毒治疗 [20]。与我们的研究相似，HBsAg 清除的几率范围在每年 0.5%-0.8%[6,16]，年长而不是性别与 HBsAg 的血清转换有关 [5]。一个先前的病例对照研究发现，基因型 B 的患者比基因型 C 有显著更高的 HBsAg 清除 [19]。基于乙肝病毒基因型的地理分布，在这个研究中基因型 B 与亚洲 B(B2-5) 相似 , 然而在阿拉斯加州本土发现的携带者的这种基因型 B，是一个新的亚型 (B6)，与日本的 B 型 (B1) 更接近 [21]。

在三个研究中，检测了清除 HBsAg 人群的 HBV DNA。发现 HBV DNA 水平的差异很大，在 12 个月为 1.3% 及 1.7%[17,22]，49 个月为 1.1%[23]，5 年为 21.4%，清除后 10 年为 14.3%[24]。我们的研究中，在 HBsAg 清除后的平均中位时间 3.6 年，18% 的患者发现 HBV DNA，并且我们发现表达或清除 HBV DNA 在基因型之间无区别。两个研究发现 HBV DNA 甚至 cccDNA 在清除前的肝组织中比血清中更频繁的出现 [16,23]。很可能，HBV DNA 存在或清除也许与 PCR 检测的敏感性有关，甚至随着时间出现波动。

我们能够确定 129 例 HBsAg 清除患者的基因型。在清除后的中位时间 3.6 年，28 例 (18%) 的患者发现 HBV DNA。在这个测试中，我们使用了敏感的 Taq Man 检查，能够检测≤ 30 IU/mL 的 HBV DNA。HBV DNA 的水平通常是低的，并且波动在 28-2340 IU/mL 之间。HBV DNA 如此低水平的个体比那些高水平的个体更少通过日常或性传播。最近，有结果表明，急性乙肝患者恢复后并未变成慢性感染，HBV DNA 能在感染消退后长达 50% 的时间存在，意味着乙肝病毒和其他 DNA 病毒一样，能够无限期的持续低水平存在 [25,26]。

HBsAg 清除者的临床结果普遍比 HBsAg 持续阳性的患者好。肝脏炎症及纤维化随着时间而改善 [16,17,23]。在一个研究中，186 例在 HBsAg 清除时无肝硬化并且未感染肝炎病毒 C 和 D 的患者，无一例随后发展成为肝硬化，并且在 HBsAg 清除后平均 62 个月 ALT 持续正常 [22]。虽然其他的研究显示 HBsAg 清除后数年可能发生肝癌，但是 HBsAg 清除后肝癌发生的风险尚未确定 [16,17,22,23]。有研究发现 HBsAg 缺失后肝脏并发症的最高比率是：5 年 29.8%，包括 11 例的肝癌，参加者仅在 HBsAg 清除后被追踪了平均 23 个月 [18]。可以想象，在许多患者中，肝癌也许潜

表 6. 慢性 HBV 感染患者 HBsAg 自发性清除的报告研究

研究 / 地区	HBsAg+ 患者数	中位 / 平均随访时间	HBsAg 清除患者数	HBsAg 清除率	HBsAg 缺失后中位 / 平均随访时间	肝癌患者数
Huo 等 [18]/ 台湾	1,355	33 月	55	NA	23 月	11
Arase 等 [17]/ 日本	5,055	48 月	156	NA	78 月	2
Chen 等 [22]/ 台湾	NA	NA	218	NA	61.7 月	2
Ahn 等 [16]/ 韩国	432 非活动携带者	233 月	49	0.5%/ 年	19.6 月	5
Chu 及 Liaw[5]/ 台湾	1,965 携带者	128 月	245	0.8%/ 年	NA	4
Yuen 等 [19]/ 香港	NA	NA	285	NA	108.9 月	7
目前研究	1,271	235.2 月	158	0.7%/ 年	103.2 月	6

缩写：NA，未得到数据。

伏在 HBsAg 清除过程中。在我们的研究中，6 名患者在清除 HBsAg 后平均 7.3 年 (范围 2-15.5 年) 发生肝癌。这样，很显然，那些清除了 HBsAg 的患者有可能发生肝癌。然而，我们的研究显示慢性乙肝病毒感染的患者在 HBsAg 清除后，肝癌发生的危险性比那些 HBsAg 仍然阳性的患者显著降低。

在清除了 HBsAg 的患者，肝癌可以发生在预先没有肝硬化者中。这也许是基于这样的事实：HBV DNA 能够整合到肝细胞基因组中。这样，即使所有循环的 HBV DNA 被清除，而整合到肝细胞的 HBV DNA 能导致人肝细胞基因组的突变，这可能在细胞分裂过程中持续发生，从而导致肝癌发展。然而，年长的携带者比年轻人更容易清除 HBsAg，在清除 HBsAg 时年龄较长者，其发展成为肝癌的风险更高 [23]。这也许是由于在清除 HBsAg 的患者中，年长者有更长时间暴露于因 HBV DNA 整合产生的破坏效应，因此增加其发展成为肝癌的风险。来自于乙肝病毒感染流行地区的研究，检测肝癌的血清标记，发现少数患者 HBsAg 阴性，而抗 -HBc 和 / 或抗 -HBs 阳性 [27,28]。可以想象，这些患者可能是先清除了 HBsAg 而后发展成为肝癌的。这样，许多所谓的隐匿性乙肝病毒相关的肝癌实际上就是那些慢性携带者清除了 HBsAg 后发展成为肝癌。

总之，我们发现 HBsAg 清除在人口众多的 HBsAg 携带者中以每年 0.7% 的速度发生。较大年龄是作为 HBsAg 清除的唯一预测因素，而 HBV 基因型不能预测清除。我们的研究首次证明 HBsAg 清除后肝癌的发生几率显著下降。然而，由于肝癌能在慢性乙肝病毒感染 HBsAg 清除后数年发生，因此随访那些清除了 HBsAg 的慢些感染者，早期发现肝癌是有意义的。指南中已建议 [29]，对 HBsAg 阳性患者定期使用甲胎蛋白及 / 或肝脏超声检查以早期发现肝癌。

参考文献

1. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. J Viral Hepat 2004;11:97-107.
2. Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. HEPATOLOGY 2006; 43(Suppl):S173-S181.
3. Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, Fleischer R, Lok ASK. Management of hepatitis B: Summary of a clinical research workshop. HEPATOLOGY 2007; 45:1056-1075.
4. Lok ASK, McMahon BJ. AASLD Practice Guidelines: chronic hepatitis B. HEPATOLOGY 2007;45:507-539.
5. Chu MC, Liaw YF. HBsAg seroclearance in asymptomatic carriers of high endemic areas: appreciably high rates during a long-term follow-up.HEPATOLOGY 2007;45:1187-1192.
6. Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, Chu CM, Pao CC. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. HEPATOLOGY 1991;13: 627-631.
7. Gunther S. Genetic variation in HBV infection: genotypes and mutants. J Clin Virol 2006;36(Suppl):S3-S11.
8. Schaefer S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. J Viral Hepat 2005;12:111-124.
9. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology 2000;118:554-559.
10. Orito E, Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Japan. Intervirology 2003;46:408-412.
11. Yang HI, Yeh SH, Chen PJ, Iloeje UH, Jen CL, Su J, et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. J Natl Cancer Inst 2008;100:1134-1143.
12. Fung SK, Lok ASF. Hepatitis B virus genotypes: Do they play a role in the outcome of HBV infection? HEPATOLOGY 2004;40:790-792.
13. McMahon BJ, Holck P, Bulkow L, Snowball M. Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. Ann Intern Med 2001;135:759-768.
14. Livingston SE, Simonetti JP, Bulkow LR, Homan CE, Snowball MM, Cagle HH, et al. Clearance of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B and genotypes A, B, C, D, and F. Gastroenterology 2007;133: 1452-1457.
15. Chen RW, Piiparinen H, Seppanen M, Koskela P, Sarna S, Lappalainen M. Real-time PCR for detection and quantitation of hepatitis B virus DNA. J Med Virol 2001;65:250-256.
16. Ahn SH, Park YN, Park JY, Chang HY, Lee JM, Shin JE, et al. Long-term clinical and histological outcomes in patients with spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. J Hepatol 2005;42:188-194.
17. Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Susuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, et al. Long-term outcome after hepatitis B surface antigen seroclearance in patients with chronic hepatitis B. Am J Med 2006;119:e9-e15.
18. Huo TI, Wu JC, Lee PC, Chau GY, Lui WY, Tsay SH, et al. Seroclear-

ance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. HEPATOLOGY 1998;28:231-236.
19. Yuen MF, Wong DKH, Fung J, Ip P, But D, Hung I, et al. HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B in Asian patients: replicative level and risk of hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2008;135: 1192-1199.
20. Fattovich G, Giustina G, Sanchez-Tapias J, Quero C, Mas A, Olivotto PG, et al. Delayed clearance of serum HBsAg in compensated cirrhosis B: relation to interferon alpha therapy and disease prognosis. Am J Gastroenterol 1998;93:896-900.
21. Sakamoto T, Tanaka Y, Simonetti J, Osiowy C, Børresen ML, Koch A, et al. Classification of hepatitis B virus genotype B into 2 major types based on characterization of a novel subgenotype in Arctic indigenous populations. J Infectious Dis 2007;196:1487-1492.
22. Chen YC, Sheen IS, Chu CM, Liaw YF. Prognosis following spontaneous HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B patients with or without concurrent infection. Gastroenterology 2002;123:1084-1089.
23. Yuen MF, Wong DK, Sablon E, Tse E, Ng IO, Yuan HJ, et al. HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B in the Chinese: virological, histological, and clinical aspects. HEPATOLOGY 2004;39:1694-1701.
24. Arase Y, Suzuki F, Susuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Akuta N, Someya T, Hosaka T et al. Long-term presence of HBV in the sera of chronic hepatitis B patients with HBsAg seroclearance. Intervirology 2007;50: 161-165.
25. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. HEPATOLOGY 1998;27:1377-1382.
26. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV. Hepatitis B virus persistance after recovery from acute viral hepatitis. J Clin Invest 1994;93:230-239.
27. Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. Cancer 1988;61:1942-1956.
28. McMahon BJ. Chronic carriers of hepatitis B virus who clear hepatitis B surface antigen: are they really “off the hook”? HEPATOLOGY 1998;28:265-267.
29. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma.HEPATOLOGY 2005;42:1208-1236.