

Hepatitis B Surface Antigen

กิตติยศ ภู่วรรณ
ปิยะวัฒน์ โกมลมิตร

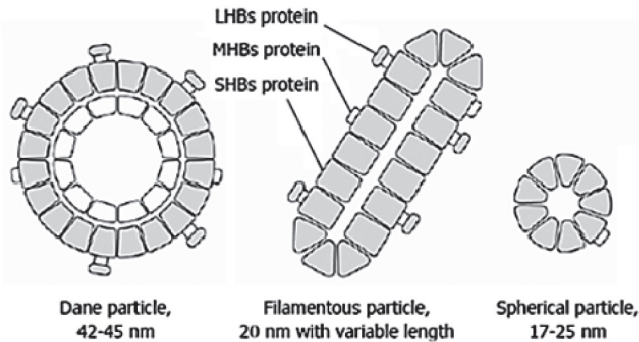
หน่วยโรคทางเดินอาหารและตับ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ไวรัสตับอักเสบบีเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศไทย และเป็นสาเหตุของภาวะตับอักเสบเฉียบพลัน ตับอักเสบริื้อรัง ตลอดจนตับแข็งและมะเร็งตับ การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี คือการตรวจหา Hepatitis B surface antigen (HBsAg) โดยที่ผ่านมาการตรวจ HBsAg จะแปลผลในเชิงคุณภาพคือเป็นบวกหรือลบ ปัจจุบันมีการตรวจวัด HBsAg ในเชิงปริมาณที่เป็นมาตรฐานโดยมีหน่วยเป็น IU/mL รวมทั้งมีการศึกษามากขึ้นเกี่ยวกับระดับ HBsAg เพื่อนำมาใช้ทางคลินิกในอนาคต

ความเป็นมาของ HBsAg

ในปี ค.ศ.1965 ได้มีการตรวจพบ HBsAg ครั้งแรกโดย Blumberg และคณะ¹ ซึ่งตรวจพบ Australian (Au) antigen ที่เกี่ยวข้องกับกาเกิดตับอักเสบบเฉียบพลัน ในภายหลังสิ่งที่ตรวจพบนั้นก็คือ HBsAg นั่นเอง Dr. Baruch Blumberg ได้รับรางวัล Nobel สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ในปี ค.ศ.1976

HBsAg ตรวจพบได้ที่เปลือกนอกของไวรัสที่สมบูรณ์ (Dane particle) และส่วนประกอบที่ไม่สมบูรณ์ของไวรัสซึ่งมี 2 รูปแบบ ได้แก่รูปแบบแท่ง (filamentous particle) และรูปแบบกลม (spherical particle) โดย HBsAg ที่ตรวจพบบริเวณผิวของอนุภาคเหล่านี้มี 3 ขนาดได้แก่ ขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ โดยเป็นโปรตีนที่สร้างจาก preS1, preS2 และ S gene² (ภาพที่ 1) การที่ไวรัสมี



ภาพที่ 1 HBsAg ขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ (SHBs proteins, MHBs protein, LHBsprotein) ที่ตรวจพบได้ที่เปลือกนอกของไวรัสที่สมบูรณ์ (Dane particle) และ ส่วนประกอบที่ไม่สมบูรณ์ของไวรัสทั้งสองแบบได้แก่ filamentous particle และ spherical particle²

อนุภาคส่วนเกินนั้นเชื่อว่ามีผลทำให้การกำจัดเชื้อโดยภูมิคุ้มกันของร่างกายเป็นไปได้ยากมากขึ้น

กลไกการสร้าง HBsAg

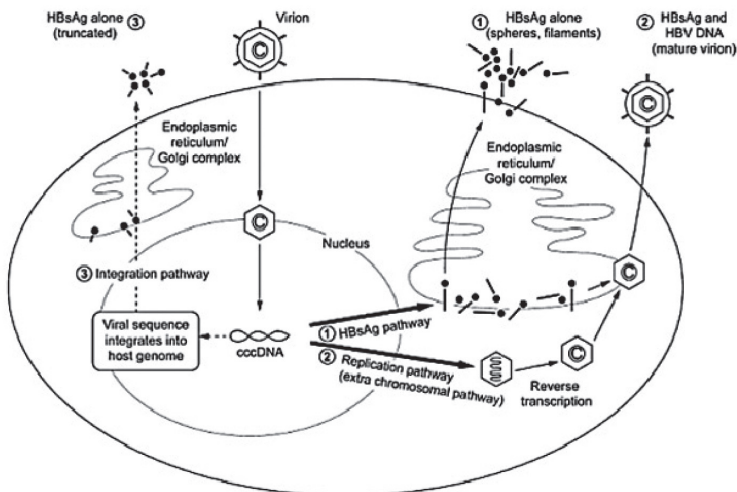
ไวรัสตับอักเสบบีจัดอยู่ในตระกูล Hepadnaviridae เป็น partially double-stranded DNA ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ประมาณ 3,200 นิวคลีโอไทด์ โดยโครงสร้างหลักของไวรัสจะประกอบด้วยเปลือกนอก (envelope) แกนของไวรัส (core) สารพันธุกรรม (DNA genome) และ viral polymerase HBsAg เป็นส่วนประกอบของเปลือกนอกของไวรัสซึ่งห่อหุ้มส่วนประกอบอื่นๆ ของไวรัสและยังมีบทบาทในการแพร่กระจายของไวรัสโดยการยึดติดกับเซลล์ตับ HBs protein มีลักษณะซึ่งมีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันของผู้ติดเชื้อที่เหมือนกันเรียกว่า a determinant โดยมีหลักๆ 4 กลุ่มได้แก่ *adw*, *ayw*, *adr* และ *ayr*³

HBsAg ถูกสร้างขึ้นภายในเซลล์ตับที่ติดเชื้อ เมื่อสารพันธุกรรมของไวรัสเข้าไปในนิวเคลียสของเซลล์ตับและเปลี่ยนรูปร่างเป็น cccDNA โดยมีกลไกการสร้าง 3 กลไก คือ 1) HBsAg pathway 2) replication pathway และ 3) integration

pathway (ภาพที่ 2)⁴ อนุภาคของ HBsAg ถูกสร้างขึ้นภายในเซลล์ตับและอยู่ที่ endoplasmic reticulum และ golgi complex ก่อนที่จะถูกใช้ประกอบเป็นผิว นอกของตัวไวรัส HBsAg ส่วนที่เหลือจะถูกปล่อยออกนอกเซลล์ตับ แต่มีบางส่วน ยังคงตกค้างอยู่ที่ endoplasmic reticulum ซึ่งทำให้เกิดลักษณะที่เรียกว่า ground-glass appearance ของเซลล์ตับเมื่อตรวจทางพยาธิวิทยา

การตรวจระดับ HBsAg

การตรวจ HBsAg นั้นสามารถทำได้หลายวิธี โดยวิธีการตรวจหลักได้แก่ radioimmunoassay (RIA) และ enzyme immunoassay (EIA) โดยการตรวจในอดีตที่ผ่านมานั้นโดยมากมีการแปลผลในเชิงคุณภาพ ปัจจุบันมีการตรวจวัดระดับ HBsAg titer ที่เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบกันได้ระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยเครื่องที่ใช้ตรวจในปัจจุบัน ได้แก่ The Architect HBsAg QT ของ Abbott Diagnostic ซึ่งสามารถตรวจ HBsAg ได้ตั้งแต่ระดับ 0.2 ng/mL โดยการตรวจวัดประเมินจาก



ภาพที่ 2 กลไกการสร้าง HBsAg จากเซลล์ตับที่ติดเชื้อได้แก่ 1) HBsAg pathway 2) Replication pathway และ 3) Integration pathway⁴



ค่าการเรืองแสงทางเคมี และแปลงหน่วยเป็น IU/mL โดยค่าที่ตรวจจะอยู่ในช่วง 0.05-250.0 IU/mL หากปริมาณมากกว่า 250 IU/mL จะต้องทำการเจือจางเพื่อให้การประเมินค่าถูกต้อง เครื่องตรวจ HBsAg ของอีกบริษัทหนึ่งคือ Elecsys HBsAg II ของ Roche Diagnostics ซึ่งให้ผลการตรวจสอดคล้องกันและไม่มีความแตกต่างกันเมื่อใช้สำหรับไวรัสตับอักเสบบีในแต่ละสายพันธุ์⁵

ระดับ HBsAg ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีระยะต่างๆ

ปัจจุบันเราแบ่งระยะของโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังโดยอาศัยการประเมินระดับการอักเสบของตับ การตรวจ HBeAg และการตรวจปริมาณไวรัส โดยแบ่งกลุ่มผู้ป่วยออกเป็นระยะต่างๆ ได้แก่ immune-tolerance phase (IT), immune-clearance phase (IC), non/low-replicative phase (LR) และ hepatitis B e antigen negative hepatitis (ENH) ซึ่งการแบ่งระยะของโรคนี้เพื่อประโยชน์ในการวางแผนการรักษาผู้ป่วย⁶

ปัจจุบันการประเมินการเพิ่มจำนวนของไวรัสที่นิยมใช้อยู่เป็นหลัก คือ การวัดปริมาณไวรัส ซึ่งช่วยในการประเมินระยะของโรคก่อนการรักษาและเป็นสิ่งที่สำคัญในการใช้ติดตามหลังจากเริ่มการรักษาและวินิจฉัยการเกิดภาวะดื้อยาของไวรัส แต่การลดลงของไวรัสเพียงอย่างเดียวยังไม่สามารถที่จะทำนายโอกาสหายหลังจากเริ่มการรักษาได้ การตรวจระดับแอนติเจนเช่น HBeAg อาจบอกถึง activity ของไวรัสในแง่มุมมองอื่นนอกเหนือไปจากปริมาณไวรัสที่ตรวจกันในปัจจุบัน ระดับของ HBsAg ที่วัดได้เป็นผลที่เกิดจากความสมดุลของเชื้อไวรัสและภูมิคุ้มกันของร่างกายในผู้ป่วยแต่ละราย โดยบ่งถึงการสร้างจาก mRNA มากกว่าที่จะเป็นการเพิ่มจำนวน (replication) ของไวรัส

การศึกษาเกี่ยวกับระดับ HBsAg ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีระยะต่างๆ พบว่าระดับ HBsAg ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี HBeAg positive จะสูงกว่า ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี HBeAg negative นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ HBsAg ในระยะ IT สูงกว่าในระยะ IC และในระยะ ENH ก็สูงกว่าในระยะ LR แสดงให้เห็นว่าในแต่ละระยะของโรคมีระดับ HBsAg ที่แตกต่างกัน⁷

ความสัมพันธ์กับ viral markers อื่นๆ

Covalently closed circular DNA (cccDNA) ที่พบในเซลล์ตับที่ติดเชื้อ แสดงถึงปริมาณการติดเชื้อในเนื้อตับและมีผลต่อการสร้างไวรัส และ HBsAg จากข้อมูลการศึกษาพบว่า ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ระดับ HBsAg มีความสัมพันธ์กับปริมาณของไวรัสในเลือด (serum HBV DNA level) ปริมาณของ cccDNA ในตับ และปริมาณของไวรัส (HBV DNA) ในเนื้อตับ โดยพบความสัมพันธ์เหล่านี้ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี HBeAg positive⁸ แต่สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มี HBeAg negative นั้น กลับพบว่าระดับของ HBsAg ในเลือดบ่งถึงปริมาณ HBsAg ในเนื้อตับแต่ไม่สัมพันธ์กับปริมาณ cccDNA และ HBV DNA ในเนื้อตับ⁹ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบการเปลี่ยนแปลงของระดับ HBsAg ซึ่งมีความสัมพันธ์กับ cccDNA ในระหว่างที่ได้รับการรักษาไวรัสตับอักเสบบี ไม่ว่าจะด้วยยาต้านไวรัสหรือยาอินเตอร์เฟอรอน¹⁰

ปัจจัยที่อาจส่งผลต่อความสัมพันธ์ที่แตกต่างกันนี้อาจเกิดจากปัจจัยทางภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยที่มีความแตกต่างกันในแต่ละระยะของโรค

ประโยชน์ทางคลินิก

การตรวจ HBV DNA เป็นการตรวจที่เป็นมาตรฐานหลักในการประเมินปริมาณไวรัส แต่ข้อจำกัดของการตรวจนี้คือต้นทุนในการตรวจที่ค่อนข้างสูงและอาจมีความแตกต่างกันในแต่ละห้องปฏิบัติการ เมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจระดับ HBsAg แล้วเป็นการตรวจที่ทำได้ง่ายกว่า และมีต้นทุนในการตรวจที่ต่ำกว่า

เป้าหมายในการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังคือการสามารถควบคุมไวรัสให้อยู่ในระยะสงบ ฝ้าติดตามผลแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้น และเป้าหมายสูงสุดคือการหายขาดจากไวรัสบี นั่นคือการที่สามารถเกิด HBsAg clearance และ HBsAg seroconversion การประเมินระดับ HBsAg ก่อนและระหว่างการรักษาจึงน่าจะมีประโยชน์ในการพยากรณ์ผลการรักษาและวางแผนการรักษาในผู้ป่วยแต่ละราย

จากผลการศึกษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วยยา



อินเตอร์เฟอรอนและลามิวูดีน เมื่อแยกกลุ่มผู้ป่วยตามระดับ HBsAg ก่อนการรักษา พบว่าหลังจากหยุดยา 1 ปี ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี HBsAg ก่อนการรักษาในระดับที่ต่ำกว่า 10,000 IU/mL มีร้อยละ 43 ของผู้ป่วยที่มีระดับไวรัสต่ำกว่า 10,000 copies/mL ส่วนกลุ่มที่มี HBsAg ก่อนการรักษาในระดับที่สูงกว่า 10,000 IU/mL มีเพียงร้อยละ 8 ของผู้ป่วยเท่านั้นที่มีระดับไวรัสต่ำกว่า 10,000 copies/mL¹¹

ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี HBeAg negative การตรวจติดตามระดับ HBsAg ระหว่างการรักษาด้วยยาอินเตอร์เฟอรอนพบว่าการที่มีระดับ HBsAg ลดลงมากกว่า 0.5 log IU/mL ที่สัปดาห์ที่ 12 หลังการรักษา และ ลดลงมากกว่า 1 log IU/mL ที่สัปดาห์ที่ 24 หลังการรักษาสามารถทำนายการตอบสนองต่อยาในระยะยาวได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มที่มีระดับ HBsAg ต่ำกว่า 1,500 IU/mL ที่สัปดาห์ที่ 12 หลังการรักษามีโอกาสเกิด HBsAg loss ในระยะเวลา 4 ปีได้ถึง 35%¹² ในอีกการศึกษาหนึ่งก็พบว่าการที่มี HBsAg ต่ำกว่า 10 IU/mL มีระดับ HBsAg ลดลงจากก่อนรักษามากกว่า 1 log IU/mL และ 2 log IU/mL หลังการรักษาด้วย peginterferon alfa-2a จะเกิด HBsAg Loss หลังการรักษา 3 ปี ถึง 52%, 30% และ 42.3% ตามลำดับ¹³

สรุป

HBsAg นอกจากจะนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแล้ว จากการศึกษาที่ผ่านมามีการประเมินถึงระดับของ HBsAg มีประโยชน์ในการทำนายการตอบสนองต่อการรักษา ยังมีข้อมูลอีกมากเกี่ยวกับระดับ HBsAg ที่ต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้สามารถนำมาประกอบการตัดสินใจรักษาผู้ป่วยในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Blumberg BS, Gerstley BJ, Hungerford DA, London WT, Sutnick AI. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia, and hepatitis. *Ann Intern Med* 1967;66:924-31.



2. Ueda K, Tsurimoto T, Matsubara K. Three envelope proteins of hepatitis B virus: large S, middle S, and major S proteins needed for the formation of Dane particles. *J Virol* 1991;65:3521-9.
3. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B Virus Infection - Natural History and Clinical Consequences. *N Engl J Med* 2004;350:1118-29.
4. Lee JM, Ahn SH. Quantification of HBsAg: Basic virology for clinical practice. *World J Gastroenterol* 2011;17:283-9.
5. Wursthorn K, Jaroszewicz J, Zacher BJ, Darnedde M, Raupach R, Mederacke I, et al. Correlation between the Elecsys HBsAg II assay and the Architect assay for the quantification of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in the serum. *J Clin Virol* 2011;50:292-6.
6. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009;50:227-42.
7. Nguyen T, Thompson AJ, Bowden S, Croagh C, Bell S, Desmond PV, et al. Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: A perspective on Asia. *J Hepatol* 2010;52:508-13.
8. Thompson AJ, Nguyen T, Iser D, Ayres A, Jackson K, Littlejohn M, et al. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: Disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. *Hepatology* 2010;51:1933-44.
9. Manesis EK, Papatheodoridis GV, Tiniakos DG, Hadziyannis ES, Agelopoulos OP, Syminelaki T, et al. Hepatitis B surface antigen: Relation to hepatitis B replication parameters in HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2011;55:61-8.
10. Wursthorn K, Lutgehetmann M, Dandri M, Volz T, Buggisch P, Zollner B, et al. Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006;44:675-84.
11. Chan HL, Wong VW, Tse AM, Tse CH, Chim AM, Chan HY, et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1462-8.



12. Marcellin P, Brunetto MR, Bonino F, Hadziyannis E, Kapprell H, McCloud P, et al. In patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B HBsAg serum levels early during treatment with peginterferon alfa-2a predict HBsAg clearance 4 years post-treatment. *Hepatology* 2008;48:718A.
13. Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, Lau GK, Farci P, Yurdaydin C, et al. Hepatitis B virus surface antigen levels: A guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009;49:1141-50.