

· 临床论著 ·

慢性丙型肝炎合并2型糖尿病患者基因型特征分析

刘莹 林潮双 蔡庆贤 彭亮 赵志新

【摘要】目的 了解慢性丙型肝炎并2型糖尿病患者基因型及相应的临床特征。**方法** 检测88例慢性丙型肝炎并2型糖尿病患者与770例慢性丙型肝炎患者基因分型,分析88例慢性丙型肝炎并2型糖尿病患者的糖化血红蛋白、空腹血糖、空腹胰岛素、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、总胆红素(TBil)、HCV RNA病毒载量及血甘油三酯等临床相关指标,并调查患者糖尿病确诊时间及抗病毒治疗情况。**结果** 慢性丙型肝炎并2型糖尿病患者3a基因型占11.36%(10/88),高于未合并2型糖尿病者3a基因型3.38%(26/770),差异具有统计学意义($\chi^2 = 7.248$, $P = 0.002$);并2型糖尿病的3a基因型患者的甘油三酯高于其他基因型($t = 2.271$, $P = 0.028$);糖尿病诊断时间多在抗病毒治疗前,部分患者控制血糖同时抗病毒治疗。**结论** 感染丙型肝炎病毒3a基因型的患者更易并2型糖尿病,应监测血糖情况,尽早筛查糖尿病,早期诊治。

【关键词】 慢性丙型肝炎; 2型糖尿病; 基因型, 3a基因型

Genotype analysis of chronic hepatitis C patients combined with type 2 diabetes mellitus LIU Ying, LIN Chao-shuang, CAI Qing-xian, PENG Liang, ZHAO Zhi-xin. Department of Infectious Diseases, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China
Corresponding author: ZHAO Zhi-xin, Email: bettyzhao02@yahoo.com.cn

【Abstract】Objective To investigate the genotype and clinical characteristics of chronic hepatitis C patients combined with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** Genotype distribution analysis was taken place in 88 chronic hepatitis C patients combined with T2DM and 770 patients with barely chronic hepatitis C, comparison has been made retrospectively upon glycosylated hemoglobin, fasting glucose, fasting insulin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), γ -glutamyl (GGT), total bilirubin (TBil), HCV RNA load and blood triglycerides, as well as investigated their diabetes mellitus diagnosis time and antiviral therapy status. **Results** The occupation ratio of HCV 3a genotype in chronic hepatitis C patients combined with T2DM was significantly higher than that of patients with barely chronic hepatitis C (11.36% vs 3.38%; $\chi^2 = 7.248$, $P = 0.002$). Blood triglycerides of patients infected with HCV genotype 3a combined with T2DM was significantly higher than other counterparts ($t = 2.271$, $P = 0.028$). Diabetes mellitus diagnosis time precedes antiviral therapy in most of patients, while antiviral therapy took place simultaneously with blood glucose control in part of them. **Conclusions** Patients infected with HCV genotype 3a would be more likely to develop type 2 diabetes. These patients are advised to monitor blood glucose on time and screen for diabetes mellitus.

【Key words】 Chronic hepatitis C; Type 2 diabetes; Genotype, 3a genotype

近年来,有报道显示慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者并发2型糖尿病(type 2 diabetic mellitus, T2DM)的几率比健康人群显著升高^[1]。丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的流行病学复杂,不同地域的患者基因型分布常不

同,不同基因型的患者其临床特征、肝组织学损害、肝外表现及干扰素对其治疗的效果不同^[2]。已有文献报道慢性丙型肝炎患者的胰岛素抵抗与HCV基因1b型、基因3型有关^[1],本研究旨在探讨CHC基因型与并发T2DM的关系,报道如下。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.04.021

基金项目: 艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治科技重大专项“十二五”计划资助项目(No. 2012ZX10002003); 中山大学临床医学研究5010计划资助(No. 2010011)

作者单位: 510630 广州市, 中山大学附属第三医院感染科

通讯作者: 赵志新, Email: bettyzhao02@yahoo.com.cn

资料与方法

一、研究对象

收集中山大学附属第三医院感染科2007年1月

至2012年8月丙型肝炎随访门诊共858例患者的临床资料进行回顾性研究,其中CHC并T2DM患者共88例,男性50例,女性38例,对照组为CHC不并T2DM者770例,男性476例,女性294例,两组患者性别差异无统计学意义($\chi^2 = 0.442$, $P = 0.506$)。CHC并T2DM患者年龄31~72岁,平均年龄(49.25 ± 17.15)岁;对照组年龄16~72岁,平均年龄(49.25 ± 17.15)岁,两组患者年龄差异无统计学意义($t = 0.181$, $P = 0.718$),性别比例和年龄均具可比性。

慢性丙型病毒性肝炎诊断符合2004年中华医学会肝病学会和传染病与寄生虫病学会制定的《中国丙型肝炎防治指南》^[3],除外其他可能导致高血糖的原因如服用激素或合并血色病、酒精性肝病、慢性胰腺炎、胰腺癌以及自身免疫性肝炎等。糖尿病诊断及分型依照1999年世界卫生组织及国际糖尿病联盟公布的糖尿病诊断标准^[4]。研究方案符合中山大学附属第三医院临床伦理委员会制订的伦理学标准并得到该委员会的批准。

二、研究方法

1. 基因型检测:患者抗病毒治疗前留取外周静脉血5 ml,分离血清后置于 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。采用宝生物工程(大连)有限公司生产的RNAiso™ Plus提取试剂盒,取140 μl 血清根据试剂盒说明书操作提取HCV总RNA, RNA溶液采用日本TOYOBO公司生产的ReverTra Ace- α -反转录试剂盒用随机引物进行逆转录。采用巢式PCR扩增core、NS5B特异性片段,琼脂糖凝胶电泳检测PCR产物,将合格的产物送北京华大基因科技有限公司(广州分公司)测序。获得的core、NS5B序列通过HCV序列数据库和已知基因型序列进行比对,可初步确定HCV的基因型。再次进行验证通过在CLUSTAL-W进行比对分析,应用MEGA4软件的邻接法构建进化树,把Jukes-Cantor作为分析模块在500 neighbor-joining replicates进行验证。然后把core扩增阳性样本和不同基因型HCV的参考序列一起构建core序列进化树,从而进一步确定HCV的基因型。

2. 生物化学指标的检测:留取患者抗病毒治疗前及治疗后外周静脉血,检测糖化血红蛋白、空

腹血糖、空腹胰岛素、AST、ALT、GGT、TBil、HCV RNA病毒载量及血甘油三酯,计算胰岛素抵抗指数(hemeostasis model assement of insulin resistance, HOMA-IR) = (空腹血清胰岛素水平 \times 空腹血糖胰岛素) / 22.5^[5]。

三、统计学处理

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合参数检验的采用 t 检验,两组间比较用独立样本 t 检验,计数资料中样本率的比较用四格表 χ^2 检验,样本构成比的比较用行 \times 列表 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、CHC并T2DM患者HCV基因型分布

CHC并T2DM患者HCV基因型分布见表1,两组患者3a基因型比例差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

二、CHC并T2DM患者不同HCV基因型的临床特征

CHC并T2DM患者中,3a基因型血甘油三酯高于非3a基因型($P < 0.05$);不同HCV基因型其余临床特征,包括年龄、性别、血糖相关指标(空腹血糖、糖化血红蛋白、HOMA-IR)、肝功能(AST、ALT、GGT、TBil)、HCV RNA病毒载量,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表2。

三、糖尿病诊断时间与抗HCV治疗的相关性

本研究中共88例CHC并T2DM患者,其中66例(75%)的T2DM诊断是在抗HCV治疗前,其余22例(25%)是在抗HCV治疗后出现。其中不同HCV基因型在糖尿病诊断时间及其与抗HCV治疗的相关性,采用CMH卡方(Cochran-Mantel-Haensel)统计,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表3。此66例治疗前诊断T2DM的患者,32例控制血糖同时抗HCV治疗,治疗后有26例达到了持续病毒学应答(sustained virologic response, SVR),余6例患者正在治疗中。34例未行抗HCV治疗的原因有14例是顾虑糖尿病因素,其他为经济、年龄等因素。

表1 CHC并T2DM患者HCV基因型的分布 [例(%)]

组别	例数	基因1b型	基因6a型	基因2a型	基因3a型	其他基因型
CHC并T2DM组	88	40 (45.45)	24 (27.27)	14 (15.91)	10 (11.36)	0 (0)
CHC组	770	376 (48.83)	214 (27.79)	102 (13.25)	26 (3.38)	52 (6.75)
χ^2		0.190	0.006	0.254	7.248	1.3531
P		0.575	1.000	0.510	0.002	0.070

表2 CHC并T2DM患者不同HCV基因型的临床指标

指标	基因1b型 (n=40)	基因6a型 (n=24)	基因2a型 (n=14)	基因3a型 (n=10)	统计量	P
年龄(岁)	54.2 ± 10.26	48.42 ± 12.67	44.6 ± 12.05	50.57 ± 8.60	$t=1.376$	0.176
性别(男/女)	20/20	18/6	6/8	6/4	$\chi^2=0.047$	0.823
空腹血糖(mmol/L)	9.24 ± 3.62	12.96 ± 7.12	10.89 ± 5.52	7.53 ± 0.96	$t=1.298$	0.201
糖化血红蛋白(%)	9.04 ± 3.31	7.98 ± 1.77	10.84 ± 3.66	9.30 ± 3.39	$t=0.181$	0.857
HOMA-IR (mmol·mIU·L ⁻²)	7.27 ± 8.65	6.34 ± 5.26	10.45 ± 11.75	5.03 ± 1.40	$t=0.670$	0.507
病毒载量 (×10 ⁷ IU/ml)	1.59 ± 2.88	0.50 ± 1.09	1.33 ± 3.12	0.14 ± 0.13	$t=0.946$	0.349
ALT(U/L)	78.35 ± 55.63	94 ± 62.82	73.86 ± 51.25	106.60 ± 105.88	$t=0.813$	0.421
AST(U/L)	81.85 ± 79.52	111.83 ± 110.31	79.43 ± 38.20	83.60 ± 77.36	$t=0.148$	0.860
GGT(U/L)	118.45 ± 120.36	119.08 ± 118.20	67.57 ± 62.95	180.80 ± 186.44	$t=1.249$	0.219
TBil(μmol/L)	39.43 ± 72.21	23.29 ± 24.33	15.49 ± 6.76	12.82 ± 4.08	$t=0.715$	0.497
甘油三酯(mmol/L)	1.65 ± 0.69	1.83 ± 0.75	1.82 ± 1.17	2.36 ± 1.14	$t=2.271$	0.028

表3 不同HCV基因型CHC并T2DM患者糖尿病诊断时间及抗病毒治疗情况[例(%)]

基因型	例数	抗HCV治疗前诊断T2DM		抗HCV治疗后诊断T2DM	χ^2	P
		控制血糖+抗HCV治疗	未行抗HCV治疗			
基因1b型	40	18(45.0)	16(40.0)	6(15.0)	4.473	0.107
基因6a型	24	4(16.7)	12(50.0)	8(33.3)	5.540	0.063
基因2a型	14	6(42.9)	4(28.6)	4(28.5)	0.715	0.700
基因3a型	10	4(40.0)	2(20.0)	4(40.0)	2.071	0.355
合计	88	32(36.4)	34(38.6)	22(25.0)		

讨 论

丙型肝炎主要以血液进行传播, HCV感染呈全球性分布, 威胁到全世界约3%的人口, 每年新增300万~400万患者^[6]。HCV基因分型具有重要的流行病学意义, 根据Simmonds等制定的方法, HCV基因型可分为1~6型, 各型可再分不同亚型。HCV 1b和2a基因型在我国较为常见, 其中以1b型为主, 6a型主要见于我国港澳地区及南方边境省份^[7], 本研究中CHC患者的基因型也以1b和6a型为主。

CHC并T2DM组与对照组基因型分布比较, 结果表明感染HCV 3a基因型的患者出现T2DM的几率较其他基因型高, 提示感染HCV 3a基因型的患者更易合并T2DM, 与Sanyal等^[8]研究结果相符。然而Douglas等^[9]指出基因1型患者易发生胰岛素抵抗, 基因3型则与肝脂肪变性密切相关。本研究结果未提示基因1型与胰岛素抵抗相关。关于CHC并T2DM患者3a基因型与非3a基因型临床特征, 本研究结果显示3a基因型血甘油三酯高于非3a基因型, 故考虑HCV 3a基因型患者更易合并T2DM的机制可能主要与其引起肝脂肪变性和胰岛素抵抗有关。3a基因型可增加甘油三酯的含量^[10]和特异性机制下调

胰岛素受体底物1(IRS-1)水平, 导致胰岛素抵抗^[11]; Piodi等^[12]发现基因3a型HCV核心蛋白与感染细胞内脂肪滴表面紧密结合, 在脂肪变性的发生中具有重要作用, 影响脂质代谢, 从而增加糖尿病的发生率; Negro等^[13]发现基因3a型HCV病毒直接介导的过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)的下调, 直接干预肝细胞中的胰岛素信号; Machado等^[14]也指出基因3a型可直接导致肝脂肪变性, 同时发现感染基因型3型HCV的患者, 仅少量病毒就可以导致肝脂肪变和胰岛素抵抗, 而抗病毒治疗可以改善肝脂肪变和胰岛素抵抗, 随着病毒量继续升高, 肝脂肪变和胰岛素抵抗可以再发或者加重, 因此, HCV 3a型可能是肝脂肪变和胰岛素抵抗的病因之一。

HCV感染、糖尿病及抗HCV治疗的相关性较复杂。应用干扰素抗HCV治疗可导致糖耐量减低甚至发生糖尿病, 或使原已存在的糖尿病加重^[15], 但本研究发现大部分CHC合并糖尿病并非由干扰素治疗引起, 本研究中88例CHC并T2DM患者, 66例的T2DM诊断是在抗HCV治疗前, 22例患者在抗HCV治疗后出现T2DM。因此, 为早期诊断糖尿病, 应在抗HCV治疗前及治疗期间密切监测血糖, 避免因

糖尿病症状较轻微或被误认为是干扰素治疗的不良反应而漏诊^[16]。本研究中66例治疗前诊断T2DM的患者, 32例控制血糖同时行抗HCV治疗, 34例未抗HCV治疗, 32例抗病毒治疗有26例达到了SVR, 余6例正在治疗中, 34例未行抗HCV治疗的原因有14例是顾虑糖尿病糖尿病因素。临床医师须认识糖尿病并非干扰素治疗的禁忌证, 控制血糖监测血糖的同时抗病毒治疗是安全的^[17], 同时有研究表明糖尿病会影响抗HCV治疗的疗效, 胰岛素抵抗是慢性丙型肝炎患者的抗病毒治疗SVR的独立预测因子^[18]。因此, 对于明确诊断CHC合并T2DM的患者, 无论从安全还是疗效角度考虑, 均应早期治疗糖尿病, 建议干扰素抗病毒治疗之前改善胰岛素抵抗控制血糖以提高抗病毒应答。

CHC并发T2DM的风险较健康人群高, 因此, 在诊治CHC患者的过程中, 尤其对于基因3型患者, 宜密切监测血糖情况, 尽早筛查糖尿病, 早期诊断, 尽早控制CHC并T2DM患者的血糖, 有效预防糖尿病各种并发症的发生, 改善胰岛素抵抗以提高抗病毒应答。由于地域的差异性, 广东地区HCV 3a基因型患者较为少见, 本研究收集的患者中3a基因型CHC患者例数较少, 研究结果可能存在倚倚, CHC并T2DM与基因型的相关性有待进一步研究。

参考文献

- 1 Serfaty L, Capeau J. Hepatitis C, insulin resistance and diabetes: clinical and pathogenic data. *Liver Int*, 2009, 29(Suppl 2): 13-25.
- 2 Kahloun A, Babba T, Fathallah B, et al. Prevalence of extra-hepatic manifestations in infection with hepatitis C virus: study of 140 cases. *Tunis Med*, 2011, 89(6): 557-560.
- 3 中华医学会肝病学会, 传染病与寄生虫病学会. 丙型肝炎防治指南. *中华传染病杂志*, 2004, 22(2): 194-198.
- 4 World Health Organization, Definition diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation, Geneva 1999. http://www.staff.ncl.ac.uk/philip.home/who_dmc.htm#DiagCriteria.
- 5 Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, et al. Alteration of intrahepatic cytokine expression and AP-1 activation in transgenic mice expressing hepatitis C virus core protein. *Virology*, 2002, 304(2): 415-424.
- 6 Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int*, 2009, 29(1): 74-81.
- 7 赵璐, 冯悦, 夏雪山. HCV 基因型的差异性流行与进化. *遗传*, 2012, 34(6): 666-672.
- 8 Sanyal AJ, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with hepatitis C is associated with features of the metabolic syndrome. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98(9): 2064-2071.
- 9 Douglas MW, George J. Molecular mechanisms of insulin resistance in chronic hepatitis. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(35): 4356-4364.
- 10 Abid K, Pazienza V, de Gottardi A, et al. An in vitro model of hepatitis C virus genotype 3a-associated triglycerides accumulation. *J Hepatol*, 2005, 42(5): 744-751.
- 11 Pazienza V, Clément S, Pugnale P, et al. The hepatitis C virus core protein of genotypes 3a and 1b downregulates insulin receptor substrate1 through genotype-specific mechanisms. *Hepatology*, 2007, 45(5): 1164-1171.
- 12 Piodi A, Chouteau P, Lerat H, et al. Morphological changes in intracellular lipid droplets induced by different hepatitis C virus genotype core sequences and relationship with steatosis. *Hepatology*, 2008, 48(1): 16-27.
- 13 Negro F. Peroxisome proliferator-activated receptors and hepatitis C virus-induced insulin resistance. *PPAR Res*, 2009, 2009: 483-485.
- 14 Machado MV, Cortez-Pinto H. Insulin resistance and steatosis in chronic hepatitis C. *Ann Hepatol*, 2009, 8(Suppl 1): S67-S75.
- 15 Nemesanszky E, Pusztay M, Csepregi A. Effects of interferon treatment on the glucose metabolism of patients with chronic hepatitis C. *Eur J Intern Med*, 2000, 11(3): 151-155.
- 16 Schreuder TC, Gelderblom HC, Weegink CJ, et al. High incidence of type 1 diabetes mellitus during or shortly after treatment with pegylated interferon alpha for chronic hepatitis C virus infection. *Liver Int*, 2008, 28(1): 39-46.
- 17 熊亚星, 邓永东. 聚乙二醇干扰素治疗慢性丙型肝炎合并糖尿病的临床观察. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(7): 692-693.
- 18 Romero-Gomez M, Del Mar Viloria M, Andrade RJ, et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*, 2005, 128(3): 636-641.

(收稿日期: 2013-01-26)

(本文编辑: 孙荣华)

刘莹, 林潮双, 蔡庆贤, 等. 慢性丙型肝炎合并2型糖尿病患者基因型特征分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2013, 7(4): 556-559.