

· 临床论著 ·

162 例 HBV 感染者的基因型分析及临床意义

李文东 孙静媛 王宪波 王融冰

【摘要】 目的 HBV 基因型与 HBV 传播方式、临床疾病谱、疾病进展、病情预后、以及抗病毒疗效均有一定的相关性,本研究拟进一步探讨 HBV 感染者基因型的临床意义。**方法** 对我院 162 例 HBV 感染者进行 HBV 基因型分析,并对其肝功能、乙型肝炎病毒血清标志物(包括前-S1 抗原)、HBV DNA 定量和 T 细胞亚群等进行检测和分析。**结果** HBV 基因型存在地域分布,北方人基因型以 C 型为主,南方人基因型以 B 型为主。在无症状携带者或急性肝炎-慢性肝炎-肝硬化-肝癌的进展顺序中,基因型 B 的比例逐渐减少,而基因型 C 的比例则逐渐增多。基因型 C 和 BC 混合型的前白蛋白水平(前-A)、白蛋白水平(ALB)以及白蛋白/球蛋白比例(A/G)较基因型 B 显著降低(分别为 $P=0.03$ 、 $P=0.03$ 、 $P=0.01$ 和 $P=0.005$ 、 $P=0.001$ 、 $P<0.001$),基因型 C 的胆碱酯酶(CHE)水平较基因型 B 显著降低,基因型 C 和 BC 混合型的球蛋白水平(GLO)较基因型 B 显著增加(分别为 $P<0.001$ 和 $P=0.013$);而在 ALT、AST、TBil、GGT、ALP 和 TBA 水平则差异不显著($P>0.05$)。基因型 C 和 BC 混合型的 HBV 感染者中,前-S1 抗原阳性率较高(分别为 71.3% 和 66.7%),而基因型 B 的则低(阳性率 30%);相反,基因型 B 的 HBV 感染者前-S1 抗原阴性率高(66.7%),而基因型 C 和 BC 混合型的前-S1 抗原阴性率低(分别为 26.6% 和 25.9%)。**结论** HBV 感染者的 HBV 基因型存在地域分布,基因型 C 较基因型 B 的肝功能损害严重,进展为慢性肝炎、肝硬化、肝癌的比例高。基因型 C 的前-S1 抗原阳性率较高,基因型 B 的前-S1 抗原阴性率高,它们的相关关系有待进一步研究。

【关键词】 HBV 感染;HBV 基因型;前-S1 抗原

Genotyping of hepatitis B virus in 162 patients infected with hepatitis B virus and its clinical significance LI Wen-dong, SUN Jing-yuan, WANG Xian-bo, WANG Rong-bing. Beijing Ditan Hospital, Beijing 100011, China

Corresponding author: LI Wen-dong, Email: liwendong68@yahoo.com

【Abstract】 Objective Previous studies showed that HBV genotypes correlated with HBV transmission, clinical disease spectra, progression, prognosis, antiviral effect, etc. This study is aimed to evaluate the clinical significance of HBV genotypes. **Methods** HBV genotypes were analyzed in 162 patients infected with hepatitis B virus. Liver function, HBV markers including pre-S1, HBV DNA levels and T cell

作者单位:100011 北京,北京地坛医院

通讯作者:李文东 Email:liwendong68@yahoo.com

subsets of these patients were also measured. **Results** HBV genotypes had a geographical distribution. Genotype C was mainly prevalent in patients from north of China while genotype B from south of China. In the progression of asymptomatic carrier or acute hepatitis to chronic hepatitis, liver cirrhosis and liver cancer, genotype C increased while genotype B decreased. Genotype C and genotype BC showed lower levels in prealbumin (pre-A), albumin (ALB) and lower ratio of albumin to globulin (A/G) than genotype B ($P=0.03$, $P=0.03$, $P=0.01$ and $P=0.005$, $P=0.001$, $P<0.001$, respectively), but showed higher levels in globulin (GLO) than genotype B ($P<0.001$ and $P=0.013$, respectively). Genotype C showed lower levels in cholinesterase (CHE) than genotype B ($P=0.007$). There was no significant difference among HBV genotypes in the levels of alanine transferase (ALT), aspartate transferase (AST), total bilirubin (TBil), gamma-glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), total bile acid (TBA). The positive rates of pre-S1 antigen of genotype C and genotype BC were high (71.3% and 66.7%, respectively) while those of genotype B was low (30%). On the contrary, genotype C (26.6%) and genotype BC (25.9%) indicated lower negative rates of pre-S1 antigen than genotype B (66.7%). **Conclusions** HBV genotypes had a geographical distribution. Genotype C showed more serious liver dysfunction than genotype B and was easier to develop into chronic hepatitis, liver cirrhosis and liver cancer. Further study was needed to know why genotype C has high pre-S1 positive rate while genotype B has high pre-S1 negative rate.

【Key words】 HBV infection; HBV genotype; Pre-S1 antigen

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)为一嗜肝双链 DNA 病毒,人体感染后可表现为无症状携带者、急性肝炎(一部分完全恢复;一部分转为慢性肝炎)、慢性肝炎、重型肝炎、肝硬化和肝癌。根据 HBV DNA 全基因核苷酸序列的自然异质性 $\geq 8\%$,可将 HBV 分成 A、B、C、D、E、F、G 和 H 8 个基因型^[1],部分基因型还可进一步分为基因亚型,基因型存在一定的地理区域分布特征。目前研究表明,HBV 基因型与 HBV 传播方式、临床疾病谱、疾病进展、病情预后、以及抗病毒疗效均有一定的相关性^[2-4]。本研究对我院 162 例 HBV 感染者进行了病毒基因型的测定,并对不同基因型的相关检测进行比较分析,现报告如下。

资料和方法

一、研究对象

所有患者均为本院 2004 年 12 月~2006 年 1 月住院的 HBV 感染者,诊断符合 2000 年全国传染病与寄生虫病学术会议修订的病毒性肝炎防治方案中的诊断标准,共 162 例,男 136 例,平均年龄(41.3 ± 12.3)岁,女 26 例,平均年龄(48.1 ± 13.3)岁;包括无症状携带者 2 例、急性肝炎 8 例、慢性肝炎 83 例、重型肝炎 5 例、

肝炎肝硬化 42 例、肝癌 22 例。HIV、HEV、HCV、HDV 均阴性。

二、材料和方法

1. HBV DNA 定量:采用罗氏公司的 Light Cycler 荧光定量 PCR 仪进行定量,由本院传染病研究所完成。

2. HBV DNA 基因分型:采用 PCR 扩增法,由本院传染病研究所完成。

3. 肝功能常规和乙型肝炎血清标志物检测:采用全自动生化分析仪检测肝功能,采用美国 Abbott 公司生产的 AxSyM 全自动免疫荧光分析仪及配套 Abbott 试剂检测乙型肝炎血清标志物。

三、统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计软件进行分析,计量资料正态分布,采用 t 检验。

结 果

一、HBV 基因型与地域分布的关系

在 162 例 HBV 感染者中,来自北方地区的为 136 人,南方地区的则为 26 人,北方地区基因型 C 型 86 例(占 63.2%);南方地区基因型 B 型 14 例(占 53.8%),见表 1。

二、HBV 感染者的 HBV 基因型分布

HBV 感染者的 HBV 基因型分布中,2 例无症状携带者和已显示 HBsAg 阴转的急性肝炎患者基因型以 B 型为主,分别占到 100% 和 50%;而慢性肝炎、肝硬化、肝癌患者基因型以 C 型为主,分别占到 59%、61.9%、72.7%。在无症状携带者或急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化、肝癌的顺序中,基因型 B 的比例逐渐减少,而基因型 C 的比例则逐渐增多,见表 2。

表 1 不同 HBV 基因型与地域分布的关系[例(%)]

地域	C	B	BC	A	未分型
北方	86(63.2)	16(11.8)	25(18.4)	-	9(6.6)
南方	8(30.8)	14(53.8)	2(7.7)	1(3.8)	1(3.8)

表 2 HBV 感染者的 HBV 基因型分布比较[例(%)]

疾病谱	例数	C	B	BC	A	未分型
携带者	2	-	2(100)	-	-	-
急性肝炎	8	1(12.5)	4(50)	2(25)	-	1(12.5)
慢性肝炎	83	49(59)	17(20.5)	13(15.7)	1(1.2)	3(3.6)
肝硬化	42	26(61.9)	4(9.5)	10(23.8)	-	2(4.8)
慢重肝	5	2(40)	2(40)	1(20)	-	-
肝癌	22	16(72.7)	1(4.5)	1(4.5)	-	4(18.2)

三、HBV 基因型与肝功能的关系

在对不同基因型进行肝功能指标的比较中发现,基因型 BC 混合型的前白蛋白水平(前-A)、白蛋白水平(ALB)以及白蛋白/球蛋白比例(A/G)较基因型 B 显著降低(均为 $P < 0.01$),而基因型 C 的前白蛋白水平、白蛋白水平则较基因型 B

降低更为显著($P < 0.01$);基因型 C 的胆碱酯酶水平(CHE)较基因型 B 降低非常显著;基因型 BC 混合型和基因型 C 的球蛋白水平(GLO)较基因型 B 显著增加(分别为 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$);而在 ALT、AST、TBil、GGT、ALP 和 TBA 水平则差异不显著($P > 0.05$),见表 3。

四、HBV 基因型与前-S1 抗原的关系

在我们的研究中发现,HBV 基因型与前-S1 抗原存在一定的关系。基因型 C 和 BC 混合型的 HBV 感染者,前-S1 抗原阳性率分别占到 71.3% 和 66.7%,而基因型 B 的前-S1 抗原阳性率仅为 30%;相反,基因型 B 的前-S1 抗原阴性率占到 66.7%,而基因型 C 和 BC 混合型的 HBV 感染者,前-S1 抗原阴性率分别占到 26.6% 和 25.9%,见表 4。

表 3 HBV 基因型与肝功能的关系($\bar{x} \pm s$)

基因型	例数	ALT(μL)	AST(μL)	TBil($\mu\text{mol/L}$)	前-A(mg/L)	ALB(g/L)
C	94	256.0 \pm 344.0	196.0 \pm 247.7	67.0 \pm 92.5	97.7 \pm 58.4	33.8 \pm 6.3
B	30	467.6 \pm 584.9	234.8 \pm 358.4	90.0 \pm 216.5	132.8 \pm 57.2	38.0 \pm 4.2
BC	27	322.6 \pm 526.0	214.5 \pm 340.1	71.0 \pm 91.3	100.6 \pm 52.3	35.1 \pm 5.5
A	1	80.9	87.0	10.4	171.0	42.3
未分型	10	403.7 \pm 477.1	235.5 \pm 192.3	81.1 \pm 76.1	102.3 \pm 79.9	32.8 \pm 9.8

基因型	GLO(g/L)	A/G	GGT(μL)	ALP(μL)	CHE(μL)	TBA($\mu\text{mol/L}$)
C	33.2 \pm 5.5	0.99 \pm 0.28	125.9 \pm 115.6	109.7 \pm 76.7	4040.6 \pm 2478.3	75.3 \pm 86.0
B	28.7 \pm 3.9	1.31 \pm 0.27	116.3 \pm 104.5	101.5 \pm 49.2	5437.6 \pm 2343.9	57.4 \pm 71.8
BC	32.0 \pm 5.7	1.10 \pm 0.33	108.4 \pm 115.5	99.1 \pm 72.3	4703.9 \pm 2152.0	84.9 \pm 105.1
A	22.7	1.80	9.0	215.0	11776.0	1.9
未分型	32.1 \pm 4.2	1.01 \pm 0.40	154.1 \pm 229.0	145.7 \pm 92.5	4943.6 \pm 4204.1	103.8 \pm 98.5

表 4 HBV 基因型与前-S1 抗原的关系

基因型	例数	前-S1 抗原		
		+(%)	-(%)	未测(%)
C	94	67(71.3%)	25(26.6%)	2(2.1%)
B	30	9(30%)	20(66.7%)	1(3.3%)
BC	27	18(66.7%)	7(25.9%)	2(7.4%)
A	1	1(100%)		
未分型	10	5(50%)	4(40%)	1(10%)

讨 论

本研究结果显示,在我院检测的 162 例 HBV 感染者中,北方人以 C 基因型为主(占 63.2%),南方人以 B 基因型为主(占 53.8%),这种地区间 HBV 基因型分布的差异与以往报道一致^[5]。在我们的研究中,除了基因型 B、基因型 C 和两者混合型 BC 外,发现 1 例基因型 A 来自西藏,另有 10 例未分型,不能分型的原因

可能与不同基因型的引物设计有关(如设计的基因型引物位点突变等),也可能为不常见的基因型 G 和 H,我院的基因型检测中未涉及此两型。

我们的研究结果表明,无症状携带者和急性肝炎(均显示 HBsAg 阴转)患者基因型以 B 型为主;而慢性肝炎、肝硬化、肝癌患者基因型以 C 型为主;在无症状携带者或急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化、肝癌的进展顺序中,基因型 B 的比例逐渐减少,而基因型 C 的比例则逐渐增多,这与以往研究结果一致^[8]。可见基因型 C 的 HBV 感染者易慢性化,并易进展为肝硬化和肝癌,也即是说基因型 C 的 HBV 感染者较基因型 B 的病情重、预后差^[6,7]。童巧霞等^[8]在对 138 例患者进行基因型与临床表型的研究中发现基因型 B、C 及混合型在重型肝炎、肝硬化及肝癌患者中的分布存在差异,混合型只见于重型肝炎、肝硬化患者,而在我们的研究中,基因型 BC 混合型可见于急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化、重型肝炎和肝癌。李朝霞等^[9]对 53 例慢性 HBV 感染者进行轻、中、重分度后发现,重度慢性乙型肝炎组的 C 基因型比例高于轻、中度慢乙型肝炎组($P < 0.05$);C 型 ALT、TBil 水平均高于 B 型($P < 0.05$);而我们的研究没有发现基因型 B 和基因型 C 在转氨酶(ALT、AST)和胆红素(TBil)水平存在显著差异($P > 0.05$)。但我们发现,基因型 BC 混合型的前白蛋白水平、白蛋白水平以及白蛋白/球蛋白比例较基因型 B 显著降低(分别为 $P = 0.03$, $P = 0.03$ 和 $P = 0.01$),而基因型 C 的前白蛋白水平、白蛋白水平以及白蛋白/球蛋白比例则较基因型 B 降低更为显著(分别为 $P = 0.005$, $P = 0.001$ 和 $P < 0.001$);基因型 C 的胆碱酯酶水平较基因型 B 降低非常显著;基因型 BC 混合型和基因型 C 的球蛋白水平较基因型 B 显著增加(分别为 $P = 0.013$ 和 $P < 0.001$)。这些也是反映肝脏功能的指标,也说明基因型 C 较基因型 B 的肝损害重。

值得关注的是,我们的研究发现 HBV 基因型与前-S1 抗原存在一定的关系。基因型 C 和 BC 混合型的 HBV 感染者,前-S1 抗原阳性比例较高(分别占 71.3% 和 66.7%),而基因型 B 的 HBV 感染者前-S1 抗原阴性比例高(占 66.7%)。有 6 例基因型 C 的 HBV 感染者前-S1 抗原阳性转阴性,并显示对抗病毒治疗有效;但未发现前-S1 抗原阴性转阳性者。需要提到的是,已发生 HBsAg 阴转的 6 例急性肝炎患者除 1 例未检测前-S1 抗原外,其余 5 例都为前-S1 抗原阴性(其中 1 例由阳性转为阴性)(结果未显示)。综合前述,前-S1 抗原及其变化可能与病情进展、预后及疗效评价有重要关系,这需要扩大样本量及深入研究才能作出结论。

以往的研究表明,基因型 B 和 C 的 HBV DNA 病毒复制载量并无明显差异^[9],我们的研究也得到相似的结论(结果未显示);我们的结果还显示基因型 B 和 C 的 T 细胞亚群存在差异,但这种差异无统计学意义($P > 0.05$)。

总之,HBV 基因型在 HBV 感染者的发病、病情发展与治疗中均扮演着重要的角色;目前,HBV 基因型的检测已在许多医院开展,但对于其临床意义仍还有许多值得进一步研究的地方。

参 考 文 献

- 1 Kato H, Gish RG, Bzowej N, et al. Eight genotypes (A-H) of hepatitis B virus infecting patients from San Francisco and their demographic, clinical, and virological characteristics. *J Med Virol*, 2004, 73:516-521.
- 2 Lindh M, Hannoun C, Dhillon AP, et al. Core promoter mutations and genotypes in relation to viral replication and liver damage in East Asian hepatitis B virus carriers. *J Infect Dis*, 1999, 179:775-782.
- 3 Usuda S, Okamoto H, Iwanari H, et al. Serological detection of hepatitis B virus genotypes by ELISA with monoclonal antibodies to type-specific epitopes in the preS2-region product. *J Virol Methods*, 1999, 80:97-112.
- 4 Fang ZL, Ling R, Wang SS, et al. HBV core promoter mutations prevail in patients with hepatocellular carcinoma from Guangxi, China. *J Med Virol*, 1998, 56:18-24.
- 5 范金水, 庄辉, 李永贵, 等. 我国 8 城市 HBsAg 阳性和阴性乙肝患者的病毒血清型和基因型分析. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1998, 18:88-92.
- 6 Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic Hepatitis B. *Gastroenterology*, 2000, 118:554-559.
- 7 许军, 王齐欣, 蒋栋, 等. 乙型肝炎病毒基因型与病情轻重的关系. *中华肝脏病杂志*, 2003, 11:11-13.
- 8 童巧霞, 吴艳艳, 罗端德. 乙型肝炎病毒基因型及其临床意义的研究. *国外医学流行病学传染病学分册*, 2005, 32:8-10.
- 9 李朝霞, 施云珍, 宋亚军, 等. HBV 基因型的检测及其临床意义探讨. *浙江临床医学*, 2004, 6:839-840.

(收稿日期:2007-05-21)

(本文编辑:郭江)