

慢性乙型肝炎患者 HBV 基因表型与血清学测定的临床意义

顾利江 卜劲松 陈 捷

摘 要 **目的** 分析慢性乙型肝炎患者 HBV 基因表型和血清学特征,以探讨二者的临床意义。**方法** 检测 210 例慢性乙型肝炎患者 HBV DNA 载量和 HBV 基因亚型、HBV 血清标志物 HBsAg 和 HBeAg 以及 ALT 水平,分析免疫耐受期、免疫清除期、低水平复制期和复发期 4 个时相中 HBV 基因亚型与血清标志物水平、HBsAg 效价与 HBV DNA 载量、HBeAg 及 ALT 水平的相关性。**结果** 慢性乙型肝炎患者 HBV 基因型主要为 HBV DNA 高载量的 B2 和中等载量的 C2 亚型,阳性率分别为 59.0% 和 25.2%。B2 亚型与 HBsAg、HBeAg 和 ALT 水平均呈显著正相关($P < 0.01$),C2 亚型与各指标水平均无显著相关性($P < 0.05$)。乙型肝炎不同时相的基因亚型阳性率之间差异无统计学意义($P > 0.05$),但 HBsAg 水平与 HBV DNA 量、HBeAg 和 ALT 水平分别存在不同的相关性。**结论** HBV 基因分型和血清学检测可早期预测慢性乙型肝炎患者长期疾病进展结果。

关键词 慢性乙型肝炎 HBV 基因型 定量血清学检测 疾病结果

中图分类号 R575

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.05.045

Clinical Significance of HBV Molecular Genotypes and Quantitative Serology Detection in Patients with Chronic Hepatitis B Gu Lijiang, Bu Jinsong, Chen Jie. Department of Laboratory Medicine, Shangyu People's Hospital of Shaoxing City, Zhejiang 312300, China

Abstract **Objective** To characterize the molecular genotypes and quantitative serological biomarker, and to explore their clinical significance in patients with chronic hepatitis B (CHB). **Methods** A total of 210 CHB patients were enrolled and HBV DNA loading, HBV molecular genotypes, quantitative serological biomarker, and ALT were measured. Patients were grouped according to the natural phases of HBV infection: HBeAg (+) immune tolerance, immune clearance, HBeAg (-) low replicative and reactivation phase. The correlation was analyzed between molecular genotypes and serological biomarkers, HBsAg and other biomarkers. **Results** Subgenotypes B2 with high level of HBV DNA and C2 with middle level of HBV DNA were found to be most prevalent. The positive rates were 59.0% (B2) and 25.2% (C2). Patients genotype with B showing more potent viral activity. Subgenotype B2 was significantly correlated with HBsAg, HBeAg, and ALT levels ($P < 0.01$), but there was no statistical difference for subgenotype C2. There was statistical difference between positive rates of subgenotypes ($P > 0.05$), but HBsAg level was found to be significantly correlated with HBV DNA, HBeAg, ALT levels during some phases of CHB. **Conclusion** Molecular genotyping and quantitative serological biomarkers detection might be helpful for earlier prediction of the long-term disease outcomes in patients with CHB.

Key words Chronic hepatitis B; Virus genotype; Quantitative serological detection; Disease outcomes

慢性乙型肝炎是导致肝硬化以及肝癌的主要原因^[1]。HBV 病毒复制引起慢性感染,宿主的免疫应答在 HBV 相关肝损伤以及 HBV 病毒的复制过程中起到重要作用。HBV 感染的自然发展过程中 HBV DNA 可呈现动态改变,表明其水平受多种因素影响,包括乙型肝炎表面抗原、e 抗原、HBV 基因型的循环水平等,这些因素影响疾病的发展及患者对抗病毒治疗的反应^[2]。由于病毒反转录酶的高出错率而出现多种基因型,从而影响疾病的发展过程及对治疗的反应^[3]。因此,HBV 基因型与血清学分析对疾病病情及治疗评估均具有重要意义。然而本地区慢性乙型肝炎患者 HBV 基因型与血清学表现以及基因型与血清学之间的关系并不明确。鉴于此,笔者通过观察

HBV 感染不同进程的病毒分子基因型和血清学的变化,探讨其临床意义。

材料与方法

1. 一般资料:选取 2011 年 12 月~2013 年 10 月,于笔者医院门诊初次就诊并确诊慢性乙型肝炎患者 210 例,其中,男性 129 例,女性 81 例,年龄 18~74 岁,平均年龄 33.4 ± 12.4 岁。按照文献[4],根据乙型肝炎患者血清标志物划分,属于免疫耐受期(IT)者 45 例,免疫清除期(IC)者 81 例,低水平复制期(LR)者 33 例,复发期(RE)者 51 例。所有患者 2 周内未使用抗病毒、免疫调节、保肝等药物等治疗,患者 HBV DNA 定量水平在 $10^3 \sim 10^8$ 拷贝/毫升范围。所有患者诊断标准均符合 2005 年中华医学会肝病学会与感染病学分会联合制定的《慢性乙型肝炎防治指南》^[5]。

2. 方法:(1)HBV 血清标志物测定:采用美国雅培公司 I2000 免疫发光分析仪及配套试剂定量测定乙型肝炎病毒血清标志物 HBsAg 和 HBeAg(IU/ml)。(2)HBV DNA 定量测定

和基因分型:采用美国 ABI7300 real-time PCR 扩增仪测定。HBV 核酸定量检测试剂购自湖南圣湘生物科技有限公司,HBV A、B、C、D 基因及亚型引物、TaqMan 探针分别购自上海科华生物工程股份有限公司。本实验操作由持证上岗人员严格按照说明书进行。(3)ALT 测定:使用日本 Olympus 全自动生化分析仪及配套试剂测定血清 ALT 水平。

3. 统计学方法:使用 SPSS 13.0 统计学软件,对组间的差异进行卡方检验,对两组间及两指标水平的相关性进行 *Pearson* 相关性检测,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同 HBV DNA 水平的各种基因型分布:210

表 1 不同 HBV DNA 水平下基因亚型分布情况

HBV DNA (拷贝/毫升)	<i>n</i>	基因型 阳性数	B2 型			C2 型			(B2/C2)混合型		
			<i>n</i>	阳性率 (%)	阳性 构成比	<i>n</i>	阳性率 (%)	阳性 构成比	<i>n</i>	阳性率 (%)	阳性 构成比
1 × 10 ³ ~ ⁴ 组	51	26	16	31.37	8.65	10	19.61	5.41	0	0	0
1 × 10 ⁴ ~ ⁶ 组	55	55	24	43.64	12.97	30	54.55	16.22	1	1.82	0.54
1 × 10 ⁶ ~ ⁸ 组	104	104	84	80.77	45.41	13	12.50	7.03	7	6.73	3.78
合计	210	185	124	59.05	67.03	53	25.24	28.65	8	3.81	4.32

2. 基因分布与血清学标志物的关系:B2 亚型与 HBsAg、HBeAg 和 ALT 水平均显著正相关,C2 亚型与各指标水平均无显著相关性($P < 0.05$,表 2);4 时相

名慢性乙型肝炎患者中,185 名患者分子基因表型检测阳性(88.10%),其中 A、B1、C1、D 基因亚型阳性率为零,而阳性患者中 B2 (124/210, 59.05%) 最高,其次为 C2 (53/210, 25.24%),混合型最低(8/210,3.81%)。不同 HBV DNA 水平各组中,B2 和 C2 基因表型的阳性率和构成比差异均有统计学意义(B2: $\chi^2 = 34.068$ 和 29.234;C2: $\chi^2 = 19.771$ 和 17.101; P 均 = 0.000);B2 表型和混合型阳性率和构成比在 HBV DNA 1 × 10⁶~⁸组最高,C2 表型在 HBV DNA 1 × 10⁴~⁶组最高(表 1)。

的基因亚型阳性率之间差异无统计学意义($\chi^2 = 5.468, 4.101; 1.456, P > 0.05$,表 3)。

表 2 B2 和 C2 基因型表达与 DNA、HBsAg、HBeAg 和 ALT 水平的相关性

基因型	log DNA		HBsAg		HBeAg		ALT	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
B2	0.97	0.157	1	0.015	1	0.013	0.999	0.024
C2	0.219	0.859	-0.191	0.88	-0.113	0.928	0.970	0.155

表 3 不同时相患者基因型阳性百分率[*n*(%)]

时相	总例数	基因型例数			
	(<i>n</i>)	(<i>n</i>)	B2	C2	B2/C2
IT	45	40	29(64.4)	9(20.0)	2(4.4)
TC	81	71	52(64.2)	16(19.8)	3(3.7)
LR	33	29	16(48.5)	12(36.4)	1(3.0)
RE	51	45	27(52.9)	16(31.3)	2(3.9)

3. 4 时相组 HBsAg 与其余血清生物学标志物间的相关性:在 IC 组,HBsAg 水平与 HBV DNA 量、HBeAg 和 ALT 水平均呈显著正相关($P < 0.01$);在 LR 和 RE 组,HBsAg 水平与 HBV DNA 量呈显著正相关($P < 0.01$);IT 组 HBsAg 水平与各指标均无显著相关性($P > 0.05$,表 4)。

表 4 不同时相中 HBsAg 效价与 DNA、HBeAg 和 ALT 水平的相关性

生物学标志	IT 组		IC 组		LR 组		RE 组	
	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>R</i>	<i>P</i>
log(HBV DNA)	-0.204	0.183	0.337	0.009	0.58	0.006 [#]	0.451	0.007
HBeAg	-0.165	0.298	0.402	0.002	-0.151	0.514	-0.075	0.668
ALT	-0.011	0.957	0.985	0.001	0.087	0.708	0.047	0.731

讨 论

HBV 感染后会导致病程长短不一、病情轻重不等、临床结局不同的肝脏疾病谱,如急性肝炎、急性肝衰竭、慢性肝炎、慢性肝衰竭、肝硬化、肝癌等,而这些

疾病谱的不同除了与感染者年龄、机体免疫力、HBV DNA 载量有关外,还与 HBV 基因型有关^[6]。本研究中本地区 HBV 的基因型主要为 B2 和 C2 型,以 B2 型为主(59.0%),其余基因型极少,其他研究者的报

道与笔者的结果基本相符^[7,8]。然而在笔者研究结果中,B2型患者以高载量HBV DNA为主,而C2型以中等水平为主,似乎B2型患者更容易导致HBV复制而使其载量升高,这与其他报道存在差异^[9];但前述结果提示在不同HBV DNA水平条件下,病毒的基因亚型并不相同,病毒基因型与HBVDNA水平有关。然而研究结果进一步显示,处于乙型肝炎病毒感染不同时相的患者其基因型分布无显著差异,表明慢性乙型肝炎自然进程中HBV基因型分布与患者疾病状况并无明显关系;由于不同时相患者HBVDNA、HBsAg、HBeAg以及ALT都具有明显差异,似乎与基因型和HBVDNA关系的结论存在矛盾,可能与不同时相患者影响因素较多而前述仅观察了HBV DNA载量有关。

基因亚型与血清HBeAg的抗体转换相关^[10],与C亚型相比,B亚型患者的乙型肝炎患者HBeAg血清学转换更早,更不易导致肝损伤及肝硬化^[11]。HBV DNA水平及血清HBsAg、HBeAg与ALT已被公认对慢性乙型肝炎的临床转归起到了重要作用^[3]。笔者发现,B2基因亚型与高水平HBV DNA、HBsAg、HBeAg和ALT水平密切相关,而C2型与它们并不相关,这表明HBV基因型与HBeAg水平及肝疾病活动性相关,B亚型患者的病毒活动能力更强,B亚型患者的HBeAg阳性率比C亚型患者高。B亚型与C亚型患者的这种疾病严重程度的差别的原因无从得知,但从结果确实表现出如此明显的差别,对此值得进一步研究。本研究中,HBsAg水平与各时相的HBV DNA水平均呈正相关,表明其与病毒生成有关,但不同时相时与其他标志物水平的相关性却存在较大差异,表明慢性乙型肝炎的4个时相中HBsAg具有多

样性,提示在疾病的发展过程中HBV不同时相可能影响HBsAg水平,而使乙型肝炎病毒的生成量存在差异。因此,HBsAg水平的变化影响慢性乙型肝炎的发展过程。

综上所述,HBV基因分型和血清学测定可早期预测慢性乙型肝炎患者疾病进展结果。

参考文献

- 1 肖芙蓉,贾杰. 乙型肝炎病毒基因型研究进展及其临床意义[J]. 临床肝胆病杂志,2013,19(6):335-336
- 2 Illoe UH, Yang HI, Chen CJ. Natural history of chronic hepatitis B: what exactly has REVEAL revealed? [J]. Liver Int, 2012, 32(9): 1333-1341
- 3 Liu CJ, Kao JH. Global perspective on the natural history of chronic hepatitis B: role of hepatitis B virus genotypes a to j[J]. Semin Liver Dis, 2013,33(2):97-102
- 4 Suh SJ, Bae SI, Kim JH. *et al.* Clinical implications of the titer of serum hepatitis B surface antigen during the natural history of hepatitis B virus infection[J]. J Med Virol, 2014,86(1):117-123
- 5 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24
- 6 杨军,秦波. 乙肝病毒基因型的研究进展[J]. 西南国防医药,2011,21(3):338-340
- 7 刘玲,李从荣,郑毅,等. 巢式PCR联合焦磷酸测序检测乙肝病毒耐药基因的方法建立和初步临床应用[J]. 中西医结合肝病杂志,2013,23(3):167-169,182
- 8 向瑜,张莉萍,郑瀑. 重庆地区乙肝血清特殊模式患者HBV基因分型及临床自然病程分析[J]. 中国微生态学杂志,2012,24(3):246-250
- 9 刘琦,曾爱中,秦波,等. 荧光定量PCR法分析乙肝病毒基因型及载量[J]. 重庆医科大学学报,2011,36(7):829-832
- 10 Zhang H, Li L, Zhao XP, *et al.* Elimination of hepatitis B virus surface antigen and appearance of neutralizing antibodies in chronically infected patients without viral clearance[J]. J Viral Hepat, 2011,18(6):424-433
- 11 付建军,赵怡生. 慢性乙肝HBV基因型的临床研究现状[J]. 陕西医学,2011,40(7):890-892

(收稿日期:2014-09-10)

(修回日期:2014-10-09)

(上接第159页)

- 9 郑绪才,彭德峰. 钼靶X线导丝定位在乳腺微钙化病灶中的临床应用[J]. 中国美容医学,2011,20(6):119-120
- 10 Bruening W, Fontanarosa J, Tipton K, *et al.* Systematic review: comparative effectiveness of core-needle and open surgical biopsy to diagnose breast lesions[J]. Annals of Internal Medicine, 2010, 152(4):238-246
- 11 邵婉仪,时伟峰,刘颖. 全数字化乳腺X线立体定位活检技术对早期乳腺癌诊断及治疗的指导意义[J]. 实用放射学杂志,2009,25(12):1810-1811
- 12 Londero V, Zuiani C, Linda A, *et al.* Borderline breast lesions: comparison of malignancy underestimation rates with 14-gauge core needle biopsy versus 11-gauge vacuum-assisted device[J]. European

Radiology, 2011, 21(6):1200-1206

- 13 林霄龚,柳燕. 乳腺X线钼靶摄影对隐匿性乳腺病灶的诊断价值[J]. 影像诊断与介入放射学,2010,19(2):89-90
- 14 Nguyen CV, Albarracin CT, Whitman GJ, *et al.* Atypical ductal hyperplasia in directional vacuum-assisted biopsy of breast microcalcifications: considerations for surgical excision[J]. Annals of Surgical Oncology, 2011, 18(3):752-761
- 15 Ohsumi S, Taira N, Takabatake D, *et al.* Breast biopsy for mammographically detected nonpalpable lesions using a vacuum-assisted biopsy device (Mammotome) and upright-type stereotactic mammography unit without a digital imaging system: experience of 500 biopsies[J]. Breast Cancer, 2014, 21(2):123-127

(收稿日期:2014-09-28)

(修回日期:2014-11-14)