

西藏拉萨地区乙型肝炎病毒基因型分布及与肝病的关系

曹占良, 高英堂, 吉宗, 刘持佳, 鲍布和, 赵金梅

曹占良, 刘持佳, 鲍布和, 赵金梅, 中国人民解放军武警医学院附属医院检验科 天津市 300162

高英堂, 天津市第三中心医院 天津市人工细胞重点实验室 天津市 300120

吉宗, 中国人民解放军武警西藏总队医院检验科 西藏自治区拉萨市 85000

武警医学院院级科研基金资助项目, No. WY2004-15

天津市科委攻关基金资助项目, No. 05YFSZSF02500

作者贡献分布: 曹占良与高英堂对此文所作贡献均等; 此课题由曹占良与高英堂设计; 研究过程由吉宗, 刘持佳, 鲍布和及赵金梅操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由高英堂与曹占良提供; 数据分析由曹占良与高英堂完成; 本论文写作由曹占良与高英堂完成。

通讯作者: 高英堂, 300120, 天津市, 天津市第三中心医院, 天津市人工细胞重点实验室. gaoyt816@163.com

电话: 022-60578728 传真: 022-60578728

收稿日期: 2008-11-08 修回日期: 2008-12-12

接受日期: 2008-12-15 在线出版日期: 2009-01-08

Relationship between distribution of HBV genotypes and liver diseases in Lhasa

Zhan-Liang Cao, Ying-Tang Gao, Zong Ji, Chi-Jia Liu, Bu-He Bao, Jin-Mei Zhao

Zhan-Liang Cao, Chi-Jia Liu, Bu-He Bao, Jin-Mei Zhao, Department of Laboratory Diagnosis, the Affiliated Hospital of Medical College of Chinese People's Armed Polices Force, Tianjin 300162, China

Ying-Tang Gao, Tianjin Third Central Hospital of Tianjin in Key Laboratories, Tianjin 300120, China

Zong Ji, Chinese PLA Tibet Armed Police Corps Hospital Inspection Bureau, Tibet Autonomous Region, Lhasa 85000, China

Supported by: the Science and Research Foundation of Medical College of Chinese People's Armed Polices Force, No. WY2004-15; the Key Research Project of Science Committee of Tianjin, No.05YFSZSF02500

Correspondence to: Dr. Ying-Tang Gao, Tianjin Third Central Hospital of Tianjin in Key Laboratories, Tianjin 300120, China. gaoyt816@163.com

Received: 2008-11-08 Revised: 2008-12-12

Accepted: 2008-12-15 Pubilshed online: 2009-01-08

Abstract

AIM: To study the distribution of HBV genotypes and the clinical relevance of genotype with hepatitis B in Lhasa, Tibet Autonomous Region of China.

METHODS: Ninety two HBV-infected cases were analyzed for genotypes using gene chip technology. And association between its epidemiology, DNA content, liver function, gender and ethnicity was investigated.

RESULTS: Seventy-three HBV DNA positive cases with varying genotypes showed significant differences ($\chi^2 = 7.179, P < 0.05$). Among HBV DNA positive samples, there were 32 cases of e antigen positive, and no significant difference was observed in the DNA content but significant difference was detected in the national e antigen positive rate ($\chi^2 = 8.423, P < 0.05$). Genotypes B and C were mostly present in the Han nationality, while D-type existed mainly in Tibetan. ALB was lower in type D,C than in B, but GLB was higher in B. CHB and LC were mainly present in patients D and C genotypes ($F = 3.832, P < 0.05$).

CONCLUSION: The HBV genotype DNA load shows no difference and no significant association between liver function enzymes and disease conditions, and protein changes are more notable. Patients with C or D genotype are more vulnerable to disease progression than those with B genotype in Lhasa, Tibet region.

Key Words: Hepatitis B virus; Genotype; Gene chip

Cao ZL, Gao YT, Ji Z, Liu CJ, Bao BH, Zhao JM. Relationship between distribution of HBV genotypes and liver diseases in Lhasa. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(1): 49-52

摘要

目的: 研究西藏拉萨地区HBV基因型的分布特点及基因型与临床肝病的相关性。

方法: 采用基因芯片技术对92例乙肝病毒感染者进行HBV基因分型, 并分析其流行病学、DNA含量、肝功能以及性别和民族之间的关系。

结果: 73例HBV DNA阳性者不同基因型在不同民族间存在统计学差异($\chi^2 = 7.179, P < 0.05$)。HBV DNA阳性标本中, e抗原阳性者32例, 不同基因型DNA含量之间无统计学差异, 但民族之间e抗原阳性率存在统计学差异($\chi^2 = 8.423, P < 0.05$)。B、C型较多的存在于汉族中, 而D型多存在藏族中。不同酶类之间D基因型均高于C、B型, 仅在蛋白类之间存在统计学差异, D、C型ALB较B型低、而GLB较B型高。

■背景资料

乙型肝炎病毒感染可引起急、慢性病毒性肝炎, 继而可发展为肝硬化、肝细胞癌, 已成为重要的公共卫生问题之一。我国乙型肝炎患者中基因型B多见于南方, C型多见于北方, D型仅见于西藏、新疆等少数民族地区, A和F型偶见, 未见E、G、H型。

■同行评议者

李淑德, 主任医师, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

■研究前沿

西藏地域相对封闭,又靠近中亚地区,其HBV基因型的分布特点及其与临床肝病的相关性值得研究。

CHB、LC更多存在D、C基因型($F = 3.832$, $P < 0.05$)。

结论: 拉萨地区HBV各基因型DNA载量无差异,肝功酶类与病情变化无明显关系、蛋白类变化较显著, C、D基因型患者较B基因型易发生肝病进展。

关键词: 乙型肝炎病毒; 基因型; 基因芯片

曹占良, 高英堂, 吉宗, 刘持佳, 鲍布和, 赵金梅. 西藏拉萨地区乙型肝炎病毒基因型分布及与肝病的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17(1): 49-52

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/49.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染可引起急、慢性病毒性肝炎,继而可发展为肝硬化、肝细胞癌,已成为重要的公共卫生问题之一。HBV DNA含有部分双链结构,约由3200个碱基对组成,根据HBV全基因序列>92%的同源性,可将HBV分为A-H等8种基因型^[1-2]。我国乙型肝炎患者中基因型B多见于南方, C型多见于北方, D型仅见于西藏、新疆等少数民族地区, A和F型偶见,未见E、G、H型^[3-5]。西藏地域相对封闭,又靠近中亚地区,其HBV基因型的分布特点及其与临床肝病的相关性值得研究。本文在应用基因芯片技术检测西藏拉萨地区的乙肝病毒基因型^[6]的基础上,进一步了解其HBV基因型分布情况与临床肝病的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 92例血液标本均于2004年采自西藏拉萨地区武警西藏总队医院门诊及住院的HBV感染者,年龄4-67岁。汉族男21、女17例,藏族男26、女28例。其中73例血清HBV DNA阳性患者中,按2000年《病毒性肝炎防治方案》标准诊断为无症状乙型肝炎表面抗原携带者(asymptomatic HBsAg carrier, ASC)30例,慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)36例,肝硬化(liver cirrhosis, LC)7例。血清标本-80℃保存。荧光定量PCR仪(ABI Prism 7000 美国), DY2003生物芯片点样仪(中科院), CL-1000M紫外交联仪(美国UVP公司), 7180生化分析仪(日本日立公司), DNA测序由北京三博远志公司完成。HBV DNA定量检测试剂盒(中山达安基因中心), 芯片检测试剂、PCR产物克隆试剂、PCR引物及芯片探针等由天津市第三中心医院天津市人工细胞重点实验室制作。生化试剂

(北京科美东雅公司)。

1.2 方法

1.2.1 HBV DNA定量和标志物检测: 采用荧光定量-聚合酶链反应(FQ-PCR)法检测病毒定量。用酶联免疫法(ELISA)检测病毒标志物。HBV DNA提取、PCR扩增和数据分析均按达安基因诊断中心的试剂盒操作说明进行。

1.2.2 血生化指标: 用7180生化分析仪检测血清中总胆红素(T-BiL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、谷氨酰转肽酶(γ -GT)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)等参数。

统计学处理 实验结果经 χ^2 检验及完全随机设计方差分析。应用SPSS13.0统计软件。

2 结果

2.1 HBV 基因分型芯片杂交 DNA基因分型芯片的制备与检测、结果判读参见文献[6]。HBV基因分型芯片杂交图(见图1)。

2.2 HBV基因型分布 对73例HBV DNA阳性者进行基因分型,结果不同基因型在年龄、性别之间的分布差异无统计学意义,但不同民族间存在统计学差异($\chi^2 = 7.179$, $P < 0.05$)。B型较多的存在于汉族感染者中,而C、D型更多存在藏族感染者中(表1)。

2.3 不同基因型感染者血清HBV标志物比较 73例HBV DNA阳性标本中,e抗原阳性者32例,不同基因型DNA含量之间无统计学差异($F = 0.553$, $P > 0.05$),但民族之间e抗原阳性率存在统计学差异($\chi^2 = 8.423$, $P < 0.05$)。B、C型较多的存在于汉族中,而D型多存在藏族中(表2)。

2.4 不同基因型与肝功能指数的关系 检测T-BiL、ALT、AST、 γ -GT、ALB、GLB参数,表明不同酶类之间D基因型均高于C、B型,仅在蛋白类之间存在统计学差异($P < 0.05$)。D、C型ALB较B型低、而GLB较B型高(表3)。

2.5 HBV感染者基因型与临床表现比较 CHB、LC更多存在D、C基因型($P < 0.05$, 表4)。

3 讨论

HBV DNA含有部分双链结构,根据HBV全基因序列的同源性>92%或者S基因序列同源性>96%,可将HBV分为8种基因型^[1-2],HBV基因组核苷酸序列分析方法有多种,基因芯片(型特异探针反向杂交法)为目前比较理想实用的方法。因其具有高通量、并行、快速等特点,所以在病毒基因表达谱研究、病毒感染的诊断、病毒流行病学研究等方面被广泛应用^[7-8]。

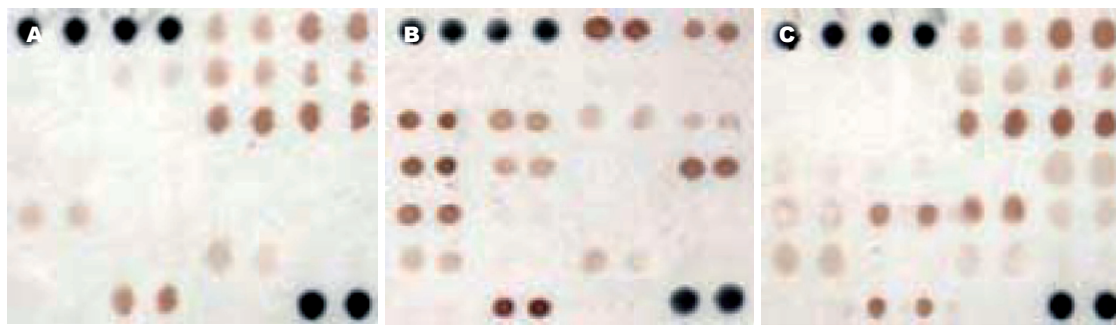


图1 HBV基因分型芯片杂交图. A: 乙肝病毒B基因型; B: C基因型; C: D基因型.

■ 相关报道

有学者认为与C型HBV相比, 感染B基因型的患者有较低的HBeAg阳性率和更快的血清转换率, 有报道HBeAg阳性率与基因型B和C之间无相关性, 也有报道HBeAg阳性率B基因型较C型高, 李威曾报道, 云南大理白族人群乙型肝炎病毒B、C基因型中HBeAg阳性率分别为68.3%、40.0%.

表1 73例HBV感染者不同基因型分布

基因型	n(%)	性别		民族		年龄(岁)
		男n(%)	女n(%)	汉n(%)	藏n(%)	
B	13(17.8)	6(46.2)	7(53.8)	9(69.2)	4(30.8)	30.0 ± 6.1
C	18(24.7)	8(44.4)	10(55.6)	6(33.3)	12(66.7)	30.8 ± 17.2
D	39(53.4)	21(53.8)	18(46.2)	11(28.2)	28(71.8)	33.7 ± 16.7
B/D	3(4.1)	3(100.0)	0(0.0)	2(6.7)	1(3.6)	31.7 ± 7.7

民族间不同基因型构成, $\chi^2 = 7.179$, $P < 0.05$.

表2 73例不同基因型感染者血清HBV标志物比较

基因型	n	HBV DNA (log10)	e抗原阳性			
			n(%)	汉n(%)	藏n(%)	HBV DNA(log10)
B	13	5.43 ± 2.92	7(53.8)	6(85.7)	1(14.3)	7.06 ± 1.72
C	18	3.96 ± 3.70	6(33.3)	4(66.7)	2(33.3)	7.38 ± 2.66
D	39	4.92 ± 4.51	19(48.7)	5(26.3)	14(73.7)	7.36 ± 2.63
B/D	3	2.24 ± 3.62	0			

不同基因型DNA含量, $F = 0.553$, $P > 0.05$; 民族间不同基因型e抗原阳性率, $\chi^2 = 8.423$, $P < 0.05$.

不同地区HBV的流行株各异, 其基因型与临床致病性的关系结论不一. 有学者认为与C型HBV相比, 感染B基因型的患者有较低的HBeAg阳性率和更快的血清转换率, 有报道HBeAg阳性率与基因型B和C之间无相关性, 也有报道HBeAg阳性率B基因型较C型高, 李威曾报道, 云南大理白族人群乙型肝炎病毒B、C基因型中HBeAg阳性率分别为68.3%、40.0%^[9-13]. Thakur *et al*在印度CHB患者中研究发现, D型与多种严重肝病如LC及肝细胞癌密切相关, 可预测年轻患者肝癌的发生^[14]. Mayerat *et al*对欧洲地区肝病患者研究表明, A型和D型相比, A型在慢性乙肝感染患者中更常见, 而急性感染患者中更普遍的为D基因型^[15]. 对亚洲肝病患者研究显示, 许多严重肝病的发生与基因型C的关系比

与基因型B更密切^[16]. 本次调查B、D基因型中HBeAg阳性率较高, 分别为53.8%、48.7%; C基因型中HBeAg阳性率为33.3%. 3种基因型DNA含量之间无统计学差异, e抗原阳性感染者B、C型更多的存在于汉族中, 说明与汉族迁移藏区有关; 而D型更多的存在于藏族中, 进一步说明该地区优势基因型为D型.

HBV的生物学特性因基因型不同各有差异. 本研究在基因型与肝功生化指标比对的发现D基因型患者肝脏炎症程度较重, 其ALT、AST、 γ -GT水平较高于B、C基因型, 但无统计学差异($P > 0.05$). 在临床特征上, 基因型D与基因型A、B、C相比存在差异^[17], D型病毒变异株感染者的血清ALT水平高于其他基因型变异株感染者, 说明基因型D的肝炎活动程度可能较高. 较多的文献报道ALT与AST在基因型间无明显差异, 朱琪报道, B、C基因型间ALT与AST差异无统计学意义, 孔洪彬报道CHB C基因型患者肝功能指标ALT、AST、T-BIL均值高于B基因型, 差异无统计学意义^[18-19]. 本研究结果进一步表明各种基因型与肝功各酶类水平的关系差异无显著性. D、C基因型ALB水平较B型降低、而GLB水平较B型升高, 蛋白之间差异存在统计学意义($P < 0.05$), 球蛋白的升高和白蛋白的降低往往提示着慢性肝病的迁延, LC患者的变化较CHB更加明显^[20], 然而肝组织病理学检查在衡量炎症活动度、纤

■同行评价

本研究设计合理, 结论可靠, 具有研究价值。

表 3 73例HBV感染者基因型与肝功能指标的关系

基因型	n	TBIL	ALT(U/L)	AST(U/L)	γ -GT(U/L)	ALB(g/L)	GLB(g/L)
B	13	15.9 ± 4.5	112.8 ± 86.7	55.1 ± 42.4	63.2 ± 38.6	38.2 ± 6.9	32.6 ± 6.6
C	18	16.5 ± 4.2	105.2 ± 79.6	51.5 ± 37.2	62.6 ± 40.7	35.8 ± 7.0	34.8 ± 6.4
D	39	16.7 ± 3.8	129.2 ± 94.7	75.6 ± 42.3	74.5 ± 45.2	35.2 ± 6.8	34.5 ± 6.9
B/D	3	15.3 ± 2.7	96.5 ± 68.5	57.3 ± 29.2	72.4 ± 38.1	35.3 ± 5.4	33.9 ± 5.8

ALB: $F = 7.626, P < 0.05$; GLB: $F = 3.181, P < 0.05$.

表 4 73例HBV感染者基因型与临床分型相关比较

临床分型	n	HBV基因型 n(%)			
		B	C	D	B/D
ASC	30	8(61.54)	7(38.89)	15(38.46)	0(0.0)
CHB	36	5(38.46)	9(50.00)	20(51.28)	2(66.67)
LC	7	0(0.0)	2(11.11)	4(10.26)	1(33.33)

$F = 3.832, P < 0.05$.

维化程度等方面依然是金标准。

HBV病毒的复制、肝病的演化及抗病毒治疗等均与HBV基因分型有关。对于西藏高原少数民族地区, 进一步了解HBV基因分布情况、研究基因型与临床肝病的关系, 对明确该地区HBV基因型分布、特点以及提高肝炎防治水平极为重要。

4 参考文献

- Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 351-366
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnus LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002; 83: 2059-2073
- Zeng G, Wang Z, Wen S, Jiang J, Wang L, Cheng J, Tan D, Xiao F, Ma S, Li W, Luo K, Naoumov NV, Hou J. Geographic distribution, virologic and clinical characteristics of hepatitis B virus genotypes in China. *J Viral Hepat* 2005; 12: 609-617
- 赵鸿, 李俊, 李兴丰, 斯崇文, 于敏, 公维波, 于岩岩, 王贵强. 感染乙型肝炎病毒不同基因型和亚型患者的临床特点分析. *中华流行病学杂志* 2007; 28: 74-77
- 高俊薇, 李雅娟, 庄辉, 李杰, 王佳, 董庆鸣, 陈雅洁, 牛俊奇, 马为民, 赵伟, 赵保安, 钟金群. 中国11城市乙型肝炎病毒慢性感染者中乙型肝炎病毒基因型分布. *中华流行病学杂志* 2007; 28: 315-318
- 曹占良, 高英堂, 刘霜, 景丽, 吉宗, 刘彤, 刘持佳, 杜智. 基因芯片技术检测西藏拉萨地区的乙型肝炎病毒基因型. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3500-3506
- Tang XR, Zhang JS, Zhao H, Gong YH, Wang YZ, Zhao JL. Detection of hepatitis B virus genotypes

using oligonucleotide chip among hepatitis B virus carriers in Eastern China. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1975-1979

- 彭俊平, 金奇. 基因芯片技术在病毒学研究中的应用现状. *病毒学报* 2003; 19: 281-283
- Lindh M, Hannoun C, Dhillon AP, Norkrans G, Horal P. 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
- Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Genotypes and clinical phenotypes of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1207-1209
- Lim CK, Tan JT, Khoo JB, Ravichandran A, Low HM, Chan YC, Ton SH. Correlations of HBV genotypes, mutations affecting HBeAg expression and HBeAg/ anti-HBe status in HBV carriers. *Int J Med Sci* 2006; 3: 14-20
- 蒋音, 龔上雅史, 蔡枫, 刘锦华, 巫善明. 乙型肝炎病毒基因分型与临床意义. *中华传染病杂志* 2006; 24: 417-419
- 李威, 张恒榕, 申元英, 任来峰, 沈茹, 李强, 赵海平. 云南大理白族人群乙型肝炎病毒基因型和亚型的分布. *中国病原生物学杂志* 2008; 21: 166-169
- Thakur V, Gupta RC, Kazim SN, Malhotra V, Sarin SK. Profile, spectrum and significance of HBV genotypes in chronic liver disease patients in the Indian subcontinent. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 165-170
- Mayerat C, Mantegani A, Frei PC. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? *J Viral Hepat* 1999; 6: 299-304
- 余伍忠, 陈虎山. 乙型肝炎病毒基因分型的临床意义. *中国优生与遗传杂志* 2007; 15: 126-127
- Kidd-Ljunggren K, Myhre E, Bläckberg J. Clinical and serological variation between patients infected with different Hepatitis B virus genotypes. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5837-5841
- 朱琪, 江家骥, 郑松龄, 黄祖雄, 柯坤宇, 胡盈莹, 郭锡麟. 乙型肝炎病毒B、C基因与临床关系的探讨. *海峡预防医学杂志* 2007; 13: 16-18
- 孔洪彬, 李友生, 李兴丰, 赵鸿. 慢性乙型肝炎病毒基因型和亚型分布及与临床关系的探讨. *中国实用内科杂志* 2007; 27: 1779-1781
- 于红缨, 邵凌云, 符政远, 蒋建勇, 王菲菲, 王金蕾, 孟成艳, 张文宏. 湖南省怀化市少数民族及汉族慢性乙型肝炎患者病毒基因分型及临床分析. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)* 2008; 2: 45-48

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕