

湖北鄂州地区 HBV 基因分型与 α -干扰素 抗病毒的疗效关系

肖作汉

(湖北省鄂州市中心医院 感染科, 湖北 鄂州, 436000)

关键词: 肝炎病毒; 乙型, 基因型; 基因变异; α -干扰素

中图分类号: R 373.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2012)23-0142-02

目前乙肝病毒基因型分为 8 个, 不同基因型间有 8% 以上的差异, 基因型有明显的地理区域性分布^[1-2]。为明确本地区 HBV 基因型分布以及 HBV 基因变异及抗病毒疗效之间的关系, 本研究拟采用 PCR 微板核酸杂交 ELISA 技术探讨鄂州地区乙型肝炎病毒基因分型与应用 α -干扰素进行抗病毒治疗之间的关系。

1 资料与方法

100 例慢性乙型肝炎患者均为鄂州市中心医院感染科 2009 年 2 月—2012 年 2 月期间门诊及住院治疗患者, 均符合相关文献诊断标准^[3]。患者既往均未接受过抗病毒治疗, 且已除外合并有其他嗜肝病毒重叠感染、药物性肝炎、自身免疫性肝炎和酒精性肝病等可能性。符合以下指标: ALT < 400 μ L, TBil 正常, HBV-DNA 定量检测 < 10⁸ copies/mL, HBeAg(+). 所选患者均用 α -干扰素 500 万单位肌注, 3 次/周, 疗程 12 个月。

抗病毒治疗的判断标准: ① 起始应答: 治疗 6 个月后血清 ALT 水平正常, HBeAg 血清学转换, HBV-DNA 转阴; ② 无应答: 治疗 6 个月后, 血清 ALT 水平仍异常, 无 HBeAg 血清学转换及 HBV-DNA 转阴; ③ 持续应答: 治疗应答者停药后 6~12 个月血清 ALT 水平仍然正常, HBeAg 及 HBV-DNA 仍为阴性。

HBV 基因型的检测: 乙肝基因分型试剂盒购自上海浩源生物科技有限公司, 采用 PCR 微板核酸杂交 ELISA 技术对 HBV-DNA 基因分型进行检测, 通过微孔中靶被型通用序列探针与待测 PCR 产物予以杂交处理, 然后再用酶标记各型探针来检测 HBV 的所属亚型, 可检测 A、B、C、D、E、F 6 种 HBV 基因型。

HBV-DNA 的定量检测: 采用上海复星公司

HBV 荧光定量检测试剂盒, 荧光定量 PCR 系统为瑞士罗氏公司 Light cycle, 检测方法按试剂盒操作说明进行。

HBV 血清病毒标志物的检测: 采用双抗体酶联夹心 ELISA 法检测, 试剂盒由上海华美生物工程公司提供。

HBV 基因变异位点的检测: 采用 HBV 基因多态性检测芯片(上海瑞芯生物科技有限公司提供)对 HBV 基因前 C 区 nt1896 位点, 基础核心启动子(BCP)区 nt1762、nt1764 位点进行检测。检测过程按操作说明书进行^[9]。

2 结果

2.1 HBV 基因型分布

100 例慢性乙型肝炎患者 HBV 基因型的分布: B 型 28 例(28.0%), C 型 46 例(46.0%), D 型 16 例(16.0%), 混合型 10 例(10.0%)。

2.2 HBV 基因型治疗前 HBV-DNA 复制水平的关系

HBV C 基因型及混合基因型患者的 HBV-DNA 复制水平明显高于 B 型($P < 0.05$), 提示 HBVDNA 高复制水平明显与 C 基因型及混合基因型有关。而混合基因型(以 B+C 型组合最多)种 C 型的存在, 可能是导致混合型 HBV 呈现最高复制水平的原因, 这进一步提示 C 型的 HBV 复制能力较其他基因型强。见表 1。

表 1 HBV 基因型治疗前 HBV-DNA 复制水平的关系

基因型	例数	HBV-DNA 水平(copies/mL)		
		10 ³ ~10 ⁴	10 ⁵ ~10 ⁶	10 ⁷ ~10 ⁸
B 型	28	10	11	7
C 型	46	8	11	27
D 型	16	4	7	5
混合型	10	0	0	10
合计	100	22	29	49

2.3 HBV 基因型与 α -干扰素抗病毒疗效的关系, 见表 2。

表 2 HBV 基因型与 α -干扰素抗病毒疗效的关系

基因型	例数	α -干扰素抗病毒疗效[n(%)]	
		有效	无效
B 型	28	17(60.7)*	11(39.3)
C 型	46	14(30.4)	32(69.5)
D 型	16	5(31.3)	11(68.7)
混合型	10	2(20.0)	8(80.0)
合计	100	38(38.0)	62(62.0)

与其他基因型比较, * $P < 0.05$ 。

2.4 治疗后 HBeAg 的变化与 HBV 基因型及 HBV 基因变异的关系

100 例慢乙肝患者对 α -干扰素抗病毒治疗的完全应答率为 14%, 完全应答与 B 基因型有关, 而 C 型与混合型无完全应答, 并且完全应答时 HBeAg 的转阴与 HBV 基因变异无关。部分应答及无应答时 HBeAg 的转阴显然与 HBV 前 C 区 nt1896 位点变异、以及 BCP 区 nt1762、nt1764 双位点变异有关, 即使部分应答及无应答时 HBeAg 仍程阳性的患者也存在 HBV nt1896、nt1762、nt1764 位点变异株的混合感染。100 例慢乙肝患者在 α -干扰素抗病毒治疗后, HBV 前 C 区 nt1896 位点变异的发生率为 55.0%, BCP 区 nt1762、nt1764 双变异发生率为 26.0%。结果提示 C 基因型患者更易诱导前 C 区及 BCP 区基因变异的发生。

表 3 HBV 基因型与 HBV 前 C 区及 BCP 区基因变异关系

基因型	例数	HBV 基因变异[n(%)]	
		前 C 区 nt1896 位点	BCP 区 nt1762、 nt1764 双位点
B	28	12(42.0)	4(14.3)
C	46	28(60.8)*	13(28.2)*
D	16	7(43.8)	4(25.0)
混合型	10	8(80.0)	5(50.0)
总计	100	55(55.0)	26(26.0)

与 B 基因型比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

基因型与临床病情进展有关, 基因型 C 比基因型 B 更能引起严重肝损伤^[4-7]。本研究基因型检测结果证实: 本组 100 例慢乙肝患者的 HBV 基因型为 B、C、D 型以及这 3 种基因型组成的混合型, 其中以 C 型所占的比例最高, 其次为 B 型。

干扰素治疗可直接抑制病毒复制、阻止肝脏

炎症和纤维化、预防和减少肝硬化、肝癌的发生, 据报道抗病毒治疗效果与乙肝病毒基因型有密切的关系^[8-10], 本研究结果表明 100 例患者 α -干扰素治疗的总有效率为 38%, 不同 HBV 基因型对 α -干扰素的应答不同, 其中 B 基因型的应答明显优于 C 基因型, 而混合基因型对 α -干扰素的应答最不敏感。感染 HBV C 基因型患者的 HBVDNA 复制水平明显高于 B 型, 这可能是 C 型对 α -干扰素的应答明显较 B 型差的原因。另外, 本研究还表明 B 型患者存在 α -干扰素诱导下发生 HBeAg/抗 HBe 的血清转换率较高, 而 C 型患者较少发生血清转换, 反而较 B 型更易诱导前 C 区及 BCP 区基因变异的发生。这提示 C 型 HBV 可通过本身活跃的复制能力和变异能力逃避宿主免疫和药物的双重压力, 而维持持久的病毒血症。因此, C 型可能会经过自然选择的作用, 而较其他基因型更易成为优势感染病毒株, 本研究病例中感染 C 基因型的患者比例最多, 似乎能证明这一点。

参考文献

- [1] Thakur V, Guptan R C, Kazim S N, et al. Profile, spectrum and significance of HBV genotypes in chronic liver disease patients in the Indian subcontinent[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 17(2): 165.
- [2] 艾敏, 陶承, 赵红, 等. 江苏地区 HBV 病毒基因分型及其临床意义[J]. 江苏医药, 2007, 33(3): 241.
- [3] 李桂珍, 刘兴祥, 王兴亮. 江苏地区不同类型乙型肝炎患者 HBV 基因分型研究[J]. 第四军医大学学报, 2007, 28(2): 157.
- [4] 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[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11(1): 11.
- [5] Kao J H, Chen P J, Lai M Y, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B[J]. Gastroenterology, 2000, 118(3): 554.
- [6] 葛宪民, 李丹亚, 方钟燎, 等. 广西乙型肝炎病毒基因分型及其临床意义的研究[J]. 中华医学会肝病学会分会, 感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(12): 881.
- [7] 许军, 于齐欣, 钱海华, 等. 乙型肝炎病毒基因型与病情轻重的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11(1): 11.
- [8] Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, et al. A case control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C[J]. J Hepatology, 2001, 33(1): 218.
- [9] Kao J H, Chen P J, Lai M Y, et al. Clinical and virological aspects of blood donors infected with hepatitis B virus genotypes and C[J]. J Clin microbial, 2002, 40(1): 22.
- [10] Orito E, Ichida T, Sakugawa H, et al. Genotype distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan[J]. Hepatology, 2001, 34: 590.