

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00279

## 乙型肝炎病毒基因型与慢性乙型病毒性肝炎及原发性肝细胞癌病理特点之间的关系

陈岳明,高春芳\*,戚鹏,吉强,房萌,王璐

第二军医大学东方肝胆外科医院实验诊断科,上海 200438

**[摘要]** **目的:**调查乙型肝炎病毒(HBV)不同基因型在慢性乙型病毒性肝炎(CHB)和原发性肝细胞癌(HCC)患者中的分布;分析感染不同基因型HBV导致CHB和HCC的临床实验室结果以及肝脏病理特点之间的差异。**方法:**随机挑选89例CHB和86例HCC患者,采用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)结合双色荧光标记的TaqMan MGB探针来鉴定HBV基因型。临床实验室检查结果和病理资料摘抄自患者病案。运用统计软件SPSS10.0对结果进行统计学分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。**结果:**本地区,CHB患者以感染HBV B基因型为主,占78.65%,可见B、C混合型,占3.37%;HCC患者以感染C基因型为主,占70.93%;本研究中未见B、C以外其他基因型。B、C基因型在两组患者中的分布有统计学差异( $P<0.001$ )。感染不同基因型HBV的CHB患者间临床实验室和肝脏病理检查指标未显示出明显差异。在HCC患者中,感染C基因型患者较B基因型e抗原阳性率高( $P<0.05$ );感染HBV B基因型和大肝癌发生明显相关( $P<0.05$ );HBV基因型和肿瘤TNM分期、转移和浸润之间均未显示出相关性。**结论:**本地区CHB患者以感染HBV B基因型为主,C基因型和e抗原阳性是HCC发生的危险因素。针对感染C基因型HBV的患者,积极抗病毒治疗,促进e抗原血清学转换有可能降低HCC的发生率。感染HBV B基因型和大肝癌发生具有相关性,这一结论尚需进一步扩大研究验证。

**[关键词]** 乙型肝炎病毒;基因型;慢性乙型肝炎;肝细胞癌

**[中图分类号]** R 375.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)03-0279-04

### Relationship of hepatitis B virus genotypes with clinicopathological characteristics in patients with chronic hepatitis B and hepatocellular carcinoma

CHEN Yue-ming, GAO Chun-fang\*, QI Peng, JI Qiang, FANG Meng, WANG Lu

Department of Laboratory Medicine, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate the distribution of different hepatitis B virus(HBV)genotypes in patients with chronic hepatitis B (CHB) and hepatocellular carcinoma (HCC), and to analyze the clinical laboratory examination outcomes and pathological characteristics of CHB and HCC by infection with different HBV genotypes. **Methods:** Totally 89 patients with CHB and 86 patients with HCC were randomly chosen for this study. HBV genotypes were determined by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) combined with double immunofluorescence staining TaqMan MGB probes. The general information and the laboratory and pathological data of patients were obtained by reviewing of the clinical documentation of patients. Statistical software SPSS10.0 was used to for statistical analyses. A  $P$  value less than 0.05 was considered statistically significant. **Results:** HBV B was dominant in the CHB patients in our group, accounting for 78.65%; the mixed B and C type accounted for 3.37%. HCC patients in our group were dominated by C type (70.93%). There were no other genotypes other than B and C in our group, and there was significant different between their frequency in our group ( $P<0.001$ ). There were no significant differences in the clinical experimental and pathological parameters in CHB patients with different HBV subtypes. In HCC patients, those with genotype C had higher positive rate of HBV e antigen than those with genotype B( $P<0.05$ ). HCC patients infected with HBV genotype B had larger tumor size ( $P<0.05$ ). No associations were found between HBV genotypes with TNM stage, vascular invasion, or metastasis. **Conclusion:** Patients with CHB are dominantly infected with genotype B in our group. HBV genotype C and positive HBV e antigen are risk factors of HCC.

**[收稿日期]** 2008-08-14 **[接受日期]** 2009-01-10

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30770994,30571774). Supported by National Natural Science Foundation of China (30770994,30571774).

**[作者简介]** 陈岳明,副主任技师. 现在杭州市第一人民医院检验科工作. E-mail:cymwly1972@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-81875131, E-mail:gaocf1115@yahoo.com

Antiviral therapy and promoting e antigen seroconversion may reduce the incidence of HCC. HBV genotype B might be associated with larger tumor size.

[KEY WORDS] hepatitis B virus; genotype; chronic hepatitis B; hepatocellular carcinoma

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(3): 279-282]

目前根据乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 基因组的差异, 将其分为 A~H 8 种基因型 (genotype)。许多资料<sup>[1-3]</sup>显示, HBV 基因型可能与肝脏疾病的进程和抗病毒药物的疗效有一定相关性, HBV C 基因型较 B 基因型引起更严重的肝脏疾病, 并增加患原发性肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的风险。但同时也有一些研究<sup>[4-5]</sup>提供了不同的结果。

本研究随机收集了具有明确病理诊断的 89 例慢性乙型病毒性肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者和 86 例 HCC 患者血清, 用于测定 HBV 基因型, 并系统性地回顾了患者的临床资料, 旨在进一步明确 HBV 基因型与 CHB 及 HCC 患者的常用临床实验室检查指标、肝脏组织病理学特点之间的关系。

### 1 材料和方法

1.1 标本来源与一般临床资料 89 例 CHB 患者血清由上海交通大学医学院附属仁济医院消化科留取, 其中, 男 78 例, 女 11 例, 平均年龄 (31.31 ± 8.80) 岁, 所有病例均经肝组织活检病理证实。86 例 HCC 患者为本院住院患者, 男 82 例, 女 4 例, 平均年龄 (49.92 ± 9.38) 岁。住院时留取患者血清, -80℃ 保存。临床诊断以手术标本的病理诊断为标准。两组患者经检查均为 HBsAg(+), 临床资料均根据患者住院号和姓名摘录自病案室。

1.2 常规检查项目和方法 所有患者均测定了血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、总胆红素 (TBIL)、白蛋白 (ALB), 采用 Hitachi 7600 全自动生化分析仪检测, 试剂由日本 Wako 公司提供; HBV DNA 含量 (以每毫升基因拷贝数的对数值报告), 采用 ABI 7300 实时荧光定量 PCR 仪检测, 试剂由中山大学达安基因诊断中心提供; HBsAg 和 HBeAg 采用 ELISA 法测定, 试剂由上海科华生物工程股份有限公司提供; 血小板 (PLT) 计数由血细胞计数仪 (日本 Sysmex 公司) 自动测定。

1.3 HBV 基因型确定 采用 Rotor-Gene 3000 实时定量 PCR 仪检测, 试剂由上海克隆生物高科技有限公司提供。运用核酸扩增结合双色荧光标记的 TaqMan MGB 探针来检测 HBV 基因型。另外, 本方法不能确定的基因型通过序列测定来鉴定。

1.4 统计学处理 用 SPSS 10.0 软件对研究数据

进行统计分析。样本率的比较用  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确概率法; 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 呈正态分布的两组数据间均数比较采用 *t* 检验, 呈非正态分布的两组数据间比较采用 Mann-Whitney U 检验。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

### 2 结果

2.1 HBV 基因型在两组不同肝脏疾病中的分布 本地区 CHB 患者以感染 HBV B 基因型为主, 占 78.65%; HCC 患者以感染 C 基因型为主, 占 70.93%; HBV B、C 基因型在两组患者中分布均有统计学差异 ( $P < 0.001$ )。具体数据见表 1。

表 1 HBV 基因型在 CHB 和 HCC 患者中的分布

Tab 1 Different HBV genotype distribution in patients with chronic hepatitis B (CHB) and hepatocellular carcinoma (HCC) after HBV infection [% (n)]

Group	Genotype		
	B	C	B,C mixed
CHB (N=89)	78.65 (70)	17.98 (16)	3.37 (3)
HCC (N=86)	29.07* (25)	70.93* (61)	—

\*  $P = 0.000$  vs CHB group

2.2 CHB 和 HCC 组中不同基因型 HBV 感染患者的常规检查结果 在 CHB 组中 B 基因型感染患者的常规检查结果与 C 基因型之间无统计学差异 ( $P > 0.05$ ); 在 HCC 组中 C 基因型感染患者比 B 基因型 e 抗原阳性率显著高 ( $P < 0.05$ ), 其余的结果无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。具体数据见表 2。

2.3 CHB 和 HCC 组中不同基因型 HBV 感染患者的临床病理特点 在 CHB 组中 B 和 C 基因型感染患者之间临床病理特点未显示出明显差异 ( $P > 0.05$ )。在 HCC 组中 B 基因型和大肝癌发生明显相关 ( $P < 0.05$ ), 但基因型和肿瘤 TNM 分期、转移和浸润之间均未显示出相关性 ( $P > 0.05$ )。具体数据见表 3。

### 3 讨论

HBV 基因型呈一定的地理分布。如, 在东欧、北美、中非以 A 型为主; 东亚主要以 B 和 C 型为主; D 型尽管感染的人口少, 但其分布最为广泛, 主要分

表2 CHB和HCC组中不同基因型HBV感染患者的常规检查结果比较

Tab 2 Comparison of clinical laboratory results of CHB and HCC patients infected with HBV genotype B and C

Item	CHB group(N=89)			HCC group(N=86)		
	Genotype B(n=70)	Genotype C(n=16)	P value	Genotype B(n=25)	Genotype C(n=61)	P value
ALT $\alpha_B/(U \cdot L^{-1})$	336.82±101.31	315.24±116.03	0.414	63.06±55.70	57.50±56.13	0.247
AST $\alpha_B/(U \cdot L^{-1})$	125.20±66.51	114.02±69.36	0.209	64.02±52.13	59.82±51.30	0.226
TBIL $c_B/(\mu mol \cdot L^{-1})$	50.33±23.46	49.01±19.43	0.342	19.12±6.70	18.65±9.82	0.268
ALB $\rho_B/(g \cdot L^{-1})$	39.78±3.16	40.89±3.67	0.455	40.86±4.27	40.87±3.85	0.439
LogHBV-DNA	6.80±1.49	7.61±1.34	0.315	5.20±1.02	5.51±1.03	0.496
HBeAg <sup>+</sup> [% (n)]	58.57 (41)	56.25 (9)	0.220	28.00(7)	55.74 (34)	0.028
PLT ( $\times 10^9 L^{-1}$ )	167.43±72.44	141.16±69.58	0.261	174.66±75.02	138.55±64.14	0.184

ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; TBIL: Total bilirubin; ALB: Albumin; PLT: Blood platelet. B, C mixed genotypes were excluded because of small number

表3 CHB和HCC组中不同基因型HBV感染患者的临床病理特点

Tab 3 Clinicopathological characteristics of CHB and HCC patients infected with HBV genotype B and C

Characteristics	CHB group(N=89)			HCC group(N=86)		
	Genotype B (n=70)	Genotype C (n=16)	P value	Genotype B (n=25)	Genotype C (n=61)	P value
Age(year)	31.72±8.41	30.46±7.17	0.352	48.11±11.40	50.46±9.62	0.218
≥50	—	—		12	33	0.162
<50	—	—		13	28	
Gender(M:F)	60:10	12:4	0.160	25:0	57:4	0.250
G						
1+2	48	11	0.231	21	58	0.304
3+4	22	5		4	3	
S						
1+2	48	9	0.150	13	35	0.862
3+4	22	7		12	26	
With cirrhosis						
Present	9	3	0.240	6	21	0.315
Absent	61	13		19	40	
TNM stage						
I+II	—	—		21	50	0.841
III+IV	—	—		4	11	
Vascular invasion and metastasis						
Present	—	—		3	7	0.806
Absent	—	—		22	54	
Tumor size						
>5 cm	—	—		18	29	0.034
≤5 cm	—	—		7	32	

G: Grade inflammation; S: Fibrosis stage. B, C mixed genotype were excluded because of small number

布在地中海地区、中东和印度;非洲以E型为主;F型主要分布在美国印第安人和中美洲;G型能在东欧和北美被发现;H型分布在美国、墨西哥和尼加拉瓜<sup>[6]</sup>。中国目前以B和C型流行为主,北方C型占优势,南方B型占优势,在新疆、西藏等边远地区能发现D型分布,A和F型仅有少数报道,目前还未检测到E、G和H型<sup>[7]</sup>。本研究检测到的HBV以B和C型为主,以及少数的B、C混合型,这种混合型可能为两种不同基因型间转变的过渡阶段。本研究中HBV基因型的检测结果符合其地理分布特点。

HBV感染的不同临床结局与个体的免疫状态、感染途径及其基因型有关。目前许多研究认为在亚洲地区C型与更严重的肝脏疾病以及更差的预后有关。本研究得出的结果是在CHB组中B型占绝对优势,在HCC组中C型占绝对优势,这进一步佐证了C型与HCC发生关系密切。Lin等<sup>[8]</sup>认为其初步的机制为C基因型更容易在pre-S基因发生缺失突变,而这种突变可能与HCC发生有关。通过比较感染不同基因型患者的临床实验室结果,发现在CHB组内B、C基因型间e抗原阳性率无差异,而在

HCC组内C型较B型患者e抗原阳性率高,也就是说感染C基因型患者往往e抗原阳性,说明e抗原阳性可能也是HCC发生的危险因素。因此提示,HBV感染后尤其是感染C基因型的患者,积极抗病毒治疗,促进e抗原血清学转换有降低HCC发生的可能。其他常用的临床实验室检查结果未见有明显差异,而这些指标往往很容易被临床治疗措施所干预。

在临床病理特点的分析中,CHB组内B、C基因型患者之间未显示出有炎症和纤维化程度的差别。这与Zeng等<sup>[5]</sup>对中国9个省市1096例CHB患者进行研究得出的结果一致。因为一些高效抗HBV药物的广泛使用,如拉米夫定、 $\gamma$ -干扰素,它们能迅速抑制HBV复制,同时使血清氨基转移酶降至正常,长期应用可显著改善肝脏坏死性炎症改变,并减轻或阻止肝脏纤维化的进展。因此,抗病毒药物的作用再加上病理读片的误差可能会掩盖其本来应有的差异。在HCC组内,感染B型患者和C型患者之间未见有年龄差异,但Wu等<sup>[7]</sup>报道B型与年轻的台湾人发生HCC相关。B、C基因型与肿瘤TNM分期、转移及浸润均未显示出相关性,但B基因型和大肝癌明显相关。本实验室赵云鹏等<sup>[9]</sup>通过对828例HCC患者临床实验室结果进行分析,发现e抗原阴性比率与肿瘤直径正相关。因此本研究中B基因型与大肝癌相关,可能是与感染B型HCC患者中e抗原阴性比率高有关,其机制有待进一步研究。

感染不同基因型HBV会产生不同的临床结局,即使不同的患者感染相同基因型也会有不同的预后。因此单从HBV出发去解释这些临床问题会有困难,在HBV感染后病毒和宿主之间复杂的免疫作用以及宿主自身的遗传背景在肝脏疾病,包括HCC的发生、发展中也起着重要作用。

## [参考文献]

- [1] Mayerat C, Mantegani A, Frei P C. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection[J]? *J Viral Hepat*, 1999, 6: 299-304.
  - [2] Kao J H, Wu N H, Chen P J, Lai M Y, Chen D S. Hepatitis B genotypes and the response to interferon therapy[J]. *J Hepatol*, 2000, 33: 998-1002.
  - [3] Chan H L, Hui A Y, Wong M L, Tse A M, Hung L C, Wong V W, et al. Genotype C hepatitis B virus infection is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma[J]. *Gut*, 2004, 53: 1494-1498.
  - [4] 胡盈莹, 江家骥, 欧文湖. 福建省部分地区乙型肝炎病毒基因型分布及其临床意义[J]. *中华流行病学杂志*, 2004, 25: 46-49.
  - [5] Zeng G, Wang Z, Wen S, Jiang J, Wang L, Cheng J, et al. Geographic distribution, virologic and clinical characteristics of hepatitis B virus genotypes in China[J]. *J Viral Hepat*, 2005, 12: 609-617.
  - [6] Starkman S E, MacDonald D M, Lewis J C, Holmes E C, Simmonds P. Geographic and species association of hepatitis B virus genotypes in non-human primates[J]. *Virology*, 2003, 314: 381-393.
  - [7] Wu G H, Ding H G, Zeng C Q. Overview of HBV whole genome data in public repositories and the Chinese HBV reference sequences[J]. *Progress in Natural Science*, 2008, 18: 13-20.
  - [8] Lin C L, Liu C H, Chen W, Huang W L, Chen P J, Lai M Y, et al. Association of pre-S deletion mutant of hepatitis B virus with risk of hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22: 1098-1103.
  - [9] 赵云鹏, 朱茜, 高春芳, 赵美芸, 徐玉兵, 方芳, 等. 原发性肝细胞癌828例临床实验室特征分析[J]. *第二军医大学学报*, 2007, 28: 1296-1300.
- Zhao Y P, Zhu Q, Gao C F, Zhao M Y, Xu Y B, Fang F, et al. Analysis of clinical parameters of 828 patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Acad J Sec Mil Med Uni*, 2007, 28: 1296-1300.

[本文编辑] 贾泽军

## 欢迎订阅

《第二军医大学学报》

ISSN 0258-879X  
CN 31-1001/R

JOURNAL OF MEDICAL COLLEGES OF PLA

ISSN 1000-1948  
CN 31-1002/R

上海市翔殷路800号(邮编:200433) 邮发代号:4-373

上海市翔殷路800号(邮编:200433) 邮发代号:4-725