

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2019.01.0054

· 论 著 ·

乙型肝炎表面抗原阳性学生及其一级亲属乙型肝炎病毒感染流行病学调查与病毒变异分析

谢震宇^{1*}, 费怡², 杨天², 殷建华³, 蒲蕊³

1. 上海市浦东新区妇幼保健院预防保健科, 上海 201206

2. 上海市浦东新区疾病预防控制中心免疫预防科, 上海 200136

3. 海军军医大学(第二军医大学)热带医学与公共卫生学系流行病学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性学生家庭内乙型肝炎病毒(HBV)感染状况以及肝细胞癌相关的HBV变异情况,为HBV感染、肝细胞癌的防控提供科学依据。**方法** 从浦东新区15所学校及幼儿园60个班级中调查学生1 611名,其中HBsAg阳性学生8名。对该8名学生及其18名一级亲属进行流行病学调查,采集静脉血应用酶联免疫吸附实验检测乙肝五项。采用荧光PCR法检测HBV DNA,采用multiplex-PCR、巢式PCR法联合克隆测序方法检测HBV基因组、基本核心启动子(BCP)区和前S(PreS)区。**结果** 一级亲属HBsAg与HBcAb阳性率分别为33.3%(6/18)与38.9%(7/18)。母亲HBsAg与HBcAb阳性率均为71.4%(5/7),高于其他一级亲属阳性率($P<0.05$)。8个家庭中7个家庭(87.5%)有2人及2人以上HBV感染或曾经感染,8个家庭共26名家庭成员中14人HBsAg阳性,阳性率为53.8%。共检测了4组母亲和子女的HBV基因,其中3组HBV基因为C型,1组母亲为C型、子女为B型;在肝细胞癌相关HBV变异中,子女的BCP区热点突变频率低于母亲,PreS区C型有8个变异位点在母亲和子女体内均表达、其余关键位点均未在子女体内发现。**结论** HBV感染存在明显的家庭聚集性;此次调查结果显示学生HBV感染通过母婴传播可能性较大,但也存在后天血液传播等方式感染;子女HBV基因进化程度低于母亲,符合HBV进化的规律。

[关键词] 乙型肝炎病毒;肝细胞癌;家庭聚集性;变异(遗传学);母婴传播**[中图分类号]** R 512.62 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2019)01-0054-07

Epidemiological investigation of hepatitis B virus infection and analysis of virus mutations in hepatitis B surface antigen positive students and their first-degree relatives

XIE Zhen-yu^{1*}, FEI Yi², YANG Tian², YIN Jian-hua³, PU Rui³

1. Department of Prevention and Health Care, Maternity and Child Health Care Hospital of Shanghai Pudong New Area, Shanghai 201206, China

2. Department of Preventive Immunization, Center of Disease Control and Prevention of Shanghai Pudong New Area, Shanghai 200136, China

3. Department of Epidemiology, Faculty of Tropical Medicine and Public Health, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To explore the infection status of hepatitis B virus (HBV) in families of hepatitis B surface antigen (HbsAg) positive students and the mutations of HBV related to hepatocellular carcinoma, so as to provide theoretic evidence for the prevention and control of HBV infection and hepatocellular carcinoma. **Methods** A total of 1 611 students were investigated; they were from 60 classes of 15 schools and kindergartens in Pudong New Area, Shanghai, China, and 8 HBsAg positive students were found. These 8 students and their 18 first-degree relatives were enrolled in this study. Venous blood samples were collected to test the 5 markers of hepatitis B using enzyme linked immunosorbent assay. HBV DNA was detected by fluorescent PCR. HBV genome, basic core promoter (BCP) region and PreS region were detected using multiplex-

[收稿日期] 2018-04-01 **[接受日期]** 2018-06-12**[基金项目]** 上海市卫生和计划生育委员会科研课题(201540057),上海市第四轮公共卫生三年行动计划高端海外研修团队项目(GWTD2015S05). Supported by Scientific Research Project of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning (201540057) and Advanced Oversea Research and Training Program of the Fourth Round of "Three-Year Plan" for Public Health of Shanghai (GWTD2015S05).**[作者简介]** 谢震宇, 硕士, 副主任医师.

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-50301752, E-mail: xiezhenyu@sina.com

PCR and nested PCR combined with cloning and sequencing. **Results** The positive rates of HBsAg and HBcAb in the first-degree relatives were 33.3% (6/18) and 38.9% (7/18), respectively. Both HBsAg and HBcAb positive rates in the mothers were 71.4% (5/7), which were significantly higher than those of the other first-degree relatives ($P < 0.05$). Seven of 8 families (87.5%) had 2 or more members infected or had ever infected with HBV. Fourteen of 26 members in 8 families had positive HBsAg, with a positive rate of 53.8%. A total of 4 groups of mothers and children received gene detection. Three groups of them had type C HBV gene, and 1 group had type C in mother and type B in child. Among the hepatocellular carcinoma-related HBV mutations, the mutation frequency of hot spots in BCP region was lower in the children than that in the mothers. Eight HBV mutation sites of type C in PreS region were found in both the mothers and children, and none of the remaining key sites were found in the children. **Conclusion** There is obvious family clustering of HBV infection, suggesting that HBV infection of students is more likely to be transmitted through mother-to-child transmission, but there are other ways of infection, such as acquired blood. The evolution degree of HBV gene in children is lower than that in mothers, which conforms to the rule of HBV evolution.

[Key words] hepatitis B virus; hepatocellular carcinoma; family clustering; variation genetics; mother-to-child transmission

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(1): 54-60]

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染是中国主要公共卫生问题之一。中国大陆地区约有 0.94 亿 HBV 感染者, 占全世界 HBV 感染者的 1/3 左右^[1]。HBV 传播具有家庭聚集性, 长期的日常生活接触和母婴传播是 HBV 家庭内传播的主要途径。而慢性 HBV 感染者中 30% 的男性和 10% 的女性最终发展成肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)。HBV 变异与疫苗免疫逃逸、HBV 隐匿性感染等密切相关, 继而可导致肝硬化和 HCC 的发生。我们前期研究发现, HBV 基因组前 S (PreS) 区、核心启动子/增强子/前 C 区变异与肝硬化和 HCC 显著相关^[2-5]。本研究在浦东新区外来务工人员子女 HBV 感染及乙型肝炎疫苗免疫状况研究^[6]基础上, 初步探讨了 HBsAg 阳性学生及其一级亲属 HBV 感染与 HBV 变异状况, 为制定相应的预防控制措施提供科学依据。

1 资料和方法

1.1 调查对象 2016 年项目组在浦东新区开展外来务工人员子女 HBV 感染及乙型肝炎疫苗免疫状况研究^[6], 从浦东新区 5 个城郊结合社区的 15 个学校及幼儿园 60 个班级中调查学生 1 611 名, 经检测, 乙型肝炎表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg) 阳性学生 8 名。对该 8 名学生及其 18 名一级亲属 (血缘父亲、血缘母亲、同父母兄弟姐妹) 进行流行病学调查, 所有调查对象均知情同意。另有 1 名母亲、2 名父亲、1 名兄弟姐妹因故未能完成调查。

1.2 调查内容 由项目组人员对学生及其一级亲属进行问卷调查, 调查内容包括调查对象基本情况、健康状况、家庭内 HBV 感染情况、乙型肝炎疫苗接种情况等。由统一培训的护士采集每位调查对象静脉血并送项目实验室检测乙肝五项, HBsAg 阳性者检测 HBV DNA 含量、HBV 基因型及 HCC 相关 HBV 基因变异等。

1.3 实验室检测

1.3.1 主要仪器与试剂 普通 PCR 仪 (Master, 德国 Eppendorf 公司)、梯度 PCR 仪 (Veriti, 美国 ABI 公司)、实时定量 PCR 仪 (Roche LightCycler480, 瑞士罗氏公司)、凝胶成像系统 (Molecular Imager[®] Gel Doc[™] XR system 170-8170, 美国 Bio-Rad 公司)、全波长多功能酶标仪 (Synergy 2, 美国 Biotek 公司) 等。乙肝五项酶联免疫吸附实验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司, 血液基因组 DNA 提取试剂盒 (非离心柱型) 购自天根生化科技 (北京) 有限公司, AxyPrep PCR 清洁试剂盒购自 AXYGEN 中国公司, HBV 核酸定量检测试剂盒 (PCR-荧光探针法) 购自上海复星医药股份有限公司。所有商品检测试剂均在有效期内使用, 检测结果按照试剂说明书进行判断。*rTaq* 酶、10×上样缓冲液、pMD18-T 载体系统购自宝生物工程 (大连) 有限公司。普通 PCR 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。PCR 产物测序由上海迈浦生物科技有限公司完成。

1.3.2 乙肝五项与 DNA 定量检测 采用 ELISA 定性检测 HBsAg、乙型肝炎表面抗体 (hepatitis B surface antibody, HBsAb)、乙型肝炎 e 抗原 (hepatitis B e antigen, HBeAg)、乙型肝炎 e 抗体 (hepatitis B e antibody, HBeAb)、乙型肝炎核心抗体 (hepatitis B core antibody, HBcAb) 五项指标。采用荧光 PCR 法检测血清中 HBV DNA 含量。

1.3.3 HBV 基因型检测 采用我们前期建立的 multiplex-PCR 方法^[7]检测 HBV 基因型。

1.3.4 HBV 基因序列检测与分析 采用巢式 PCR 法联合扩增产物克隆测序的方法对 HBV 基因组基本核心启动子 (basal core promoter, BCP) 区和 PreS 区进行检测^[8]。运用 MEGA 5.0 软件包对 DNA 序列进行比对和遗传进化分析。用 Cluster W 程序进行比对,用 Phylogeny 程序构建基因进化树,用 Distance 程序计算序列间的核苷酸和氨基酸距离。

1.4 统计学处理 采用 EPI DATA 3.2 软件建库,资料录入前经过严格核对,并于录入后进行资料核查。运用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,计数资料各样本组间分布的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。统计学检验均为双侧检验,检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 调查对象的基本情况 8 名 HBsAg 阳性学生中男 3 名、女 5 名;平均年龄为 (14.5±1.8) 岁;仅 4 名接种过乙型肝炎疫苗,1 名全程接种疫苗。8 名学生的 18 名一级亲属中,学生母亲 7 名 (38.9%)、父亲 6 名 (33.3%)、兄弟姐妹 5 名 (27.8%);男、女各 9 名;父母亲的平均年龄为 (42.4±6.9) 岁,兄弟姐妹的平均年龄为 (13.4±5.7) 岁;13 名 (72.2%) 为务工、务农或无业,4 名 (22.2%) 为学生,1 名 (5.6%) 为私营业主;文化程度均为高中以下;16 名 (88.9%) 与 HBsAg 阳性学生共同居住;仅 2 名 (11.1%) 接种过乙型肝炎疫苗。13 名父母亲中 3 名 (23.1%, 3/13) 的父母亲或兄弟姐妹中有 HBV 感染。

2.2 HBV 感染情况 8 名 HBsAg 阳性学生中,大三阳 (HBsAg、HBeAg、HBcAb 阳性) 6 名,小三阳 (HBsAg、HBeAb、HBcAb 阳性) 2 名,5 名 HBV DNA $\geq 10^5$ copy/mL。

18 名一级亲属中,HBsAg 阳性 6 名 (阳性率为 33.3%),均为学生父母亲 (父亲 1 名、母亲 5 名),均未接种过乙型肝炎疫苗,有 2 名 (33.3%) 的父母亲或兄弟姐妹中有 HBV 感染;6 名 HBsAg 阳性父母亲来自于 6 个不同的家庭,6 名中大三阳 3 名,小三阳 2 名;5 名 HBV DNA $\geq 10^5$ copy/mL,1 名 HBV DNA $< 10^3$ copy/mL。7 名母亲中有 5 名 HBsAg 阳性,阳性率为 71.4%,高于其他一级亲属阳性率 (Fisher 确切概率法, $P < 0.05$),见表 1、2。

18 名一级亲属中,HBcAb 阳性 7 名 (阳性率为 38.9%),其中学生父母亲 6 名 (父亲 1 名、母亲 5 名)、学生弟弟 1 名,均未接种过乙型肝炎疫苗,有 4 名 (57.1%) 的父母亲或兄弟姐妹中有 HBV 感染;7 名 HBcAb 阳性一级亲属来自于 6 个不同的家庭。7 名母亲中,5 名 HBcAb 阳性,阳性率为 71.4%,高于其他一级亲属阳性率 (Fisher 确切概率法, $P < 0.05$),见表 1、2。

18 名一级亲属中,HBsAg 或 HBcAb 阳性共 8 名,来自于 7 个家庭。8 个家庭中 7 个家庭 (87.5%, 7/8) 有 2 名及以上 HBV 感染或曾经感染,见表 1。8 个家庭共 26 名家庭成员中有 14 名 HBsAg 阳性,阳性率高达 53.8% (14/26),见表 1。

2.3 HBV 基因检测情况 此次研究共检测了 6 个家庭 HBV 基因,包括 4 个家庭的母亲和子女,1 个家庭的 1 名父亲和 1 个家庭的 1 名子女。因为单个父亲和单个子女无匹配亲属,故分析时予以剔除,重点分析 4 个母亲与子女均完成检测的家庭 (家庭序号为 1-075、3-173、3-205、5-204)。

2.3.1 HBV 基因型情况 采用进化树分析,发现 4 组母亲和子女样本中,有 3 组在进化树溯源分析中是属于同一亚型 C 型,但家庭序号 5-204 这一组的母亲为 C 型、子女为 B 型。

2.3.2 与 HCC 相关 HBV 基因变异情况 HCC 相关 HBV BCP 区变异:在不区分基因型的基础上,如 T1674C/G、G1719T、A1727G/T、C1730G、C1799G、G1986A 等热点突变频率子女低于母亲,子女在 HBV 进化程度上低于母亲。同时,也未发现母亲和子女中出现 HCC 指向性很高的双突变,见表 3。在子女不同基因亚型中,C 型中 T1674C/G、G1719T 突变率高于 B 型,但差异

不具有统计学意义; A1727G/T 突变 B 型中较高 C1799G 在 C 型中未发现变异, 见表 4。
($P < 0.05$); A1652G、C1673T、C1730G、

表 1 8 个家庭 26 名家庭成员乙肝五项、HBV DNA、HBV 基因型及乙型肝炎疫苗接种情况

Tab 1 Five markers of hepatitis B, HBV DNA, HBV genotype and HBV vaccination of 26 members from 8 families

Family number	Member	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb	HBV DNA (copy/mL)	HBV genotype	HBV vaccination
1-075	Mother	+	-	+	-	+	3.39×10^8	C	No
	Father	-	-	-	-	-			No
	Son ^a	+	-	+	-	+	3.59×10^8	C	Yes
2-281	Mother	+	-	-	+	+	$< 1.00 \times 10^2$		No
	Father	-	-	-	-	-			No
	Daughter ^a	+	-	+	-	+	4.50×10^7	B	No
2-199	Mother	-	+	-	-	-			No
	Father	-	+	-	-	-			No
	Grand daughter	-	+	-	-	-			Yes
	Little daughter ^a	+	-	-	+	+	$< 1.00 \times 10^2$		No
3-173	Mother	+	-	-	+	+	3.99×10^5	C	No
	Daughter ^a	+	-	+	-	+	6.27×10^7	C	No
	Son	-	+	-	+	+			No
3-205	Mother	+	-	+	-	+	2.21×10^8	C	No
	Daughter ^a	+	-	+	-	+	2.74×10^7	C	Yes
3-154	Father	-	+	-	+	+			No
	Daughter ^a	+	-	-	+	+	$< 1.00 \times 10^2$		Yes
5-244	Mother	-	+	-	-	-			No
	Father	+	-	-	-	-	6.94×10^5	C	No
	Grand son	-	+	-	-	-			No
	Little son ^a	+	-	+	-	+	$< 1.00 \times 10^2$		No
5-204	Mother	+	-	+	-	+	1.74×10^8	C	No
	Father	-	+	-	-	-			No
	Grand daughter ^a	+	-	+	-	+	1.07×10^8	B	Yes
	Little daughter	-	+	-	-	-			No
	Son	-	+	-	-	-			Yes
Total		14	10	9	6	15			

^a: HBsAg positive students from 1 161 investigation subjects. HBV: Hepatitis B virus; HBsAg: Hepatitis B surface antigen; HBsAb: Hepatitis B surface antibody; HBeAg: Hepatitis B e antigen; HBeAb: Hepatitis B e antibody; HBcAb: Hepatitis B core antibody

表 2 8 名 HBsAg 阳性学生 18 名一级亲属 HBV 感染情况

Tab 2 HBV infection in 18 first-degree relatives of 8 HBsAg-positive students

Relative	N	HBsAg positive rate n (%)	HBcAb positive rate n (%)
Mother	7	5 (71.4) ^a	5 (71.4) ^b
Father	6	1 (16.7)	1 (16.7)
Brother and sister	5	0 (0)	1 (20.0)
Total	18	6 (33.3)	7 (38.9)

^a: Fisher exact test, $P = 0.013$; ^b: Fisher exact test, $P = 0.048$. HBsAg: Hepatitis B surface antigen; HBV: Hepatitis B virus; HBcAb: Hepatitis B core antibody

HCC 相关 HBV PreS 区变异: 在子女不同亚型中, C 型中共有 8 个变异 (C3026T、C3051T、C3116T、A3186G、A7C、T31C、T52C、A109T) 在母亲和子女体内均有表达, 其余关键位点均未

在子女体内发现。B 型热点变异突变频率高于 C 型, 见表 5。

表 3 4 组母亲与子女 HCC 相关 HBV BCP 区变异情况
Tab 3 HCC-related HBV mutations in BCP region in 4 groups of mothers and children

Hotspot mutation	% (n/N ^a)		
	Mother	Child	P value
A1652G	18.4 (7/38)	18.4 (7/38)	1.00
C1673T	19.4 (7/36)	23.3 (7/30)	0.70
T1674C/G	48.6 (18/37)	30.8 (12/39)	0.11
G1719T	50.0 (19/38)	33.3 (13/39)	0.14
A1727G/T	69.2 (27/39)	51.3 (20/39)	0.11
C1730G	20.5 (8/39)	17.9 (7/39)	0.77
C1799G	20.5 (8/39)	17.9 (7/39)	0.77
G1986A	7.5 (3/40)	0 (0/39)	0.25

^a: Number of successfully cloned sequencing strips. HCC: Hepatocellular carcinoma; HBV: Hepatitis B virus; BCP: Basal core promoter

表4 HCC相关HBV BCP区变异在子女不同基因型中分布情况

Tab 4 Distribution of HCC-related HBV mutations in BCP region of different genotypes in children

Hotspot mutation	B type	C type	<i>P</i> value
A1652G	87.5 (7/8)	0 (0/30)	<0.001
C1673T	77.8 (7/9)	0 (0/30)	<0.001
T1674C/G	11.1 (1/9)	36.7 (11/30)	0.296
G1719T	22.2 (2/9)	36.7 (11/30)	0.687
A1727G/T	100.0 (9/9)	36.7 (11/30)	0.003
C1730G	77.8 (7/9)	0 (0/30)	<0.001
C1799G	77.8 (7/9)	0 (0/30)	<0.001
G1986A	0 (0/9)	0 (0/30)	

^a: Number of successfully cloned sequencing strips. HCC: Hepatocellular carcinoma; HBV: Hepatitis B virus; BCP: Basal core promoter

3 讨论

家庭聚集性受较多因素的影响,包括遗传因素、环境因素、生活行为因素等,其中母婴垂直传播和日常生活密切接触是HBV感染呈现家庭聚集性的主要原因^[9-10]。2010年一项调查表明,上海市HBV感染亦呈家庭聚集性^[11]。因此,本研究招募了HBsAg阳性学生的一级亲属进行调查与检测,结果发现一级亲属HBsAg阳性率为33.3% (6/18),HBcAb阳性率为38.9% (7/18),8个家庭中的7个家庭有2人及以上HBV感染或曾经感染,8个家庭共26名家庭成员中HBsAg阳性率高达53.8% (14/26),均证明HBV感染存在明显的家庭聚集性,与上海^[11]、贵州^[12]等地区相关调查结果一致。

表5 HCC相关HBV PreS区变异在子女不同基因型中分布情况

Tab 5 Distribution of HCC-related HBV mutations in PreS region in different genotypes of children

Hotspot mutation	B type		Hotspot mutation	C type		<i>P</i> value ^b	<i>P</i> value ^c
	Mother <i>N</i> ^a =0	Child <i>N</i> ^a =10, <i>n</i> (%)		Mother <i>N</i> ^a =40, <i>n</i> (%)	Child <i>N</i> ^a =30, <i>n</i> (%)		
A2875C	0	6 (60.0)	C2875A	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
T2931C	0	6 (60.0)	C2931T	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
A2964C	0	6 (60.0)	C2964A	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
T3026C	0	6 (60.0)	C3026T	9 (22.5)	9 (30.0)	0.477	0.187
C3051T	0	10 (100.0)	C3051T	7 (17.5)	10 (33.3)	0.126	<0.001
T3054A	0	6 (60.0)	A3054T	2 (5.1)	0 (0)	0.501	<0.001
T3060C	0	6 (60.0)	C3060T	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
G3063C	0	6 (60.0)	C3063G	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
A3066T	0	6 (60.0)	T3066A	2 (5.1)	0 (0)	0.501	<0.001
G3069T	0	6 (60.0)	T3069G	2 (5.1)	0 (0)	0.501	<0.001
C3116T	0	4 (40.0)	C3116T	25 (65.8)	15 (50.0)	0.189	0.855
T3120A	0	6 (60.0)	A3120T	2 (6.3)	0 (0)	0.517	<0.001
G3186A	0	6 (60.0)	A3186G	2 (5.3)	1 (3.4)	1.000	<0.001
C3191G	0	6 (60.0)	G3191C	2 (5.3)	0 (0)	0.500	<0.001
C7A	0	5 (50.0)	A7C	6 (15.0)	10 (33.3)	0.071	0.572
T10A	0	5 (50.0)	A10T	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
T31C	0	5 (50.0)	T31C	14 (35.0)	16 (53.3)	0.125	1.000
G49A	0	5 (50.0)	A49G	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
C52T	0	10 (100.0)	T52C	7 (17.5)	5 (16.7)	0.927	<0.001
A76C	0	5 (50.0)	C76A	2 (5.0)	0 (0)	0.506	<0.001
T105C	0	5 (50.0)	C105T	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
T109A	0	5 (50.0)	A109T	7 (17.5)	9 (30.0)	0.218	0.444
T147C	0	5 (50.0)	C147T	2 (5.0)	0 (0)	0.503	<0.001
PreS1 deletion	0	0 (0)	PreS1 deletion	2 (5.0)	0 (0)	0.503	

^a: Number of cloned sequencing strips successfully; ^b: Mother vs child in C type; ^c: Child in B type vs child in C type. HCC: Hepatocellular carcinoma; HBV: Hepatitis B virus

本研究结果显示,一级亲属中母亲HBsAg阳性率高达71.4% (5/7),提示此次调查学生HBV

感染的主要原因是母婴垂直传播,与我们前期的研究结果^[8,13-14]一致。加强阻断HBV母婴传播仍

是乙型肝炎防控的重中之重。本研究 8 个家庭中有 5 个家庭的父母均接受了调查, 未见夫妻均为 HBsAg 阳性的情况, 提示性传播非此次调查家庭中 HBV 传播的主要途径。结合 26 名家庭成员中仅 6 名接种过乙型肝炎疫苗, 提示对 HBV 感染者共同生活的家庭成员及时接种乙型肝炎疫苗, 并做好日常生活中的预防, 对于进一步做好阻断因生活中密切接触导致的 HBV 感染意义重大。

HBV 基因型是一个重要的病毒学特征, 导致不同的病毒变异谱。在中国以 HBV B 和 C 基因型为主, 不同基因型具有不同的致病特点, HBV C2 增加 HCC 发生的危险性, 而 HBV B2 与 HCC 的复发相关^[15-16]。海军军医大学(第二军医大学)相关项目组前期研究表明, 在“HBV 慢性感染—肝硬化—HCC”的发展进程中, HBV 突变存在热点突变(突变频率>10%)逐渐累积的现象, 这部分突变可以用来监测和预警 HCC 的发生^[17]。在母婴垂直传播中, HBV 野生型更容易传给子代, 而变异型都是之后在环境和遗传交互作用下被免疫选择出来的^[8]。即 HCC 相关的 HBV 变异, 如 G1613A、C1653T、T1674C/G、T1753V、A1762T/G1764A、G1896A、PreS deletion、C2964A、C3116T、C7A、C76A/T 等变异都能增加患 HCC 的风险, 成为 HBV 基因变异研究的热点。HBV BCP 区受增强子 II 及增强子 I (nt.1070-1234) 部分调节, 控制前 C 区 (nt.1814-1900) mRNA 或前基因组 RNA 的转录^[18]。此外, HBV 基因型 C、HBV 病毒含量 ($\geq 10^4$ copy/mL)、丙氨酸转氨酶 (>45 U/L) 等病毒学特征也是 HCC 的危险因素^[4,5,19-20]。

本研究发现, 4 组家庭母亲与子女 HBV 基因中, 有 3 组同属于 C 型, 母婴传播的可能性较大。但有 1 组母亲是 C 型、子女是 B 型, 且该 B 型在 HCC 相关 HBV 热点突变位点上的进化程度略高于其他组子女, 怀疑非母婴传播感染, 而是由后天血液传播等其他方式造成。

本研究还发现, 在不区分基因型的基础上, 子女的热点突变频率均低于母亲, 说明其在病毒进化程度上低于母亲, 符合 HBV 进化的规律。但目前中国 HBV 所致 HCC 的发病率男女比为 3:1, 说明女性可能在病毒免疫选择进化或其他方面能力比较低^[21]。

在中国大陆地区 HBV 的主要流行基因型为 B 和 C 型, B 型更容易造成青少年急性乙型肝炎, 但其导致乙型肝炎慢性化和致癌的效能比 C 型低; C 型感染后较 B 型乙型肝炎慢性化比例相对更高, 且容易发展为 HCC^[15-16]。本研究结果显示, C 型的母亲与子女 HBV 突变差异普遍较大, 原因可能是列选的均是 C 型与 HCC 相关的 HBV 基因的热点突变, 这些突变是在长期慢性炎症刺激下选出的与 HCC 密切相关的突变位点, 所以子女中大部分没有出现类似突变。

综上所述, 本研究探索了外来务工人员家庭内 HBV 感染状况以及 HCC 相关的 HBV 变异情况, 为进一步认识 HBV 感染的家庭聚集性、HBV 变异发生规律、制定相关干预措施以预防 HBV 慢性感染导致的 HCC 提供了科学依据。

[参考文献]

- [1] YIN J, ZHANG H, HE Y, XIE J, LIU S, CHANG W, et al. Distribution and hepatocellular carcinoma-related viral properties of hepatitis B virus genotypes in Mainland China: a community-based study[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19: 777-786.
 - [2] ZHANG Q, YIN J, ZHANG Y, DENG Y, JI X, DU Y, et al. HLA-DP polymorphisms affect the outcomes of chronic hepatitis B virus infections, possibly through interacting with viral mutations[J]. *J Virol*, 2013, 87: 12176-12186.
 - [3] LIU S, XIE J, YIN J, ZHANG H, ZHANG Q, PU R, et al. A matched case-control study of hepatitis B virus mutations in the preS and core promoter regions associated independently with hepatocellular carcinoma[J]. *J Med Virol*, 2011, 83: 45-53.
 - [4] YIN J, XIE J, LIU S, ZHANG H, HAN L, LU W, et al. Association between the various mutations in viral core promoter region to different stages of hepatitis B, ranging of asymptomatic carrier state to hepatocellular carcinoma[J]. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106: 81-92.
 - [5] YIN J, XIE J, ZHANG H, SHEN Q, HAN L, LU W, et al. Significant association of different preS mutations with hepatitis B-related cirrhosis or hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol*, 2010, 45: 1063-1071.
 - [6] 谢震宇, 杨天, 费怡, 殷建华, 李自雄, 曹广文. 上海市浦东新区外来务工人员子女乙肝病毒感染及乙肝疫苗免疫状况调查研究[J]. *第二军医大学学报*, 2016, 37: 1464-1469.
- XIE Z Y, YANG T, FEI Y, YIN J H, LI Z X, CAO G W. Investigation of HBV infection and hepatitis B vaccination coverage in children of migrant workers in

- Pudong New Area, Shanghai, China[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2016, 37: 1464-1469.
- [7] CHEN J, YIN J, TAN X, ZHANG H, ZHANG H, CHEN B, et al. Improved multiplex-PCR to identify hepatitis B virus genotypes A-F and subgenotypes B1, B2, C1 and C2[J]. *J Clin Virol*, 2007, 38: 238-243.
- [8] LI Z, XIE Z, NI H, ZHANG Q, LU W, YIN J, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus: evolution of hepatocellular carcinoma-related viral mutations in the post-immunization era[J]. *J Clin Virol*, 2014, 61: 47-54.
- [9] LUO Z, XIE Y, DENG M, ZHOU X, RUAN B. Prevalence of hepatitis B in the southeast of China: a population-based study with a large sample size[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 23: 695-700.
- [10] LIAW Y F, CHU C M. Hepatitis B virus infection[J]. *Lancet*, 2009, 373: 582-592.
- [11] 黎健,刘景一,胡家瑜,李燕婷.上海市乙肝病毒感染家庭聚集性及感染模式研究[J]. *中华疾病控制杂志*, 2013,17:681-683.
- [12] 闵定玉. 贵州少数民族人群乙肝流行现状及家庭聚集性分析[D]. 贵阳:贵州医科大学,2016.
- [13] 谢震宇,傅益飞,浦蕊,丁一波,沈秋霞,殷建华,等. 上海市浦东新区乙型肝炎病毒母婴传播的发生率及其影响因素研究[J]. *第二军医大学学报*,2014,35:631-636.
XIE Z Y, FU Y F, PU R, DING Y B, SHEN Q X, YIN J H, et al. Incidence of mother to child transmission of hepatitis B virus and its influencing factors in Pudong New Area of Shanghai[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2014, 35: 631-636.
- [14] 谢震宇,傅益飞,张爱华,浦蕊,丁一波,孙乔,等. 乙型肝炎病毒变异在母婴传播中的初步研究[J]. *第二军医大学学报*,2015,36:715-721.
XIE Z Y, FU Y F, ZHANG A H, PU R, DING Y B, SUN Q, et al. Hepatitis B virus mutations during mother-to-children transmission: a preliminary study[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2015, 36: 715-721.
- [15] YIN J, ZHANG H, LI C, GAO C, HE Y, ZHAI Y, et al. Role of hepatitis B virus genotype mixture, subgenotypes C2 and B2 on hepatocellular carcinoma: compared with chronic hepatitis B and asymptomatic carrier state in the same area[J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29: 1685-1691.
- [16] ZHANG H W, YIN J H, LI Y T, LI C Z, REN H, GU C Y, et al. Risk factors for acute hepatitis B and its progression to chronic hepatitis in Shanghai, China[J]. *Gut*, 2008, 57: 1713-1720.
- [17] LIU S, ZHANG H, GU C, YIN J, HE Y, XIE J, et al. Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101: 1066-1082.
- [18] KAY A, ZOULIM F. Hepatitis B virus genetic variability and evolution[J]. *Virus Res*, 2007, 127: 164-176.
- [19] YANG H I, YE H S H, CHEN P J, ILOEJE U H, JEN C L, SU J, et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100: 1134-1143.
- [20] HE Y, ZHANG H, YIN J, XIE J, TAN X, LIU S, et al. IkappaBalpha gene promoter polymorphisms are associated with hepatocarcinogenesis in patients infected with hepatitis B virus genotype C[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30: 1916-1922.
- [21] LI M, WANG S, HAN X, LIU W, SONG J, ZHANG H, et al. Cancer mortality trends in an industrial district of Shanghai, China, from 1974 to 2014, and projections to 2029[J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 92470-92482.

[本文编辑] 尹 荼