

## 慢性乙型肝炎病毒基因型与干扰素疗效关系的研究

郭贤利<sup>1)</sup>, 毕云<sup>2)</sup>, 庞秋霞<sup>1)</sup>, 王爱红<sup>1)</sup>, 王逢会<sup>1)</sup>

(1) 延安大学医学院; 2) 延安大学附属医院, 陕西延安 716000)

**[摘要]** **目的** 探讨慢性乙型肝炎病毒基因型与干扰素疗效的关系. **方法** 62例慢性乙型肝炎患者随机分为治疗组和对照组. 对照组的患者实施常规的肝保护治疗. 治疗组患者则在常规的保肝治疗的基础上, 进行500万U的干扰素 $\alpha$ 肌肉注射治疗. 所有患者均进行乙型肝炎病毒的基因型测定, 最后进行不同HBV基因型的干扰素 $\alpha$ 治疗效果比较研究. **结果** 乙型肝炎病毒患者的不同基因型在干扰素 $\alpha$ 治疗效果方面差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). **结论** 在慢性乙型肝炎的治疗中, 乙型肝炎病毒基因型的测定对于干扰素 $\alpha$ 最终的治疗效果预判有一定价值.

**[关键词]** 慢性乙型肝炎; 病毒基因型; 干扰素; 疗效

**[中图分类号]** R512.62 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706(2012)11-0049-04

## Research on Relationship between the Curative Effect of Interferon and Genotype of Chronic Hepatitis B Virus

GUO Xian-li<sup>1)</sup>, BI Yun<sup>2)</sup>, PANG Qiu-xia<sup>1)</sup>, WANG Ai-hong<sup>1)</sup>, WANG Feng-hui<sup>1)</sup>

(1) School of Medicine, Yan'an University; 2) Affiliated Hospital of Yan'an University Yan'an Shaanxi, 716000, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore chronic hepatitis B virus genotype and its relationship with the curative effect of interferon. **Methods** 62 patients were randomly divided into treatment group and control group. Patients in control group were given the conventional treatment of liver protection. Patients in the treatment group were given 5 million units of interferon- $\alpha$  intramuscular injection treatment, besides the conventional treatment. All patients received hepatitis B virus gene type determination, then the interferon- $\alpha$  therapy effect were compared between different HBV genotypes. **Result** The interferon- $\alpha$  therapy effect had statistically significantly difference between patients with hepatitis B virus genotype ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** In the treatment of chronic hepatitis B, determination of hepatitis B virus genotype has significance in promoting interferon- $\alpha$  final treatment effect. In addition, the results still need further investigation.

**[Key words]** Chronic hepatitis B; Virus genotype; Interferon; Curative effect

由于我国的特殊国情, 慢性乙型肝炎一直成为困扰临床治疗的主要社会危害型传染病. 乙型肝炎病毒 HBV 是引起乙型肝炎的病原体, 在感染 HBV 之后可以引起患者的肝脏病变, 部分患者可能会转变为慢性肝炎, 随着病情变化亦有可能转变为肝硬化或者是肝癌<sup>[1]</sup>. 对于 HBV 感染者以及罹患慢性乙型肝炎的患者来说, 及早发现 HBV 的存在, 采取有效的药物治疗措施, 可以有效降低肝硬化及肝癌

发病率, 提高乙型肝炎患者的生存率和生活质量.

目前干扰素是治疗慢性乙型肝炎的主要抗病毒药物, 对于不同的乙肝患者, 干扰素的治疗效果有明显的个体差异性. 根据病毒核苷酸序列异源性 $\geq 8\%$ 或 S 基因区核苷酸序列异源性 $4\%$ 为一种基因型, 乙型肝炎病毒 (HBV) 可以分为 A-H 8 个亚型, 且 HBV 的分布明显具有地域性差异<sup>[2]</sup>. 为了指导临床选择合适的药物, 缓解患者的病情, 笔者分

**[基金项目]** 延安大学专项科研基金项目 (YD2010-04); 延安大学医学院专项科研基金项目 (YXY2012-07)

**[作者简介]** 郭贤利 (1976~), 女, 山西临县人, 医学学士, 讲师, 主要从事肿瘤相关基因研究工作.

析 62 例慢性乙型肝炎患者的干扰素治疗状况, 探究患者的慢性乙型肝炎病毒基因型与干扰素治疗之间的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

延安大学附属医院感染科患者 62 例, 其中男性患者 38 例, 女性患者 24 例, 年龄分布区间为 10~62 岁, 平均年龄 ( $32.3 \pm 8.1$ ) 岁。所选取的患者中乙型肝炎病毒携带者 16 例, 慢性乙型肝炎患者 31 例, 肝硬化患者 10 例, 肝癌 5 例。患者的诊断标准符合 2000 年第十届全国病毒性肝炎及肝病学术会议中, 由中华医学会传染病与寄生虫病学分会和肝病学会联合修订的病毒性肝炎防治方案。在治疗初期所有患者 HBsAg 和 HBeAg 均呈现阳性, HBV 感染超过 6 个月, HBV-DNA 阳性 ( $> 103$  copies/mL)。所选取的患者均排除了合并丙型肝炎、丁型肝炎病毒感染状况。留取患者血清 5 mL,  $-20$  °C 冷冻待查。

### 1.2 血清肝炎病毒标志物、HBV DNA 定量和基因型检测

血清肝炎病毒标志物采用酶联免疫法 (ELISA)。血清肝炎病毒标志物包括乙肝五项的检测: HBsAg、抗 HBs、HBeAg、抗 HBe、抗 HBc, 简称乙肝五项。试剂盒军事医学科学院提供。HBV DNA 定量检测采用荧光定量-聚合酶链反应 (FQ-PCR) 法。慢性肝炎病毒的基因型采用 Taqman 荧光 PCR 技术 (美国 ABI7700PCR 仪) 进行检测。根据不同的电泳图谱进行 RFLP 分析以确定 HBV 基因型, 其中 C 型 (S<sub>1</sub> 酶切片段 253 bp 及 332 bp), B 型 (B<sub>1</sub> 酶切片段 126 bp 及 459 bp)。所有样本至少要重复一次, 以两次的基因测评结果作为最终的基因分型结果。

### 1.3 治疗方法

将 62 位患者随机分为治疗组和对照组, 每组患者均为 31 例。对照组的患者实施常规的肝保护治疗。治疗组患者则在常规的保肝治疗的基础上, 进行 500 万 U 的干扰素  $\alpha$  肌肉注射治疗, 3 次/周, 每 6 个月为一疗程。

干扰素  $\alpha$  治疗疗效的评估标准。HBeAg 测定是慢性乙型肝炎治疗适应证最主要参考指标。本研究将患者的干扰素治疗效果分为完全应答、部分应答、无应答 3 种。HBeAg 阴性、HBV DNA 斑点杂交 0、丙氨酸转氨酶 (ALT) 正常或在正常值上限的 1.5 倍范围内、患者的病情症状明显改善视为干扰素治疗的完全应答。反过来若慢性乙型肝炎患者的 HBeAg 阳性、HBV DNA 斑点杂交无改变、丙氨酸转氨酶 (ALT) 和患者的病情症状无改善则为无应答。介于完全应答和无应答之间的慢性乙型肝炎患者, 则视为部分应答。在后续的研究比较中, 将完全应答和部分应答归为有效, 而无应答作为干扰素治疗无效处理。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS 统计软件 (Version 10.0) 进行统计结果分析。对照组和治疗组的干扰素的治疗效果比较采取  $\chi^2$  检验等相关分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HBV 基因型与血清 HBV DNA 水平的比较

在 62 例慢性乙型肝炎患者中乙型肝炎病毒的基因分型, B 型患者为 31 例, C 型患者为 25 例, BC 基因型患者 5 例, 其余乙型肝炎患者的基因型为 1 例, 其中 B、C 基因型的慢性乙型肝炎患者占到所有患者的 90.32%。慢性乙型肝炎患者的各基因型在年龄、性别、病理分析上并无明显差异, 见表 1。

表 1 HBV 基因型与血清 HBV DNA 水平的比较

Tab. 1 Comparison of HBV genotype and serum HBV DNA levels

| 基因型 | n  | HBV DNA ( $\bar{x} \pm s$ ) | HBeAg 阳性 (n) | HBeAg 阳性率 (%) |
|-----|----|-----------------------------|--------------|---------------|
| B   | 31 | $5.8 \pm 1.4$               | 18           | 55.56         |
| C   | 25 | $5.9 \pm 1.4$               | 15           | 60.17         |
| BC  | 5  | $5.7 \pm 0.4$               | 5            | 100.00        |
| 其他  | 1  |                             |              |               |

### 2.2 慢性乙型肝炎 B、C 基因型与干扰素 $\alpha$ 治疗效果比较

根据我国慢性乙型肝炎患者 HBV 基因型的实际状况, 本研究的主要研究点主要是在于探究慢性

乙型肝炎 B、C 基因型与干扰素  $\alpha$  治疗效果之间的关系。将完全应答和部分应答归为有效, 而无应答作为干扰素治疗无效处理。结果显示, B 型的乙型肝炎患者的完全应答、部分应答、无应答的患者分别为 16、8、7, 最终经干扰素治疗之后有效率为 77.42%; 而 C 型的乙型肝炎患者的完全应

答、部分应答、无应答的患者分别为 9、5、11, 最终经干扰素治疗之后有效率为 56.00%。经过研究比较, 乙型肝炎病毒患者的基因型在干扰素  $\alpha$  治疗效果方面存在统计学上的显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

表 2 慢性乙型肝炎 B、C 基因型与干扰素  $\alpha$  治疗效果比较 (n)

Tab. 2 Comparison of interferon  $\alpha$  between chronic hepatitis B and C genotype (n)

| 基因型 | n  | 完全应答 | 部分应答 | 无应答 | 有效率 (%) |
|-----|----|------|------|-----|---------|
| B   | 31 | 16   | 8    | 7   | 77.42*  |
| C   | 25 | 9    | 5    | 11  | 56.00   |

与 C 基因型比较, \* $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

乙型病毒性肝炎 (俗称乙肝) 是危害我国国民健康的主要传染病之一。基于不对称复制和缺乏校对酶的作用, 乙型肝炎病毒在逆转录过程中出现的突变率极高。对于我国的慢性乙型肝炎患者来说, 乙型肝炎病毒的基因型主要是 B、C 两种基因型。我国慢性乙型肝炎患者中 B、C 基因型占到所有患者的 97%, 这两种基因型还有可能形成 BC 型的重组基因型。在我国汉族居民中北方以 C 型为主, 南方则以 B 型为主。

近些年来治疗慢性乙型肝炎的药物主要是分为干扰素和核苷酸类似物。现今临床治疗慢性乙型肝炎治疗方案一般为核苷类似物长期抗 HBV 治疗和固定疗程的长效干扰素治疗。乙型肝炎病毒在复制的过程中治疗药物虽然可以抑制某个环节, 使乙型肝炎病毒的 DNA 含量下降或消失。但是令医疗工作者和患者沮丧的是无论采用何种药物和治疗方案, 患者体内的乙型肝炎病毒产生新病毒的根源 - 病毒复制模板 cccDNA 还是存在的。因此, 就现今的慢性乙型肝炎治疗的医疗发展来说, 慢性乙型肝炎是无法根治的, 药物充其量也只是缓解乙型肝炎患者的疾病发展过程。长期用药可能会导致患者产生药物耐药性, 因此根据患者的实际疾病状况来进行辩证施治, 避免无益的药物剂量摄入产生耐药性, 对于慢性乙型肝炎患者的临床治疗是具有重要意义的。

干扰素  $\alpha$  是迄今治疗慢性乙型肝炎的常规药物。此药物主要是通过激发慢性乙型肝炎患者的机体自身免疫, 从而起到抗乙型肝炎病毒的作用。干扰素  $\alpha$  的治疗效果可能与患者的年龄、种族、性别、免疫状态等因素相关。在感染乙型肝炎病毒之

后, 由于个体间基因组的差异和病毒基因型所存在的差异, 患者机体对病毒的清除能力具有明显的差异。近年来关于慢性肝炎患者所携带的乙型肝炎病毒基因型与干扰素治疗效果之间的关系研究有很多, 这也是随着药物基因组学发展而逐渐兴起的一种研究趋势。解放军 169 中心医院感染内科的周友乾等<sup>[9]</sup>研究了干扰素治疗慢性乙型病毒性肝炎疗效的预测分析, 从病毒因素和宿主因素两个层面上讨论了影响干扰素治疗效果的因素。其中宿主因素涉及性别、年龄、肝组织的炎症程度、人类白细胞抗原 (HLA)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、Th 应答模式、干扰素中和抗体 (NA)。

现今对于乙型慢性肝炎患者的乙型肝炎病毒基因型与干扰素的治疗效果之间的关系还未达成一致结论。二者之间关系的探究仍需要大量的研究证实, 尤其是大样本研究的支持。何卫平等<sup>[10]</sup>研究者对慢性乙型肝炎病毒基因型与临床病理进行相关性分析, 对 92 例慢性乙型肝炎患者进行 HBV 基因分型, 并与其临床生化结果、病毒定量和肝组织病理进行相关性分析。最终得出了 B 型和 C 型慢性肝炎患者在丙氨酸转氨酶、病毒复制、HBeAg 表达水平及肝脏病理炎症和纤维化程度间差异无统计学意义。不同的 HBV 基因型, 其 HBV 的毒力和致病性可能产生较大的差异。有研究显示 C 型 HBV 感染引起较重肝脏损伤和肝纤维化, 可能与 C 型易发生 nt 1762/1764 双变异有关。徐州医学院附属医院感染科汪莉萍等<sup>[11]</sup>对采用型特异性引物多重 PCR 方法对徐州地区 160 例患者 HBV 进行基因分型, 最终发现徐州地区的慢性乙型肝炎患者所感染的 HBV 基因型与血清病毒载量之间无明显相关。因此从样本量、变量限制的角度来考量, 本文所得出的乙型肝炎病毒患者的基因型在干扰素  $\alpha$  治疗效果方面存在统计学上差异有统计

学意义 ( $P < 0.05$ ) 结论还有待扩大样本量进行进一步的研究。

HBV 感染的疾病谱和自然史是多样和多变的, 这种复杂多变也为临床上的慢性乙型肝炎患者的治疗带来了一定的困难。在对慢性乙型肝炎患者所感染的乙型肝炎病毒基因型与干扰素治疗疗效之间关系的探究中, 要注意控制其他变量。诸如所选取患者的年龄, 台州市立医院感染科有研究<sup>[9]</sup>表明年龄因素是慢性乙型肝炎患者疾病的独立预测因素。对于年龄  $> 30$  岁的慢性乙型肝炎患者进行肝穿活检对明确肝脏病变程度、指导临床治疗具有重要意义。对慢性乙肝患者进行乙肝病毒基因型测定, 根据 HBV 基因型与干扰素治疗效果之间的关系, 选择契合患者病情实际的治疗方案, 这对慢性乙型肝炎患者治疗效果的提升是大有裨益的。综上所述, HBV DNA 既是 IFN 疗效的判定指标, 又是良好的疗效预测因素, 能从本质上反应患者的感染状态及治疗反应。

## [参考文献]

- [1] 刘俊人, 高嘉宏. 乙型肝炎病毒基因型流行病学和临床意义[J]. 肝脏杂志, 2006, 11(1): 39-42.
- [2] 赵鸿, 李俊, 李兴丰, 等. 感染乙肝病毒不同基因型亚型患者的临床特点分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2007, 28(1): 74-77.
- [3] 周友乾, 尹凤鸣, 冯经华. 干扰素治疗慢性乙型肝炎疗效的预测分析 [J]. 华南国防医学杂志, 2007, 21(1): 20-22.
- [4] 何卫平, 胡瑾华, 王慧芬. 慢性乙型肝炎病毒基因型与临床病理相关性分析 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2008, 22(2): 116-118.
- [5] 汪莉萍, 陈明, 封波, 等. 慢性乙型肝炎病毒基因型与血清病毒载量的关系[J]. 徐州医学院学报, 2007, 27(2): 81-83.
- [6] 谢红东, 于盈, 金茜, 等. 慢性乙型肝炎患者临床病理与年龄的关系研究[J]. 中国医师杂志, 2010, 12(12): 1639-1642.

(2012-08-04 收稿)

(上接第 41 页)

VEGF 的表达。

研究结果提示凉血活血药物可作为潜在的早期干预新生血管及其相关疾病的研究靶点, 但其具体作用机制还需进一步研究。

## [参考文献]

- [1] CASEY R, LI W W. Factors controlling ocular angiogenesis[J]. Am Ophthalmol, 1997, 124(4): 521-529.
- [2] 叶勇, 张雯娟, 雍雪莲, 等. MTT法检测化痰活血方含药血清对血管内皮细胞增殖的影响[J]. 江汉大学学报, 2006, 6(2): 69.
- [3] 田牛. 微血管生成和血管退化[J]. 微循环学杂志, 2000, 10(3): 1-5.
- [4] GERBER H P, CONDLORELLI F, PARK T, et al. Differential transcription regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes, Fit-1, but not Fit-1/KDR is up-regulated by hypoxia [J]. J Biol Chem, 1997, 272(38): 23659-23667.

lial growth factor receptor genes, Fit-1, but not Fit-1/KDR is up-regulated by hypoxia [J]. J Biol Chem, 1997, 272(38): 23659-23667.

- [5] 吴其夏, 邱劲. ECV30细胞可作为一般模型、工具或靶用于生物医学和药学研究[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(1): 139-142.
- [6] 田代真一. “血清药理学”と“血清药化学”—汉方の药理学方かじ 药物血中浓度测定の新しい协世界 [J]. TDM 研究, 1988, (5): 54.
- [7] 刘平, 王宁生, 雷燕, 等. 关于血清药理学的若干思考 [J]. 中国中西医结合杂志, 1999, 10(5): 263-266.
- [8] 李仪奎. 中药血清药理学实验方法的若干问题 [J]. 中药新药与临床药理, 1999, 2(10): 95-98.
- [9] 何庆源, 陈诗书. 血管内皮生长因子与血管生成 [J]. 国外医学分子生物学分册, 1997, 19(5): 236-239.

(2012-06-21 收稿)