

乙型肝炎病毒基因分型的研究进展

高海兵, 潘晨[福建医科大学附属传染病医院(福州市传染病医院), 福州 350025]

HBV复制率高, 每天可复制 10^{13} 个病毒, 且其DNA聚合酶无纠错功能, HBV核苷酸替代率为 4.57×10^{-5} 位点/年, 因此产生了不同的基因型、亚型等基因序列异质性。目前根据HBV全基因序列异质性 $\geq 8\%$ 或S基因序列异质性 $\geq 4\%$ 将HBV分为8种基因型(A~H), 并根据全基因序列异质性 $\geq 4\%$ 而 $\leq 8\%$ 将HBV同一种基因型再分为不同的亚型。已有大量研究提示, 不同基因型、亚型的HBV各具独特的分子生物学特征及流行病学特点, 并与HBV感染转归、抗病毒疗效等密切相关。

1 HBV基因型、亚型的流行病学特点

HBV基因型、亚型具有明显的地域分布。A基因型主要分布于北欧、中欧、北美及次撒哈拉非洲; B、C基因型主要流行于亚洲地区; D基因型分布广, 主要流行于中东、南欧地区, 也是地中海地区HBV主要基因型; E基因型主要发现于西非; F基因型主要发现于美洲土著人; G基因型见于法国、美国、德国; H型则主要发现于美国, 见表1。

目前基因型A、B、C、D、F均有相应亚型, 它们也分别流行于不同地区或在不同地区被发现, 主要亚型见表1。G基因型亚型目前尚不清楚, 可能与其起源地尚不清有关^[1], 至于E基因型未分亚型, 可能与HBV变异进化成该型较迟有关。

HBV混合基因型感染已被发现。Chen等^[2]对235例经静脉注射吸毒的慢性乙型肝炎患者进行调

查性研究表明, 经静脉输注吸毒人群的HBV混合基因型感染率相当高。Kato等^[3]发现与基因型A混合感染的多为基因型G, 但HBV混合基因型是否有地理和种族分布相关尚不明确。

我国HBV主要以B、C基因型为主, 其中北方以C基因型为主, 南方以B基因型为主, 同时在上海、广州发现少量A基因型, 宁夏、兰州、新疆有少量D基因型。Wang等^[4]发现B基因型的研究对象均为B2亚型, C基因型的C1、C2亚型均被发现, 且具有地域差异性, A基因型少见, 未发现E、F、G、H基因型, 在北方还发现C/D基因型重组体感染。

2 HBV基因分型与病毒变异的关系

HBV是变异率高的DNA病毒, 其基因突变与基因型都是HBV基因异质性的体现, HBV基因型是长期基因变异进化的结果。

2.1 S基因变异 HBsAg第124~147位氨基酸序列相对保守, 构成“a”决定簇, S基因的某些位点变异可以使“a”决定簇的二级或三级结构改变, 成为免疫逃逸株, 其中AA145Gly→Arg、AA141Lys→Glu等变异, 与E基因型关系密切, 可能与E基因型HBsAg AA140位点为Ser而其他基因型该位点为Thr有关。夏国良等^[5]对单纯HBV疫苗免疫后携带者与未免疫携带者的研究发现, 单纯HBV疫苗具有免疫选择HBsAg基因变异株的作用, 其中AA145、AA126和AA133是常见的氨基酸置换位点, 基因变异风险与病毒基因型有关。

2.2 前-C区变异 在前-C区, nt1858与nt1896位点相对形成稳定的茎环结构。研究发现该区存在G1896A位点突变, 且变异具有基因型依赖。Lindh等^[6]发现A、F基因型及部分C基因型HBV前-C区

基金项目: 福州市社会发展科技项目(2008-s-74)

通讯作者: 潘晨 Email: panchen999@yahoo.com.cn

表 1 HBV基因型与基因亚型的主要地理分布

基因型	基因亚型	主要地区分布
A		北欧、中欧、北美及次撒哈拉非洲
	A1	非洲、亚洲、南美洲
	A2	欧洲
	A3	加蓬（位于非洲）、喀麦隆
	A4	马利
	A5	尼日利亚
B		亚洲
	B1（Bj）	日本
	B2（Ba）	亚洲（不包括日本）
	B3	印度尼西亚、菲律宾
	B4	越南
	B5	菲律宾
C		亚洲
	C1（Cs）	东南亚（越南、泰国、中国南方、老挝、缅甸）
	C2（Ce）	远东地区（朝鲜、中国北方、日本）
	C3	密克罗尼西亚联邦
	C4	澳大利亚
	C5	菲律宾、越南
D		中东、南欧、地中海
	D1	白俄罗斯、蒙古、欧洲？
	D2	印度
	D3	南非、塞尔维亚、东印度
	D4	澳大利亚
	D5	东印度
E		西非
F		美洲土著人
	F1	南美洲、中美洲
	F2	南美洲
	F3	玻利维亚
	F4	阿根廷
G		法国、美国、德国
H		美国

nt1858位为碱基C，而B、D、E基因型为碱基T。当HBV前-C区nt1858位为碱基C，可与nt1896位的碱基G结合形成稳定的茎样结构，很少发生前-C区变异。当前-C区nt1858位为碱基T，则不能与nt1896位的碱基G结合形成稳定结构，在免疫压力下，容易产生G1896A变异，才能形成稳定的茎样结构。C基因型1858位一部分为碱基T，一部分为碱基C。Chan等^[7]对49例C基因型的乙型肝炎患者分析发现，nt1858在C2亚型中100%（10/10）为碱

基T，而C1亚型中，nt1858为碱基T的情况仅占5%（2/39），前-C区G1896A变异，在C1、C2亚型中的发生率分别为50%和5%。欧洲一项关于182例慢性乙型肝炎患者发生前-C区变异的调查显示，D基因型变异发生率为83%，而A基因型变异发生率<40%。Liu等^[8]研究发现B1、B2、B4基因亚型的G1896A变异发生率分别为70.3%、31.7%、53%（ $P = 0.001$ ），但未在B3、B5亚型中发现该位点突变。前-C区G1896A点突变是AA28由色氨酸

(TGG) 变异为终止密码子 (TAG), 抑制RNA的翻译过程, 使HBeAg表达减少, 这可能是B基因型比C基因型更早出现HBeAg血清转换以及更高的HBeAg转阴率的一部分原因。

2.3 基础核心启动子 (BCP) 变异 BCP区位于HBV的C基因调节序列区, 包括DR1、前-C和C基因的两种RNA起点。BCP区3个AT富集区, 分别位于nt1752~1755、nt1758~1762、nt1789~1795, 常见BCP双突变 (A1762T和G1764A双突变) 涉及前-C mRNA (1790 ±) 起始位点上游28 bp的AT富集区 (nt1758~1762), 而前基因组RNA起始点nt1818上游23 bp的AT富集区 (nt1789~1795) 仍然完整, 故BCP双突变不影响前基因组RNA转录和HBcAg表达。Orito等^[9]对50例慢性乙型肝炎B、C基因型患者研究也发现, C基因型在BCP区双突变 (58%) 明显比B基因型 (16%) 多见, 而与HBeAg或HBeAb无关, 多元Logistic回归分析提示BCP区双突变与基因型、年龄≤35岁或严重的进展性肝病有关。Sugauchi等^[10]对90例Bj亚型和177例Ba亚型的乙型肝炎患者进行研究, 发现前者发生BCP变异 (A1762T和G1764A) 的几率要比后者少, 分别为18%、35%和15%、33%, 并提出BCP区变异可能与原发性肝癌 (HCC) 有关。目前认为BCP区双突变可导致3'-端茎环结构变化, 使其稳定性增加, 促进逆转录的发生和病毒复制效率, 从而引起肝病进展; 双突变还使肝细胞核受体结合位点改变为肝细胞核因子HNF1转录因子结合位点, 并使X蛋白发生AA130 Lys→Met和AA131Val→Ile变异, 使前基因组RNA转录及病毒复制增强而致肝病发展, X蛋白可通过反式激活包括原癌基因在内的多种细胞及病毒基因, 与HCC的发生关系密切。

3 HBV基因分型与临床关系

3.1 与疾病谱及预后关系 Mayerat等^[11]研究发现西欧国家乙型肝炎患者主要感染A、D基因型。在慢性活动性肝炎患者中, A基因型占80% (28/35), D基因型仅占11% (4/35), 相反地在急性肝炎患者中D基因型占80% (24/30), A

基因型仅占10% (3/30), 认为A基因型与乙型肝炎慢性化有关, D型与急性肝炎的发生有关。Nakayoshi等^[12]对日本冲绳岛上72例HBeAg阳性的乙型肝炎患者进行随访, 其中B基因型35例, C基因型37例。81.3%的B基因型乙型肝炎患者在随访期间出现HBeAg转阴, 其中61.5%发生在随访的第1、2年, 而C基因型乙型肝炎患者在随访期间HBeAg转阴率只有51.9%, 且在第1、2年出现HBeAg转阴的仅占7.1%。随访期间两者发生肝硬化的几率也不同, B、C基因型分别为11.4%和32.4%, 考虑其原因为HBV B基因型的血清HBeAg转换率要比C基因型高, 发生肝硬化几率比C基因型低, 预后比C基因型好。Kobayashi等^[13]对日本A基因型感染者研究发现, Ae亚型感染多见于ASC、急性肝炎、慢性肝炎及肝硬化患者, 而Aa亚型感染多见于无症状携带者及慢性肝炎患者。

Devarbhavi等^[14]对肝移植患者研究发现, 移植后HBV复制活跃多发生于A基因型, 较少发生于C、D基因型, HBV感染者出现肝脏炎症再发, 多发生于C、D基因型, 而少见A基因型, 认为此种情况有助于肝移植的诊治。

研究还发现HBV基因型与HCC相关。香港Chan等^[15]通过对426例HCC患者进行分析, 证实C基因型可增加患HCC的风险。Orito等^[16]在日本一项研究发现, HBV B基因型HCC患者平均年龄为70岁, C基因型为55岁, 即B基因型患者比C基因型患者发生HCC的时间要迟10年以上。Kao等^[17]在台湾发现与B基因型相比, C基因型在肝硬化及50岁以上的HCC患者中比例较高, 而B基因型与50岁以下, 特别35岁以下的HCC相关, 这与日本研究结果相矛盾。有学者提出可能与两地区不同的基因亚型有关。

日本HBV B基因型的亚型主要为Bj亚型, 而台湾仅发现Ba亚型, Ba亚型在前-C区、C区与C基因型发生重组, 从5'-端nt1740~1838到3'-端nt2443~2485之间共606~746个核苷酸, 重组区前-C区的核苷酸和氨基酸序列与C基因型有高度同源性, 因此Ba基因亚型特性更接近于C基因型。

3.2 与抗病毒疗效关系 目前使用抗病毒药物主要有两类:干扰素与核苷(酸)类似物。国内外已对HBV基因分型与抗病毒疗效相关性做了大量研究。

已有研究认为,HBV基因分型与干扰素疗效密切相关。Wai等^[18]对109例HBeAg阳性的慢性乙型肝炎患者进行IFN- α 治疗后,发现B基因型和治疗前HBV DNA水平与干扰素应答有关,B基因型对于干扰素诱导的HBeAg清除率比C基因型高。Erhardt等^[19]对165例A、D基因型乙型肝炎患者进行普通干扰素治疗,两者对干扰素的持续应答率分别为46%和24%,且在HBeAg阳性和阴性中的比例相近,提出HBeAg状态不影响干扰素治疗效果,HBV基因型对干扰素疗效有重要的预测意义。

研究发现,HBV基因型与长效干扰素疗效也有相关性。Cooksley等^[20]在聚乙二醇化干扰素 α -2a(PEG IFN α -2a)治疗慢性乙型肝炎的II期临床试验中发现,B基因型患者的疗效比C基因型好。然而另一项PGE IFN α -2a治疗慢性B型肝炎的III期国际、大规模、多中心临床试验结果则表明,基因型与疗效之间关系有待进一步证实,基因型A、B、C和D患者的疗效分别为52%、30%、31%和22%,但仍显示出A型对聚乙二醇化干扰素疗效较佳^[21]。Janssen等^[22]在PEG IFN α -2b治疗慢性乙型肝炎的III期国际多中心临床试验中发现:对HBeAg阳性的乙型肝炎患者进行PEG IFN α -2b治疗52周,HBeAg转阴率A基因型为47%,B基因型为44%,C基因型为28%,D基因型为25%,即B基因型患者的疗效比C基因型好,而A基因型患者的疗效比D基因型好。

对于基因型是否影响核苷(酸)类似物疗效目前尚有争议。香港学者Yuen等^[23]用拉米夫定(LAM)治疗82例慢性HBV感染患者(B基因型17例、C基因型64例)发现,在24周及52周时HBV DNA下降的中位数、ALT下降的中位数、ALT复常率以及HBeAg血清转换率在B基因型组及C基因型组差异均无统计学意义,提示乙型肝炎基因型B、

C不影响LAM的抗病毒疗效。日本的一个研究发现A、B、C三种基因型出现LAM耐药的几率没有什么区别,但是在Ba基因亚型出现LAM耐药的几率要比Bj高得多^[24]。

基因型是否影响阿德福韦酯(ADV)抗病毒疗效,目前相关研究报道较少,也没有得出较一致的结论。国外Westland等^[25]报道了ADV治疗CHB的III期临床试验结果,来至亚洲、大洋洲、北欧、地中海国家及北美的694例慢性HBV感染者,包含了A、B、C、D基因型,ADV(每日10 mg)治疗48周后血清HBV DNA下降和HBeAg血清转换率在各基因型中差异均无统计学意义,认为HBV基因型不影响ADV的疗效。但他们并没有考虑到人种因素,因为不同人种的ADV药代动力学可能不同。Buti等^[26]对54例拉米夫定耐药的CHB患者进行研究,其中28例单用ADV治疗,26例为拉米夫定加用ADV治疗,疗程平均30.4个月,发现D基因型是HBeAg转阴的独立预测因素之一。

HBV基因型是病毒为了适应宿主环境、长期变异进化形成的,笔者相信新的基因型和亚型将会不断被发现。至于基因型与亚型的流行病学特点、临床特点及与病毒变异、抗病毒疗效之间存在的相关性,目前部分研究结果还不一致或尚缺少说服力,这可能与样本量不多、入选偏倚等因素有关,有待更全面的研究证实。

参考文献

- [1] Lindh M. HBV genotype G-an odd genotype of unknown origin[J]. J Clin Virol,2005,34:315-316.
- [2] Chen BF, Chen PJ, Jow GM, et al. High prevalence of mixed genotype infections in hepatitis B virus infected intravenous drug users[J]. J Med Virol,2004,74:536-542.
- [3] Kato H, Orito E, Gish RG, et al. Hepatitis B e antigen in sera from individuals infected with hepatitis B virus of genotype G[J]. Hepatology,2002,35:922-929.
- [4] Wang Z, Huang Y, Wen S, et al. Hepatitis B virus genotypes and subgenotypes in China[J]. Hepatol Res,2007,37(S1):S36-41.
- [5] 夏国良, Omana V, 贾志远, 等. 单纯乙型肝炎疫苗免疫后携带者表面抗原氨基酸置换的频率和特征[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2001,15:212-215.
- [6] Lindh M, Andersson AS, Gusdal A. Genotypes, nt1858 variants, and geographic origin of hepatitis B virus-large-scale analysis using a new genotyping method[J]. J Infect Dis,1997,175:1285-1293.

- [7] Chan HL, Tsui SK, Tse CH, et al. Epidemiological and virological characteristics of 2 subgroups of hepatitis B virus genotype C[J]. *J Infect Dis*, 2005, 191: 2022-2032.
- [8] Liu WC, Phiet PH, Chiang TY, et al. Five Subgenotypes of hepatitis B virus genotype B with distinct geographic and virological characteristics[J]. *Virus Res*, 2007, 129: 212-223.
- [9] 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. Japan HBV Genotype Research Group[J]. *Hepatology*, 2001, 33: 218-223.
- [10] Sugauchi F, Orito E, Ichida T. Epidemiologic and virologic Characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with genotype C[J]. *Gastroenterology*, 2003, 124: 925-932.
- [11] Mayerat C, Mantegani A, Frei PC. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection[J]. *J Viral Hepat*, 1999, 6: 299-304.
- [12] Nakayoshi T, Maeshiro T, Nakayoshi T, et al. Difference in prognosis between patients infected with hepatitis B virus with genotype B and those with genotype C in the Okinawa Islands: a prospective study[J]. *J Med Virol*, 2003, 70: 350-354.
- [13] Kobayashi M, Suzuki F, Arase Y, et al. Infection with hepatitis B virus genotype A in Tokyo, Japan during 1976 through 2001[J]. *J Gastroenterol*, 2004, 39: 844-850.
- [14] Devarbhavi HC, Cohen AJ, Patel R, et al. Preliminary results: outcome of liver transplantation for hepatitis B virus varies by hepatitis B virus genotype[J]. *Liver Transpl*, 2002, 8: 550-555.
- [15] Chan HL, Hui AY, Wong ML, et al. Genotype C hepatitis B virus infection is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma[J]. *Gut*, 2004, 53: 1494-1498.
- [16] Orito E, Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Japan[J]. *Intervirology*, 2003, 46: 408-412.
- [17] Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B[J]. *Gastroenterology*, 2000, 118: 554-559.
- [18] Wai CT, Chu CJ, Hussain M, et al. HBV genotype B is associated with better response to interferon therapy in HBeAg (+) chronic hepatitis than genotype C[J]. *Hepatology*, 2002, 36: 1425-1430.
- [19] Erhardt A, Blondin D, Hauck K, et al. Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D[J]. *Gut*, 2005, 54: 1009-1013.
- [20] Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, et al. Peginterferon alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B[J]. *J Viral Hepat*, 2003, 10: 298-305.
- [21] Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX, et al. Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352: 2682-2695.
- [22] Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, et al. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomized trial[J]. *Lancet*, 2005, 365: 123-129.
- [23] Yuen MF, Wong DK, Sablon E, et al. Hepatitis B virus genotypes B and C do not affect the antiviral response to lamivudine[J]. *Antivir Ther*, 2003, 8: 531-534.
- [24] Akuta N, Suzuki F, Kobayashi M, et al. The influence of hepatitis B virus genotype on the development of lamivudine resistance during long-term treatment[J]. *J Hepatol*, 2003, 38: 315-321.
- [25] Westland C, Delaney W 4th, Yang H, et al. Hepatitis B virus genotypes and virologic response in 694 patients in phase III studies of adefovir dipivoxil[J]. *Gastroenterology*, 2003, 125: 107-116.
- [26] Buti M, Elefsiniotis I, Jardi R, et al. Viral genotype and baseline load predict the response to adefovir treatment in lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients[J]. *J Hepatol*, 2007, 47: 366-372.

收稿日期: 2009-03-03