

乙型病毒性肝炎 预防与控制

PREVENTION AND CONTROL
OF
VIRUS B HEPATITIS

● 主编 苏成豪 牛建军



郑州大学出版社

乙型病毒性肝炎 预防与控制

● 主编 苏成豪 牛建宏

**PREVENTION AND CONTROL
OF
VIRUS B HEPATITIS**

 郑州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

乙型病毒性肝炎预防与控制/苏成豪,牛建军主编.
—郑州:郑州大学出版社,2009.3
ISBN 978-7-81106-926-6

I. 乙… II. ①苏…②牛… III. 乙型肝炎-防治 IV. R512.6
中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 133598 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人:邓世平

全国新华书店经销

新乡市凤泉印务有限公司印制

开本:787 mm × 1 092 mm

印张:16.5

字数:393 千字

版次:2009 年 3 月第 1 版

邮政编码:450052

发行部电话:0371-66966070

1/16

印次:2009 年 3 月第 1 次印刷

书号:ISBN 978-7-81106-926-6

定价:45.00 元

本书如有印装质量问题,由本社负责调换

序

乙型病毒性肝炎在世界范围的流行,给人类社会带来了巨大的灾难。全球 60 亿人口中,约 20 亿人曾感染乙型肝炎病毒(HBV),其中 3.5 亿~4 亿人为慢性 HBV 感染,全球每年约 100 万人死于与 HBV 感染相关的肝病。乙型病毒性肝炎是 21 世纪影响人类社会和经济发展的重要难题之一。

中国是乙型病毒性肝炎的地方性高流行区,约有 9 300 万人是乙肝病毒的携带者,有近 2 000 万的慢性乙型病毒性肝炎病例,每年有数十万例的肝病患者死亡,与这些庞大的数字相关联的是数百万家庭沉重的医疗费用和经济负担,数千万人的就业、婚姻和生活压力。乙型病毒性肝炎是现阶段中国最为突出的公共卫生问题之一,也是不容忽视的社会问题之一。

在与乙型病毒性肝炎作斗争的实践中,人类已经摸索出预防控制该病的有效策略和措施。控制乙型病毒性肝炎流行,要依靠党和政府的领导,依靠广大人民群众,依靠科学技术。我国各级政府高度重视乙型病毒性肝炎防治工作,将其作为关系经济发展、社会稳定的问题纳入国民经济与社会发展规划,做出了一系列重大决策和部署,为我国控制乙型病毒性肝炎提供了政策和经费保障。

充分了解乙型病毒性肝炎的流行规律和有效防治措施,是科学决策和开展科学防治的基础。从新生儿乙型病毒性肝炎疫苗的接种,到乙型病毒性肝炎患者的随访治疗;从乙肝病毒携带者的婚姻、就业问题,到晚期肝病患者的人文关怀,每一个环节,都包含了丰富的自然科学和社会科学的内容。随着医学科学的快速发展,乙型病毒性肝炎防治理论和实践日新月异,开展乙型病毒性肝炎防治工作,需要不断更新专业知识,提高实践技能。

《乙型病毒性肝炎预防与控制》一书正是针对乙型病毒性肝炎防治领域的专业医务工作者的实际需求而组织编写的。本书吸收了乙型病毒性肝炎基础、临床、流行病学、免疫预防的最新研究进展,系统论述了乙型病毒性肝炎预防与控制的基础理论和实践技能。参加编写的人员有基础理论知识扎实、具有丰富实践经验的专家,也有活跃在乙型病毒性肝炎防治一线的中青年专业技术骨干。全书内容丰富,取材严谨,可读性强,突出了乙型病毒性肝炎防治工作中的实际应用需要,是一部学术水平较高的专著,对从事疾控、临床和科研的专业工作者具有重要的参考价值。

我相信,本书的出版将受到广大公共卫生工作者和医务人员的欢迎,并能为推动我国乙型病毒性肝炎防治工作做出新的贡献。

中华人民共和国卫生部疾病预防控制局

齐小秋

2008 年 12 月

前言

乙型病毒性肝炎(简称乙肝)是当前我国流行最广泛、危害最严重的传染病之一。最新调查显示中国约有9 300万人携带乙肝病毒,其中慢性乙肝患者约2 000万例以上,每年约有35万人死于乙肝相关疾病,对社会稳定和经济发展的影响不容忽视。国务院已将乙肝防治纳入国民经济与社会发展规划,卫生部也将其纳入重点控制的疾病之一。

然而,与乙肝严峻的流行形势和日益得到重视的局面不相称的是,目前国内有关乙肝的学术专著却不多见,或是大部头著作里一个简单的篇章,或是治疗、保健、科普的小册子,很难满足专业医务工作者和知识层次较高读者的需求。编者在各种学术会议与同行交流中,对此颇有同感。因此萌生了编写一本能够反映当前乙型病毒性肝炎防治理论与实践新进展、对同道和读者有所裨益的参考书的想法。

编者在实际工作中曾遇到从事乙肝临床诊疗工作数十年的老专家,对于乙肝疫苗的免疫程序和加强接种问题却不甚了了,而资深的疾控医师对于携带乙肝病毒的孕妇是否使用乙肝免疫球蛋白的咨询不知其然的情形。医学科学的发展,越来越需要对一种疾病有更深入,更广泛的认识。临床医师多了解一些乙型病毒性肝炎基础、防控等方面的经验和进展,视野将更宽广,诊疗思维将更活跃;疾控医师多掌握一些乙型病毒性肝炎病原学和发病机制的知识,多了解乙型病毒性肝炎自然史和诊疗进展,知其然,知其所以然,防控和科研工作将更加得心应手。对于关心乙型病毒性肝炎防治研究进展的普通读者,了解最新的乙型病毒性肝炎专业知识,不仅可以避免虚假广告和不实宣传的误导,也有助于走出误区,正确认识乙型病毒性肝炎,善待自己 and 他人。希望本书的出版能够为推进我国乙型病毒性肝炎防治工作尽一点微薄之力。

在信息技术高度发展的今天,我们不乏信息资料的渠道和来源,但面对大量扑面而来的信息,我们却需要花费同样大量的时间和精力去鉴别、求证和吸取,因此如何能让读者开卷有益是编者贯穿始终的宗旨和追求。为反映相关领域的研究进展,本书汇总收集了国内外最新的文献资料,同时坚持循证医学的选材原则,注意避免经验主义的一家之言。

由于经验有限,时间仓促,疏漏和不足之处在所难免,恳请广大读者不吝指教,以便今后修订完善。

编者

2008年11月

目 录

第一章 基础篇	1
第一节 乙型病毒性肝炎的病原学	1
一、HBV 的发现	1
二、HBV 形态结构与理化特征	2
三、HBV 基因结构及功能	3
四、HBV 基因型	4
五、HBV 抗原抗体系统	8
六、HBV 复制	11
七、HBV 的变异	12
八、HBV 感染模型和动物模型	18
第二节 发病机制	25
一、HBV 感染肝细胞及肝外细胞的机制	25
二、病毒复制与肝病变程度的关系	25
三、肝细胞病理损害的机制	28
四、影响感染发展的因素	29
五、各型乙型病毒性肝炎免疫发病机制	32
第二章 临床篇	35
第一节 乙型病毒性肝炎的自然史	35
一、急性 HBV 感染	36
二、慢性无症状 HBV 携带	36
三、慢性乙型病毒性肝炎	37

四、非活动性 HBsAg 携带状态与 HBsAg 清除	40
五、肝硬化和 HCC 的发生及其预后	40
六、抗病毒治疗对乙型病毒性肝炎自然史的影响	42
第二节 乙型病毒性肝炎的临床表现	42
一、急性乙型病毒性肝炎	42
二、慢性乙型病毒性肝炎	42
三、重型乙型病毒性肝炎	44
四、淤胆型肝炎	45
五、妊娠期乙型病毒性肝炎	45
六、老年期乙型病毒性肝炎	45
七、无症状慢性 HBsAg 携带者	45
八、并发症与相关疾病	45
第三节 乙型病毒性肝炎的实验室诊断	47
一、乙型病毒性肝炎血清学标志物检测	47
二、HBV - DNA 基因型的检测	51
三、生化检查	52
四、影像学检查	53
五、病理学诊断	54
第四节 乙型病毒性肝炎的诊断	56
一、《乙型病毒性肝炎诊断标准及处理原则》(GB15990 - 1995) ...	56
二、《全国病毒性肝炎防治方案》	67
三、《慢性乙型病毒性肝炎防治指南》诊断标准	73
第五节 乙型病毒性肝炎的治疗	75
一、乙型病毒性肝炎分型治疗原则	75
二、乙型病毒性肝炎的综合治疗	75
第三章 流行篇	85
第一节 乙型病毒性肝炎流行概况	85
一、全球乙型病毒性肝炎流行情况	85
二、中国乙型病毒性肝炎流行变化趋势	86
三、中国人群乙型病毒性肝炎报告发病情况	89
四、乙型病毒性肝炎患病率调查情况	90
五、免疫时代乙型病毒性肝炎流行特征	90
第二节 乙型病毒性肝炎流行病学	92
一、流行史	92
二、流行病学	92
三、乙型病毒性肝炎流行病学特征	99
四、中国乙型病毒性肝炎流行特征的新特点	101

第三节 乙型病毒性肝炎疾病负担	102
一、早期评价方法和指标	103
二、乙型病毒性肝炎及其相关疾病的经济负担评价	103
三、乙型病毒性肝炎及其相关疾病负担评价中存在的问题	105
第四节 乙型病毒性肝炎相关疾病流行趋势	106
一、肝癌死亡率的变化趋势	106
二、肝癌的流行特征	107
第四章 免疫预防篇	109
第一节 乙型病毒性肝炎疫苗研究与发展	109
第二节 乙型病毒性肝炎疫苗免疫效果与评价	112
一、不同人群疫苗保护效果	112
二、母婴阻断效果	114
三、免疫效果的影响因素	116
四、免疫持久性与加强免疫	120
五、乙型病毒性肝炎疫苗免疫后的无应答和低应答反应	122
第三节 乙型病毒性肝炎疫苗免疫策略与接种方案	123
一、免疫策略	123
二、接种方案	125
第四节 乙型病毒性肝炎疫苗接种反应及处置	127
一、乙型病毒性肝炎疫苗接种反应	127
二、乙型病毒性肝炎疫苗预防接种不良反应及处置案例与分析	133
第五节 治疗性疫苗	139
一、治疗性疫苗的特点	140
二、主要的治疗性疫苗	140
三、治疗性疫苗的问题和展望	142
第六节 乙型病毒性肝炎免疫球蛋白	142
一、暴露前预防	142
二、暴露后预防	143
三、阻断母婴围生期传播	143
四、HBIG 在肝移植中的应用	146
五、HBIG 使用的副作用	146
第七节 乙型病毒性肝炎疫苗研究进展	147
一、DNA 疫苗的研究	147
二、口服疫苗的研究	151
三、联合疫苗的研究	151

第五章 控制篇	153
第一节 乙型病毒性肝炎预防控制概述	153
一、乙型病毒性肝炎预防控制的目标和工作指标	154
二、乙型病毒性肝炎的三级预防	154
三、乙型病毒性肝炎预防控制措施	156
四、乙型病毒性肝炎的预防控制工作要点	158
第二节 乙型病毒性肝炎疫情报告	159
一、发现病人并报告登记	159
二、乙型病毒性肝炎漏报调查	165
三、乙型病毒性肝炎诊断、报告中存在的问题	168
四、对策及建议	169
第三节 乙型病毒性肝炎监测	169
一、社会经济基本信息的收集	170
二、乙型病毒性肝炎危险因素的监测	174
三、人群乙型病毒性肝炎感染率、HBsAg 携带率及抗体水平的 监测	178
第四节 乙型病毒性肝炎疫情调查与处置	181
一、病例调查	181
二、查找密切接触者	184
三、保护易感人群	186
第五节 乙型病毒性肝炎传染源的管理	189
一、传染源管理要求	189
二、传染源的管理工作规范	193
第六节 乙型病毒性肝炎疫源地消毒	195
一、疫源地消毒基本要求	195
二、疫源地消毒技术要求	196
三、乙型病毒性肝炎病毒消毒方法	198
四、常用液体化学消毒剂使用规范	200
第七节 乙型病毒性肝炎疫苗预防接种	210
一、概述	210
二、免疫程序及疫苗使用管理	211
三、接种的组织与实施	212
四、预防接种安全注射	214
五、诊断、监测与控制	215
六、统计、报告、督导与考核评价	215
第八节 乙型病毒性肝炎健康教育与行为干预	220
一、概述	220
二、如何科学开展健康教育和行为干预	226

三、如何具体实施宣传教育	227
四、行为干预三部曲	233
附 乙型病毒性肝炎健康教育工作规范	235
一、组织大型宣传活动和媒体健康宣传教育	235
二、健康教育督导	239
三、乙型病毒性肝炎健康教育培训	241
参考文献	246

第一章 基础篇 ■

第一节 乙型病毒性肝炎的病原学

一、HBV 的发现

1908 ~ 1944 年期间,许多学者通过对“志愿者”的研究,确定肝炎最可能的病原是病毒。1947 年,MacCallom 正式称血清性肝炎为乙型病毒性肝炎(简称乙肝)。1963 年,美国医生 Blumberg 首先在澳大利亚土著人血清中发现一种新抗原,称为澳大利亚抗原(Australia antigen)。直至 1968 年才确定这种抗原与血清型肝炎密切相关,称为肝炎相关性抗原(hepatitis associated antigen, HAA)。1970 年,DS Dane 在肝炎患者血清中发现乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)颗粒,即 Dane 颗粒(Dane particle)。1974 年,Summers 等利用限制酶切技术,对 HBV 基因组做了详细的限制酶谱分析。同时 Robinson 和 Breeman 阐明了病毒的分子结构。1978 年以来,利用脱氧核糖核酸(DNA)重组技术对 HBV 的主要亚型克隆成功。1982 年了解了嗜肝 DNA 病毒复制需要经过其独特的核糖核酸(RNA)中间体。至此,HBV 的基因结构、编码蛋白、合成途径及其装配分泌等问题均已基本阐明。1983 年将 HBV 以及与其分子结构、生物学特性相似的土拨鼠肝炎病毒(woodchuck hepatitis virus, WHV)、地松鼠肝炎病毒(ground squirrel hepatitis virus, GSHV)及鸭肝炎病毒(duck hepatitis virus, DHV)同归为嗜肝 DNA 病毒科。

二、HBV 形态结构与理化特征

(一) HBV 形态结构

在感染者血清中用电镜观察可见 3 种不同形态的 HBV 颗粒,即大球形颗粒、小球形颗粒和管形颗粒。

1. 大球形颗粒 (large spherical particle) 亦称 Dane 颗粒,在患者血清中的浓度为 $10^4 \sim 10^9/\text{ml}$,是具有感染性的完整成熟的 HBV,呈球形,直径 42 nm。病毒外层有 7 nm 厚的包膜,由来源于宿主细胞的脂质双层与病毒编码的包膜蛋白组成。包膜蛋白由乙型病毒性肝炎病毒表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg)、前 S1 抗原 (PreS1Ag) 和前 S2 抗原 (PreS2Ag) 共同组成。内层为电子密度较大的病毒核心 (核衣壳) 结构,呈 20 面体立体对称,直径约 27 nm。其表面为乙型病毒性肝炎病毒核心抗原 (hepatitis B core antigen, HBcAg), HBcAg 仅位于 Dane 颗粒内层的核衣壳表面和感染的肝细胞中,一般在血液循环中检测不到,但肝组织活检时可检测到。用强去垢剂或酶处理 HBV 能暴露出乙型病毒性肝炎 e 抗原 (hepatitis B e antigen, HBeAg)。实际上 HBeAg 是由感染的肝细胞分泌至血清中的一种可溶性抗原,不是病毒的结构成分。HBV 核心内部 (core) 含有双股不完全环状的 DNA 基因组和 DNA 多聚酶。

2. 小球形颗粒 (small spherical particle) 直径 22 nm,主要为 HBsAg,一般很少含 PreS1Ag 和 PreS2Ag,不含 HBV-DNA 和 DNA 多聚酶,为患者血清中最常见的形态,颗粒数约为 $10^{13}/\text{ml}$ 。

3. 管形颗粒 (tubular particle) 直径为 22 nm,长为 50 ~ 500 nm,是由小球形颗粒“串联”而成,不含病毒核酸。

小球形颗粒和管形颗粒均不是完整的 HBV 颗粒,为 HBV 过剩的衣壳蛋白,无传染性。

(二) HBV 理化特征

嗜肝 DNA 病毒有较强的抵抗力,对热、低温、干燥、紫外线和一般消毒浓度的化学消毒剂,均能耐受。

对物理因素的耐受性:在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 稳定,活性可保存 20 年;在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 可存活 7 天;在 $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 尚可维持 6 h。反复冻融 20 ~ 40 次,抗原性很少改变。

用 ^{60}Co 的 γ 射线照射, $(8.4 \sim 12.6) \times 10^4 \text{ Gy}$ 的剂量可使病毒完全变性。

HBV 在细胞外有很强的存活能力,因而有很强的传播活性。

对消毒剂的耐受性:嗜肝 DNA 病毒对很多消毒剂不敏感,但对 0.5% 过氧乙酸、3% 漂白粉液和 0.2% 新洁尔灭敏感。

经腐败或以酸、碱处理,抗原性多不变。

这一病毒对去污剂和蛋白酶敏感。在经胆汁由粪便排泄时,在肠道中可被灭活。

HBV 的传染性与 HBsAg 的抗原性,在对外界的抵抗力方面并非一致。如 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min,可使 HBV 传染性消失,而仍保留表面抗原活性。

三、HBV 基因结构及功能

尽管 HBV 只是 3.2 kb 的很小基因组,而且只能通过人—人间传播,但却能给人类沉重的打击:全球有 3.5 亿~4 亿人感染 HBV,每年约有 100 万人死于与 HBV 感染相关的肝病。其杀伤力怎么这样大,重要的原因之一是其精干的基因组结构。

HBV 基因组是高效结构:HBV 是已知真核细胞中最小的 DNA 病毒,但其结构紧密、功能齐全。①HBV 基因组的 67% 是重叠的开放读码框(open reading frame, ORF),整体基因组可读 1.5 次,同一序列可参与编码多个基因产物。②调节序列都埋在基因序列中。③一般病毒的基因含外显子(exon)和内含子(intron),由基因转录为 mRNA 须剪除插入部分,经多次拼接才形成成熟的 mRNA;HBV - DNA 全基因组无内含子,全是能编码表达的序列。④1 个 ORF(如 C - ORF)可转录 2 种 mRNA(如 pgRNA 和 c - mRNA);1 种 mRNA(如 2.1 kb mRNA)可编码 2 种蛋白(外膜中蛋白和主蛋白)。⑤基因组的一些区段同时能参与二级结构的相互作用。

(一) S 基因区

S 基因区全长 1 167 bp,由 S 基因、前 S1 基因及前 S2 基因组成。S 基因(678 bp)编码含 226 个氨基酸的多肽,称为 S 蛋白、小表面抗原(SHBsAg)或主蛋白;前 S2 基因(165 bp)编码含 55 个氨基酸的多肽,称为前 S2 蛋白;前 S1 基因(324 bp)编码含 108 个氨基酸的多肽,称为前 S1 蛋白。前 S2 基因和 S 基因连续编码的多肽(含前 S2 蛋白和 S 蛋白)称为中表面蛋白(MHBsAg)或中蛋白;前 S1 基因、前 S2 基因和 S 基因连续编码的多肽(含前 S1 蛋白、前 S2 蛋白和 S 蛋白)称为大表面抗原(LHBsAg)或大蛋白。鉴于主蛋白、中蛋白及大蛋白的称呼不能反映其含义,又易相互混淆,故目前已倾向于以 SHBsAg、MHBsAg 及 LHBsAg 分别取代之。S 基因区上述各段编码产物均属于 HBV 包膜蛋白(HBsAg)的范畴。

HBV 复制时 HBsAg 可出现于受感染肝细胞浆、肝细胞膜和血液循环中。HBsAg 如半年内不消失,则称为慢性 HBsAg 携带者。HBsAg 还存在于许多体液和分泌物中,如唾液、乳汁及精液等。由于 HBsAg 与 Dane 颗粒常同时存在,此时可被认为是传染性标志之一。但要注意,HBV - DNA 可自 X 基因区终点起逆向发生整合,整合入肝细胞 DNA 中片段,主要是 X 基因和 S 基因。肝细胞 DNA 复制时,其内的 X 基因表达较弱,S 基因表达较强,故不断产生 HBsAg。结果,在这种特定情况下,即使 HBV 复制停止或从体内完全清除,血清 HBsAg 仍可长期阳性。

HBV 包膜蛋白中前 S1 蛋白和前 S2 蛋白与 HBV 侵犯肝细胞有关,血清前 S1 蛋白及前 S2 蛋白出现较早,是传染性标志。MHBsAg 含前 S2 蛋白,LHBsAg 含前 S1 蛋白和前 S2 蛋白,其血清阳性亦提示有传染性。

急性 HBV 感染患者血清 HBsAg 转阴与其特异性抗体——抗 - HBs 转阳之间相隔数周时间,血清中既测不出 HBsAg,也测不出抗 - HBs,称为“空白期”。此期 HBsAg 和抗 - HBs 实际以免疫复合物形式存在于血液循环内。抗 - HBs 为保护性抗体,是 HBV 感染终止及有免疫力的标志。血清前 S1 蛋白和前 S2 蛋白特异性抗体——抗 - 前 S1 和抗 - 前

S2, 出现时间比抗-HBs早,也是HBV复制减弱或将被清除的标志。

(二) C 基因区

C 基因区全长 636 bp,由前 C 基因和 C 基因组成。前 C 基因编码的多肽,称为功能性信号肽(functional signal peptide)。C 基因(549 bp)编码含 183 个氨基酸的多肽,称为核心蛋白(即 HBcAg)。如果从前 C 基因起始密码子启动前 C 基因和 C 基因连续编码,则产生前核心/核心前体蛋白(precore/core precursor protein),或称乙型病毒性肝炎 e 抗原(HBeAg)前体蛋白。功能性信号肽将 HBeAg 前体蛋白引导至肝细胞内质网膜,其氨基端和羧基端被部分削减,即形成 HBeAg。

HBV 复制时 HBcAg 表达于肝细胞内,分胞核型、胞浆型和胞膜型。血清中检测不出游离 HBcAg。其特异性抗体称为抗-HBc。血清抗-HBc 动态变化。高滴度抗-HBc-IgM 阳性间接表示 HBV 复制,是传染性标志,抗-HBc-IgG 阳性表示既往感染。

HBV 复制时 HBeAg 在肝细胞的分布有胞浆型和胞膜型。HBeAg 阳性表示 HBV 复制活跃,是传染性强的标志。抗-HBe 阳性如系抗病毒治疗或机体产生了对 HBV 的免疫清除作用,表示 HBV 复制减弱,传染性降低;如系前 C 基因变异所致,则仍常见 HBV 复制,并有传染性。

(三) P 基因区

P 基因区全长 2 496 bp,编码含 832 个氨基酸的多肽,称为 HBV-DNA 多聚酶。此酶为 HBV-DNA 生物合成所必需。HBV-DNA 多聚酶具有 DNA 指导的 DNA 多聚酶(DNA-dependent polymerase, DDDP), RNA 指导的 DNA 多聚酶(RNA-dependent polymerase, RDDP)(系逆转录酶)和 RNA 酶 H 活性,血清 HBV-DNA 多聚酶阳性是 HBV 复制和传染性的标志。

(四) X 基因区

X 基因区全长 462 bp,编码含 154 个氨基酸的多肽,称为乙型病毒性肝炎 x 抗原(HBxAg)。HBV 复制时 HBxAg 在肝细胞的分布与 HBcAg 相似。血清 HBxAg 也是 HBV 复制和有传染性的标志。血清 HBxAg 及其特异性抗体——抗-HBx 动态变化和 HBeAg 及抗-HBe 大体一致。HBxAg 有反式激活(trans-activation)功能。可激活肝细胞基因组内的原癌基因(oncogene),促使肝细胞癌变,故与原发性肝癌的发生有关。血清抗-HBx 阳性一般提示 HBV 复制减弱,但 HBeAg 阳性的慢性肝炎、肝硬化和原发性肝癌患者血清中也常检出抗-HBx。

HBV-DNA 负链全长 3 281 bp,而 4 个主要 ORF 相加总长为 4 734 bp,所以各 ORF 必须重叠,以反复利用长度有限的基因组。

四、HBV 基因型

HBV 是目前已知动物 DNA 病毒基因组中最小的一个,该基因组的特点是具有重叠的基因序列,故结构经济、组织高效,能用不长的基因组来编码多种蛋白质。HBV 基因组结构是一不完全闭合的 DNA 双链,大约 3 200 个碱基对(basepairs, bp),其负链至少有 4

个开放读码框(ORF),它们分别是S、C、P和X读码区。S-ORF分为S基因、前S2和前S1区,各有其启动子ATG,分别编码HBsAg、前S1和前S2蛋白。HBV基因结构有两大显著特点:一是所有调控序列均位于蛋白编码区内,所以,一个调控子的变异往往会影响除该基因外的其他基因的表达;二是HBV的复制类似RNA病毒,以mRNA为中间体进行逆转录,这一过程由于缺乏校对机制而容易发生配对错误,从而产生病毒变异,表现为基因序列的多变性。这一特点不仅在HBV分子生物学研究上有重要意义,而且在研究HBV感染与免疫以及预防和治疗上也都有重要的意义。

(一)HBV基因型定义

基因型是指根据不同个体基因序列之间的规律性差异而分成的不同类型,它用来描述基因本身的特征。基因型分析可鉴定个体或病毒株之间的差异。以往,根据HBV外膜主蛋白第122~134位氨基酸(d/y决定簇,也称决定基)、第139~147位氨基酸(a决定簇)以及第159~160位氨基酸(w/r决定簇)的变化,将HBV毒株分为4个主要血清亚型:adw、adr、ayw和ayr,这些亚型还可进一步细分为9种血清亚型(ayw1、ayw2、ayw3、ayw4、ayr、adw2、adw4、adrq+、adrq-)。然而由于基因序列的单个核酸的变化即可能改变血清亚型,故血清亚型并不能反映基因的差异。根据HBV全基因序列异质性 $\geq 8\%$ 的界线,可将其分为不同的基因型。不同的血清型可属于同一基因型,而同一血清型又可分布于不同基因型中。通过对HBV进行全序列分析发现,在不同基因型之间S区段异质性最大,而型内S区段的异质性最小,从而可以以S区段序列异质性 $\geq 4\%$ 为界线,用S区代替全序列进行基因分型。目前,已鉴定的HBV基因型有A~H共8种。在此基础上,发展了一系列简单、准确的分型方法,并发现基因型还可细分为不同的基因亚型。如基因型A有A1和A2两个亚型,基因型B和C各有4个亚型(B1~B4、C1~C4),基因型D有7个亚型(D1~D7),F型有F1和F2两个亚型等。这些基因型及其亚型的发现,推动了HBV基因型的流行病学及临床相关研究。

(二)HBV基因型的分布

HBV基因型的分布具有明显的地理学特点,大体上如下:基因型A主要流行于欧洲北部、西部和中非;基因型B和C主要分布在亚洲东部和南部以及远东地区;基因型D的分布最为广泛,在全球各地均有发现,但主要分布于地中海地区和印度,是该地区的优势基因型;基因型E仅限于非洲撒哈拉沙漠地带;基因型F则分布在美国的土著人口中;基因型G见于法国和美国;新鉴定的基因型H在拉丁美洲发现较多(表1-1)。但是这些资料并不全面。例如,早期有研究指出A型是美国的主要流行株,而2002年的研究发现A、B、C型都是流行株,只是基因型A更多见于美国的白人和黑人,B、C型则是亚裔美国人的主要病毒株。这提示人口流动将会影响HBV基因型的分布。

我国是HBV地方性高流行区,但还没有大规模地对HBV基因型进行测定。目前我国发现的基因型主要有A、B、C、D四型,其中B和C是优势基因型,D型主要见于部分少数民族,另外还有一定比例的混合基因型。对全国9个地区共1096份血清的一项调查研究显示,我国大陆HBV基因型的分布在各地区间也存在明显的差异。总体上来说,以长江为界,长江以北地区基因型C占绝大部分,比例达81.6%;长江以南地区则以基因型

B 为主,约占 55%;基因型 C 在全国各地均有流行,是我国流行最广泛的基因型;基因型 B 在北方某些地区(如山东,C 基因型占 90%)未有发现;基因型 A 只见于少数地区,比例相对较小;基因型 D 在我国主要分布于少数民族较多的地区,并且占了较大的比例。另一项研究对 B 和 C 基因型的亚型进行了探索,发现所有的 115 名 B 基因型患者均为 Ba (B1)亚型,未发现 Bj(B2)亚型;而 470 名 C 基因型患者中以 C2 亚型为主(90%),其中北方地区以 C2 亚型占绝大多数(90.32%),部分南方地区(江苏和上海)也以 C2 亚型为主;广州地区则以 C1 型为主。这种地理分布与 B、C 基因型的分布十分相似(图 1-1)。

表 1-1 全球 HBV 基因型和血清型的对应分布和地理分布

基因型	血清亚型	地理分布
A	<i>adw2, ayw1</i>	西欧、北欧、北美、中非
B	<i>adw2, ayw1</i>	中国、日本、印度尼西亚、越南
C	<i>adw2, adrq +, adrq -, ayr</i>	中国、韩国、日本、波利尼西亚、越南
D	<i>ayw2, ayw3</i>	地中海地区、印度
E	<i>ayw4</i>	西非
F	<i>adw4, adw2, ayw4</i>	中南美洲、波利尼西亚
G	<i>adw2</i>	法国、美国
H	<i>adw4</i>	尼加拉瓜、墨西哥、美国

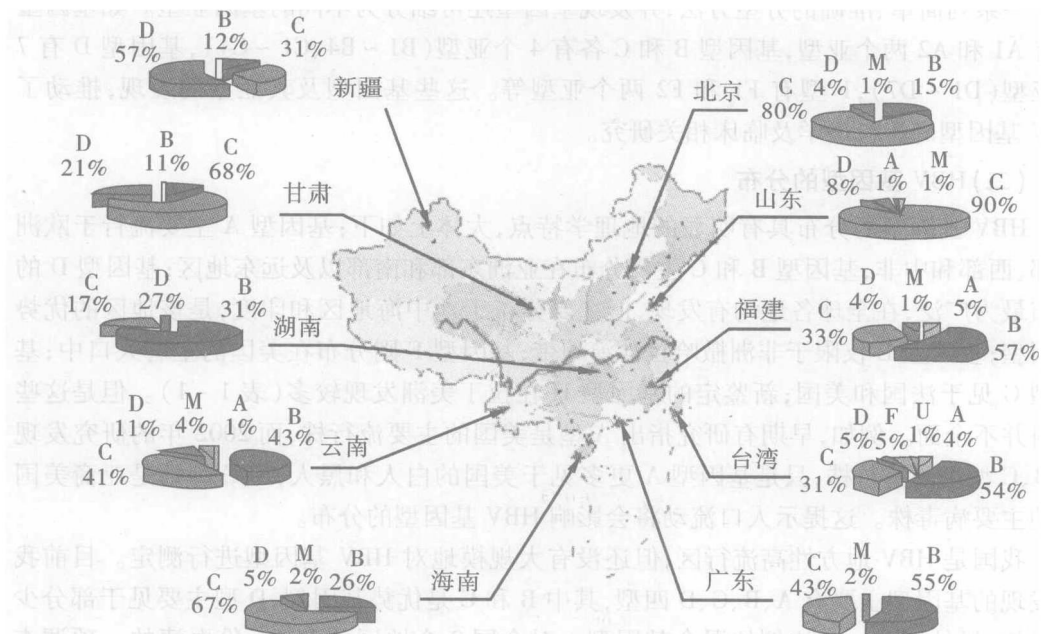


图 1-1 中国 HBV 感染者的基因型不同地理分布(N=1 096)

注:A 为基因型 A,B 为基因型 B,C 为基因型 C,D 为基因型 D,M 为混合型感染,U 为未分型

(三) 基因型与 HBeAg 血清转换的关系

血清中的 HBeAg 是 HBV 复制和具有传染性的标志物。在 HBV 持续感染期间,携带者的 HBeAg 转换为抗体(抗-HBe),这一过程被称为 HBeAg 血清转换。HBeAg 血清转换对于 HBV 和宿主双方都有重要的意义,通常 HBV 的复制在 HBeAg 携带者中比在抗-HBe 携带者中活跃;并且 HBeAg 的血清转换状态与 HBV 感染后多样化的临床表现有显著的相关性。

一些对亚洲 HBV 感染者的研究发现,感染 HBV 基因型 B 的患者其 HBeAg 血清自然转阴率要高于感染基因型 C 的患者。这个现象最初于 2000 年由一个台湾研究所报道,并于 2004 年被一项以 146 例 HBeAg 阳性为研究对象随访 52 个月的研究所证实。在该项观察中,基因型 C 的感染者较基因型 B 者 HBeAg 血清自然转阴率低(27%:47%),且发生转换的时间要晚 10 年。中国台湾和内地以及日本学者均得出类似结论。这提示 C 基因型 HBV 复制较 B 基因型活跃,易形成持续的病毒血症而不易发生 HBeAg 的血清学转换。同时,C 基因型 HBV 血清中 HBV-DNA 水平高于 B 基因型。

国外有一项研究比较了基因型 A 与基因型 D 之间的差异。该研究发现基因型 A 患者较基因型 D 患者有更高的生物化学改善及 HBV-DNA 清除率。另外,该研究还首次发现基因型 A 患者较基因型 D 者有更高的 HBsAg 转阴率。尽管抗-HBe 的出现率与基因型 A 或 D 并无明显关联,但在发生血清学转换后持续改善方面,基因型 A 仍然优于基因型 D。

(四) 基因型的临床意义

不同的 HBV 基因型可能具有不同的感染后疾病谱,从几乎无临床表现的轻症患者到肝硬化甚至肝细胞癌(HCC),但相关研究的结论并不统一。如一项在瑞典的研究提出 HBV 基因型 A 与慢性活动性肝炎相关,而 D 型与急性自限性肝炎有关。但在同样是以 A、D 两型流行为主的印度,D 型却比 A 型更易致重症肝病和更易引发 HCC。大部分的研究表明,D 型病毒的致病能力似乎比 A 型更强,但仍然需要进一步的多方面合作研究加以明确。

我国以 B、C 基因型为主,因此探讨这 2 个型别的病毒与临床的关系尤为重要。近年的多个报道指出:C 型病毒感染相对 B 型病毒感染与重症肝病及 HCC 发生的关系更密切。在亚洲,C 型比 B 型更容易诱导与肝硬化及 HCC 等相关疾病的发生。C 型病毒普遍存在于肝硬化的病人中,对比坏死性炎症的分级和纤维化的分期,C 型感染者的积分都比 B 型的高。大多数研究报道感染 B 型病毒的患者发展为 HCC 的可能性更低且年龄更大。然而也有不同报道,在台湾,感染 B 型病毒的病人比 C 型更早发生 HCC,但是在 <35 岁的 B 型病毒感染的 HCC 患者中,78% 并不发生肝硬化,提示 B 型病毒感染可能通过某种不经肝硬化阶段的机制而直接或间接导致 HCC。

不同基因型对抗病毒治疗药物的反应也存在着相当大的差异。对欧洲 16 个试验中心进行干扰素治疗的 103 名病例进行研究,发现对干扰素的应答率是:A 基因型为 33%,D 基因型为 11%,其他型为 9%;另一项来自台湾的研究中,发现对干扰素治疗的应答率,B 基因型组为 41%,C 基因型组为 15%,差异有统计学意义。有人研究乙型病毒性肝炎