

河北地区丙肝感染患者丙型肝炎病毒基因型分布特征

李雅静¹, 王戌刚², 董倩倩¹, 秦永亮¹, 王鑫¹

(1. 河北医科大学第二医院检验科, 石家庄 050000; 2. 河北医科大学第一医院心脏大血管外科, 石家庄 050000)

摘要: 目的 了解河北地区丙肝感染患者丙型肝炎病毒(HCV)基因型分布情况、感染途径、基因亚型与性别、年龄的关系, 并与其他省份的HCV基因型分布模式进行比较。方法 收集284例HCV感染患者血清样本, 对其进行HCV-RNA定量检测和HCV基因分型检测。结果 在284例临床样本中共检测出4种基因型(1~3和6)和5种亚型, 分别是1b型($n=191$, 67.25%)、2a型($n=90$, 31.69%)、3a型($n=1$, 0.35%)、3b型($n=1$, 0.35%)和6a型($n=1$, 0.35%), 未发现亚型混合感染。结论 河北地区HCV感染基因型以1b型为主, 其次为2a型。HCV感染率随年龄的变化呈现不同的变化, 50~59岁年龄组的感染者人数最多, 且女性感染者的数量显著高于男性($P<0.05$)。经文献比较发现, 河北省虽然地处华北地区, 但其HCV基因型分布模式与中国东北地区相似。

关键词: 丙型肝炎病毒; 基因分型; 河北地区

中图分类号: R512.63; Q786 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2020)06-087-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.06.021

HCV Genotype and Subtype Distribution of Patients with Chronic Hepatitis C in Hebei Area

LI Ya-jing¹, WANG Xu-gang², DONG Qian-qian¹, QIN Yong-liang¹, WANG Xin¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China;

2. Department of Cardiac Surgery, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

Abstract: Objective To investigate the distribution of HCV prevalence and genotypes among different gender and age in Hebei area, and analyze the transmission routes of HCV. The genotype distribution pattern was compared with those of neighboring regions in China. **Methods** A total of 284 patients were analyzed by RT-PCR and DNA sequencing. **Results** In total, four HCV genotypes and five subtypes were identified among 284 patients: 1b($n=191$, 67.25%), 2a($n=90$, 31.69%), 3a($n=1$, 0.35%), 3b($n=1$, 0.35%) and 6a($n=1$, 0.35%) respectively. Mixed infections of the dominant subtypes were not found. **Conclusion** Hepatitis C virus infection in Hebei Area is dominated by type 1b, followed by type 2a. This article revealed the comprehensive distribution patterns of HCV genotypes in Hebei Area. The prevalence of HCV infection showed different variations with age, as the highest incidence was shown for the age group 50~59. Though Hebei Province was located in north China, its HCV distribution pattern was more similar to those of the regions in northeast China.

Keywords: hepatitis C virus; genotyping; Hebei area

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是全球主要的死亡和发病原因之一, 据估计, 全球约有3%的人口长期感染该病毒^[1]。HCV具有高度的遗传多样性, 其特征是基因型的区域变异。HCV基因型和亚型是抗病毒治疗反应的重要指标, 中华医学会肝病分会和感染病学分会建议在开始抗病毒治疗前应进行HCV基因分型^[2]。即使在不含干扰素的直接抗病毒治疗(direct-acting antiviral-agents, DAA), 不同的HCV基因型或亚型对同一DAA药物的反应也不同, 导致不同的耐药现象, 因此明确HCV基因型和亚型是十分必要的。

资料显示, 迄今为止, 河北地区丙型肝炎病毒基因型分布的文献资料很少, 尤其是不同年龄、性别的流行病学和丙型肝炎病毒基因型分布特征。因此, 本研究提供了河北地区HCV基因型分布情况、感染途径、基因亚型与性别、年龄关系的信息, 可为进一步研究本地区HCV流行情况提供依据, 也为丙型肝炎的个体化治疗提供指导。

1 材料和方法

1.1 研究对象 选择2016年7月~2017年10月在我院首次确诊为HCV感染的284例患者, 纳入患者均符合《丙型肝炎防治指南》诊断标准, 血清

基金项目: 2016年度河北省医学科学研究重点课题计划(20160536)。

作者简介: 李雅静(1982-), 女, 硕士, 主管技师, 研究方向: 病原微生物的分子诊断, E-mail: liyajing11272003@163.com。

通讯作者: 王鑫(1970-), 女, 主任技师, 研究方向: 病原微生物的分子诊断, E-mail: 13673166960@163.com。

HCV-RNA, HCV 抗体均为阳性。通过询问病史, 收集患者的基本信息, 如感染途径、手术史、潜在疾病或曾经滥用药物等。

1.2 仪器与试剂 本研究所涉及的主要仪器有 COBAS AmpliPrep 核酸提取仪; COBAS TaqMan48 实时荧光定量 PCR 仪; ABI 3500DX 基因测序仪。使用的主要试剂有 COBAS AmpliPrep/ COBAS Taqman HCV Quantitative Test, v2.0; 丙型肝炎病毒基因分型检测试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 HCV-RNA 定量测定: 按照 COBAS AmpliPrep/ COBAS Taqman HCV Quantitative Test 说明书进行 HCV-RNA 定量测定。

1.3.2 HCV 基因分型: 按照丙型肝炎病毒基因分型检测试剂盒说明书进行核酸提取、PCR 扩增、产物纯化、测序 PCR, 测序产物纯化, 将纯化后的测序产物应用 ABI 3500DX 基因测序仪进行测序及数据分析。

1.4 统计学分析 采用 SPSS25.0 统计软件对数据进行处理, 计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。HCV 基因亚型和病毒载量高低之间的关系比较采

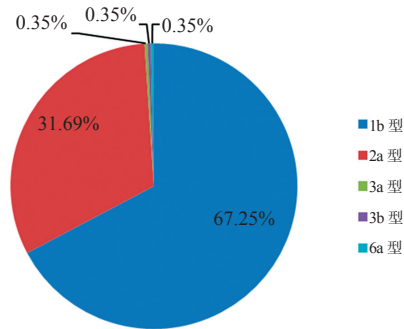
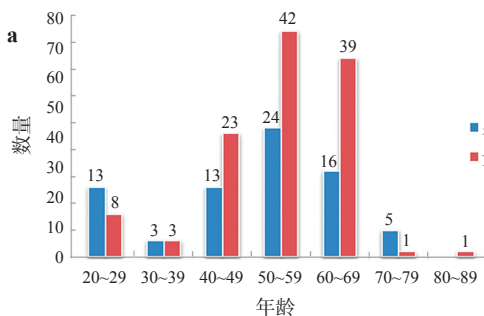


图1 河北地区 HCV 基因型构成比

2.3 HCV 基因亚型与年龄、性别的关系 见图3。1b 亚型最常见于 50~69 岁年龄组的女性患者, 占 1b 型总数的 42.4% (79/191)。1b 亚型在 20~29 岁年龄组和 70~79 岁年龄组的男性患者多于女性, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$), 且 70~79 岁年龄组病例



a. 不同年龄、性别人群 HCV-1b 亚型分型结果

用 χ^2 检验; HCV 基因亚型和肝病严重程度之间关系的比较采用秩和检验。我国不同地区 HCV 基因型分布比较采用 Fisher 确切概率法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCV 基因型分布情况 见图1。图1显示了河北地区 HCV 基因型构成比。本研究共发现了4种基因型 (1~3 和 6) 和5种亚型, 未发现混合基因型感染。最常见的亚型是 1b 型 ($n=191$, 67.25%), 其次是 2a 型 ($n=90$, 31.69%), 少数检测到的基因型包括 3a 型 ($n=1$, 0.35%), 3b 型 ($n=1$, 0.35%) 型和 6a 型 ($n=1$, 0.35%)。通过询问病史, 本研究共收集了3种感染途径, 包括输血 ($n=38$, 13.4%)、献血 ($n=32$, 11.3%)、手术 ($n=1$, 0.4%)。

2.2 HCV 感染者的年龄分布 根据年龄, HCV 感染者分为7个年龄组。图2所示 HCV 感染率随年龄的变化呈现不同的变化, 无论是男性还是女性, 在 50~59 岁年龄组的感染者人数最多 ($n=108$, 38.0%), 其次是 60~69 岁年龄组 ($n=81$, 28.5%)。在这两个年龄组中, 女性感染者的数量均显著高于男性感染者 ($P<0.05$)。

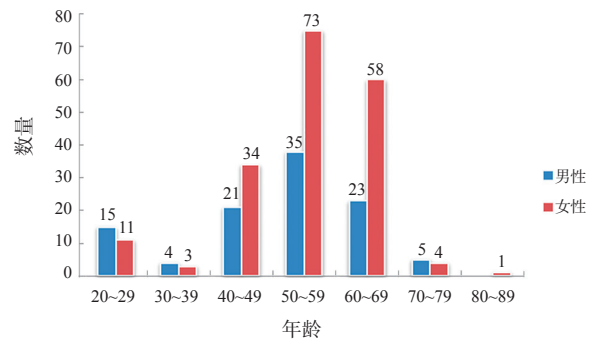
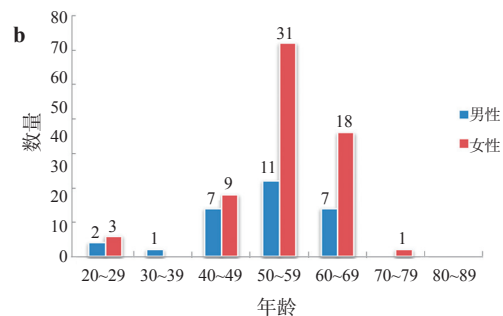


图2 不同年龄组和性别的 HCV 感染率

数较少, 只有6例患者。2a 亚型也最常见于 50~69 岁年龄组的女性患者, 占 2a 型总数的 54.4% (49/90), 且在 50~69 岁年龄组中, 女性患者数量多于男性, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 而在 20~29 岁年龄组和 40~49 岁年龄组男女患者数量相似。



b. 不同年龄、性别人群 HCV-2a 亚型分型结果

图3 不同年龄、性别人群 HCV 基因分型分布

2.4 HCV 基因亚型与病毒载量、疾病严重程度关系 对 284 例样本进行了 HCV 基因分型和 HCV 病毒载量测定。分析病毒载量、疾病严重程度与 HCV 亚型的关系，见表 1。HCV-1b, HCV-2a 优势

亚型平均病毒载量分别为 1.09E+07, 1.40E+07IU/ml, 两者之间差异无统计学意义 ($t = -0.566, P = 0.572$)。HCV-1b, HCV-2a 亚型患者肝病严重程度之间差异无统计学意义 ($Z = -0.039, P = 0.967$)。

表 1 HCV 基因亚型与病毒载量、疾病严重程度

项目	HCV 亚型		统计量	P
	1b (n=191)	2a (n=90)		
HCV-RNA 载量	< 10 ⁶	43	$\chi^2 = 0.924$	0.336
	≥ 10 ⁶	148		
平均病毒载量 (IU/ml)	1.09E+07	1.40E+07	$t = -0.566$	0.572
肝病程度	慢性肝炎	138	$Z = -0.039$	0.967
	肝硬化	47		
	肝癌	6		

2.5 河北省与其他地区 HCV 基因型分布模式比较 见表 2。HCV 1 型是我国丙型肝炎病毒最主要的毒株，没有发现 HCV 4 型和 HCV 5 型。在我国的不

同地区，HCV 2, 3, 6 所占比例存在明显差异。河北省 HCV 基因型分布与已报道的我国东北地区变化趋势相似 ($\chi^2 = 1.417, P = 0.743$)。

表 2 中国不同地区 HCV 基因型分布 (n)

地区	HCV 基因型				χ^2	P
	1	2	3	6		
河北	191	90	2	1	266.163 ^a	<0.001 ^a
湖南 ^[3]	665	25	80	181		
湖北 ^[4]	147	23	5	2	24.549 ^b	<0.001 ^b
中国东北 ^[5]	71	37	1	1	1.417 ^c	0.743 ^c
中国北部 ^[5]	271	90	20	3	15.965 ^d	0.001 ^d
中国东部 ^[5]	215	23	16	11	63.078 ^e	<0.001 ^e
中国西部 ^[5]	78	26	8	1	14.225 ^f	0.001 ^f

注：a, b, c, d, e, f 分别表示湖南、湖北、中国东北、中国北部、中国东部、中国西部和河北地区 HCV 基因型进行比较，Fisher 确切概率法。

3 讨论

HCV 基因型的当代全球地理分布是复杂的，MESSINA 等^[6]对 HCV 基因型流行的全球趋势进行调查，发现 HCV-1 型是最流行的，包括 8340 万例 (46.2%)；基因型 3 是全球第二流行的基因型 (5430 万, 30.1%)；基因型 2, 4 和 6 占所有病例的 22.8%；其余为基因型 5 (占比 <1%)。由于传播途径的改变和全球旅行的增加，HCV 在我国的地理和遗传多样性也在不断变化^[7]。CHEN 等^[8]对全国 28 个省份的 HCV 基因型进行调查，结果发现我国南方省份 HCV 基因型分布的多样性高于北方省份，在所有北方省份中，HCV 1b 和 2a 是两个主要亚型，占总数的 86%，而在南方省份中，HCV 3b 和 6a 占 HCV 的大部分，这些结果可以用独特的地理位置和人口多样化来解释。值得关注的是，HCV 在我国的流行模式正在发生演变。例如，RONG 等^[9]跟踪了 2004~2007 年和 2008~2011 年中国丙型肝炎病毒基因型流行率的变化，2008~2011 年广东省外献血者中 6a 亚型的频率从 11% 显著增

加到 26.5%，表明 HCV 6a 亚型在过去 10 年中迅速从广东传播到中国其它地区。这一结果在本研究中得到证实，在石家庄地区也发现了 3a, 3b 和 6a 亚型。病毒基因型有利于控制和预防 HCV 感染的流行，具有重要的现实意义。河北省位于我国华北地区，交通便利、人口众多、人员迁徙频繁。我们的研究发现，1b 和 2a 亚型是河北地区的优势亚型，这与中国不同地区和人群的先前研究一致^[10-11]，但是也出现了 3a, 3b 和 6a 亚型。

HCV 基因型 / 亚型以及治疗期间病毒载量的变化对于指导临床用药十分重要。一般来说，病毒载量越高，肝脏损伤也越严重，临床表现越明显。慢性 HCV 感染者的病毒载量与 HCV 基因型有关，HCV-1 型患者的 HCV RNA 水平高于非 1 型患者^[12]。然而，其他一些研究发现 HCV 基因型与病毒载量之间没有显著相关性^[13]。彭雪彬等^[14]的研究发现，在中国高病毒载量的患者中，HCV 2a 型比其他亚型更为常见。

而我们的数据表明，HCV-1b, HCV-2a 优

势亚型平均病毒载量之间差异无统计学意义 ($t = -0.566, P = 0.572$)。这些不同的研究结论可能是区域性基因型分布差异所致。

此外,本研究共收集了3种感染途径,包括输血($n=38, 13.4\%$)、献血($n=32, 11.3\%$)、手术($n=1, 0.4\%$)。在可收集到的感染途径中,输血和献血占绝大部分,从这部分患者的年龄分析,这些病例大多可归因于90年代的献血污染和血液制品缺少筛查。有偿献血是20世纪90年代初以前血液传播HCV感染的重要途径,GAO等^[15]对中国大陆献血员HCV感染情况进行了荟萃分析,结果发现中国大陆献血者HCV感染的总患病率为8.68%,华北、华中地区HCV感染更为严重,尤其是河南、河北。HCV感染占输血后肝炎的70%以上,是慢性肝病的主要病因之一,通常在感染后20~30年内导致肝硬化、肝衰竭和肝细胞癌^[16]。

本研究描述了河北地区丙型肝炎病毒(HCV)基因型分布情况、感染途径、基因亚型与性别、年龄关系,并与其他省份的HCV基因型分布模式进行比较,反映了丙型肝炎病毒感染的变化趋势,可为进一步研究本地区丙型肝炎病毒流行情况和制定有针对性的防治策略提供依据。然而,此项研究也存在一定的局限性,如样本量不够大。综上所述,HCV 1型是河北省HCV最主要的基因型,其次是HCV 2型,HCV 3和6型占比很少,未发现HCV 4和5型及亚型混合感染的情况。

参考文献:

- [1] MOHD HANAFIAH K, GROEGER J, FLAXMAN A D, et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence[J]. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 2013, 57(4): 1333-1342.
- [2] 中华医学会肝病学会. 中华医学会感染病学会. 丙型肝炎防治指南(2015年更新版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(12): 1961-1979. Chinese Society of Hepatology and Chinese Society of Infection Diseases, Chinese Medical Association. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B: a 2015 update [J]. *Journal of Clinical Hepatology*, 2015, 31(12):1961-1979.
- [3] LEI Jianhua, GONG Xing, XIAO Xinqiang, et al. Genotype distribution of hepatitis C virus in 952 cases from 2014 to 2016 in Hunan Province, China[J]. *Archives of Medical Science : AMS*, 2018, 14(5): 1055-1060.
- [4] PENG Jing, LU Yanjun, LIU Weiyong, et al. Genotype distribution and molecular epidemiology of hepatitis C virus in Hubei, central China[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137059.
- [5] JU Wei, YANG Song, FENG Shenghu, et al. Hepatitis C virus genotype and subtype distribution in Chinese chronic hepatitis C patients: nationwide spread of HCV genotypes 3 and 6[J]. *Virology Journal*, 2015, 12(1): 109.
- [6] MESSINA J P, HUMPHREYS I, FLAXMAN A, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes[J]. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 2015, 61(1): 77-87.
- [7] 吴泽刚,李艳,郑红云. 湖北地区慢性丙型肝炎患者HCV基因分型结果分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(1):38-40. WU Zegang, LI Yan, ZHENG Hongyun. Analysis on HCV genotype of patients with chronic hepatitis C in Hubei[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(1):38-40.
- [8] CHEN Ying, YU Changshun, YIN Xueru, et al. Hepatitis C virus genotypes and subtypes circulating in Mainland China[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2017, 6(11): e95.
- [9] RONG Xia, XU Ru, XIONG Huaping, et al. Increased prevalence of hepatitis C virus subtype 6a in China: a comparison between 2004-2007 and 2008-2011[J]. *Archives of Virology*, 2014, 159(12): 3231-3237.
- [10] RAO Huiying, WEI Lai, LOPEZ-TALAVERA J C, et al. Distribution and clinical correlates of viral and host genotypes in Chinese patients with chronic hepatitis C virus infection[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2014, 29(3): 545-553.
- [11] MAO Xiaorong, ZHANG Liting, JIANG Ni, et al. Distribution of HCV genotypes in Chinese Han population with chronic hepatitis C[J]. *Journal of University Medical Sciences*, 2015, 44(4): 417-422.
- [12] RIAZ S, BASHIR M F, HAIDER S, et al. Association of genotypes with viral load and biochemical markers in HCV-infected Sindhi patients[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016, 47(4): 980-986.
- [13] 史昌河,黄艳秋,唐艳. 青岛地区丙型肝炎基因分型的研究[J]. *青岛大学学报(医学版)*, 2014, 50(3):230-232. SHI Changhe, HUANG Yanqiu, TANG Yan. Genotyping study on hepatitis C in Qingdao area[J]. *Journal of Qingdao University(Medical Sciences)*, 2014,50(3):230-232.
- [14] 彭雪彬,毛小荣,陈红. 甘肃地区汉族HCV基因分型相关分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2013, 29(11):828-831. PENG Xuebin, MAO Xiaorong, CHEN Hong. Genotypes of HCV in hepatitis C patients of Han nationality in Gansu, China[J]. *Journal of Clinical Hepatology*, 2013,29(11):828-831.
- [15] GAO Xiaofei, CUI Qian, SHI Xiang, et al. Prevalence and trend of hepatitis C virus infection among blood donors in Chinese mainland: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Infectious Diseases*, 2011, 11(1): 88.
- [16] ZHANG Yu, CHEN Limin, HE Miao. Hepatitis C virus in mainland China with an emphasis on genotype and subtype distribution[J]. *Virology Journal*, 2017, 14(1): 41.