

慢性乙型肝炎 e 抗原阴性患者肝郁脾虚证与 HBV 基因型和基因变异类型的相关性

肖 倩* 谭善忠 沈建军

(南京市第二医院中西医结合科, 江苏省南京市钟阜路 1-1 号, 210003)

基金项目: 江苏省中医药局 2007-2008 年度科研项目资助(HL07052)

* 通讯作者: xiaoqian72@yahoo.com.cn, (025) 83626403

[摘要] **目的** 探讨慢性乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)阴性患者乙型肝炎病毒(HBV)基因型和基因变异类型与中医肝郁脾虚证的相关性。**方法** 选取 76 例 HBeAg 阴性且被辨证为肝郁脾虚型的慢性乙肝患者, 检测其 HBV 基因型和 BCP 区、前 C 区变异的情况, 并同湿热中阻型患者做比较, 同时结合肝郁脾虚证型积分情况进行相关性分析。**结果** 肝郁脾虚型与湿热中阻型患者相同位点的变异率差异有统计学意义($P < 0.05$); 两组证型患者在 HBV 基因型的分布上差异有统计学意义($P < 0.05$); 各基因变异类型占各 HBV 基因型的比例也不相同($P < 0.05$); 肝郁脾虚型患者各基因型及各基因变异类型肝郁脾虚证候计分比较, 差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** C 基因型和前 C 变异在慢性乙型肝炎 HBeAg 阴性肝郁脾虚型患者中常见, HBV 基因型和基因变异与中医证型均有相关性。

[关键词] 慢性乙型肝炎; 肝郁脾虚; 基因型; 基因变异

Correlation of Liver Stagnation and Spleen Deficiency Syndrome with HBV Genotype and Genovariation in Chronic Hepatitis B Patients of HBeAg in Negative

XIAO Qian, TAN Shanzhong, SHEN Jianjun

(The Second Hospital of Nanjing City, Jiangsu 210003)

ABSTRACT **Objective** To study the correlation of the HBV genotype and genovariation with the syndrome type of liver stagnation and spleen deficiency of the chronic hepatitis B patients with HBeAg in negative. **Methods** Seventy-six chronic hepatitis B patients with HBeAg in negative and diagnosed as liver stagnation spleen deficiency syndrome in TCM were detected, their HBV genotype and genovariation in BCP and pre-C areas were compared with those of the patients diagnosed as damp-heat obstructing the middle jiao, at the same time, a correlation analysis was done with the syndrome score of liver stagnation spleen deficiency taken into consideration. **Results** The variation rate of the patients with liver stagnation spleen deficiency and those with damp-heat obstructing the middle jiao was statistically different ($P < 0.05$), the HBV genotype distribution of patients of both syndromes was statistically different ($P < 0.05$), the proportion of each genovariation type in the HBV genotype was also different ($P < 0.05$), and the comparison of syndrome scores of patients with liver stagnation spleen deficiency in all genotypes and genovariations also showed a difference in statistics ($P < 0.05$). **Conclusion** The C genotype and pre-C area genovariation are commonly seen in the chronic hepatitis B patients with HBeAg in negative in TCM liver stagnation spleen deficiency syndrome. Both the HBV genotype and genovariation are correlated with the types of TCM syndromes.

Key Words chronic hepatitis B; liver stagnation spleen deficiency; Genotype; Genovariation

慢性乙型肝炎中医辨证分型中, 肝郁脾虚型是较为常见的一种证型, 此类患者的症状相对隐匿, 在临床上容易被患者和医家忽视, 并逐步进展为肝硬化甚至肝癌, 尤其多见于慢性乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)阴性患者^[1]。2007 年 7 月~2009 年 12 月我们选取了在南京市第二医院门诊或病房就治的 76 例 HBeAg 阴性且被辨证为肝郁脾虚型的慢性乙肝患者, 并选取同期 HBeAg 阴性湿热中阻型患者作为对照组, 检测其乙型肝炎病毒(HBV)基因型和基因变异的情况, 现报道如下。

1 资料

1.1 诊断及辨证标准

符合 2000 年全国第十次病毒性肝炎学术会议修订的病毒性肝炎诊断标准^[2]; 同时参照中国中医药学会内科肝病专业委员会中医辨证分型标准^[3]。肝郁脾虚型诊断标准, 包括肝郁主症: ①精神抑郁, 烦躁; ②胁肋胀痛, 或乳房、少腹胀痛; ③咽部有梗阻感, 或善叹息; ④脉弦。肝郁次症: 口苦咽干, 失眠, 暖气反酸, 舌质紫暗, 月经色暗有块。脾虚主症: ①四肢倦怠乏力; ②纳差; ③腹胀; ④便溏。脾虚次症: 消瘦,

面色萎黄,轻度浮肿,恶心呕吐,舌质淡或胖嫩。凡具有肝郁主症2项以上,脾虚主症1项以上,或肝郁和脾虚次症各2项以上即可诊断。湿热中阻型诊断标准,包括主症:①身目发黄,色泽鲜明;②苔黄腻。次症:①恶心,厌油,纳呆;②胁胀脘闷;③尿黄。凡具有2项主症或主症1项及次症2项以上者即可诊断。

1.2 纳入标准

符合上述诊断标准和辨证标准者;HBsAg阴性;年龄>14岁,性别不限;签署知情同意书者。

1.3 排除标准

合并有抗HCV、抗HDV、抗HIV阳性者;乙型肝炎病毒携带者,急性肝炎、失代偿性慢性肝病、自身免疫性肝病、遗传性肝病、酗酒者;HBV DNA拷贝数<2000IU/ml。

1.4 一般资料

共选取HBsAg阴性的慢性乙型肝炎患者134例,其中肝郁脾虚型患者76例,男65例,女11例;年龄18~64岁,平均年龄(35.8±11.3)岁;病程1~25年,平均病程(8.27±1.76)年。湿热中阻型患者58例,男49例,女9例;年龄15~63岁,平均年龄(36.2±12.1)岁;病程0.8~23年,平均病程(8.10±1.86)年。两组患者在性别比例、年龄分布上无统计学差异(P>0.05),具有可比性。

2 方法

2.1 肝郁脾虚证候定量评分

参照文献[4]制定肝郁脾虚型积分量表,具体见表1。

表1 肝郁脾虚型积分量表

症状	评分			
	0	1	2	3
脘胁胀痛	无	偶尔发生,<0.5h	每天<2h	持续,需服止痛药
腹胀	无	食后胀,0.5h缓解	食后胀<1h	腹胀不休
食少	无	纳差	食量减少<1/3	食量减少>1/2
便溏不爽	无	大便不成形	大便稀溏,日1次	糊状便,日>2次
情绪抑郁或烦躁	无	偶尔发生	易发生	经常发生,难自控
喜太息	无	偶有太息	被刺激后太息发作	太息频作
肠鸣矢气	无	偶有发生	发作较频	频作
腹痛欲泄泄后痛减	无	偶有发生	常作,精神刺激加重	每日发作

2.2 HBV前C区终止变异及基本核心启动子变异(BCP)检测方法

引物由上海基康生物有限公司合成,PCR产物用双脱氧末端终止法在Lico R²全自动测序仪上测

序。前C区终止变异及BCP双变异检测所用引物为:5'ACATAAGAGGACTCTTGGAC 3'和5'AC-TAACATTGAGATTCCCGAG 3',测序结果用Alime软件与GENEbank中pADR标准株序列作对比分析。

2.3 乙型肝炎病毒基因型检测方法

乙型肝炎病毒基因分型试剂盒由宁波瑞芯生物科技有限公司提供。S区段基因的扩增:所提取的病毒核酸作为模板,PCR引物:正义引物(P1) 5'-GCGGGGTTTTTCTTGTTTCAC-3',反义引物(P2) 5'-GGGACTCAAGATGTTGATCTG-3',测序的结果用DNAstar分析软件分析,与GENEbank中HBV的A-G基因型的标准株序列作同源性分析,确定血清中HBV优势株的基因型。

2.4 统计学方法

采用SPSS 13.0统计软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析及q检验;计数资料的组间差异性比较采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 肝郁脾虚与湿热中阻证型患者乙型肝炎病毒前C区变异和BCP变异情况

表2示,肝郁脾虚型与湿热中阻证型比较,相同位点的变异率有统计学意义(P<0.05)。

表2 肝郁脾虚与湿热中阻证型患者乙型肝炎病毒前C区变异和BCP变异的比较[例(%)]

证型	例数	变异位点		
		1762	1764	1896
肝郁脾虚型	76	42(55.26)	44(57.89)	59(77.63)
湿热中阻型	58	41(70.69)	43(74.13)	27(46.55)

3.2 肝郁脾虚型与湿热中阻证型患者的HBV基因型与基因变异类型的关系

表3示,肝郁脾虚型与湿热中阻证型在HBV基因型的分布上有统计学差异(P<0.05)。各基因变异类型占各HBV基因型的比例也有统计学意义(P<0.05)。

表3 不同证型及变异类型患者HBV基因型分布情况[例(%)]

证型/变异	例数	B基因型	C基因型	B+C混合型
肝郁脾虚型	76	24(31.58)	43(56.58)	9(11.84)
湿热中阻型	58	26(44.82)	31(53.45)	1(1.73)
BCP变异	45	25(55.56)	19(42.22)	1(2.22)
前C区变异	59	21(35.59)	31(52.54)	7(11.87)
BCP、前C区双变异	30	12(40.00)	16(53.33)	2(6.67)

3.3 肝郁脾虚证患者中医证候积分与HBV 基因型与基因变异类型的关系

表4示,与B基因型比较,C基因型和B+C基因型患者证候积分明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与BCP变异比较,前C区变异和BCP、前C区双变异患者证候积分亦明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表4 不同基因型及变异类型肝郁脾虚型患者证候积分比较(分, $\bar{x} \pm s$)

项目	类别	例数	证候积分
基因型	B基因型	24	5.37±2.97
	C基因型	43	11.65±5.42*
	B+C基因型	9	10.69±5.21*
基因变异类型	BCP变异	17	6.26±3.15
	前C区变异	32	11.07±4.95△
	BCP、前C区双变异	27	10.01±5.01△

注:与B基因型比较,* $P < 0.05$;与BCP变异比较,△ $P < 0.05$

4 讨论

近年来研究表明,慢性HBV感染的进展与病毒基因型及前C区和BCP突变有关^[4-5]。C基因型HBV感染者较B基因型更易发生前C区和BCP突变,且易发展成慢性乙型肝炎、肝硬化和肝癌。在我国约60%慢性HBV感染者为C基因型,30%为B基因型^[6],我们所做基因型检测结果与此相近。

目前对慢性乙型肝炎的病因病机多认为其由湿毒邪侵袭人体,致正气虚弱,气血失调。其病位在肝,涉及脾、肾,病机既不是单纯脾虚证,也不是单纯肝郁证,而是有其独特的证治规律。针对HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者,我们曾对其中医证型分布进行研究,发现肝郁脾虚型及湿热中阻型为最常见的证型,尤其以前者更为多见^[1]。因此,选取这两种证型进行研究。

本研究结果表明,两组患者在病毒基因型及前C

区和BCP突变方面均有统计学意义,表明乙型肝炎病毒基因型和基因变异类型与中医证型均有相关性。HBeAg阴性的肝郁脾虚型患者C基因最为常见,更易发生前C区变异。与湿热中阻证相比,C基因型、B+C混合型在肝郁脾虚型患者更易发生。研究结果还表明,C基因型和B+C基因型患者的肝郁脾虚证候积分高于B基因型,同样,发生前C区变异和BCP、前C区双变异的患者肝郁脾虚证候积分也明显高于BCP变异患者。而这两类患者在临床抗病毒治疗方面,疗效也均低于B基因型或BCP区变异患者,也许肝郁脾虚就是导致其难治的原因之一。HBV基因型和基因变异的位点与肝郁脾虚证型有一定的相关性。

参考文献

- [1]肖倩,向晓星,龙爱华. HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者HBV变异与中医分型的相关性研究[J]. 江苏中医药, 2008, 40(4): 22-24.
- [2]中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎的诊断标准[J]. 中西医结合肝病杂志, 2001, 11(1): 56-60.
- [3]中国中医药学会内科肝病专业委员会. 病毒性肝炎中医辨证标准(试行)[J]. 中医杂志, 1992, 33(5): 39-40.
- [4]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(1): 218-223.
- [5]Scaglioni PP, Melegari M, Wands JR. Biologic properties of hepatitis B viral genomes with mutations in the precore promoter and precore open reading frame[J]. Virology, 1997, 233(2): 374-381.
- [6]庄辉. 我国乙型肝炎病毒感染与挑战[J]. 中华传染病杂志, 2006, 23(增刊): 2-6.

(收稿日期:2010-03-29;修回日期:2010-07-12)

[编辑:邓媛]

(上接第129页)

- [3]陈润东,杨志敏,林熹钊,等. 中医体质分型6525例调查分析[J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(2): 104-106.
- [4]王琦,朱燕波. 中国一般人群中中医体质流行病学调查[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(1): 7-12.
- [5]陈爱玲,赵兰才,阮金玉,等. 1895例北京市社区居民中医体质状况调查分析[J]. 北京中医药, 2009, 28(8): 583-584.
- [6]张云云,张海梅,郭德莹,等. 168例缺血性脑卒中患者体质特点研究[J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(2): 31-34.
- [7]庞国明,闫楠,朱璞,等. 糖调节受损者的主要中医体质类型及其与相关指标之间的关系[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(12): 1547-1551.

- [8]孙益,童健培,肖鲁伟. 绝经后骨质疏松症与中医体质的相关性[J]. 中医杂志, 2009, 50(8): 696-698.
- [9]刘恒,陈彪. 帕金森病患者体质研究[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(7): 489-492.
- [10]李晓梅,万崇华,王国辉,等. 慢性病患者的生命质量评价[J]. 中国全科医学, 2007, 10(1): 20-22.
- [11]高利,王宁群,李宁,等. 不同证型脑梗死患者SF-36生存质量的比较研究[J]. 北京中医药大学学报, 2007, 30(4): 268-270.
- [12]苏俊,钱会南,王琦,等. 特禀体质分布及生命质量情况调查[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(2): 167-168.

(收稿日期:2010-04-23;修回日期:2010-08-26)

[编辑:邓媛]