

乙型肝炎病毒基因型研究新进展

刘兴, 唐红, 何芳

刘兴, 唐红, 何芳, 四川大学华西医院感染性疾病中心 生物治疗国家重点实验室(四川大学)感染性疾病研究室 四川省成都市 610041

国家杰出青年科学基金资助项目, No. 30325036

通讯作者: 唐红, 610041, 四川省成都市, 四川大学华西医院感染性疾病中心, 生物治疗国家重点实验室(四川大学)感染性疾病研究室. htang6198@hotmail.com

电话: 028-85422647

收稿日期: 2006-06-06 接受日期: 2006-06-24

摘要

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)属于嗜肝DNA病毒科, 由于HBV复制过程中HBV DNA聚合酶缺乏校正功能, 导致HBV容易发生突变. 根据基因序列差异的多少, 可将HBV划分为A-H 8种基因型, 其中A, B, C, F 4个基因型还可以划分为不同的亚型. HBV基因型呈一定的地理区域性分布, 并且HBV基因型对于探讨HBV的传播途径, HBV携带者的流动形式以及变异株在不同人群中的流行情况都有很重要的意义. HBV基因型之间结构和功能的差异均可影响慢性HBV感染者在临床诊治过程中出现的基因变异、病情预后以及对抗病毒治疗的反应性. 虽然近几年对HBV基因型的研究迅速增多, 但尚处于探索阶段对其研究仍任重而道远.

关键词: 乙型肝炎病毒; 基因型; 变异; 治疗

刘兴, 唐红, 何芳. 乙型肝炎病毒基因型研究新进展. 世界华人消化杂志 2006;14(22):2211-2216

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2211.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染呈世界范围广泛流行, 仅慢性HBV携带者就有近4亿人之多. HBV感染不仅可导致急、慢性病毒性肝炎, 而且还可发展为肝硬化及肝癌, 每年导致大约100万人死亡, 严重影响了人类的健康. 1988年Okamoto首先提出了HBV基因分型法. 目前, HBV基因型与HBV基因变异、HBV导致的临床疾病、慢性HBV感染者对抗病毒治疗的反应性及病情预后之间的关系已成为研究的热点. 现将HBV基因型的分型方法、不同基因型的地域分布以及与HBV血清型、基因变异、临

床疾病、抗病毒治疗及预后的关系等方面的研究进展进行阐述. 1988年, Okamoto *et al*^[1]对18株HBV的全部核苷酸序列进行分析, 根据核苷酸全序列异质 $\geq 8\%$ 分为A, B, C, D 4个基因型, 从而提出了HBV基因型的概念并初步建立了HBV基因型的分型标准. 1992年Norder *et al*^[2]对HBV的S基因序列进行分析, 根据S基因差异 $\geq 4\%$, 发现了2种新基因型E, F. 以后Stuyver *et al*^[3]及Arauz-Ruiz *et al*^[4]分别在2000年和2002年发现了基因型G和H. 到目前为止, 根据HBV核苷酸全序列异质 $\geq 8\%$ 或S基因序列核苷酸差异度 $\geq 4\%$, 已将乙肝病毒株分为A到H 8种基因型. 其中基因型A还可分为Ae(e代表欧洲)和Aa(a代表亚洲和非洲)2个亚型^[5]; 基因型B又可分为Ba(a代表亚洲)和Bj(j代表日本)2个亚型^[6]; 基因型C可分为C1和C2 2个亚型^[7]; 基因型F又可分为4个分支(I-IV), 亚基因型F1属于分支I, 亚基因型F2属于分支II和IV, 基因型H属于基因型F的分支III. 基因型H的全基因序列与基因型F相差7.5%-9.6%, 所以把他从基因型F中分离出来作为一种新的基因型^[4,8-9]. 鉴于HBV的进化特点, 今后还有可能发现新的基因型.

由于不同基因型的HBV在流行特征、致病性、对药物治疗反应等方面存在差异, 因此了解HBV基因型具有重要的临床意义. 通过HBV基因分型(1)可用于流行病学研究, 了解HBV基因型的地区分布、致病性、基因变异及变异株在不同人群中的流行情况; (2)探索HBV传播途径. 基因型A与性接触有关, 而基因型D则与血液传播有关^[10]; (3)可观察疫苗的预防作用, 尤其对母婴传播基因型的研究; (4)可了解基因型与抗病毒疗效之间的关系^[11].

1 HBV基因分型的检测方法

1988年Okamoto首先提出了乙型肝炎病毒基因分型法. 随着分子生物学技术的发展, 基因分型的方法也在不断进步, 渐趋简化、准确. HBV基因分型方法主要有(1)HBV全基因测序. 由Okamoto *et al*^[1]首先提出, 根据HBV核苷酸全序

■ 近年来, 国内外学者从流行病学、分子生物学、临床医学等方面对乙型肝炎病毒基因型进行了大量的研究, 发现HBV基因型与HBV血清型、基因变异、临床疾病、抗病毒治疗及预后等方面都有密切的关系. 这对于HBV的基础研究、分子流行病学调查、临床诊治过程中出现的基因变异、对抗病毒治疗反应和病情预后评估等均有重要的意义.

■ 目前, HBV基因型与HBV基因变异、HBV导致的临床疾病、慢性HBV感染者对抗病毒治疗的反应性及病情预后之间的关系已成为研究的热点.

Locarnini在文献Molecular virology of hepatitis B virus (*Seminars in Liver Disease* 2004; 24: 3-10)中对乙型肝炎病毒的基因型、基因变异、对抗病毒药物的耐药性及解决办法等方面进行了较为详细的阐述,有助于对乙型肝炎病毒的基因变异及对抗病毒药物的耐药性等方面进行较为全面的了解。

列异质 $\geq 8\%$ 进行分型,是HBV基因分型的金标准;(2)S基因序列测定.由Norder *et al*^[2]提出,初步简化了HBV的基因分型方法.以上这2种方法均需时费力、较为繁琐,不适合流行病学调查;(3)S基因聚合酶链反应-限制性片断长度多态性分析(PCR-RFLP).即采用能识别各基因型特异性序列的限制酶,并依据限制性片断长度多态性而确定基因型的技术.此方法灵敏度较高、特异性较强,能较准确地鉴定HBV基因型,可用于HBV基因型的流行病学调查,但步骤较繁杂、易受污染、酶切位点易受基因变异的影响^[12-13];(4)HBV基因型特异性表位mAb联免疫吸附法.Usuda *et al*^[14]通过制备前S2区域基因型特异性表位mAb,并用辣根过氧化物酶进行标记,更简化了检测方法,适用于大规模的流行病学调查,但本法对于不同基因型混合感染或基因型特异性表位存在点突变时则不能分型,同时需要建立一套mAb;(5)HBV基因型特异性引物PCR(PCR-SSP).Naito *et al*^[15]设计了A-F 6种基因型的型特异性引物进行套式PCR,操作较简单准确,可用于HBV感染的分子诊断和大范围的调查;(6)PCR微板核酸分子杂交-ELISA法.生物素化的引物PCR反应扩增待检模板后,用包被有特异探针的微孔板捕获扩增产物,链霉亲和素标记的酶与其结合,酶促底物显色检测,能快速简便确定HBV基因型,该方法杂交时间短、分型较可靠、自动化程度高,可大规模进行HBV基因分型^[16].另外,近几年发展起来的基因芯片技术使检测HBV基因型变的更加简便、高效、准确成为可能,基因芯片用于乙型肝炎病毒的基因分型检测有很多潜在的优势,但在实现过程中还有许多需待解决的问题^[17].

2 HBV基因型的地理分布和血清型

2.1 地理分布 近几年研究发现,HBV基因型呈一定的地理区域性分布,A型主要分布于欧洲的西北部、北美、非洲和菲律宾;B型和C型是亚洲和大洋洲的特征性基因型,B型主要见于中国、日本、印度尼西亚、越南和巴西,其中Bj亚型在日本被发现,而Ba亚型则分布在整个亚洲;C型主要见于中国、韩国、日本、越南和玻利尼西亚;D型在全世界均有分布,主要分布于地中海地区、中东和南亚;E型主要见于非洲西部沿海地区及马达加斯加;F型多见于南美洲的土著居民;G型主要分布在美国、法国、德国、英国和意大利,大多常与基因型A共同感染;H型主要

分布在美洲中部的印第安人,在加利福尼亚和墨西哥也被发现^[18-20].目前认为,不同地区优势基因型反映了HBV自然感染史发生的变异特点,是否HBV基因型分布与人种易感性有关目前尚不清楚.基因型分布还受种族背景的影响,基因型A和D主要在白种人中被发现^[21],而亚洲的病毒携带者主要是基因型B和C.不同HBV基因型的盛行也反映了移民的源地及移民形式的情况,移民可造成某一地区基因型分布及其流行的改变.在西班牙基因型A和D是很常见的,在美洲中部基因型D的存在也是西班牙人迁入的结果^[19].在亚洲尤其在我国HBV基因型以B和C型为主.在我国,B型和C型的分布也不平行,也存在一定的地域差异即南方以B型为主,北方以C型为主,A型和D型在我国多数地区也占有一定比例.宋淑静 *et al*^[11]报道,北京、天津、长春、沈阳和大连这5个城市主要基因型均是C型,B型次之,B,C混合型也比较多见.

2.2 血清型 血清型是由病毒外膜蛋白上的一些氨基酸残基决定的,是病毒外膜蛋白的表现型,并不能真正反映病毒基因组的差异.通过HBV包膜蛋白上的一个共同抗原决定簇“a”和两个亚型决定簇“d/y”和“w/r”,将HBV血清型分为4个亚型:ayw, adw, ayr, adr,又将w分为w1-4, q分为q+和q-,使其扩展为ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq+和adrq-, 9个血清型^[19,22-23].虽然血清型的分型方法已建立多年,但人们发现他的临床意义并不是很大.虽然根据HBsAg序列可分为基因型和血清型,但两者之间不一定相符合,他们之间的分布可能会有一定的差异.但很多研究^[19,22-23]发现,HBV基因型和血清型之间也有一定的相关性,总结两者之间的关系大致为:基因型A(adw2, ayw1),基因型B(adw2, ayw1),基因型C(adw2, adrq+, adrq-, ayr),基因型D(ayw2, ayw3),基因型E(ayw4),基因型F(adw4, adw2, ayw4),基因型G(adw2),基因型H(adw3).可见同一种血清型可属于不同的基因型,而同一种基因型可有几种不同的血清型.但这两者之间关系的临床意义尚未明确.

3 HBV基因型和基因变异的关系

HBV在宿主体内感染的过程中会发生自然变异,变异的不断积累也使HBV的基因组核苷酸序列产生了较大的变化,在此基础上形成了不同的基因型,所以这两者之间有一定的相关性.研究发现不同的基因型易发生的突变类型不同,与

病情转归也有一定的相关性. HBV基本核心启动子(basic core promoter, BCP)1762T和1764A变异,在临床上较常见.该双突变在基因型C中较基因型B频繁,而在基因型A中较基因型D频繁,并且发现与肝硬化及肝细胞癌的发生具有明显的相关性^[24-27].在基因型A中亚型Aa突变较亚型Ae更显著,且核心启动子双突变(1762T和1764A)在亚型Aa中较亚型Ae更频繁^[5].另外Duong *et al*^[28]报道,在HBeAg阴性的患者中,BCP突变在HBV基因型D中明显低于基因型C.在肝细胞癌患者中,HBV基因型C和核心启动子突变所占的比例明显较多,但进一步的研究发现,肝细胞癌的发生可能与HBV基因型C之间并无直接的关系,而可能与HBV基因型C核心启动子的高突变率有关^[29].Leon *et al*^[30]对50名HBV阳性患者的HBV基因分型后发现,在乙肝病毒携带者中,HBx M130K和V131I(T-A)变异在基因型F中被发现,但在急性乙型肝炎恢复后的患者中未被发现,但T-A变异是否可作为HBV感染的严重肝病患者的预后因素仍需更多的研究证实.

HBV前C区(precore)可发生1896A, 1862T, 1899A等部位的变异,以前C区1896A变异与基因型的关系报道较多. HBV前C区1896A突变在基因型B中较基因型C普遍^[24],基因型F与前C区终止密码子变异亦具有明显的相关性^[31],前C区1896A位变异使第28位的密码子色氨酸转变为终止密码TAG,使前C/C区编码的HBeAg合成提前终止,导致感染1896A变异株的患者血清中HBeAg阴性.在基因型B, D, E, G和一些基因型C中1858位的碱基为T,所以终止密码子发生1896A变异后可与1858位的碱基T组成稳定的T-A结构,所以这些基因型易发生前C区终止密码子1896A变异;而在基因型A及一些基因型C和F中因1858位的碱基C和1896位的碱基G组成稳定的G-C结构,所以不易发生前C区终止密码子1896A变异,从而使HBeAg的血清转换延迟或不发生^[32].另有文献^[33]报道,T-1762变异在基因型C中更频繁,且更容易引起炎症和纤维化,前C区变异却较少引起炎症,并多伴有HBeAg阴性和低病毒复制.基因变异与HBeAg血清转换也有一定的相关性. HBV前C区1896A, 1862T, 1899A变异及HBV BCP 1762T和1764A双突变均可导致血清HBeAg阴性. Ni *et al*^[34]对110名年龄相近的慢性HBV感染的儿童

进行研究后发现,核心启动子1752, 1775和1799核苷酸变异与HBeAg血清转换具有明显的相关性;1762+1764核苷酸变异与HBeAg血清转换的关系却不大,然而却可引起基因型C的HBeAg血清转换,同时发现前C区1896核苷酸变异与一半的儿童患者HBeAg血清转换有关.

4 HBV基因型与临床疾病的关系

4.1 临床发病 HBV感染患者的临床表现之间有很大的差异,这不仅和患者的自身情况有关,还可能与感染病毒株的基因型种类密切相关.目前已有一些关于这方面的研究报道,并得出了初步的结果. HBV基因型与病毒复制水平及病毒标志物的表达有一定的相关性.研究发现,基因型B的HBeAg血清转换率比基因型C要高,基因型C较基因型B有较高的HBeAg阳性率,并发现anti-HBe在基因型B中较基因型C普遍,而HBV DNA水平在基因型B和C之间却未见有差异^[18,24,33,35],但有文献^[36]报道,基因型C却比基因型B有较高的HBV DNA水平. Verschuere *et al*^[37]也发现,HBV基因型A和B(尤其Bj)均有较高的HBeAg清除率.但Lim *et al*^[38]却报道,HBeAg及anti-HBe与基因型B和C之间无相关性,可能与研究的病例数较少有关.有文献^[39]报道,对145名急性乙型肝炎进行基因分型后发现基因型A较基因型C有较高的HBV DNA定量及较长的HBsAg持续时间.另外Zollner *et al*^[40]对41份对拉米夫定耐药的病毒株经基因分型后发现,发生拉米夫定耐药后,血清HBV拷贝数在HBV基因型A中较基因型D高. HBV基因型A比基因型D的HBV DNA和HBsAg更容易被清除,并在HBeAg发生血清转换后能获得持久的缓解,但HBeAg血清转换与HBV基因型无明显相关^[41].法国的一项研究^[10]却发现,基因型A与HBeAg阳性相关,而基因型D与anti-HBe阳性相关. HBV基因型与病情之间的关系报道较多.在亚洲HBV基因型以B和C为主,而严重肝病的发生与基因型C的关系比基因型B的关系更密切,基因型C较基因型B有较高丙氨酸转氨酶水平,组织学炎症活动程度较高的患者基因型C较基因型B多见,而组织学炎症活动程度较低的患者基因型C却比基因型B少,基因型C在乙肝后肝硬化的发病中起一定的作用,然而基因型B与年轻无肝硬化患者肝癌的发生有关,而在日本感染HBV基因型B的年轻患者(≤30岁)却未见肝癌

■ HBV基因型对于HBV的基础研究、分子流行病学调查、临床诊治过程中出现的基因变异、对抗病毒治疗反应和病情预后评估等均有重要的意义,有其广泛的应用前景.

的发生^[18,24, 33,35-36,42]. Sumi *et al*^[43]对585名患者(其中258名组织学上证实为慢性肝病患者, 74名为肝细胞癌患者)的研究发现, 感染HBV基因型B的患者发生肝纤维化及肝细胞癌的平均年龄要比感染HBV基因型C的患者的年龄大; 在慢性肝病患者中, 基因型B的HBeAg血清转换率比基因型C要高. 在组织学上证实为慢性肝病的患者中, 基因型B发生肝纤维化的比例要比基因型C低, 这种差异在年轻患者中更显著而在年老患者中则无差异, 然而慢性肝病及肝细胞癌患者在这2种基因型中的分布却相似. 可见虽然基因型B的HBeAg血清转换发生较早, 引起肝纤维化及肝细胞癌的进程较慢, 然而患者一生中发生肝纤维化及肝细胞癌的风险在B型及C型慢性肝病患者中则可能无差异. Yotsuyanagi *et al*^[39]报道, 基因型A较基因型C有较低的最高ALT水平, 并且较基因型C有较长及较轻的临床过程, 并发现在日本大都市市区急性乙型肝炎中以基因型A最常见. Duong *et al*^[28]对413名HBV携带者的血清进行基因分型后发现, 基因型C与慢性肝病有关, 而基因型D与无症状携带者有关, 且可引起早期HBeAg血清转换. 另外有研究^[21,35]发现, HBV基因型A较基因型D更易伴随慢性感染, 基因型A主要引起慢性活动性肝炎, 而基因型D在急性肝炎中最常见. 基因型F引起的肝病的死亡率要比基因型A或D高^[41].

4.2 HBV基因型与抗病毒疗效之间的关系 病毒感染人体后, 感染者具有不同的临床经过和预后, 对抗病毒治疗的应答也不尽相同, 既可能与感染者的免疫状态和基因背景有关, 也可能与病毒的基因特性有关. HBV基因型是决定抗病毒疗效的一个重要因素, 用于估计抗病毒的治疗反应是很重要的, 但是否能在临床上广泛应用尚待进一步的研究决定. (1)HBV基因型与干扰素抗病毒疗效之间的关系. 干扰素抗病毒作用是通过激活干扰素激活基因, 编码产生一系列抗病毒蛋白来完成, 很多研究发现, 干扰素抗病毒疗效与HBV基因型有一定的相关性. 有文献^[10,36]报道, 基因型C和D对干扰素的治疗反应要比基因型A和B差. 一项纳入266例HBeAg阳性患者的随机对照试验^[44]研究发现, 用干扰素抗病毒治疗对基因型A可产生较好的HBsAg清除率. Erhardt *et al*^[45]对165例患者研究发现, 用干扰素抗病毒治疗后的持久反应, HBV基因型A要比基因型D好, 其中对于HBeAg阳性患者各占46%和24%($P<0.03$), 对于HBeAg阴性患者各占59%和

29%($P<0.05$). (2)HBV基因型与拉米夫定抗病毒疗效之间的关系. 拉米夫定抑制HBV DNA聚合酶, 从而有效抑制HBV的复制. 目前有关拉米夫定与HBV基因型的研究主要为基因型B和C, 其他基因型报道较少. 有研究^[36,46]发现, 对拉米夫定的疗效及停药后疗效的持久性基因型C均较基因型B差; 对拉米夫定耐药的发生率基因型A较基因型D高, 但在基因型B和C之间未见有差别. Akuta *et al*^[35]对213名慢性乙肝患者给予1 a的拉米夫定治疗后发现, HBV对拉米夫定耐药的发生率不依赖于基因型(A, B, C). HBV亚基因型Ba对拉米夫定耐药的发生率显著比亚基因型Bj高. 对于基因型C, HBeAg阳性者对拉米夫定耐药的发生率要显著高于HBeAg阴性者, 而对于基因型B这种差异不显著. 但另有研究^[47]发现, 不同的结果, 在中国乙肝患者中, 经过1 a的拉米夫定抗病毒治疗后发现, HBV基因型B和C对抗病毒治疗的反应及YMDD变异的发生率均无差别, 并表明在中国乙肝患者中, 用拉米夫定抗病毒治疗前通过检测基因型来预测抗病毒疗效可能并不重要. (3)HBV基因型与阿德福韦酯抗病毒疗效之间的关系. 阿德福韦酯口服后最终在细胞内转化为阿德福韦双磷酸酯, 后者可选择性抑制HBV DNA聚合酶. 目前关于HBV基因型与阿德福韦酯抗病毒疗效之间的关系的报道较少. 一项由多国参与的阿德福韦酯临床试验^[48]共纳入了694例受试者, 经过48 wk的阿德福韦酯抗病毒治疗后发现, HBeAg血清转换率在HBV基因型间无统计学上的差异, 且阿德福韦酯抗病毒疗效与HBV基因型、HBeAg及种族均没有明显相关性. 另外一项纳入了700例受试者的临床试验^[49]研究后发现, 经过48 wk的阿德福韦酯抗病毒治疗后并未发现

5 参考文献

- 1 Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol* 1988; 69(Pt 10): 2575-2583
- 2 Norder H, Hammas B, Lofdahl S, Courouce AM, Magnus LO. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strains. *J Gen Virol* 1992; 73(Pt 5): 1201-1208
- 3 Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, Zoulim F, Fried M, Schinazi RF, Rossau R. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 2000; 81: 67-74
- 4 Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnus LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002; 83: 2059-2073
- 5 Sugauchi F, Kumada H, Acharya SA, Shrestha SM, Gamutan MT, Khan M, Gish RG, Tanaka Y, Kato T, Orito E, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Epidemiological and sequence differences between two subtypes (Ae and Aa) of hepatitis B virus genotype A. *J Gen Virol* 2004; 85: 811-820
- 6 Sugauchi F, Orito E, Ichida T, Kato H, Sakugawa H, Kakumu S, Ishida T, Chutaputti A, Lai CL, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Hepatitis B virus of genotype B with or without recombination with genotype C over the precore region plus the core gene. *J Virol* 2002; 76: 5985-5992
- 7 Huy TT, Ushijima H, Quang VX, Win KM, Luen-grojanakul P, Kikuchi K, Sata T, Abe K. Genotype C of hepatitis B virus can be classified into at least two subgroups. *J Gen Virol* 2004; 85: 283-292
- 8 Mbayed VA, Barbini L, Lopez JL, Campos RH. Phylogenetic analysis of the hepatitis B virus (HBV) genotype F including Argentine isolates. *Arch Virol* 2001; 146: 1803-1810
- 9 Norder H, Arauz-Ruiz P, Blitz L, Pujol FH, Echevarria JM, Magnus LO. The T(1858) variant predisposing to the precore stop mutation correlates with one of two major genotype F hepatitis B virus clades. *J Gen Virol* 2003; 84: 2083-2087
- 10 Halfon P, Bourliere M, Pol S, Benhamou Y, Ouzan D, Rotily M, Khiri H, Renou C, Penaranda G, Saadoun D, Thibault V, Serpaggi J, Varastet M, Tainturier MH, Poynard T, Cacoub P. Multicentre study of hepatitis B virus genotypes in France: correlation with liver fibrosis and hepatitis B e antigen status. *J Viral Hepat* 2006; 13: 329-335
- 11 宋淑静, 何忠平, 庄辉, 闫杰, 董庆鸣. 中国北方5城市慢性乙型肝炎患者的基因分型. *中国公共卫生* 2004; 20: 166-167
- 12 阎丽, 侯金林, 郭亚兵, 王战会, 林裕龙, 骆抗先. 乙型肝炎病毒基因型S基因PCR-RFLP分型方法的建立. *中华传染病杂志* 2001; 19: 224-228
- 13 Mizokami M, Nakano T, Orito E, Tanaka Y, Sakugawa H, Mukaide M, Robertson BH. Hepatitis B virus genotype assignment using restriction fragment length polymorphism patterns. *FEBS Lett* 1999; 450: 66-71
- 14 Usuda S, Okamoto H, Tanaka T, Kidd-Ljunggren K, Holland PV, Miyakawa Y, Mayumi M. Differentiation of hepatitis B virus genotypes D and E by ELISA using monoclonal antibodies to epitopes on the preS2-region product. *J Virol Methods* 2000; 87: 81-89
- 15 Naito H, Hayashi S, Abe K. Rapid and specific genotyping system for hepatitis B virus corresponding to six major genotypes by PCR using type-specific primers. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 362-364
- 16 王虹, 万成松, 王省良, 彭华国. 采用PCR微板核酸杂交-ELISA技术进行HBV DNA基因分型的研究. *中华微生物学和免疫学杂志* 2001; 21: 234-236
- 17 杨夏, 张跃新, 朱滨, 孙悦, 阿曼·古丽, 张明智. HBV基因型芯片检测方法的研究. *中华微生物学和免疫学杂志* 2005; 25: 603
- 18 Yuen MF, Sablon E, Tanaka Y, Kato T, Mizokami M, Dautreloigne J, Yuan HJ, Wong DK, Sum SM, Lai CL. Epidemiological study of hepatitis B virus genotypes, core promoter and precore mutations of chronic hepatitis B infection in Hong Kong. *J Hepatol* 2004; 41: 119-125
- 19 Jazayeri MS, Basuni AA, Cooksley G, Locarnini S, Carman WF. Hepatitis B virus genotypes, core gene variability and ethnicity in the Pacific region. *J Hepatol* 2004; 41: 139-146
- 20 Kato H, Orito E, Gish RG, Sugauchi F, Suzuki S, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Characteristics of hepatitis B virus isolates of genotype G and their phylogenetic differences from the other six genotypes (A through F). *J Virol* 2002; 76: 6131-6137
- 21 Mayerat C, Mantegani A, Frei PC. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? *J Viral Hepat* 1999; 6: 299-304
- 22 Magnus LO, Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirology* 1995; 38: 24-34
- 23 Liu CJ, Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Molecular epidemiology of hepatitis B viral serotypes and genotypes in taiwan. *J Biomed Sci* 2002; 9: 166-170
- 24 Watanabe K, Takahashi T, Takahashi S, Okoshi S, Ichida T, Aoyagi Y. Comparative study of genotype B and C hepatitis B virus-induced chronic hepatitis in relation to the basic core promoter and precore mutations. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 441-449
- 25 Song BC, Kim H, Kim SH, Cha CY, Kook YH, Kim BJ. Comparison of full length sequences of hepatitis B virus isolates in hepatocellular carcinoma patients and asymptomatic carriers of Korea. *J Med Virol* 2005; 75: 13-19
- 26 Tanaka Y, Hasegawa I, Kato T, Orito E, Hirashima N, Acharya SK, Gish RG, Kramvis A, Kew MC, Yoshihara N, Shrestha SM, Khan M, Miyakawa Y, Mizokami M. A case-control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. *Hepatology* 2004; 40: 747-755
- 27 Huy TT, Ushijima H, Quang VX, Ngoc TT, Hayashi S, Sata T, Abe K. Characteristics of core promoter and precore stop codon mutants of hepatitis B virus in Vietnam. *J Med Virol* 2004; 74: 228-236
- 28 Duong TN, Horiike N, Michitaka K, Yan C, Mizokami M, Tanaka Y, Jyoko K, Yamamoto K, Miyaoka H, Yamashita Y, Ohno N, Onji M. Comparison of genotypes C and D of the hepatitis B virus in Japan: a clinical and molecular biological study. *J Med Virol* 2004; 72: 551-557
- 29 Yuen MF, Tanaka Y, Mizokami M, Yuen JC, Wong DK, Yuan HJ, Sum SM, Chan AO, Wong BC, Lai

■ HBV基因型的研究是近年来的研究热点, 本文从基因型检测方法, 与血清型、基因变异以及抗病毒药物疗效的关系等角度进行了较为全面的阐述, 文中观点引证有据, 内容前沿, 文笔流畅, 有参考价值。

- CL. Role of hepatitis B virus genotypes Ba and C, core promoter and precore mutations on hepatocellular carcinoma: a case control study. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1593-1598
- 30 Leon B, Taylor L, Vargas M, Luftig RB, Albertazzi F, Herrero L, Visona K. HBx M130K and V131I (T-A) mutations in HBV genotype F during a follow-up study in chronic carriers. *Virol J* 2005; 2: 60
- 31 Franca PH, Gonzalez JE, Munne MS, Brandao LH, Gouvea VS, Sablon E, Vanderborght BO. Strong association between genotype F and hepatitis B virus (HBV) e antigen-negative variants among HBV-infected argentinean blood donors. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5015-5021
- 32 Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology* 2003; 46: 329-338
- 33 Lindh M, Hannoun C, Dhillon AP, Norkrans G, Horal P. Core promoter mutations and genotypes in relation to viral replication and liver damage in East Asian hepatitis B virus carriers. *J Infect Dis* 1999; 179: 775-782
- 34 Ni YH, Chang MH, Hsu HY, Tsuei DJ. Longitudinal study on mutation profiles of core promoter and precore regions of the hepatitis B virus genome in children. *Pediatr Res* 2004; 56: 396-399
- 35 Akuta N, Suzuki F, Kobayashi M, Tsubota A, Suzuki Y, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. The influence of hepatitis B virus genotype on the development of lamivudine resistance during long-term treatment. *J Hepatol* 2003; 38: 315-321
- 36 Kao JH. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Intervirology* 2003; 46: 400-407
- 37 Verschuere V, Yap PS, Fevery J. Is HBV genotyping of clinical relevance? *Acta Gastroenterol Belg* 2005; 68: 233-236
- 38 Lim CK, Tan JT, Khoo JB, Ravichandran A, Low HM, Chan YC, Ton SH. Correlations of HBV Genotypes, Mutations Affecting HBeAg Expression and HBeAg/ anti-HBe Status in HBV Carriers. *Int J Med Sci* 2006; 3: 14-20
- 39 Yotsuyanagi H, Okuse C, Yasuda K, Orito E, Nishiguchi S, Toyoda J, Tomita E, Hino K, Okita K, Murashima S, Sata M, Hoshino H, Miyakawa Y, Iino S. Distinct geographic distributions of hepatitis B virus genotypes in patients with acute infection in Japan. *J Med Virol* 2005; 77: 39-46
- 40 Zollner B, Petersen J, Puchhammer-Stockl E, Kletzmayer J, Sternecker M, Fischer L, Schroter M, Laufs R, Feucht HH. Viral features of lamivudine resistant hepatitis B genotypes A and D. *Hepatology* 2004; 39: 42-50
- 41 Sanchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodes J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002; 123: 1848-1856
- 42 Chen CH, Lee CM, Lu SN, Changchien CS, Eng HL, Huang CM, Wang JH, Hung CH, Hu TH. Clinical significance of hepatitis B virus (HBV) genotypes and precore and core promoter mutations affecting HBV e antigen expression in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 6000-6006
- 43 Sumi H, Yokosuka O, Seki N, Arai M, Imazeki F, Kurihara T, Kanda T, Fukai K, Kato M, Saisho H. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology* 2003; 37: 19-26
- 44 Flink HJ, van Zonneveld M, Hansen BE, de Man RA, Schalm SW, Janssen HL. Treatment with Peg-interferon alpha-2b for HBeAg-positive chronic hepatitis B: HBsAg loss is associated with HBV genotype. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 297-303
- 45 Erhardt A, Blondin D, Hauck K, Sagir A, Kohnle T, Heintges T, Haussinger D. Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut* 2005; 54: 1009-1013
- 46 Enomoto M, Tamori A, Nishiguchi S. Hepatitis B virus genotypes and response to antiviral therapy. *Clin Lab* 2006; 52: 43-47
- 47 Yuen MF, Wong DK, Sablon E, Yuan HJ, Sum SM, Hui CK, Chan AO, Wang BC, Lai CL. Hepatitis B virus genotypes B and C do not affect the antiviral response to lamivudine. *Antivir Ther* 2003; 8: 531-534
- 48 Westland C, Delaney W 4th, Yang H, Chen SS, Marcellin P, Hadziyannis S, Gish R, Fry J, Brosgart C, Gibbs C, Miller M, Xiong S. Hepatitis B virus genotypes and virologic response in 694 patients in phase III studies of adefovir dipivoxil. *Gastroenterology* 2003; 125: 107-116
- 49 Westland CE, Yang H, Delaney WE 4th, Gibbs CS, Miller MD, Wulfsohn M, Fry J, Brosgart CL, Xiong S. Week 48 resistance surveillance in two phase 3 clinical studies of adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2003; 38: 96-103
- 50 Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, Zeuzem S, Akarca US, Cakaloglu Y, Simon C, So TM, Gerken G, de Man RA, Niesters HG, Zondervan P, Hansen B, Schalm SW. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet* 2005; 365: 123-129

电编 李琪 编辑 潘伯荣