

厦门市乙型肝炎患者病毒基因型的分析

董菁, 任建林, 王琳, 卢雅丕, 林逊汀, 林振和, 林辉, 廉亚美

■背景资料

本文以多对型特异性引物-巢式PCR法检测厦门市乙型肝炎患者血清中HBV基因型的分布情况, 属于分子流行病学研究, 其目的是重点了解HBV在当地的基因型分布情况, 为进一步了解厦门同安地区原发性肝癌高发的原因寻找背景资料。

董菁, 任建林, 王琳, 卢雅丕, 林逊汀, 林振和, 林辉, 廉亚美, 厦门大学医学院附属中山医院消化内科 福建省厦门市 361004

董菁, 医学博士, 副教授, 副主任医师, 主要从事肝癌发病机制方面的研究。

厦门市首批重大疾病科研攻关项目, No. WKZ0501

厦门市卫生局医学科研立项项目, No. WSK0506

厦门大学引进人才科研启动基金, No. Z03109

通讯作者: 董菁, 361004, 福建省厦门市, 厦门大学医学院附属中山医院消化内科. dj1550@xmu.edu.cn

电话: 0592-2292017

收稿日期: 2006-04-06 接受日期: 2006-04-29

Preliminary study on hepatitis B virus genotypes in Xiamen city

Jing Dong, Jian-Lin Ren, Lin Wang, Ya-Pi Lu, Xun-Ting Lin, Zhen-He Lin, Hui Lin, Ya-Mei Lian

Jing Dong, Jian-Lin Ren, Lin Wang, Ya-Pi Lu, Xun-Ting Lin, Zhen-He Lin, Hui Lin, Ya-Mei Lian, Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital Affiliated to Medical College of Xiamen University, Xiamen 361004, Fujian Province, China

Supported by Xiamen Municipal Foundation for Major Diseases, No. WKZ0501, the Medical Research Granted Project of Xiamen Health Bureau, No. WSK0506, and the Scientific Research Launch Fund for Introduction of Talents into Xiamen University, No. Z03109

Correspondence to: Dr. Jing Dong, Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital Affiliated to Medical College of Xiamen University, Xiamen 361004, Fujian Province, China. dj1550@xmu.edu.cn

Received: 2006-04-06 Accepted: 2006-04-29

Abstract

AIM: To investigate the genotypes of hepatitis B virus (HBV) in Xiamen city by nested polymerase chain reaction (PCR) with multiplex pairs of genotype-specific primers.

METHODS: A total of 250 HBV-infected patients were included in this study. The serum samples were collected and the serum HBV DNA was used as templates. Ten outer and inner primers were designed on the basis of nucleotide sequences in the regions of Pre-S1 and S genes, of which 8 genotype-specific inner primers were divided into 2 groups: A and B. Genotype A, B, C or D, E, F of HBV were amplified, respectively. The genotypes of the second-round PCR

products were identified using agarose gel electrophoresis (30 g/L).

RESULTS: Of the 250 selected patients, 120 received the above genotyping successfully. There were 90 (75.0%) diagnosed with chronic hepatitis B, 7 (5.8%) with acute hepatitis B, 8 (6.7%) with liver cirrhosis, and 15 (12.5%) with hepatocellular carcinoma. Of the 120 cases, 58 (48.3%) were found with genotype B, 30 (25.0%) with genotype C and 32 (26.7%) with genotype B/C. In the patients with positive HBeAg, genotype B and B/C were confirmed in 63.8% and 21.9% of them, respectively. However, the patients with genotype B/C and B accounted for 68.8% and 25.9% of the anti-HBe-positive patients. There were significant differences between the 2 subgroups in the genotype distribution ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Genotype B prevails among HBV-infected patients in Xiamen city, and type B/C HBV infection a considerable problem.

Key Words: Hepatitis B virus; Genotype; Gene recombination; Nested polymerase chain reaction; Specific primer

Dong J, Ren JL, Wang L, Lu YP, Lin XT, Lin ZH, Lin H, Lian YM. Preliminary study on hepatitis B virus genotypes in Xiamen city. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(12):1376-1381

摘要

目的: 采用多对型特异性引物, 通过巢式PCR法检测厦门市乙型肝炎患者血清中乙型肝炎病毒(HBV)基因型的分布情况。

方法: 收集250例HBV感染患者血清, 提取血清中HBV DNA作为模板, 设计HBV前S1基因和S基因中区域内设计出10条内外引物, 并将其中8条型特异性内引物分成A、B两组, 分别扩增A、B、C和D、E、F型HBV, 然后将第2轮PCR产物以用30 g/L琼脂糖进行电泳, 根据PCR产物电泳显示的产物长度判定HBV基因型, 以了解厦门HBV基因型分布情况。

结果: 共120例确定了HBV基因型。患者群

中慢性乙型肝炎90例,占75.0%,急性乙型肝炎、肝炎肝硬化、原发性肝癌分别占5.8%(7/120)、6.7%(8/120)和12.5%(15/120)。分型结果: B型58例(48.3%)、C型30例(25.0%), B/C混合型32例(26.7%)。HBeAg阳性患者中B基因型占63.8%, B/C型混合感染21.9%; 抗-HBe阳性患者中以B/C型混合感染68.8%, B型25.9%, HBeAg阳性组与抗-HBe组之间比较发现B型和B/C混合型之间($P<0.05$)。

结论: 厦门乙型肝炎患者HBV基因型以B型为主, B/C混合感染是一个值得重视的问题。

关键词: 乙型肝炎病毒; 基因型; 基因重组; 巢式PCR法; 特异性引物

董菁, 任建林, 王琳, 卢雅丕, 林逊汀, 林振和, 林辉, 廉亚美. 厦门市乙型肝炎患者病毒基因型的分析. 世界华人消化杂志 2007;15(12):1376-1381

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/1376.asp>

0 引言

1988年, 日本学者Okamoto *et al*^[1]提出HBV基因型的概念, 之后学者提出HBV可分为8个基因型^[3-5], A型分布北欧和非洲, B型和C型主要在东亚, D型在中东、北非和南欧, E型在非洲, F型仅在南美, G型在中、北美洲和欧洲, H型在中、北美洲。国内研究提出, 北方城市以基因C型流行为主, 南方以基因B型为主, 少数民族地区和西藏地区则以D型为主^[6-13]。判断HBV基因型的方法以全基因测序合并生物信息学分析^[14]方法最为精确, 混合性型特异性引物聚合酶链反应(PCR)法^[15-16]、聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)法^[17-18]、微板核酸杂交ELISA法^[19]和抗体法血清分析法^[20]等各有特色。混合性型特异性引物聚合酶链反应法可操作性较好, 结果容易判读, 是目前国内研究者常用的方法^[10,12], 我们应用这种方法初步调查了厦门地区HBV基因型情况。

1 材料和方法

1.1 材料 2004-02/2005-09厦门大学附属中山医院消化科住院所有HBsAg阳性血清250例。男性171例, 女性79例, 患者群包括急性乙型肝炎、慢性乙型肝炎、肝炎肝硬化和原发性肝癌患者。PCR扩增仪(美国SABC公司), 血清病毒基因组抽提试剂盒购自北京天为公司; dNTP, PCR缓冲液、Taq酶、Marker 2000均为TaKaRa公司产品,

琼脂糖购自Promega公司; 引物由上海英骏公司合成。

1.2 方法 自静脉中采集全血5 mL, 分离血清, 200 μ L血清加入浓度为20 g/L蛋白酶K及其200 μ L蛋白酶K缓冲液, 55℃消化12 h, 按天为公司血清病毒基因组抽提试剂盒提供的方法提取HBV DNA, DNA -20℃保存备用。HBV基因型分析参考Naito *et al*^[15]设立的6种主要基因型分型方法, 建立HBV基因型的检测方法。简言之, 应用巢式-多引物-多聚酶链反应, 外引物: 上游引物序列: 5'-AGC ATG GGA GGT TGG TCT TC-3', 下游引物序列: 5'-AAG GCA TCA AGG CAG GAT AGC-3', 目的片段长度约1429 bp, 自前S1区起始处至S区终止子下游226 bp。A组内引物: 上游通用引物序列: 5'-GGC TCA AGT TCC GGA ACA GT-3', A基因型特异性下游引物: 5'-CTC GCG GAG ATT GAC GAG ATG T-3', B基因型特异性下游引物: 5'-CAG GTT GGT GAG TGA CTG GAG A-3', C基因型特异性下游引物: 5'-GGT CCT AGG AAT CCT GAT GTT G-3'; B组内引物: 下游通用引物序列: 5'-GGA GGC GGA TCT GCT GGC AA-3', D基因型特异性上游引物: 5'-GCC AAC AAG GTA GGA GCT-3', E基因型特异性上游引物: 5'-CAC CAG AAA TCC AGA TTG GGA CCA-3', F基因型特异性上游引物: 5'-GCT ACG GTC CAG GGT TAC CA-3'。由于G、H型未在亚洲被发现, 未安排这2种型别的检测。外引物扩增PCR程序: 94℃ 1 min预变性, 94℃ 1 min 30 s变性, 59℃ 1 min 30 s退火, 72℃ 2 min延长, 共30个循环, 72℃延长10 min。内引物扩增PCR程序参数如下: 94℃ 1 min预变性, 94℃ 30 s变性, 58℃ 30 s退火, 72℃ 30 s延长, 共35个循环。巢式PCR产物经过30 g/L琼脂糖凝胶电泳后判断HBV基因型。

2 结果

2.1 HBV基因型判别 通过两轮PCR进行扩增, B型PCR预计长度为251 bp, C型为121 bp, 经过30 g/L琼脂糖凝胶电泳后能清晰直观地辨别出HBV的基因型(图1), 混合感染是指电泳中可见清晰的两条PCR产物条带, 见图1A中X170和图1B中X175。本试验未检测出厦门地区HBV感染者体内有A, D, E, F型HBV病毒株的存在。试验组共250例, 经实验确定分型者120例(48.0%)。分型的120例患者中, 男性91例, 平均年龄39.71±6.36岁; 女性29例, 平均年龄43.28±4.16岁(两组

■研发前沿

本文以多对型特异性引物-巢式PCR法检测乙型肝炎患者血清中HBV基因型分布, 支持以往研究中发现的中国东南沿海地区以B型为主要流行基因型的结论, 同时也发现HBV感染群中存在较多的B/C混合性感染, 究竟是混合性感染还是HBV发生亚型间基因重组, 需要进一步研究。

■创新盘点

本文丰富了大陆地区HBV基因型分布的数据,有助于描绘全国HBV基因型流行病学图谱,进一步工作将着重于HBV B/C混合感染的原因以及不同型别与疾病进展关系的研究。

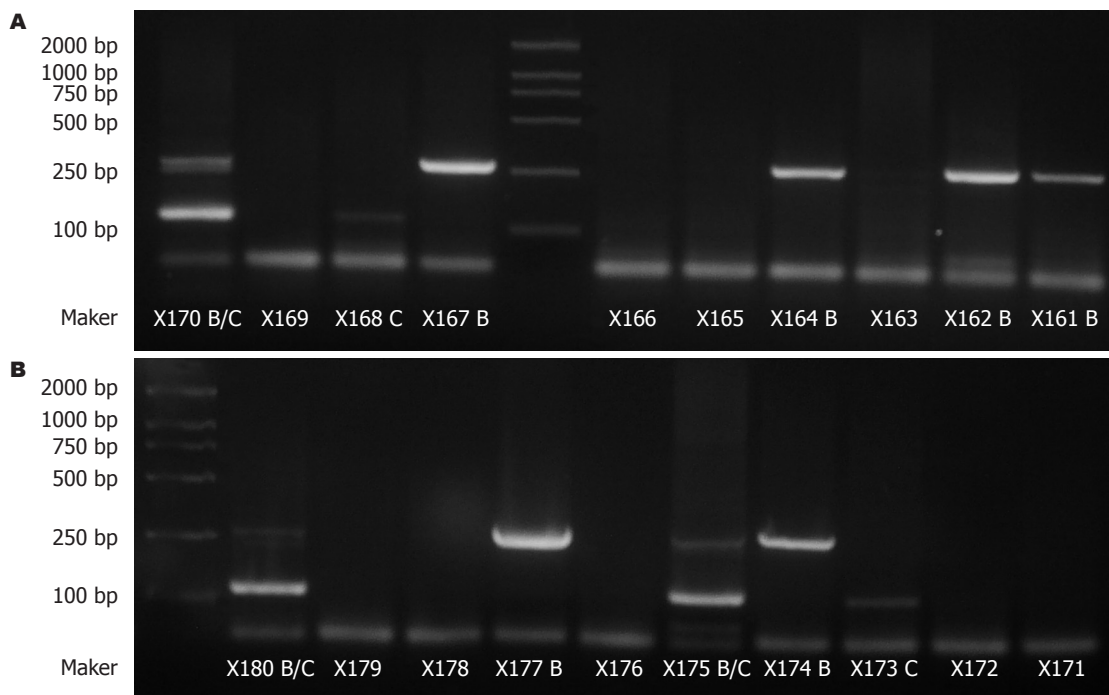


图1 混合性型特异性引物巢始PCR产物电泳图。

表1 HBV基因型性别分布与HBeAg/抗-HBe标志物的关系(n, %)

指标	B	C	B/C混合感染	合计
男	42 (72.4)	23 (76.7)	26 (81.3) ¹	91 (75.8) ²
女	16 (27.6)	7 (23.3)	6 (18.7)	29 (24.2)
HBeAg阳性	37 (63.8)	13 (43.3)	7 (21.9) ²	57 (47.5)
抗-HBe阳性	15 (25.9)	15 (50.0)	22 (68.8)	52 (43.3)
HBeAg/抗-HBe均阴性	5 (8.6)	2 (6.7)	2 (6.2)	9 (7.5)
HBeAg/抗-HBe均阳性	1 (1.7)	0 (0)	1 (3.1)	2 (1.7)
急性乙型肝炎	4 (6.9)	2 (6.7)	1 (3.1)	7 (5.8)
慢性乙型肝炎	47 (81.0)	22 (73.3)	21 (65.6)	90 (75.0)
肝炎肝硬化	3 (5.2)	1 (3.3)	4 (12.5)	8 (6.7)
原发性肝癌	4 (6.9)	5 (16.7)	6 (18.8)	15 (12.5)
总计	58	30	32	120

¹ $P = 0.34$, 男女分型之间无差别; ² HBeAg阳性组与抗-HBe阳性组相比, 其B型与B/C混合型分布的比较有明显差异, $P < 0.05$ 。

相比, $P = 0.34$); 分型组中, 急性乙型肝炎7例, 慢性乙型肝炎90例, 肝炎肝硬化8例, 原发性肝癌15例。120例分型结果为: B型58例(48.3%), C型30例(25.0%), B/C混合型32例(26.7%)。

2.2 HBV基因型分布特征 120例患者HBV基因分型结果中, 男91例, 女29例, 性别之间的型别分布没有差异(表1)。HBeAg阳性组中以B基因型比较多见, 为30.8%(37/120), B/C型混合感染占5.8%(7/120); 抗-HBe阳性患者中以B/C型混合感染多见18.3%(22/120), B型少见12.5%(12/120)。上述2组之间的比较B型与B/C型分布之间具有

明显差异($P < 0.05$, 表1)。

2.3 HBV基因型与疾病进展的关系 诊断标准为2000年西安会议《病毒性肝炎防治方案》(试行)标准^[21]。结果发现, 本组收集到的HBV DNA阳性的血清中, 仅有7例急性乙型肝炎, 8例肝炎肝硬化, 15例原发性肝癌, 基因型分布没有统计学差异, 但肝炎肝硬化与原发性肝癌患者中B/C混合感染比例略高于B, C单独感染(表1)。

3 讨论

HBV是嗜肝DNA病毒科的原型病毒, HBV的

高变异性与其独特的生活史有关.在DNA病毒群中,只有HBV和花椰菜镶嵌病毒(cauliflower mosaic virus)生活史中,必须经过RNA中间体阶段,之后在经历逆转录过程,方可形成子代HBV基因组^[22].由于在此过程中,逆转录酶并不具有校读功能,即缺少3'-5'酶切功能,因而造成母代与子代病毒基因组之间具有细微的编码变异现象,这种两代之间的差异率较其他DNA病毒要明显为高. Okamoto *et al*^[23]早年的研究结果认为HBeAg阳性的患者体内HBV基因组内部替换率为 10^{-5} /年,这个数据高于一般DNA病毒基因组突变率,但低于RNA病毒基因组突变率.这种病毒母代与子代之间的差异可能是病毒进化的一种方式,而HBV基因型就是进化的阶段性结果^[24].

通过比较病毒学研究方法, Okamoto *et al*^[1]于1988年提出以一种不同于以往HBV血清型分型方式,将当时的HBV病毒群分为4个基因型,分别命名为A、B、C、D型. 1994年Norder *et al*^[2]发现E、F基因型, 2000年Stuyver *et al*^[3]发现G型, 2000年Arauz-Ruiz *et al*^[4]发现H型. 2002年之后,有实验室提出基因型之下可以被细化分为新的亚基因型, Kramvis *et al*^[25]提出存在A'型; 2003年Sugauchi *et al*^[26]提出B型内可分为Ba和Bj两种亚型; 2004年Huy *et al*^[27]提出基因型C型可以至少被分为2个亚型,即C1和C2型. 魏来^[28]总结了近年关于HBV基因型研究的进展,各地学者分别提出HBV基因型的亚型分布,关于HBV基因型的研究有进一步精细划分的趋势,这也是各地域学者进一步分子流行病学调查的重点.

目前而言,有5种主要方法进行HBV基因型分型,即全基因组测序结合生物信息学分析^[14],混合性型特异性引物PCR法^[15-16],PCR-RFLP法^[17-18],微板核酸杂交ELISA法^[19]和抗体法血清分析法^[20],HBV基因组测序结合生物信息学分析是最可靠的分型方法,也是新基因型确定的唯一方法,但实验耗费时间,需要较高的技术和分析软件.目前研究常用的是相对简便的混合性型特异性引物PCR法优点是操作简便,判读容易,在诊断重叠感染方面有优势,但单核苷酸多态性(SNP)可能导致实验失败,并且不能判断新的基因型.我们采用后一种分法对厦门市HBV基因型进行了分析,研究发现120例患者体内的HBV基因型以B型为主,占48.3%,C型占25.0%,B/C混合感染占26.7%. 2003年胡盈莹 *et al*^[11]曾经对福建省部分地区HBV基因型进行分析,应用的是PCR-RFLP法,当时检测了431份患者血

清, B型占63.8%, C型占23.2%, D型和混合感染占11.8%;其中涉及厦门24例,其中B型15例, C型6例, D型3例.他们与我们的结果有一定差异,表现B型所占的比例大于我们的报道,这可能与样本量过少有关.我们的研究支持南方以B基因型为主要流行型别的结论,也支持B、C基因型为中国大陆主要流行基因型的结论.国内文献[7,11]提出D基因型少量存在于中国大陆HBV感染患者群中,在新疆地区D型所占比例可高达17.07%^[29],但我们没有在本组资料中发现A、D、E、F基因型的存在,这与温志立 *et al*^[10]的报道相一致.

我们的研究提示,厦门地区的HBV患者血清中检验出B/C混合感染在患者群中所占的比例较高,混合感染占26.7%,超过了C基因型的感染比例.董菁 *et al*^[12-13]早先小样本北京HBV感染者的资料分别提示B/C混合感染占33.3%(5/15)和17.6%(3/17).马金春 *et al*^[30]报道应用PCR微板核酸杂交-ELISA技术检测湖北黄石地区HBV基因型报道B/C混合感染占5.2%(8/153);谷鸿喜 *et al*^[8]应用本报道采用的方法,发现东北地区B/C混合感染占3.0%(14/464),均少于本组报道B/C混合感染所占比例.许正锯 *et al*^[31]在泉州地区的报道发现混合感染主要以B/D、C/D混合型为主,未见B/C混合感染,跟我们的报道不同,需要进一步地区间比对研究.温志立 *et al*^[10]应用混合性型特异性引物PCR法在湖南地区,黄晶 *et al*^[6]应用巢式PCR-RFLP的基因分型方法在广东地区报道的结果均未发现B/C混合感染的存在,究竟是地域原因还是研究方法原因还需要进一步探讨. Bartholomeusz *et al*^[32]比较了目前HBV基因型分型的5种主要方法,认为混合性型特异性引物PCR法的优势就是易于诊断重叠感染方面.我们的研究提出一个问题: B/C混合感染是一种普遍现象,排除混合性型特异性引物PCR法导致的一种误差外,需要进一步探讨B/C形成原因.

1996年, Bollyky *et al*^[33]比较了25株HBV病毒全基因组序列后认为2株存在基因型之间基因重组现象,分别为A/D和B/A重组,由此提出HBV基因重组概念; 2000年, Morozov *et al*^[34]比较了99株HBV病毒全基因组序列,发现其中9株具有亚型间重组(intertypic recombination)特点,这之中有3例为A/D重组,其余6例为B/C重组,均来源于东亚地区.上述研究结果提示HBV基因型之间重组是一个并不少见的现象. 2003

■名词解释

亚型间重组:是指HBV不同基因型之间存在基因片段交换,其机制尚不清楚.

同行评价

本文以“混合性型特异性引物聚合酶链反应法”对厦门地区250例乙肝血清进行了病毒基因型的鉴定,实验设计合理,结果可靠,写作规范,讨论较有深度,有较高的流行病学价值。

年Sugauchi *et al*^[26]提出东南亚地区存在的Ba亚型起特点就是B/C基因型重组。结合本研究结果,我们认为在中国大陆B或者C型HBV需要进一步分析,应用混合性型特异性引物PCR法检测出的B/C混合感染病毒株中,可能混有未发现的B/C基因重组亚型病毒株。

总之,我们的研究提示,B型是厦门地区HBV病毒主要流行型别,B/C混合感染占患者群的26.7%,其中可能存在B/C基因型重组病毒株,需要进一步研究。由于中国地域广大,HBV感染人群众多,仍需要各地对当地流行的HBV基因型进行分析报道,以便综合反映国内HBV感染全貌。

参考文献

- 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
- Norder H, Courouce AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994; 198: 489-503
- 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
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002; 83: 2059-2073
- Cui C, Shi J, Hui L, Xi H, Zhuoma, Quni, Tsedan, Hu G. The dominant hepatitis B virus genotype identified in Tibet is a C/D hybrid. *J Gen Virol* 2002; 83: 2773-2777
- 黄晶, 高志良. 乙型肝炎病毒基因型及其临床意义的研究. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1362-1364
- 夏国良, Nainan OV, 贾志远, 刘洪斌, 罗述斌, 李荣成, 曹慧霖, 刘崇柏, Margolis HS. 乙型肝炎病毒基因型和血清亚型在我国部分地区的分布及其特点. 中华流行病学杂志 2001; 22: 348-351
- 谷鸿喜, 徐子龙, 刘建宇, 钟照华, 王华庆, 张淑云, 李迪, 张海红, 阿部贤治. 多引物对巢式PCR法检测HBV基因型的流行病学分析. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1073-1076
- 李迪, 张淑云, 谷鸿喜, 程险峰, 王晓燕. 黑龙江地区乙型肝炎病毒耐药变异与基因型. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1696-1699
- 温志立, 谭德明. 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病病毒基因型. 世界华人消化杂志 2004; 12: 332-335
- 胡盈莹, 江家骥, 欧文湖, 林国贤, 苏智军, 刘家俊, 李勤光, 姚履枫, 林彩文, 李丹, 陈怡. 福建省部分地区乙型肝炎病毒基因型分布及其临床意义的探讨. 中西医结合肝病杂志 2003; suppl: 3-8
- 杨倩, 董菁, 成军. 乙型肝炎病毒基因组前-前-S基因区的分子流行病学研究. 世界华人消化杂志 2004; 12: 785-789
- 董菁, 杨倩, 成军. 乙型肝炎病毒基因组前-X区的分子流行病学研究. 世界华人消化杂志 2004; 12: 794-800
- Norder H, Hammas B, Lee SD, Bile K, Courouce AM, Mushahwar IK, Magnius LO. Genetic relatedness of hepatitis B viral strains of diverse geographical origin and natural variations in the primary structure of the surface antigen. *J Gen Virol* 1993; 74 (Pt 7): 1341-1348
- 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
- Kirschberg O, Schuttler C, Repp R, Schaefer S. A multiplex-PCR to identify hepatitis B virus-genotypes A-F. *J Clin Virol* 2004; 29: 39-43
- Lee CM, Chen CH, Lu SN, Tung HD, Chou WJ, Wang JH, Chen TM, Hung CH, Huang CC, Chen WJ. Prevalence and clinical implications of hepatitis B virus genotypes in southern Taiwan. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 95-101
- Kato H, Ruzibakiev R, Yuldasheva N, Hegay T, Kurbanov F, Achundjanov B, Tuichiev L, Usuda S, Ueda R, Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes in Uzbekistan and validity of two different systems for genotyping. *J Med Virol* 2002; 67: 477-483
- Teles SA, Martins RM, Vanderborcht B, Stuyver L, Gaspar AM, Yoshida CF. Hepatitis B virus: genotypes and subtypes in Brazilian hemodialysis patients. *Artif Organs* 1999; 23: 1074-1078
- Usuda S, Okamoto H, Iwanari H, Baba K, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Serological detection of hepatitis B virus genotypes by ELISA with monoclonal antibodies to type-specific epitopes in the preS2-region product. *J Virol Methods* 1999; 80: 97-112
- 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华传染病杂志 2001; 19: 56-62
- Seeger C. Hepadnavirus replication. In *Molecular Biology of the Hepatitis B Virus*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1991: 213-226
- Okamoto H, Imai M, Kametani M, Nakamura T, Mayumi M. Genomic heterogeneity of hepatitis B virus in a 54-year-old woman who contracted the infection through materno-fetal transmission. *Jpn J Exp Med* 1987; 57: 231-236
- Simmonds P. The origin and evolution of hepatitis viruses in humans. *J Gen Virol* 2001; 82: 693-712
- Kramvis A, Weitzmann L, Owiredu WK, Kew MC. Analysis of the complete genome of subgroup A' hepatitis B virus isolates from South Africa. *J Gen Virol* 2002; 83: 835-839
- Sugauchi F, Orito E, Ichida T, Kato H, Sakugawa H, Kakumu S, Ishida T, Chutaputti A, Lai CL, Gish RG, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Epidemiologic and virologic characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with genotype C. *Gastroenterology* 2003; 124: 925-932
- Huy TT, Ushijima H, Quang VX, Win KM, Luengrojanakul 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
- 魏来. 乙型肝炎病毒的基因型: 研究的进展, 临床的方向. 中华医学杂志 2005; 85: 1160-1161
- 董梅, 张跃新. 乙型肝炎病毒基因型分布及临床意义. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 56-57
- 马金春, 李新建, 王鲁文, 廖勇峰, 胡希亚, 王琰, 王桂珍, 龚作炯. 黄石地区乙型肝炎病毒基因型分布及其

- 31 临床相关性. 世界感染杂志 2005; 5: 371-374
- 32 许正锯, 黄以群, 张启华, 杨红, 陈先礼, 王崇国. 泉州地区乙型肝炎病毒基因型分布特点及临床意义. 中华传染病杂志 2004; 22: 393-395
- 33 Bartholomeusz A, Schaefer S. Hepatitis B virus genotypes: comparison of genotyping methods. *Rev Med Virol* 2004; 14: 3-16
- 34 Bollyky PL, Rambaut A, Harvey PH, Holmes EC. Recombination between sequences of hepatitis B virus from different genotypes. *J Mol Evol* 1996; 42: 97-102
- 35 Morozov V, Pisareva M, Groudinin M. Homologous recombination between different genotypes of hepatitis B virus. *Gene* 2000; 260: 55-65

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第七届全国消化道恶性病变介入诊疗暨第四届 消化介入新技术研讨会会议及征文通知

本刊讯 第七届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会是卫生部“十年百项”适宜技术推广、上海市重大医学成果转化及国家级继续医学教育项目, 为进一步提升国内消化系统疾病尤其是消化道恶性病变介入诊治的技术水平, 我们联合上海同仁医院、山东省立医院和山东省医学影像研究所, 定于2007-09-21/25在山东省济南市举办第七届全国消化道恶性病变介入诊疗暨消化介入新技术研讨会, 参会者可获得国家级一类继续医学教育学分12分. 会议将以专题讲座、论文交流、操作演示及研讨沙龙多种形式相结合, 安排相关学科的著名专家着重介绍消化道病变内镜治疗、介入放射学治疗、外科治疗、肿瘤化学治疗的新理论、新技术和新方法.

1 征文内容

包括消化道恶性病变内镜治疗、介入放射治疗、外科治疗、肿瘤化学治疗、生物治疗及免疫治疗等. 消化系统良性病变如门静脉高压、胆道结石、消化道出血等的内镜及介入新技术应用. 消化病诊治边沿交叉学科与消化介入诊治新技术相关的论著、文献综述、临床经验、个案报告等各类稿件.

2 征文要求

专题讲座由组委会约稿, 也可自荐, 需全文. 论著需1000字以内的标准论文摘要, 经验交流、短篇报道等全文限1000字以内. 所有稿件内容应科学、创新、实用、数据准确, 书写规范, 稿件应是未发表过的论文, 优秀论文将安排在国家级杂志上发表. 所有稿件一律要求电脑打印(WORD格式), 邮寄者需附软盘; 特别鼓励用E-mail投稿(用附件WORD格式). 截稿日期: 2007-07-31. 征集疑难病例: 会议将安排专门时间研讨疑难病例, 欢迎与会代表将临床中遇到的疑难病例带到会上讨论. 通信地址: 山东省立医院消化科张春清收, 济南市经五路纬七路324号, 邮编: 250021. 联系电话: 0531-85186350, 86701337; 传真: 0531-87902348; E-mail: zhchqing@medmail.com.cn.