

HBsAg 阳性母亲 HBV 核心启动子突变与宫内传播的关系

武佳欣¹ 杨志清¹ 张睿君¹ 李雁笛¹ 赵甜静¹ 扈琳琳¹ 冯永亮¹ 丰淑英²
汪波² 王素萍¹

¹山西医科大学流行病学教研室,太原 030001; ²山西省太原市第三人民医院妇产科 030001

通信作者:王素萍, Email: spwang88@163.com; 冯永亮, Email: fengyongliang048@163.com

【摘要】目的 分析 HBV 为 C 基因型的 HBsAg 阳性母亲核心启动子 (BCP) 区突变与宫内传播的关系。**方法** 2011 年 6 月至 2013 年 7 月太原市第三人民医院妇产科 HBsAg 阳性母亲及新生儿 399 对。收集一般人口学资料,采用荧光定量 PCR 和电化学发光法分别检测母婴血清 HBV DNA 及 HBV 血清学标志物。选择 HBV DNA 载量 $\geq 10^6$ IU/ml 的 113 例母亲为研究对象,其新生儿发生宫内传播的 22 例为宫内传播组,随机选取其中 22 例未发生宫内传播者作为对照组,母亲 HBV DNA 经提取、扩增、克隆、测序和序列编辑及剪接后与从 NCBI 下载的标准序列比对进行基因分型,最终选择 C 基因型的 39 例母亲进行突变分析。**结果** HBV 为 C 基因型 (88.63%) 的母亲共 39 例,其中宫内传播组 19 例,对照组 20 例。母亲 A1762T/G1764A 双突变率在两组差异显著 (7.53% vs. 27.72%, $P < 0.001$)。非条件 logistic 回归分析显示 A1762T/G1764A 双突变可能是宫内传播的保护因素 ($aOR = 0.065, 95\%CI: 0.006 \sim 0.746, P = 0.028$)。母亲 A1762T/G1764A 双突变可能与新生儿 HBeAg 水平有关 ($P = 0.050$)。**结论** HBV C 基因型的 HBsAg 阳性母亲 HBV DNA BCP 区 A1762T/G1764A 双突变可能降低 HBV 宫内传播的风险。

【关键词】 乙型肝炎病毒宫内传播; 核心启动子; HBs 抗原; HBe 抗原; A1762T/G1764A

基金项目: 国家自然科学基金 (81573212, 81872677); 传染病预防控制国家重点实验室自主研究课题 (2017SKLID306, 2018SKLID310)

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200224-00163

Relationship between mutations of HBV basal core promoter region in HBsAg-positive mothers and intrauterine transmission

Wu Jiaxin¹, Yang Zhiqing¹, Zhang Ruijun¹, Li Yandi¹, Zhao Tianjing¹, Yi Linzhu¹, Feng Yongliang¹, Feng Shuying², Wang Bo², Wang Suping¹

¹Department of Epidemiology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; ²Department of Obstetrics and Gynaecology, the Third People Hospital of Taiyuan City, Taiyuan 030001, China

Corresponding authors: Wang Suping, Email: spwang88@163.com; Feng Yongliang, Email: fengyongliang048@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between maternal mutations in basal core promoter region of hepatitis B virus (HBV) genotype C and intrauterine transmission. **Methods** We collected information on general demographic characteristics and process of delivery among 399 pairs of consecutive HBsAg-positive mothers and their neonates, from the Third People's Hospital of Taiyuan in Shanxi province, China. Fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) and Electro-chemiluminescence immuno-assay (ECLIA) kits were used to detect both maternal and neonatal HBV DNA and serological markers in the peripheral blood. From 113 mothers with HBV DNA load $\geq 10^6$ IU/ml, we selected 22 mothers whose neonates were with intrauterine transmission and randomly selected the same number of mothers whose neonates were without intrauterine transmission, as controls. The whole-length HBV DNA were extracted, amplified, cloned, sequenced and genotyped. Finally, a total of 39 mothers with genotype C of HBV were selected for mutation analysis. **Results** Thirty-nine cases of genotype C (88.63%) were finally included in the study, with

19 cases in the intrauterine transmission group and 20 cases as controls. Rates of A1762T/G1764A double mutations were significantly different between the intrauterine transmission group and the control group (7.53% vs. 27.72%, $P < 0.001$). Results from the multivariate analysis showed that the A1762T/G1764A double mutations had reduced the risk of intrauterine transmission ($aOR = 0.065$, 95%CI: 0.006–0.746, $P = 0.028$). Maternal A1762T/G1764A double mutations appeared to be possibly associated with neonatal HBeAg ($P = 0.050$). **Conclusion** A1762T/G1764A double mutations of HBV DNA from the genotype C of those HBsAg-positive mothers could reduced the risk of HBV intrauterine transmission during pregnancy.

【Key words】 Intrauterine transmission; Basal core promoter; HBsAg; HBeAg; A1762T/G1764A

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81573212, 81872677); Open Project Supported by State Key Laboratory of Infectious Disease Prevention and Control (2017SKLID306, 2018SKLID310)

DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20200224-00163

HBV 属于部分双链环状 DNA 病毒,全长约 3.2 kb^[1]。由于前基因组 RNA (Pre-genomic RNA, pg RNA) 在反转录过程中缺乏校对功能而使 HBV 具有高变异率^[2-3]。HBV 有 4 个开放阅读框(ORF),分别为 S 基因、C 基因、P 基因及 X 基因。其中 C 基因包括前 C (pre-core, Pre-C) 区和 C (core, C) 区,分别编码 HBcAg 和 HBeAg。位于 X 基因的 BCP 区编码 X 蛋白(HBxAg)及调控 HBeAg 的表达^[1,4-7]。在影响 HBeAg 表达的基因区中,BCP 区与 Pre-C 区的突变最常见^[8]。HBV DNA 载量高的孕妇即使采取免疫预防措施,HBV DNA、HBeAg 等血清学标志物及亚病毒颗粒等仍可能通过胎盘进入胎儿体内,发生 HBV 宫内传播^[9-10]。HBV 宫内传播是母婴传播方式之一,是我国慢性乙型肝炎(CHB)的主要原因^[11-13]。目前约 90% 慢性 HBV 感染的成年人在婴儿期甚至更早的阶段便已感染 HBV^[14-16],而孕期胎儿体内 HBV 水平和特征可能影响这一过程。HBsAg 阳性的育龄期妇女是宫内传播的高危人群。故了解 HBsAg 阳性母亲 HBV DNA 的变异特征,将有助于解释 HBeAg 对宫内传播发生的影响。

HBV DNA 突变因基因型不同而异。B 基因型与 C 基因型在中国最常见,主要以垂直传播方式为主^[17]。B 基因型主要分布于中国中南部,C 基因型主要分布于中国北方^[18]。C 基因型的 Pre-C 区、C 区及 BCP 区的突变率高于 B 基因型^[8,19-20]。故本研究拟从 C 基因型的 HBsAg 阳性母亲入手,分析母亲 HBV DNA 变异情况及在宫内传播的作用,以期降低我国由 HBV 母婴传播所致 HBV 感染率提供依据。

资料与方法

1. 资料及标本收集:共收集 399 对 2011 年 6 月至 2013 年 7 月在太原市第三人民医院妇产科分娩的 HBsAg 阳性母亲及新生儿。初选标准为 HBsAg 阳性和单胎妊娠。本研究经山西医科大学伦理委员会

批准,所有研究对象均签署知情同意书。由经过培训的调查员对入选母亲进行问卷调查及翻阅电子病历获取母儿基本情况,采集母亲分娩前 24 h 内肘静脉血及新生儿出生后 24 h 内,主/被动免疫前股静脉血各 3 ml,及时分装血清后于 -80 °C 冰箱保存。

2. 血清 HBV DNA 及 HBV 血清学标志物检测:采用荧光定量聚合酶链式反应(FQ-PCR,试剂盒购自湖南圣湘生物科技有限公司)定量检测母儿血清 HBV DNA,HBV DNA ≥ 200 IU/ml 为阳性^[21-22]。采用电化学发光法(ECLIA)检测母儿 HBV 血清学标志物(试剂盒购自德国罗氏诊断有限公司),HBsAg ≥ 1.00 COI, HBeAg ≥ 1.00 COI 为阳性。所有操作严格按照说明书进行。

HBV 宫内传播判定标准:新生儿出生 24 h 内且主/被动免疫前,股静脉血 HBsAg 阳性和/或 HBV DNA 阳性者判定为 HBV 宫内传播^[2,23-24]。

3. 母亲 HBV DNA 提取及扩增:由于 HBV DNA 扩增及后续的基因测序过程要求高载量的 HBV DNA,故选择 HBV DNA 载量 $\geq 10^6$ IU/ml 的母儿共 113 对作为研究对象,其中新生儿发生宫内传播的 22 对母儿作为宫内传播组,采用单纯随机化的方法使用随机种子程序随机选取相同特征且未发生宫内传播的 22 对母儿作为对照组。HBV DNA 的提取严格按照 QIAamp DNA 提取试剂盒说明书进行(德国 QIAGEN 公司)。按单、双链分别扩增,PCR 反应体系:3 μ l HBV DNA 模板,10 μ l 5 \times TransStart[®] FastPfu Buffer,4 μ l dNTPs,1 μ l TransStart[®] FastPfu DNA 聚合酶(试剂购自北京 TransGen 生物技术有限公司),30 μ l 超纯水及 1 μ l 引物(引物由上海生物工程股份有限公司设计)。单链引物 DF:5' -GTCTGCGGCGTTTTATC-3'/DR:5' -AAGTTG CATGGTGCTGGTGA-3';双链引物 SF:5' -TCACC TCTGCCTAATCATCTCATG-3'/SR:5' -GCAAAGC CCAAAGACCCACAAT-3'。PCR 反应条件:

94 °C 5 min; 94 °C 30 s; 55 °C 30 s; 68 °C 单链 80 s/双链 110 s(2~4 步循环 35 次); 68 °C 10 min。

4. 母亲 HBV DNA 测序及基因型确定: PCR 产物经回收纯化后连接 pEASY-Blunt Zero Cloning 载体, 转入 Trans1-T1 噬菌体抗性化学感受态细胞(北京 TransGen 生物技术有限公司)进行细菌培养, 菌液送上海生物工程股份有限公司测序。由于基因组的异质性, 故根据菌落培养结果, 获取单双链各 3~7 条克隆株不等。所得 HBV 序列经编辑(DNAStar 软件包), 拼接(SeqMan 软件), 位置调整(Mega 6.0 软件包)后采用邻接(Neighbor-joining)法构建系统进化树(Kimura 双参数模型, 1 000 次验证)。通过与 NCBI 数据库下载的标准序列比对进行基因分型。根据基因分型结果选择 HBV 基因型为 C 基因型的 39 例母亲进行突变分析(HBV 基因型标准序列编号: Genotype A: AF090842, X02763, X51970; Genotype B: D00329, AB073846, AB602818; Genotype C: AB014381, M12906, X04615; Genotype D: M32138, X65259, X85254; Genotype E: X75657, AB032431; Genotype F: AB036910, AF223965, X69798; Genotype G: AF405706, AB064310, AF160501; Genotype H: AY090454, AY090457, AY090460)。

5. HBV 序列突变分析: 从 NCBI 下载 HBV 野生型参考序列并校正(ClustalX 2.1 程序, MegAlign 软件)。与参考序列相比, 样本序列中核苷酸(位点)改变即为点突变。突变率为位点发生突变的克隆条数/总克隆条数, 超过 10% 的位点突变率即为突变热点。

6. 统计学分析: 使用 EpiData 3.1 软件进行数据库建立及数据录入, 采用 SAS 9.4 软件进行数据分析。定量资料的统计描述用中位数和四分位数间距 $M(Q_R)$ 表示, 组间比较用 Wilcoxon 符号秩检验。定性资料的分析采用 χ^2 检验或 Fisher's 确切概率法。采用非条件 logistic 回归模型进行多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 确定 HBV C 基因型的母亲: 在血清 HBV DNA 载量 $\geq 10^6$ IU/ml 的 113 例 HBsAg 阳性母亲中, 22 例新生儿发生宫内传播(宫内传播组), 宫内传播率为 19.47%(22/113)。从未发生宫内传播的 91 对母子随机选取 22 对作为对照组。基因型分析结果显示 44 例母亲中 C 基因型有 39 例(88.63%), B 基因型有 2 例(4.55%), B/C 混合型有 3 例(6.82%)。选择 C 基因型的 39 例 HBsAg 阳性母亲进一步进行基因

变异分析。经 HBV DNA 扩增测序后共得到 388 条克隆序列, 克隆株(9.9±1.3)条。其中 HBV 宫内传播组 19 例样本共 186 条, 克隆株为(9.8±1.8)条; 对照组 20 例样本共 202 条, 克隆株为(10.1±0.4)条, 尚未发现两组 HBV DNA 的克隆条数差异有统计学意义[(9.8±1.8)条 vs. (10.1±0.4)条, $P=0.447$]。

2. HBsAg 阳性母亲及新生儿一般情况比较: 比较宫内传播组及对照组母子一般人口学特征, 尚未发现母亲年龄及孕周、新生儿性别、出生体重及出生身长等方面在两组间差异有统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 HBV C 基因型的 39 对母子人口统计学特征

| 宫内传播 | 例数 | 母亲 | | 新生儿 | | |
|------------------|----|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | 年龄(岁) | 孕周 | 性别(男/女) | 体重(kg) | 身长(cm) |
| 是 | 19 | 25.0(3.0) | 39.0(2.0) | 10/9 | 3.3(0.6) | 50.0(1.0) |
| 否 | 20 | 26.0(3.0) | 38.0(2.0) | 10/10 | 3.2(0.5) | 50.0(1.5) |
| Z ² 值 | | -2.40 ^a | 0.68 ^a | 0.03 ^b | 0.46 ^a | 1.03 ^a |
| P 值 | | 0.051 | 0.496 | 0.870 | 0.642 | 0.303 |

注: 括号外数据为中位数, 括号内数据为四分位数间距^aWilcoxon 符号秩检验; ^b χ^2 检验

3. HBsAg 阳性母亲及新生儿 HBV 复制情况比较: 通过比较宫内传播组及对照组母亲 HBV DNA 载量和 HBeAg 水平, 结果显示母亲的血清 HBV DNA 和 HBeAg 水平在两组间差异无统计学意义($P=0.747$, $P=0.565$)。通过比较宫内传播组及对照组新生儿 HBeAg 水平, 未发现两组间差异有统计学意义($P=0.725$)。见表 2。

表 2 HBV C 基因型的 39 对母子 HBV 复制情况

| 宫内传播 | 例数 | HBsAg 阳性母亲 | | 新生儿 |
|------------------|----|------------------------------|------------------|----------------|
| | | HBV DNA(10^6) (IU/ml) | HBeAg (COI) | HBeAg (COI) |
| 是 | 19 | 92.96(150.48) | 983.90(551.20) | 84.50(97.26) |
| 否 | 20 | 49.38(122.69) | 1 015.00(338.85) | 72.09(98.33) |
| Z 值 ^a | | 0.32 | -0.58 | -0.35 |
| P 值 | | 0.747 | 0.565 | 0.725 |

注: 括号外数据为中位数, 括号内数据为四分位数间距^aWilcoxon 符号秩检验

4. 影响 HBeAg 表达的基因区位点突变分析: 在 C 基因区发现的 8 个碱基突变热点编码的氨基酸未发生改变, 即均为同义突变。在 BCP 区中发现 A1762T/G1764A 双突变热点能引起相应编码氨基酸的改变(K130M/V131I)。A1762T/G1764A 双突变率为 18.04%(70/388), 且发生在对照组的 A1762T/G1764A 双突变率显著高于宫内传播组(27.72% vs. 7.53%, $P < 0.001$)。Pre-C 基因区未发现碱基突变热点。见表 3。

5. HBV 宫内传播多因素 logistic 回归分析: 本次

表3 Pre-C/C/BCP区碱基突变热点与HBV宫内传播的关系

| 基因区 | 碱基突变 | 宫内传播组 | 对照组 | χ^2 值 | P值 | 编码氨基酸 |
|-------|----------------|----------------|----------------|------------|--------|-------------|
| Pre-C | - ^a | - ^a | - ^a | - | - | - |
| C | G1915A | 36(19.35) | 40(19.80) | 0.01 | 0.912 | - |
| | T2005A | 24(12.90) | 52(25.74) | 10.13 | 0.001 | - |
| | G2011A | 10(5.38) | 40(19.80) | 17.95 | <0.001 | - |
| | T2044C | 108(58.06) | 22(10.89) | 96.72 | <0.001 | - |
| | G2080T | 108(52.94) | - ^a | - | - | - |
| | T2201C | 128(68.82) | 50(24.75) | 75.72 | <0.001 | - |
| | G2260A | 112(60.22) | 20(9.90) | 109.21 | <0.001 | - |
| | T2245C | 102(54.84) | 10(4.95) | 117.37 | <0.001 | - |
| BCP | A1762T/G1764A | 14(7.53) | 56(27.72) | 26.71 | <0.001 | K130M/V131I |

注:^a未发现突变热点

研究中39例母亲均无先兆流产、腹部受压、先兆早产、先兆子痫及羊膜穿刺等HBV宫内传播的危险史。经调整母亲血清HBeAg水平后结果显示,A1762T/G1764A双突变可能与HBV宫内传播的发生有关。A1762T/G1764A双突变的发生可能导致HBV宫内传播的风险降低(aOR=0.065, 95%CI: 0.006~0.746, P=0.028)。见表4。

表4 HBV宫内传播多因素分析

| 因素 | 病例组/对照组 | aOR值(95%CI) ^a |
|---------------|---------|--------------------------|
| A1762T/G1764A | | |
| 未突变 | 17/12 | 1.000 |
| 突变 | 2/8 | 0.065(0.006~0.746) |
| 孕期服用乙肝抗病毒药物 | | |
| 是 | 2/4 | 1.000 |
| 否 | 17/16 | 2.333(0.149~36.513) |

注:^a调整母亲血清HBeAg水平

6. HBsAg阳性母亲A1762T/G1764A双突变与母亲血清HBV DNA载量及母儿HBeAg水平的关系分析:发生A1762T/G1764A双突变的母亲血清HBV DNA($\times 10^8$)浓度低于未发生突变的HBV DNA浓度(4.94 IU/ml vs. 6.64 IU/ml, P=0.321)。发生A1762T/G1764A双突变的母亲血清HBeAg水平与未发生突变的HBeAg水平相比尚未发现差异有统计学意义(957.4 COI vs. 1 024.0 COI, P=0.311)。母亲发生A1762T/G1764A双突变的新生儿血清HBeAg水平低于母亲未发生A1762T/G1764A双突变的新生儿HBeAg水平,差异有统计学意义(49.54 COI vs. 86.53 COI, P=0.050)。见图1。

讨 论

我国HBV宫内传播率为5.00%~43.33%^[25-26]。阻断HBV宫内传播将在很大程度上控制我国慢性HBV感染,目前HBV宫内传播尚缺乏有效的阻断途径,因此了解HBV的病毒学特征是阐明HBV宫

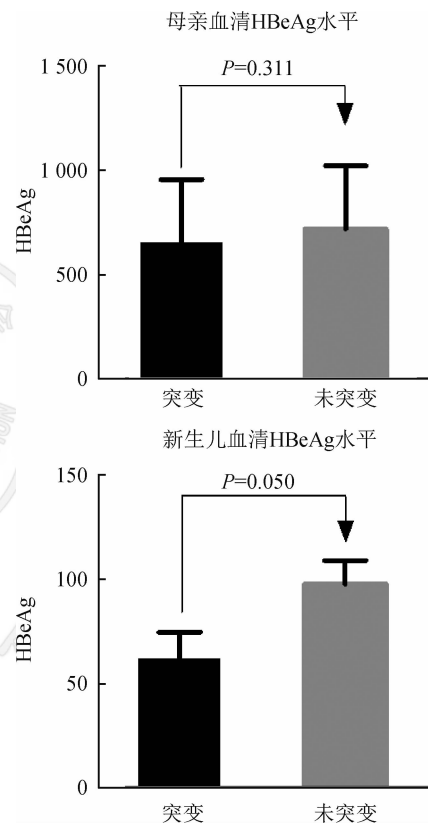


图1 HBsAg阳性母亲及新生儿血清HBeAg水平比较

内传播机制及采取有效措施阻断宫内传播的关键。

HBV在复制过程中不断进化并出现不可预测的变异,这种长期变异最终导致HBV不同基因型的出现。HBV基因型的分布某种程度上反映HBV基因型的地域优势,并可能与出现的HBV变异株在病毒发病机制中起关键作用^[27]。HBV C基因型的BCP区(nt 1 742~1 849)突变率较高。由于在nt 1 858位为胞嘧啶(C)的可能性很高,故很大程度上抑制了Pre-C基因区突变的发生,使Pre-C基因区在突变发生中相对保守^[28]。有研究认为HBV C基因型在HBeAg阳性患者发生BCP区突变率较HBeAg阴性者更高^[29]。本次研究的39例HBV为C基因型

的 HBsAg 阳性母亲 HBeAg 检测均为阳性, BCP 区 A1762T/G1764A 双突变率为 18.04%, 未发现位于 Pre-C 基因区的突变热点。基因突变分析过程中发现位于 nt 1 858 位为胸腺嘧啶(T), 推测抑制 Pre-C 基因区突变的发生可能是由于嘧啶类核苷酸的影响。

有文献报道 BCP 区位点发生突变可能引起 HBeAg 表达的降低^[30]。BCP 区与 Pre-C 基因区的某些位点发生突变可能引起病毒动力学的改变, 如 HBeAg 合成减少。其中, A1762T/G1764A 双突变由于在 HBV 感染者中具有较高的突变率而备受学者关注^[31], 该双突变的发生可能通过影响 mRNA 的转录效率进而降低 HBeAg 的表达^[32]。本次研究在母亲 BCP 区仅观察到 A1762T/G1764A 双突变热点, A1762T/G1764A 双突变可能与新生儿 HBV 宫内传播的发生有关, 且对照组突变率显著高于宫内传播组, 与 Cheng 等^[2]的研究结果一致。多因素分析结果显示 A1762T/G1764A 双突变可能是宫内传播的保护因素。提示位于 BCP 区的 A1762T/G1764A 双突变发生可能抑制 HBV DNA 的复制, 影响其下游 HBeAg 的表达, 进而使母体内的 HBeAg 量减少。为更直观地解释该双突变的发生对生物学表达的影响, 故本次研究比较 A1762T/G1764A 双突变发生与否与母亲 HBV DNA 载量的关系, 结果显示发生 A1762T/G1764A 双突变的母亲 HBV DNA 载量较低。进一步比较 A1762T/G1764A 双突变发生与否与母儿 HBeAg 水平的关系, 发现 A1762T/G1764A 双突变与新生儿 HBeAg 水平有关。A1762T/G1764A 双突变可能与 HBeAg 的血清学转化有关^[33], 由于位点发生突变, 聚合酶不能正常结合而使 HBV DNA 的复制与翻译过程出现错误, 影响其正常表达 HBeAg 的功能而编码为错误的氨基酸, 减少 HBeAg 的正常合成与分泌^[32-33]。同时, HBV DNA 的 A1762T/G1764A 双突变病毒株可能感染力降低^[31], 相对 HBV 野生型病毒株不易进入胎儿, 从而减少了孕期胎儿暴露 HBV 的机会。可能由于样本量的限制, 尚未发现 A1762T/G1764A 双突变引起母亲 HBV DNA 载量和 HBeAg 水平的统计学改变, 但发现母亲 HBV DNA 的复制和 HBeAg 的表达在一定程度上相较于未发生 A1762T/G1764A 双突变时减少, 且 A1762T/G1764A 双突变降低了新生儿 HBeAg 的水平仍为本次研究结论提供一定的线索。

综上所述, 高病毒载量的 HBV C 基因型的 HBsAg 阳性母亲感染 A1762T/G1764A 双突变病毒株可能降低新生儿 HBV 宫内传播的发生。母亲

A1762T/G1764A 双突变可能通过抑制 HBV DNA 的复制与 HBeAg 的正常表达, 降低母亲体内 HBeAg 的水平, 进而可能减少 HBV 宫内传播的发生。今后将进一步扩大样本量, 选择具有相同特征的 HBeAg 阴性母亲进行 BCP 区位点突变分析, 与其余基因区突变位点结合分析以研究 HBV 全基因组变异影响宫内传播的机制, 并在技术发展条件允许的情况下, 研究 HBV DNA 载量 $< 10^6$ IU/ml 的基因序列, 为降低 HBV 宫内传播率提供更为全面的依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus[J]. *Nature*, 1985, 317(6037):489-495. DOI: 10.1038/317489a0.
- [2] Cheng H, Su HX, Wang SP, et al. Association between genomic heterogeneity of hepatitis B virus and intrauterine infection[J]. *Virology*, 2009, 387(1): 168-175. DOI: 10.1016/j.viro.2009.02.015.
- [3] Hunt CM, McGill JM, Allen MI, et al. Clinical relevance of hepatitis B viral mutations[J]. *Hepatology*, 2000, 31(5): 1037-1044. DOI: 10.1053/he.2000.6709.
- [4] Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes[J]. *J Gen Virol*, 1988, 69(10): 2575-2583. DOI: 10.1099/0022-1317-69-10-2575.
- [5] 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[J]. *Virology*, 1994, 198(2): 489-503. DOI: 10.1006/viro.1994.1060.
- [6] Ding H, Liu BM, Zhao CY, et al. Amino acid similarities and divergences in the small surface proteins of genotype C hepatitis B viruses between nucleos(t)ide analogue-naïve and lamivudine-treated patients with chronic hepatitis B[J]. *Antivir Res*, 2014, 102:29-34. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.11.015.
- [7] Lau JYN, Wright TL. Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B[J]. *Lancet*, 1993, 342(8883): 1335-1340. DOI: 10.1016/0140-6736(93)92249-S.
- [8] Du H, Li T, Zhang HY, et al. Correlation of hepatitis B virus (HBV) genotypes and mutations in basal core promoter/precure with clinical features of chronic HBV infection[J]. *Liver Int*, 2007, 27(2): 240-246. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01400.x.
- [9] Stevens CE, Neurath RA, Beasley RP, et al. HBeAg and anti-HBe detection by radioimmunoassay: correlation with vertical transmission of hepatitis B virus in Taiwan[J]. *J Med Virol*, 1979, 3(3): 237-241. DOI: 10.1002/jmv.1890030310.
- [10] Singh AE, Plitt SS, Osioy C, et al. Factors associated with vaccine failure and vertical transmission of hepatitis B among a cohort of Canadian mothers and infants[J]. *J Viral Hepat*, 2011, 18(7): 468-473. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2010.01333.x.
- [11] Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virus infection[J]. *Lancet*, 2009, 373(9663): 582-592. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60207-5.
- [12] Pan CQ, Duan ZP, Bhamidimarri KR, et al. An algorithm for risk assessment and intervention of mother to child transmission of hepatitis B virus[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012, 10(5): 452-459. DOI: 10.1016/j.cgh.2011.10.041.
- [13] Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures[J]. *J Viral Hepat*, 2004, 11(2): 97-107. DOI: 10.1046/j.1365-2893.2003.00487.x.
- [14] Wen WH, Chang MH, Zhao LL, et al. Mother-to-infant transmission of hepatitis B virus infection: significance of maternal viral load and strategies for intervention[J]. *J Hepatol*, 2013, 59(1): 24-30. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.02.015.
- [15] Peng SX, Wan ZH, Liu TT, et al. Cesarean section reduces the risk of early mother-to-child transmission of hepatitis B virus[J]. *Dig Liver Dis*, 2018, 50(10): 1076-1080. DOI: 10.1016/j.dld.2018.05.004.
- [16] Jonas MM, Block JM, Haber BA, et al. Treatment of children with chronic hepatitis B virus infection in the United States: patient selection and therapeutic options[J]. *Hepatology*, 2010, 52(6): 2192-2205. DOI: 10.1002/hep.23934.
- [17] Zeng G, Wang Z, Wen S, et al. Geographic distribution, virologic

and clinical characteristics of hepatitis B virus genotypes in China [J]. J Viral Hepat, 2005, 12(6): 609-617. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2005.00657.x.

[18] Sugauchi F, Orito E, Ichida T, et al. Epidemiologic and virologic characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with genotype C [J]. Gastroenterology, 2003, 124(4): 925-932. DOI: 10.1053/gast.2003.50140.

[19] Chen QY, Harrison TJ, Sabin CA, et al. The effect of HBV Genotype C on the development of HCC differs between wild-type viruses and those with BCP double mutations (T1762A1764) [J]. Hepat Mon, 2014, 14(2): e16214. DOI: 10.5812/hepatmon.16214.

[20] Yuen MF, Sablon E, Tanaka Y, et al. Epidemiological study of hepatitis B virus genotypes, core promoter and precore mutations of chronic hepatitis B infection in Hong Kong [J]. J Hepatol, 2004, 41(1): 119-125. DOI: 10.1016/j.jhep.2004.03.004.

[21] Zeng DW, Liu YR, Dong J, et al. Serum HBsAg and HBeAg levels are associated with liver pathological stages in the immune clearance phase of hepatitis B virus chronic infection [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(5): 3465-3472. DOI: 10.3892/mmr.2015.3207.

[22] Ko SC, Schillie SF, Walker T, et al. Hepatitis B vaccine response among infants born to hepatitis B surface antigen-positive women [J]. Vaccine, 2014, 32(18): 2127-2133. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.01.099.

[23] Zou H, Chen Y, Duan Z, et al. Virologic factors associated with failure to passive-active immunoprophylaxis in infants born to HBsAg-positive mothers [J]. J Viral Hepat, 2012, 19(2): e18-25. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01492.x.

[24] Guo Z, Shi XH, Feng YL, et al. Risk factors of HBV intrauterine transmission among HBsAg-positive pregnant women [J]. J Viral Hepat, 2013, 20(5): 317-321. DOI: 10.1111/jvh.12032.

[25] Zhu YY, Mao YZ, Wu WL, et al. Does hepatitis B virus prenatal transmission result in postnatal immunoprophylaxis failure? [J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(12): 1836-1841. DOI: 10.1128/CVI.00168-10.

[26] Shao QL, Zhao XX, Li MDY. Role of peripheral blood mononuclear cell transportation from mother to baby in HBV intrauterine infection [J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 288(6): 1257-1261. DOI: 10.1007/s00404-013-2893-x.

[27] Wang ZH, Huang YH, Wen SJ, et al. Hepatitis B virus genotypes and subgenotypes in China [J]. Hepatol Res, 2007, 37 Suppl 1: S36-41. DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00102.x.

[28] Chan HLY, Hussain M, Lok ASF. Different hepatitis B virus genotypes are associated with different mutations in the core promoter and precore regions during hepatitis B e-antigen seroconversion [J]. Hepatology, 1999, 29(3): 976-984. DOI: 10.1002/hep.510290352.

[29] Yang HC, Chen CL, Shen YC, et al. Distinct evolution and predictive value of hepatitis B virus precore and basal core promoter mutations in interferon-induced hepatitis B e-antigen seroconversion [J]. Hepatology, 2013, 57(3): 934-943. DOI: 10.1002/hep.26121.

[30] Fang ZL, Sabin CA, Dong BQ, et al. The association of HBV core promoter double mutations (A1762T and G1764A) with viral load differs between HBeAg positive and anti-HBe positive individuals: a longitudinal analysis [J]. J Hepatol, 2009, 50(2): 273-280. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.09.014.

[31] Günther S, Piwon N, Will H. Wild-type levels of pregenomic RNA and replication but reduced pre-C RNA and e-antigen synthesis of hepatitis B virus with C (1653) --> T, A (1762) --> T and G (1764) --> A mutations in the core promoter [J]. J Gen Virol, 1998, 79(2): 375-380. DOI: 10.1099/0022-1317-79-2-375.

[32] Chen LB, Gu L, Gu YR, et al. HBV core promoter mutations and AKT upregulate S-phase kinase-associated protein 2 to promote postoperative hepatocellular carcinoma progression [J]. Sci Rep, 2016, 6: 35917. DOI: 10.1038/srep35917.

[33] Parekh S, Zoulim F, Ahn SH, et al. Genome replication, virion secretion, and e-antigen expression of naturally occurring hepatitis B virus core promoter mutants [J]. J Virol, 2003, 77(12): 6601-6612. DOI: 10.1128/JVI.77.12.6601-6612.2003.

(收稿日期:2020-02-24)
(本文编辑:王岚)

读者·作者·编者

本刊常用缩略语

本刊对以下较为熟悉的一些常用医学词汇将允许直接用缩写,即在文章中第一次出现时,可以不标注中文和英文全称。

| | | | |
|----------------|---------------------------|-------|-----------|
| OR | 比值比 | HBcAg | 乙型肝炎核心抗原 |
| RR | 相对危险度 | HBeAg | 乙型肝炎e抗原 |
| CI | 可信区间 | HBsAg | 乙型肝炎表面抗原 |
| P _n | 第n百分位数 | 抗-HBs | 乙型肝炎表面抗体 |
| AIDS | 艾滋病 | 抗-HBc | 乙型肝炎核心抗体 |
| HIV | 艾滋病病毒 | 抗-HBe | 乙型肝炎e抗体 |
| MSM | 男男性行为者 | ALT | 丙氨酸氨基转移酶 |
| STD | 性传播疾病 | AST | 天冬氨酸氨基转移酶 |
| DNA | 脱氧核糖核酸 | HPV | 人乳头瘤病毒 |
| RNA | 核糖核酸 | DBP | 舒张压 |
| PCR | 聚合酶链式反应 | SBP | 收缩压 |
| RT-PCR | 反转录聚合酶链式反应 | BMI | 体质指数 |
| Ct值 | 每个反应管内荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数 | MS | 代谢综合征 |
| PAGE | 聚丙烯酰胺凝胶电泳 | FPG | 空腹血糖 |
| PFGE | 脉冲场凝胶电泳 | HDL-C | 高密度脂蛋白胆固醇 |
| ELISA | 酶联免疫吸附试验 | LDL-C | 低密度脂蛋白胆固醇 |
| A值 | 吸光度值 | TC | 总胆固醇 |
| GMT | 几何平均滴度 | TG | 甘油三酯 |
| HBV | 乙型肝炎病毒 | CDC | 疾病预防控制中心 |
| HCV | 丙型肝炎病毒 | WHO | 世界卫生组织 |
| HEV | 戊型肝炎病毒 | | |