

# 沈阳地区不同人群 HCV 感染及 HCV 基因型分布研究

黄芬<sup>1</sup> 董亚珞<sup>2</sup> 王占英<sup>1</sup> 赵桂珍<sup>1</sup> 李颖<sup>1</sup> 苏德元<sup>1</sup>

**摘要** 应用酶联免疫检测技术,检测沈阳地区 3 902 例不同人群血清的抗-HCV,并应用引物特异 PCR 法对其中 100 例血清标本进行 HCV 基因分型。结果:正常人群抗-HCV 阳性率为 0.42% ~ 1.66%;输血后及散发性肝炎(除外 HAV、HBV、EBV、CMV 感染)、乙型肝炎、肝炎后肝硬化(除外 HBV 感染)、原发性肝癌等组抗-HCV 阳性率显著高于无输血史的非肝病病人组( $P < 0.01$ );100 例血清标本中 HCV-II 型感染占 58%、HCV-III 型 27%、II/III 混合型 14%、未分型 1%。正常人群 HCV 感染者中 HCV 基因型以 III 型为主(80%),丙型肝炎后肝硬化病人 HCV 基因型以 II 型为主(91.7%)。提示:各类肝病病人是 HCV 感染的高危人群;沈阳地区 HCV 感染以 II 型为主,其次为 III 型及 II/III 混合型, HCV 基因型可能与丙型肝炎病情轻重有关。

**关键词** HCV 感染 HCV 基因型

**Study on HCV Infection and the Distribution of HCV Genotypes in Different Populations in Shenyang Area** Huang Fen<sup>\*</sup>, Dong Yaluo, Wang Zhanying, et al.<sup>\*</sup> Department of Infectious Disease, The Second Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110003

**Abstract** 3 902 serum samples in different populations were tested for anti-HCV by ELISA. Among 100 samples of them, genotypes of HCV were detected by PCR with type-specific primers. The results showed a) anti-HCV positive rates in general populations were 0.42% - 1.66%; b) anti-HCV positive rates in the group of post-transfusion hepatitis and sporadic hepatitis (excluding HAV, HBV, EBV, CMV infection), hepatitis B post hepatitis cirrhosis (excluding HBV infection) and primary hepatocarcinoma were significantly higher than the group of patients without liver diseases or the group of patients without transfusion ( $P < 0.01$ ); c) in HCV genotyping, HCV-II, HCV-III, II/III mixed type were 58%, 27%, 14% respectively. The rate of infection with HCV-III was 80% in normal population but 91.7% with type II HCV in the group of patients with cirrhosis. These results suggested (1) patients with different liver diseases were under high risk of HCV infection; (2) type HCV-II was predominant followed by HCV-III as well as II/III mixed in HCV genotype distribution of Shenyang area. Different genotypes of HCV might be related to the severity of hepatitis C.

**Key words** HCV infection HCV genotypes

丙型肝炎病毒(HCV)感染的分布呈全球性,自然人群中 HCV 感染率为 0.7% ~ 3.1%<sup>[1]</sup>,不同地区 HCV 感染率有较大差别。近年来发现 HCV 变异较大,存在多种基

因型, HCV 不同基因型与 HCV 感染的地区分布、临床表现、治疗及转归可能具有某种相关性。为了解沈阳地区不同人群中 HCV 感染状况及 HCV 基因型分布情况,为今后本地区 HCV 疫苗的研制和临床治疗等提供依据,我们于 1991 年 10 月~ 1996 年 6 月对本地区正常人群及不同类型肝病病人血清抗-

<sup>1</sup> 中国医科大学附属第二临床医院 传染科 沈阳 110003

<sup>2</sup> 中国医科大学附属第一临床医院

HCV 及 HCV 基因型分布进行研究,结果报告如下。

## 材料与方法

一、研究对象: 3 902例血清标本分别来自中国医科大学附属第二临床医院门诊健康体检者、血库献血员及住院患者。其中大学师生 475人,男 243人,女 232人,平均年龄 23.6岁(16~54岁);妊娠妇女 1 772人,平均年龄 25.8岁(22~36岁);医务人员 688人,男 174人,女 514人,平均年龄 37.6岁(22~71岁);正常献血员 423人,男 300人,女 123人,平均年龄 28.2岁(20~43岁),以上人群血清 ALT均正常,并无输血史。122例输血后肝炎及 92例散发性肝炎(病原学检查均除外 HAV、HBV、EB病毒及巨细胞病毒感染) 28例 HA 181例 HB 21例肝炎后肝硬化(除外 HBV 感染)的诊断符合 1990年 8月卫生部颁发的《中华人民共和国传染病防治法规定管理的传染病诊断标准》100例原发性肝细胞癌病人依据 B超、核磁共振和甲胎球蛋白定量等诊断,其中 25例经病理证实。并选择 104例无输血及血制品史非肝病病人做为对照组。收集血清标本 -70℃冰箱保存,统一检测。

二、HCV 基因分型引物: HCV Core 基因区分型 PCR引物由中国科学院上海生物工程研究中心合成,其核酸序列如下:

型共同性引物: P 正义链 5'-CGCGCGACTAGGAAGACTTC-3'(nt 139~158); P 反义链 5'-ATGTACCCCATGAGGTCGGT-3'(nt 391~410)。

型特异性引物: P<sub>1</sub> 正义链 5'-AGGAAGACTTCCGAGCGGTC-3'(nt 148~167); P<sub>1</sub> 反义链 5'-TGCCTTGGGGATAGGCTGAC-3'(nt 185~204)(HCV-I); P<sub>2</sub> 反义链 5'-GAGCCATCCTGCCACCCCA-3'(nt 272~291)(HCV-II); P<sub>3</sub> 反义链 5'-CCAAGAGGGACGGGAACCTC-3'(nt 302~321)(HCV-III); P<sub>4</sub> 反义链 5'-ACCCTCGTTTCC

GTACAGAG-3'(nt 251~270)(HCV-IV)

### 三、检测试剂:

1. 抗-HAV IgM 乙肝血清学标志物 抗-HCV 检测试剂盒由台湾龙华生物科技公司提供,抗-HCV 试剂盒为第二代产品,包被的抗原为 C<sub>100-3</sub> C<sub>33s</sub> C<sub>22</sub>抗原。

2. PCR-HCV 检测试剂盒由温州伊利康生物技术有限公司提供。

3. HCV 基因分型所用逆转录酶 (AMV-RT)、Taq 酶、RNA 酶抑制剂 (RNasin) 均为 Promega 公司产品。

### 四、检测方法:

1. 抗-HAV IgM 乙肝血清学标志物和抗-HCV 应用 ELISA 方法检测, HCV RNA 应用 RT-PCR 法检测,检测及结果判定均严格按试剂说明书进行。

2. HCV 基因分型法: 参照 Okamoto<sup>[2]</sup>引物特异 PCR 法并加以改进。主要步骤为①提取血清总 RNA;②逆转录合成 cDNA 后即接以 HCV 型共同性引物行第一轮 PCR 扩增;③以 HCV 型特异性引物行第二轮扩增;④以 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析 PCR 终产物, HCV-I、II、III、IV 型的扩增产物长度分别为 57bp、144bp、174bp 及 123bp。

## 结 果

一、不同组正常人群抗-HCV 阳性率: 大学师生、妊娠妇女、医务人员及献血员抗-HCV 阳性率分别为 0.42% (2/475)、0.96% (17/1772)、0.58% (4/688) 及 1.66% (7/423), 各组间比较经  $\chi^2$  检验差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。

二、各类肝病病人抗-HCV 阳性率: 除甲型肝炎外, 各类肝病病人抗-HCV 阳性率与 104 例无输血或血制品史的非肝病病人比较差异均有显著性 ( $P < 0.01$ ), 输血后肝炎(除外 HAV、HBV、EBV、CMV 感染) 抗-HCV 阳性率显著高于散发性肝炎(除外 HAV、HBV、EBV、CMV 感染) ( $P < 0.01$ ) 见表 1。

三、乙型肝炎病人输血史与抗-HCV 的

关系: 181例乙肝病人中,有输血及血制品史者 56例,抗-HCV阳性 33例,阳性率

表 1 各类肝病病人抗-HCV阳性率

组别	检测数	阳性数	阳性率(%)
输血后肝炎组	122	109	89.3 <sup>△</sup>
散发性肝炎组	92	34	37.0
肝炎后肝硬化组	21	16	76.2
甲型肝炎组	28	0	0
乙型肝炎组	181	38	21.0
原发性肝癌组	100	16	16.0
非肝病病人组	104	2	1.9

\* 与非肝病病人组比较  $\chi^2$  检验  $P < 0.01$ ;  $\Delta$  与散发性肝炎组比较  $\chi^2$  检验  $P < 0.01$

58.9%; 而无输血或血制品史者 125例,抗-HCV阳性 5例,阳性率 4.0%,两者比较差

表 2 不同人群中 HCV 基因型分布\*

组别	检测例数	II型例数(%)	III型例数(%)	II、III混合型例数(%)	未分型例数(%)
正常人群	5	1(20)	4(80) <sup>△</sup>		
输血后丙肝	47	24(51.1)	13(27.7)	9(19.1)	1(2.1)
散发性丙肝	20	11(55)	7(35)	2(10)	
乙丙双重感染	10	5(50)	2(20)	3(30)	
丙肝后肝硬化	12	11(91.7)**	1(8.3)		
原发性肝癌	6	6(100)			
合计	100	58(58)	27(27)	14(14)	1(1)

\* 经 R<sub>C</sub>表的  $\chi^2$  检验差异无显著性  $\chi^2 = 22.3, P > 0.05$

\*\* 与正常人群及输血后丙肝组比较,经  $\chi^2$  检验差异有显著性,  $P < 0.05$

$\Delta$  与丙肝后肝硬化组比较经  $\chi^2$  检验差异有显著性,  $P < 0.05$

## 讨 论

一、检测 4组不同正常人群血清抗-HCV 的结果表明,沈阳地区正常人群抗-HCV 阳性率平均为 0.89% (0.42% ~ 1.66%)。献血员抗-HCV 阳性率较高,是大学师生组的 3.95倍,但 4组间无统计学差异。医务人员经常接触病人的血液及分泌物, HCV 感染率(0.58%)并不高于其他正常人群,说明医务人员并非 HCV 感染高危人群。但是 4名抗-HCV 阳性的医务人员均有针刺损伤史,而无输血或血制品史,其家庭成员抗-HCV 均阴性。其中 2名外科医生手术中多次刺伤; 1名护士曾在人工肾室工作 1年余,经常接触血液。提示该 4名医务人员可能由于工作中接触病人的血液或体液而感染

异有显著性 ( $P < 0.01$ )。

四、HCV 基因分型结果: 3 902例不同人群血清抗-HCV 阳性者 243例,其中 HCV RNA 阳性者 179例 (73.7%)。随机对其中 100例抗-HCV 及 HCV RNA 均阳性的血清标本进行 HCV 基因分型。结果表明: HCV-II 型 58例 (58%), HCV-III 型 27例 (27%), II/III 混合型 14例 (14%), 未分型 1例 (1%)。不同人群中 HCV 基因型总体分布差异无显著性 ( $P > 0.05$ ),但正常人群中 HCV-III 型感染率 (80%) 显著高于丙肝后肝硬化组 ( $P < 0.05$ ), HCV-II 型感染率显著低于丙肝后肝硬化组 ( $P < 0.05$ ),见表 2

HCV。因此医务人员应采取适当防护措施。

二、各类肝病病人血清抗-HCV 检测结果表明,除外 HAV、HBV、EBV 及 CMV 感染的输血后肝炎 89.3% 和散发性肝炎 37% 是由 HCV 引起,输血后肝炎抗-HCV 阳性率显著高于散发性肝炎,此外 76.2% 的除外乙肝的肝炎后肝硬化由 HCV 引起。提示 HCV 是输血后肝炎和非乙型肝炎后肝硬化的主要病因,是散发性肝炎的常见病因,输血或血制品是感染 HCV 的主要途径,与国外文献报道一致<sup>[3]</sup>。100例原发性肝癌(HCC)抗-HCV 阳性率为 16%,明显高于对照组,表明 HCC 与 HCV 关系密切。资料表明<sup>[4]</sup>发达国家 HCC 患者 HCV 感染率多数超过 50%,提示发达国家 HCC 的主要病因可能是 HCV。我国 HCC 患者中抗-HCV 阳性率 7.5% ~

42.9%,存在明显的地区差异,提示我国 HCV 感染可能不是 HCC 的主要病因。本研究中 HCC 患者抗-HCV 阳性率 16%,而过去我们检测 HCC 患者单纯乙肝标志物阳性者占 70%,提示目前在本地区引起原发性肝癌的主要病毒性因素仍是 HBV 感染。本文结果表明,除甲型肝炎外,各类肝病病人均为 HCV 感染高危人群。国外报道 6%~17.4% 的慢性乙肝病人重叠 HCV 感染<sup>[5]</sup>,本组乙肝病人重叠 HCV 感染率高达 21%,有输血或血制品史者,抗-HCV 阳性率明显高于无输血或血制品史者,说明 HBV 重叠 HCV 感染主要是由于乙肝病人在治疗过程中输血或血制品所致。我们认为,除了检测抗-HCV 筛选献血员外,应严格掌握乙肝病人输血或血制品的适应症,以减少重叠 HCV 感染的机会。

三、沈阳地区 HCV 基因型分布。目前证实全世界 HCV 基因型至少有 12 种,广泛分布的有 5 个基因型: I /1a II /1b III /2a IV /2b 和 V /3a 型。HCV 不同基因型在地理分布上有较大差异。美国以 I 型为主,日本以 II 型为主,我国也以 II 型为主,其次为 III 型。杜绍财等<sup>[6]</sup>报道北京、武汉、广州、西安、重庆、广西等地区 HCV 感染均以 II 型为主,这些地区中北京 III 型感染率最高 (19%),广州 II /III 混合型感染率最高 (9%)。本研究结果表明沈阳地区 HCV 感染以 II 型为主 (58%),其次为 III 型 (27%),II /III 混合型感染亦不少见 (14%),提示本地区 III 型及 II /III 混合型感染较其它地区高,因此今后本地区 HCV 感染的病原学诊断、临床治疗、疫苗研制等研究,除应着重针对 II 型病毒进行外,不应忽视 III 型及 II /III 混合型。

从总体来看, HCV 基因型在不同人群中分布差异无显著性,但正常人群 (血清 ALT

正常)的 HCV 感染者中 HCV 基因型以 III 型为主 (80%),丙肝后肝硬化病人 HCV 基因型以 II 型为主 (91.7%),提示 HCV II 型感染肝损伤重, HCV III 型感染肝损伤轻, HCV 基因型与丙肝病病情轻重有关,与国外文献报道一致<sup>[7,8]</sup>。

本研究中未检出 HCV I 型及 IV 型, 1 例病人血清标本经多次 PCR 检测 HCV RNA 均阳性,经 2 次 HCV 基因分型检测均未分型,表明本地区可能还存在其它基因型,有待今后进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 1 庄辉.病毒性肝炎流行病学研究进展.见:郑锡文,主编.流行病学进展.第 8 卷.北京:中国科学技术出版社, 1995. 73.
- 2 Okamoto H, Sugiyama Y, Okada S, et al. Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific primers: application to clinical surveys and tracing infectious sources. *J Gen Virol*, 1992, 73: 673.
- 3 Diodati G, Tagger A, Bonetti P, et al. Antibodies to hepatitis C virus in cryptogenic chronic liver disease. *J Med Virol*, 1991, 35: 151.
- 4 顾公望,倪志权.丙型肝炎与原发性肝癌的关系.见:叶维法,钟振义,主编.肝炎学大典.天津:天津科学技术出版社, 1996. 783~786.
- 5 Fong TL, Bisceglie A, Waggoner J, et al. The significance of antibody to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*, 1991, 14: 64.
- 6 杜绍财,陶其敏,朱凌,等.丙型肝炎病毒基因 5'末端非编码区酶切分型的研究. *中华医学杂志*, 1993, 73: 7.
- 7 Rstello M, Maggi F, Vateroni L, et al. Prevalence of Hepatitis C virus genotypes in Italy. *J Clin Microbiol*, 1994, 32: 232.
- 8 Pozzato G, Kaneko S, Moretti M, et al. Different genotypes of hepatitis C virus are associated with different severity of chronic liver disease. *J Med Virol*, 1994, 43: 291.

(收稿: 1997-10-31 修回: 1997-11-25)