

人类白细胞抗原等位基因与慢性乙型肝炎 聚乙二醇化干扰素疗效的相关性研究

冯彦 丛书英

【摘要】 **目的** 探讨人类白细胞抗原(HLA)-DRB1等位基因与聚乙二醇化干扰素(PEG-IFN)抗HBV应答的相关性。**方法** 应用聚合酶链反应-序列特异性引物(PCR-SSP)技术对青岛地区46例慢性乙型肝炎患者HLA-DRB1进行等位基因多态性分析。**结果** 30例有应答者HLA-DRB1*15等位基因频度(46.67%)高于16例无应答者(12.5%), $RR=6.125, P=0.021$; HLA-DRB1*07的分布则相反(26.67%对75%, $RR=0.121, P=0.002$)。**结论** 推测HLA-DRB1*15可能与PEG-IFN的高应答有关,HLA-DRB1*07可能与PEG-IFN低应答有关。

【关键词】 慢性乙型肝炎;HLA-DRB1等位基因;干扰素

Association of HLA-DRB1 alleles with response to PEG-interferon therapy in chronic hepatitis B FENG Yan, CONG Shu-ying. Qingdao University, Qingdao 266021, China

Corresponding author: CONG Shu-ying, Email: congsy@yeah.net

【Abstract】 **Objective** To appraise the influence of human leukocyte antigen (HLA)-DRB1 alleles on response to interferon (PEG-IFN) therapy in chronic hepatitis B. **Methods** Polymerase chain reaction-sequence specific primers (PCR-SSP) technique was used to determine HLA-DRB1 genes in 46 patients of Qingdao with chronic hepatitis B. **Results** The frequency of HLA-DRB1*15 allele was higher in 30 IFN responders than that in 16 non-responders (46.67% vs 12.50%, $RR=6.125, P=0.021$), whereas that of DRB1*07 alleles distribution was on the contrary (26.67% vs 75%, $RR=0.121, P=0.002$). **Conclusions** HLA-DRB1*15 allele may be associated with a higher response rate to IFN treatment, HLA-DRB1*07 may be associated with low response rate to IFN.

【Key words】 Chronic hepatitis B; Human leukocyte antigen-DRB1 alleles; Interferon

乙型肝炎是严重威胁人类健康的公共卫生问题。目前世界上有超过20亿的

作者单位:266021,青岛市,青岛大学(冯彦);青岛市传染病医院(丛书英)

通讯作者:丛书英 Email: congsy@yeah.net

人群曾感染过乙型肝炎病毒(HBV),我国是乙型肝炎高流行区,约6.9亿人感染过HBV,约1.2亿人为慢性无症状HBV携带者。HBV是我国肝硬化和肝癌发生的重要危险因素,严重地威胁着人们的健康^[1]。干扰素 α 是目前治疗慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的首选抗病毒药物,但是疗效在不同个体间差异较大,表现为完全、部分或无应答^[2]。不同个体的免疫应答状况是由其免疫应答基因(Ir基因)决定的,而发挥Ir基因功能的主要是HLA-DR基因。慢性乙型肝炎与人类白细胞抗原(HLA)DRB1等位基因有一定相关性,HLA-DRB1基因位点不同其治疗效果不尽相同。本研究拟探讨HLA等位基因对青岛地区CHB患者干扰素治疗的影响。

资料和方法

一、研究对象

46例慢性乙型肝炎患者均系我院住院和门诊病例,诊断符合2000年全国传染病与寄生虫病学术会议(西安)修订的病毒性肝炎诊断标准,所有患者血清丙氨酸转移酶(ALT)均异常,乙型肝炎病毒标志物HBsAg、HBeAg或HBeAb、抗-HBc及HBV DNA均阳性,排除HAV、HCV、HDV、HEV感染,且半年内未用过抗病毒药物及免疫调节药物。其中男37例,女9例。

二、治疗方法

应用聚乙二醇化干扰素 α -2 α (上海罗氏制药有限公司生产)180 μ g治疗48周。治疗期间不应用其他抗病毒药物,可根据肝功能情况适当应用保肝对症药物。

三、有效标准

疗程结束时,HBV DNA滴度下降2个对数级为有效,未达到上述标准为无效。

四、基因组DNA的提取

无菌采集慢性乙型肝炎患者外周静脉血5 ml,按DNA提取试剂盒(Gentra公司,lot1016243)操作程序分离纯化基因组DNA,于-20 $^{\circ}$ C保存用于HLA-DRB1等位基因检测。

五、PCR-SSP法测定HLA-DRB1等位基因

应用聚合酶链反应-序列特异性引物(PCR-SSP)技术对HLA-II类分子HLA-DRB1进行等位基因分型。本实验所用PCR-SSP是DYNAL公司(lot001)生产的成品试剂盒,操作按说明书进行。

六、统计学处理

直接计数法计算等位基因频率,两组间基因频率比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。关联度用比值比(Odds ratio, OR)反映。

结 果

一、HLA-DRB1与CHB患者对IFN应答间的关系

30例IFN应答者和16例无应答者HLA-DRB1等位基因频率分布见表1。

IFN 应答者 DRB1 * 15 等位基因频率明显高于无应答者,而 DRB1 * 07 等位基因频率则明显低于无应答者。其他等位基因分布的差异无显著性。

表1 IFN 应答者与无应答者 HLA-DRB1 等位基因分布情况

HLA-DRB1 等位基因	数量		频率(%)		OR = ad/bc	P 值
	IFN 应答者	IFN 无应答者	IFN 应答者	IFN 无应答者		
DR1	1	1	3.33	6.25	0.52	1.00
DR4	1	4	3.33	25.00	0.10	0.08
DR7	8	12	26.67	75.00	0.12	0.00
DR8	5	1	16.67	6.25	3.00	0.59
DR9	7	3	23.33	18.75	1.32	0.99
DR10	1	1	3.33	6.25	0.52	1.00
DR11	2	1	6.67	6.25	1.07	0.57
DR12	6	3	20.00	18.75	1.08	0.77
DR13	1	1	3.33	6.25	0.52	1.00
DR14	2	1	6.66	6.25	1.07	0.57
DR15	14	2	46.67	12.50	6.13	0.02
DR17	3	1	10.00	6.25	1.67	0.91

讨 论

不同个体在 HBV 感染的预后不同,从隐匿性感染、急性肝炎、慢性活动性肝炎到肝硬化,形成了不同的疾病谱,其原因除了与病毒本身有关外,宿主的遗传背景也起着非常重要的作用^[3]。HLA- II 类抗原表达于抗原提呈细胞和免疫应答细胞表面,参与宿主免疫应答的调节。HLA 的多态性及其在细胞表面的表达水平决定免疫反应强度。

HLA 分为 3 类,是目前所知的最具高度多态性的遗传系统。其中 II 类包括 DR、DQ、DP、DN、DO、DM 6 个亚区,研究表明,对 HBV 抗原物质的免疫应答水平存在明显个体差异是由免疫应答基因(Ir 基因)决定的,而 Ir 基因的功能主要由 HLA-DR 基因承担。干扰素 α 是目前治疗 CHB 最常用的药物,具有抗病毒和免疫调节两方面作用。研究发现干扰素-α 可以通过调节 Th1/Th2 细胞因子的表达水平而影响人体免疫应答发挥治疗作用。无论干扰素治疗结果如何,干扰素-α 引起的 CD4⁺ Th 细胞增殖均依赖于 HLA- II 类分子的表达。另一方面,干扰素-α 作为一种免疫调节因子,通过免疫细胞间的相互作用来平衡 HBV 感染时的异常免疫状态,免疫细胞间的相互作用也受到 HLA- II 类分子的调控和约束。由此可见,CHB 患者间 HLA 的差异不仅注定了 CHB 的发病具有宿主遗传的差别,也决定了不同感染人群对干扰素治疗敏感性的差别。

有关 HLA-DR 基因与 HBV 易感性及干扰素疗效的关系报道不尽相同,可能与种族和地域差异有关。Cotrina 等^[4]对慢性乙型肝炎和急性自限性乙型肝炎患者的 HLA-DRB1 基因型进行分析,发现 DRB1 * 13 有利于清除 HBV,避免乙型

肝炎慢性化。国外曾报道冈比亚人群中 HLA-DRB1 * 1302 为保护基因, 卡塔尔人群中 DR2 为保护基因, DR7 为易感基因^[2]。沈晶晶等^[5]报道 HLA-DRB1 * 10 与我国北方人群慢性乙型肝炎有关联。袁俊华等研究认为 HLA-DRB1 * 1201 可能为山东地区 HBV 感染的易感基因。吕爱云等^[3]报道 HLA-DRB1 * 1201 与慢性乙型肝炎干扰素近期疗效有关联。骆峻等^[7]经 Meta 分析认为 HLA-DRB1 * 03 和 * 08 等位基因可能是我国人群的易感基因, 而 HLA-DRB1 * 13 和 * 15 等位基因可能是我国人群的保护基因。韩永年等^[6]研究认为 HLA-DRB1 * 14 可能与 IFN 的高应答有关, DQB1 * 07 可能与 IFN 低应答有关。褚瑞海等^[8]曾报道 HLA-DRB1 * 07 与干扰素低应答有关。

与以往不同的是本研究选用聚乙二醇化干扰素 α -2a 对慢性乙型肝炎患者治疗 48 周, 聚乙二醇化干扰素 α -2a 是聚乙二醇(PEG)与重组干扰素 α -2a 结合形成的长效干扰素。当干扰素分子聚乙二醇化以后, 聚乙二醇分子就在干扰素分子外面形成一个分子屏障, 降低其免疫原性, 保护其免受酶的分解。由于 HBV 的动力学特点, 其 HBV DNA 复制很快。干扰素治疗时需要维持恒定的血药浓度以发挥最大的病毒抑制作用。聚乙二醇化干扰素每周给药 1 次, 但在给药后 1 周内, 血中可维持恒定的干扰素浓度。因此对病毒的抑制作用也是持续性的, 不存在普通干扰素的“峰-谷”效应, 其疗效优于普通干扰素。

本研究结果显示, 青岛地区对干扰素应答的慢性乙型肝炎患者中, HLA-DRB1 * 07 阳性率显著低于无应答组, 而 HLA-DRB115 显著高于无应答组。推测 HLA-DRB115 与干扰素高应答有关, HLA-DRB1 * 07 与干扰素低应答有关。

参 考 文 献

- 1 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2003. 3.
- 2 钱毅, 章廉, 侯金林. 慢性乙型肝炎病毒感染者干扰素治疗无应答与 HLA-DRB1 * 07 的相关性. 免疫学杂志, 2002, 18: 371-374.
- 3 吕爱云, 江河清, 余祖江, 等. HLA-DRB1 * 1201 与慢性乙型肝炎干扰素近期疗效的关系. 中国厂矿医学, 2006, 19: 407-408.
- 4 金安娜, 骆峻, 吴旭东, 等. HLA-DRB1 * 13 等位基因与我国汉族人群慢性乙型肝炎关联性的 Meta 分析. 南京医科大学学报, 2006, 26: 1288-1291.
- 5 沈晶晶, 冀英, 关晓蕾, 等. HLA-DRB1 * 10 与中国慢性乙肝关联. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19: 58-59.
- 6 韩永年, 杨金龙, 郑水根, 等. 人类白细胞抗原 II 基因对乙型肝炎病毒易感性和干扰素抗病毒治疗的影响. 上海医学, 2004, 27: 417-420.
- 7 骆峻, 金安娜, 吴旭东, 等. 中国人群 HLA-DRB1 基因多态性与慢性乙型肝炎关系的 Meta 分析. 世界华人消化杂志, 2006, 14: 3050-3054.
- 8 褚瑞海, 马立宪, 王刚, 等. 慢性乙型肝炎患者 HLA-DRB1 等位基因多态性与干扰素抗病毒治疗应答的相关性研究. 临床肝胆病杂志, 2005, 21: 262-263.

(收稿日期: 2008-05-17)

(本文编辑: 王丹静)

冯彦, 丛书英. 人类白细胞抗原等位基因与慢性乙型肝炎聚乙二醇化干扰素疗效的相关性研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2008, 2(4): 300-303.