

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.04.016

论著·临床研究

## 乙型肝炎病毒相关性肾炎不同基因型患儿间 临床及病理特征的差异分析

孙永红<sup>1</sup> 雷晓燕<sup>1</sup> 袁宏<sup>2</sup>

(1. 甘肃省人民医院小儿科, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院传染科, 甘肃 兰州 730000)

**[摘要]** **目的** 研究乙型肝炎病毒相关性肾炎(HBV-GN)不同基因型患儿间临床及病理特征的差异。**方法** 随机选择同时行肝穿和肾穿的41例HBV-GN患儿作为研究对象,对其血清标本进行基因分型、乙型肝炎病毒(HBV)cccDNA检测,分析HBV-GN不同基因型患儿间临床、病理特征及HBV复制的差异。**结果** 41例HBV-GN患儿中,C基因型29例(71%),B基因型10例(24%),B/C混合型2例(5%)。C基因型患儿的血尿、蛋白尿、补体C3下降、谷丙转氨酶升高及肾功能不全发生率均显著高于B基因型患儿;C基因型患儿HBVcccDNA阳性比例高于B基因型患儿。但两种不同基因型患儿肾组织病理类型分布差异无统计学意义;两者肝组织炎症程度及纤维化程度差异亦无统计学意义。**结论** HBV-GN的基因型主要以C、B基因型为主,且以C基因型占优势。C基因型患儿较B基因型临床症状严重,但两者在病理学特征上无明显差异。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(4): 371-374]

**[关键词]** 乙肝病毒;乙型肝炎病毒相关性肾炎;基因型;儿童

### Clinical and pathological differences between children with various genotypes of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis

SUN Yong-Hong, LEI Xiao-Yan, YUAN Hong. Department of Pediatrics, People's Hospital of Gansu Province, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China (Lei X-Y, Email: leixiaoyan601@163.com)

**Abstract: Objective** To compare the clinical and pathological features between children with various genotypes of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis (HBV-GN). **Methods** Forty-one children with HBV-GN concurrently undergoing liver and renal biopsy were randomly selected. Serum specimens were collected for genotyping and hepatitis B virus (HBV) cccDNA assay. The clinical, pathological, and HBV cccDNA differences between HBV-GN children of various genotypes were analyzed. **Results** Among the 41 HBV-GN children, 29 (71%) were genotype C, 10 (24%) were genotype B, and 2 (5%) were genotype B/C. The incidence rates of hematuria, albuminuria, complement 3 decrease, alanine transaminase increase, and renal insufficiency in the genotype C group were significantly higher than those in the genotype B group ( $P < 0.05$ ). Similarly, the HBV cccDNA positive rate was significantly higher in the genotype C group than that in the genotype B group. No difference was observed in the distribution of pathological types of renal tissues between the two genotype groups. There were no significant differences in the degrees of hepatic inflammation and fibrosis between the two groups. **Conclusions** Mainly genotypes C and B occur in children with HBV-GN and the former genotype is dominant. The clinical symptoms of patients with genotype C are more serious than those with genotype B. However, there is no difference in the pathological features between them. [Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(4): 371-374]

**Key words:** Hepatitis B virus; Hepatitis B virus related-nephritis; Genotype; Child

乙型肝炎由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起、以肝脏炎性病变为主的传染性疾病,是全球重要的公共卫生问题之一。全球每年约有4亿人感染HBV病毒,其中约1百万人因

[收稿日期] 2014-09-19; [接受日期] 2014-11-23

[基金项目] 甘肃省自然科学基金(099RJA001); 卫生部科教司行业项目(201002006); 甘肃省科技支撑计划项目(1104FKCA159)。

[作者简介] 孙永红,男,硕士,主治医师。

[通信作者] 雷晓燕,女,主任医师。

感染 HBV 发展为肝癌后死亡<sup>[1]</sup>。南非、太平洋以及亚洲是 HBV 流行的主要区域，而我国更是 HBV 高发的地区之一<sup>[1]</sup>，约有四分之三的患者在儿童时期就感染了 HBV。乙型肝炎所引起的许多肝外表现主要有感觉运动的减退(5%)、干燥综合征(3%)、肌肉痛(3%)、肾小球肾炎(3%)和关节痛(3%)<sup>[2]</sup>。

乙型肝炎病毒相关性肾炎(hepatitis B virus-associated glomerular nephritis, HBV-GN)是指由 HBV 直接或间接诱发的肾小球肾炎，中国西北地区是 HBV 感染的高发区，HBV-GN 是临床常见病，也是继发性肾小球肾炎的主要病因之一<sup>[3]</sup>。近 10 年间中国、日本、韩国的科学家在 HBV-GN 的发病机制和治疗上做出了巨大的贡献<sup>[4]</sup>。本研究通过对 41 例 HBV-GN 患儿血清标本进行基因分型、cccDNA 检测，分析了 HBV-GN 不同基因型之间临床及病理特征差异。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

根据住院的先后顺序选择同时行肝穿和肾穿的 41 例 HBV-GN 患儿，其中男 23 例，女 18 例，平均年龄 11 ± 6 岁，为甘肃省人民医院儿科和兰州大学第一医院感染科 2009 年 4 月至 2013 年 4 月住院患儿。乙型肝炎的诊断标准符合 2010 年《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[5]</sup>。所有患儿均排除其他肝炎病毒感染、自身免疫性肝病、药物性肝损害及酒精性肝损害等。HBV-GN 的诊断标准根据 1990 年世界卫生组织的分类标准<sup>[6]</sup>，肾病的诊断由病理学检查证实。

### 1.2 肾脏活检病理学检查

经皮肤肾脏穿刺取肾脏组织，取得的肾小球分别行光镜、免疫荧光(包括 IgG, IgA, IgM, C3, HBsAg)、电镜检查。

### 1.3 肝脏活检病理学检查

在 B 超引导下肝穿采集肝组织标本进行病理活检，均行两点穿刺，要求每条肝组织长度 >1.0 cm，肝组织经固定、脱水、石蜡包埋、切片后，进行苏木精-伊红(HE)染色及网状纤维染色，光镜下进行组织学观察，按 2000 年全国病毒性肝炎学术会议修订的标准，将肝组织炎症分为 G0~G4 级，纤维化分为 S0~S4 期。

### 1.4 HBV-DNA 基因分型

留取晨空腹静脉血 5 mL，3000 r/min 离心 10 min 吸取 1~2 mL 血清在 -70℃ 冰箱保存备用，采用 HBV 基因分型诊断试剂盒(PCR 荧光法)，试剂盒由上海克隆生物高技术有限公司提供，实验步骤严格按照试剂说明书进行。

### 1.5 HBV cccDNA 检测

采用 PCR 荧光分子信标技术检测 HBV cccDNA。于清晨用一次性注射器采血，分离血清 200 μL 保存于 -18℃ 备检，具体的检测方法及阳性判断见文献<sup>[7]</sup>。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析，计数资料以例数和百分率(%)表示，组间比较采用卡方检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患儿肾组织病理类型

41 例 HBV-GN 患儿中，肾穿刺的肾小球数为 4~19 个(平均 10 ± 6 个)，其中肾小球数 6 个以上的有 36 例(87%)，其余 5 例中，2 例有 4 个肾小球，2 例有 3 个肾小球，1 例有 2 个肾小球。肾脏穿刺活检结果显示，32 例为膜性肾病(MN)，5 例为膜增生性肾炎(MPGN)，4 例为微小病变性肾炎(MCD)。

### 2.2 患儿的基因型分布

41 例患儿中，以 C、B 基因型为主，其中 C 基因型 29 例(71%)，B 基因型 10 例(24%)，B/C 混合型 2 例(5%)，未检出非 B/C 型。

### 2.3 B、C 基因型患儿间肾组织病理类型分布的比较

卡方检验显示，B、C 基因型患儿间肾组织病理类型分布差异无统计学意义(表 1)。

表 1 B、C 基因型患儿肾组织病理类型的比较 [n(%)]

组别	例数	肾组织病理类型		
		MN	MPGN	MCD
B 基因型	10	7(70)	3(30)	0(0)
C 基因型	29	25(86)	2(7)	2(7)
$\chi^2$ 值		0.032	0.003	0
P 值		>0.05	>0.05	>0.05

### 2.4 B、C 基因型患儿临床表现等的比较

C 基因型患儿的血尿、蛋白尿、补体 C3 下降、谷丙转氨酶 (ALT) 升高及肾功能不全发生率均显著高于 B 基因型, 但高血压、肝肿大阳性率两者比较差异无统计学意义; C 基因型患儿 HBV cccDNA 阳性比例高于 B 基因型患儿 (表 2)。

表 2 B、C 基因型患儿临床表现等的比较 [n (%) ]

临床表现	B 基因型 (n=10)	C 基因型 (n=29)	$\chi^2$ 值	P 值
血尿	3(30)	25(86)	11.601	0.002
蛋白尿	3(30)	20(69)	4.666	0.031
肾功能不全	2(20)	21(72)	8.443	0.007
高血压	5(50)	7(24)	2.335	0.232
补体 C3 下降	4(40)	23(79)	5.394	0.043
肝肿大	3(30)	5(17)	0.742	0.653
ALT 升高	4(40)	24(83)	6.714	0.017
cccDNA 阳性	3(30)	21(72)	5.652	0.027

### 2.5 B、C 基因型患儿肝组织病理分级和分期的关系

B 和 C 基因型患儿肝组织炎症程度分级和纤维化程度分期比较差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 见表 3。

表 3 B、C 基因型患儿炎症程度和纤维化程度的比较

[n (%) ]

肝组织病理	B 基因型 (n=10)	C 基因型 (n=29)	$\chi^2$ 值	P 值
炎症程度				
G0	3(30)	7(24)	0.532	0.891
G1	3(30)	11(38)		
G2	2(20)	4(14)		
G3	1(10)	4(14)		
G4	1(10)	3(10)		
纤维化程度				
S0	4(40)	7(24)	0.539	0.870
S1	3(30)	13(45)		
S2	1(10)	3(10)		
S3	1(10)	4(14)		
S4	1(10)	2(7)		

## 3 讨论

中国西北地区是 HBV 感染高发区, HBV 感染除引起肝脏组织本身的病变外, HBV-GN 则是 HBV 感染的重要肝外表现之一, 临床危害较大<sup>[8]</sup>。有关 HBV-GN 发病机制的研究表明, 患者在遗传易感基因的背景下, 免疫功能紊乱导致 HBV 免疫复合物清除障碍是其中的重要环节, 除 HBV 直接感染肾脏外, 还有细胞免疫、自身免疫、遗传及社会生物学因素等学说<sup>[9]</sup>。但因缺乏理想的细胞模型和动物模型, 故目前 HBV-GN 发病机制的研究仍较为局限。根据孙永红等<sup>[10]</sup>及雷小燕等<sup>[11]</sup>对成人和儿童基因型的研究, HBV 基因型对于乙肝患者临床分度、治疗效果、临床转归均有一定影响。本研究调查了 HBV-GN 患儿的基因型分布, 结果显示, 在 41 例 HBV-GN 患儿中, C 型、B 型、B/C 型、非 B/C 型所占比例分别为 71%、24%、5%、0, 其中 C 基因型为优势基因型, 与甘肃省成人及儿童乙肝基因型分布基本一致<sup>[10]</sup>, 其中 B/C 混合型占有一定比例, 考虑可能是重叠感染或基因之间部分转换而来, 此次没有检测到非 B/C 型, 可能与样本量较小有关。

中国自然人群中 HBV 携带率为 10%, HBV 感染者肾小球肾炎的发生率为 6.8%~20.0%<sup>[12]</sup>, HBV-GN 成为临床较常见的继发性肾脏病<sup>[10]</sup>。HBV-GN 的病理类型多样化, 其肝组织及肾组织病理改变不一定呈平行关系<sup>[13]</sup>。本研究显示, HBV-GN 患儿肾组织病理类型以 MN 为主, MPGN、MCD 占有较小的比例, 与国内相关报道基本一致<sup>[14]</sup>。在儿童中, 最常见的病理类型是 MN, 可能是因为儿童免疫系统尚未发育健全, 免疫复合物沉积较成人多, 而成人中肾组织 HBV 抗原以单项抗原沉积为主。雷晓燕等<sup>[15]</sup>在研究儿童乙型肝炎 T 细胞亚群时发现, 免疫功能缺陷可能为 HBV-GN 的发病机制之一。

本研究显示, 儿童 HBV-GN 常见的病理类型是 MN, 常见基因型为 C 基因型, 其次是 B 基因型。C、B 基因型患儿间肾组织病理类型差异无统计学意义, 是否与样本量较小有关有待扩大样本量进

一步研究。但本研究结果显示, C 基因型患儿血尿、蛋白尿、补体 C3 水平下降及肾功能不全发生率均高于 B 基因型患儿, 说明 C 基因型的患儿更容易发生肾脏损伤, 即早期对乙肝患儿进行乙肝基因型的检测将有利于及时发现 HBV-GN, 为患儿早期治疗创造机会。雷晓燕等<sup>[11]</sup> 研究显示, C 基因型患者存在较早出现肝功能损害及肝酶增高的现象, 且在肝脏损伤较重的患者中, C 基因型患儿所占比例较高。但有关这种基因分布与肾脏损伤病情轻重的关系却尚未见报道。本研究对 HBV-GN 患儿的基因型与临床特点的分析发现, HBV-GN C 基因型患儿临床肝损害程度和 ALT 升高发生率显著高于 B 基因型组的患儿, 以上结果提示 HBV 基因型与疾病的活动性、病情的轻重和 HBV-GN 的发生可能有一定关系。

HBV cccDNA 存在于肝细胞核内, 是病毒成功感染肝细胞的标志, 也是患者体内持续病毒复制的标志。孙永红等<sup>[7]</sup> 的研究表明, 随着乙肝患者病情加重, HBV cccDNA 检出率增加; C 基因型患儿 HBV cccDNA 检出率高于 B 基因型, 说明乙肝病毒复制和基因型呈相关性, 然而, HBV-GN 患者中是否存在类似关系尚无研究报道。已研究证明 HBV-GN 的发病机制是 HBV 抗原抗体形成的免疫复合物, 在肾小球某些部位沉积而致病<sup>[16]</sup>。最近还有研究显示, HBV 可能直接感染肾脏而致病, 并证实 HBV 在肾组织, 特别是在肾小管上皮细胞中存在并复制<sup>[17]</sup>。本研究发现, C 基因型 HBV-GN 患儿 cccDNA 阳性率高于 B 基因型, 表明 C 基因型加上 HBV-DNA 高复制的患儿更易发生 HBV-GN。提示临床上对于儿童期乙肝患儿, 如果是 C 基因型, 病毒高复制, 应尽早抗病毒治疗, 以防 HBV-GN 的发生。

本研究还表明, HBV-GN 患儿 B、C 基因型与肝组织炎症及纤维化之间无相关性, 因 HBV-GN 患儿肝损伤主要原因为 HBV 长期复制引发了针对病毒抗原的一系列免疫应答; 肝脏损伤是多因素影响的结果, 包括病毒异质性、复制水平、宿主感染时间及免疫功能、免疫遗传的异质性、非特异性炎症应答的强度和广度等。因此尽管 B、C 基因型患儿在病情轻重、病毒复制方面有差异, 但它们在反映肝细胞的损伤程度方面无差异, 可能缘于肝纤维化的程度与肝细胞坏死程度及肝脏炎

症持续时间有关, 它是继发于各种形式慢性肝损伤之后组织修复过程中的代偿反应。

#### [参 考 文 献]

- [1] Hepatitis B vaccination coverage among adults-United States 2004. Centers for Disease Control and Prevention (CDC)[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2006, 55(18): 509-511.
- [2] Cacoub P, Saadoun D, Bourliere M, et al. Hepatitis B virus genotypes and extrahepatic manifestations[J]. J Hepatol, 2005, 43(5): 764-770.
- [3] 孙利, 徐虹, 周利军, 等. 接种乙型肝炎疫苗对儿童乙型肝炎病毒相关性肾炎患病的影响[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(8): 666-669.
- [4] Xu G, Huang T. Hepatitis B virus-associated glomerular nephritis in East Asia progress and challenges[J]. Eur J Intern Med, 2011, 22(2): 161-166.
- [5] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙肝防治指南[J]. 中国医学前沿杂志, 2011, 3(1): 66-82.
- [6] 周万忠, 张瓦利. 乙型肝炎病毒相关性肾炎[J]. 中华内科杂志, 1990, 29(9): 530-533.
- [7] 孙永红, 雷晓燕, 杨菊兰, 等. 儿童乙型肝炎血清 HBV cccDNA 及病毒基因型研究[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(12): 1247-1249.
- [8] Zeng CH, Chen HM, Wang RS, et al. Etiology and clinical characteristics of membranous nephropathy in Chinese patients[J]. Am J Kidney Dis, 2008, 52(4): 691-698.
- [9] 何平, 冯国和. 乙型肝炎病毒相关性肾炎中病毒直接损伤肾组织作用机制研究现状[J]. 中华传染病杂志, 2012, 30(2): 123-125.
- [10] 孙永红, 陈青锋, 袁宏, 等. 乙型肝炎病毒基因型与临床病理分级分期的关系[J]. 临床荟萃, 2008, 23(8): 566-568.
- [11] 雷晓燕, 孙永红, 杨菊兰, 等. 儿童乙型肝炎病毒基因型与临床分度的关系研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2011, 26(4): 296-298.
- [12] 徐虹. 儿童乙型肝炎病毒相关性肾炎的流行病学[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(5): 323-325.
- [13] 党西强, 易著文, 何小解, 等. 乙型肝炎病毒相关性肾炎患儿的肝脏病变[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(4): 275-278.
- [14] 周建华. 肝炎病毒相关性肾炎的发病机制与病理特点[J]. 临床内科杂志, 2010, 27(9): 581-584.
- [15] 雷晓燕, 孙永红, 袁宏, 等. 儿童乙型肝炎 T 细胞亚群与病毒复制肝功能及组织病理关系研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2012, 27(8): 595-598.
- [16] Lin CY, Lin CC, Chang GJ, et al. Defect of cell-mediated immune response against Hepatitis B virus: an indication for pathogenesis of Hepatitis-B-associated membranous nephropathy[J]. Nephron, 1997, 76(2): 176-185.
- [17] 王志敏, 李志强, 庞自峰, 等. 乙型肝炎相关性肾炎外周血单个核细胞因子的变化及其对大鼠蛋白尿的影响[J]. 中华儿科学杂志, 2001, 39(8): 489-490.

( 本文编辑: 邓芳明 )