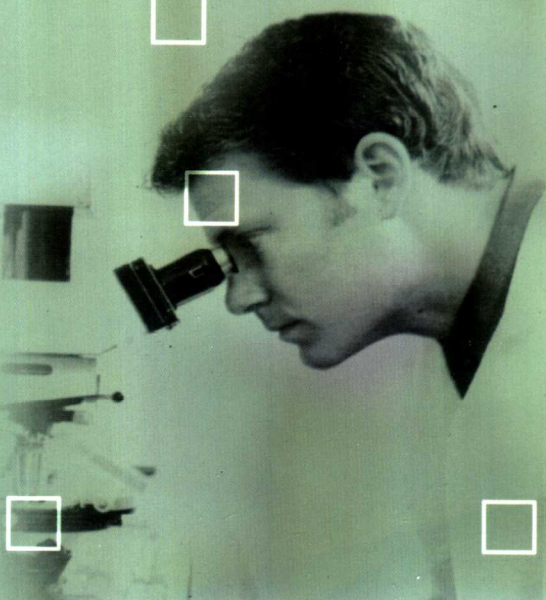


肝病理论与防治技术

主编：周卫平 郑怀竞



北京医科大学出版社

肝病理论与防治技术

主编 周卫平 郑怀竞

北京医科大学出版社

GANBING LILUN YU FANGZHI JISHU

图书在版编目(CIP)数据

肝病理论与防治技术/周卫平,郑怀竞主编. —北京:
北京医科大学出版社, 2002. 5
ISBN 7-81071-165-2

I. 肝... II. ①周... ②郑... III. 肝疾病—防治
IV. R575

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 027481 号

北京医科大学出版社出版发行

(100083 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内)

责任编辑:胡梦娟

责任校对:潘 慧

责任印制:郭桂兰

怀柔师范学校印刷厂印刷 新华书店经销

开本:850mm×1168mm 1/32 印张:9.5 字数:245 千字

2002 年 6 月第 1 版 2002 年 6 月第 1 次印刷 印数:1—5000 册

定价:18.20 元

版权所有 不得翻印

主 编 周卫平 郑怀竞

编 者 (以章节先后为序)

- 陈元鼎 中国医学科学院昆明医学生物学研究所
姚云清 重庆医科大学病毒性肝炎研究所
王小平 第四军医大学病理学教研室
瞿守恒 解放军第 264 医院传染科
丁 伟 浙江大学医学院附属第一医院病理科
管小琴 重庆医科大学病理教研室
单才华 浙江省萧山市第一人民医院
苗士奎 河北省邢台市人民医院
范竹萍 上海市消化疾病研究所
董 梅 解放军 309 医院
姜美亚 解放军 159 医院检验科
吴丽阳 甘肃省兰州市第一人民医院肝病科
陈岳祥 上海第二军医大学长征医院消化内科
汪余勤 上海第二医科大学新华医院
唐映梅 昆明医学院第二附属医院消化科
陆东东 江苏启东市肝癌研究所
姚新生 贵州省遵义医学院免疫学研究室
董满库 解放军第 306 医院肝胆外科
李新平 重庆大学生物工程学院
林益群 上海中医药大学附属曙光医院肝病科
赵进军 第一军医大学中医系
秦建民 湖南医科大学湘雅医院肝胆肠外科
田 耕 湖北医科大学附属第一医院消化内科
林 宁 南京医科大学附属淮阴第一医院
王子强 湖北省东风汽车公司总医院消化内科
冯德云 湖南医科大学病理学教研室

郎振为	北京佑安医院
罗 云	重庆医科大学病毒性肝炎研究所
巫贵成	重庆医科大学病毒性肝炎研究所
周卫平	重庆医科大学病毒性肝炎研究所
庄立琳	解放军 175 医院传染科
赵素元	新疆自治区人民医院
郑怀竞	卫生部临床检验中心
王惠琳	解放军第十五医院
李善义	山东省成武县人民医院
汪茂荣	解放军第 81 医院肝病研究所
杨明智	中山医科大学孙逸仙纪念医院普外科
丁惠国	北京佑安医院
林剑国	武汉市传染病医院
李爱萍	解放军第 210 医院消化内科
金生源	解放军第 413 医院感染科
许正锯	解放军第 180 医院肝病研究中心
许怀利	中国西电集团医院消化内科
李桂荣	云南省临沧地区人民医院内三科
陈所贤	海南省人民医院传染科
李 楠	解放军 309 医院消化科
孟家榕	南京军区南京总医院 病理科
周 智	重庆医科大学附属第二医院传染科
左国庆	重庆医科大学附属第二医院消化内科

学术秘书 李延坤

前 言

“中华肝病网”是中华肝脏病杂志编辑部主办的网络。1993年《中华肝脏病杂志》诞生是我国肝脏病学发展史上的重要一页。它标志着我国肝脏病学开始走向成熟,也意味着广大肝病基础、科研和临床工作者有了自己的论坛,可以面向世界传递学术动态,交流学术信息。

近10年来,《中华肝脏病杂志》在中华医学会、中华肝脏病学分会的领导下,在王宝恩教授、张定凤教授、庄辉院士等一批国内著名肝病专家的主持下,得到长足发展。《中华肝脏病杂志》刊出了数千篇学术论文和其他文章,大量报道了肝脏的生理、病理,我国各种肝脏疾病的病原学、流行病学、免疫学、发病机理、临床诊断治疗及预防的实践经验和研究成果,以及新技术、新方法的重要进展,及时反映了我国内科学者多方面的创新成就,促进了国际国内的学术交流。《中华肝脏病杂志》一年一个台阶,先后进入了中国科技期刊光盘版和China Info国际互联网络,以及中国生物医学文献光盘检索系统CBMDISC和世界消化学网。现已被国际上最权威的医学科技信息检索系统美国国立医学图书馆《医学索引》(Index Medicus)、Medline和国内中国科技论文统计源数据库、中国科学院中国科学引文数据库(CSCD)收录。1999年中国科学技术信息研究所统计:影响因子为0.412,排序名列第80位,在同类期刊(医药类)中,名列第16位,是重庆市进入前100名的两家科技期刊之一。2000年影响因子为0.897,排序名列第12位,在同类期刊中,名列第3位。影响因子逐年上升(2001年影响因子为0.937,他引率为0.823),杂志知名度不断提高,成为国内外有影响的医学科技期刊。2001年11月《中华肝脏病杂志》被评

为"中华医学会优秀期刊",并进入国家科技部和国家新闻出版总署遴选的"中国期刊方阵"双效行列。人们普遍认为,《中华肝脏病杂志》是我国肝病领域具有代表性和权威性的学术刊物,是当之无愧的医学核心期刊。

为了适应信息时代形势发展的需要,《中华肝脏病杂志》于2000年元月创办中华肝脏病杂志网络版。与《中华肝脏病杂志》比较,网络版更侧重于实用性和普及性,倡导基础理论与临床实践相结合。主要报道有基础理论支持的临床突破性进展或验证基础理论的临床的实践,以及成熟的临床经验和临床、科研的实用性技术。力求既反映肝病领域的热点,又具有较强的实用价值。这种理念体现在《中华肝脏病杂志》网络版的办网方向和学术导向中,得到广大网络读者的认可。中华肝病网的点击次数逐年递增,2001年逾260 000次。

为了满足广大读者的需要,我们从《中华肝脏病杂志》网络版挑选一部分优秀文章,经重新编写加工后,汇集成《肝病理论与防治技术》这本书。这本书的作者们都是奋战在临床、教学、科研第一线的科技工作者,来自全国各地的医学院校、科研院所和大中型医院。《肝病理论与防治技术》主要涵盖肝脏疾病的病原学、流行病学、细胞生物学、分子生物学、发病机理、临床诊断及预防的实践经验、研究成果以及新技术、新方法诸方面,凝聚着全体作者的智慧,是全体作者辛勤劳动的结晶。希望它能对读者有所启示。

由于各位作者水平风格迥异,编者人手少、时间紧,本书可能在学术、文字及编写规范上存在差异和不足,甚至存在谬误。请广大读者和同道不吝笔舌,给予批评指正。

周卫平 郑怀竞

2002年元月

目 录

第一章 细胞分子生物学

- 第一节 HCV 感染的肝炎患者中 HCV 的病毒学研究 … (1)
- 第二节 原代大鼠肝细胞分离技术改进研究…………… (7)
- 第三节 热休克蛋白 70 在人肝癌细胞 SMMC-7721 中表达的
研究 …………… (13)
- 第四节 CD80、CD86、CD54 和 HLA-ABC 在 HCC 组织中
表达的相关性研究 …………… (20)

第二章 实验诊断

- 第一节 32 例肝脏细针穿刺细胞学诊断分析 …………… (26)
- 第二节 艾滋病肝脏病理改变——光镜及电镜观察 …… (29)
- 第三节 原位 PCR 检测原发性肝癌中 HBV 的探讨 …… (36)
- 第四节 对重症肝炎概念和诊断的商讨 …………… (40)
- 第五节 血清组织金属蛋白酶抑制因子在慢性病毒性肝炎
肝纤维化非创伤性诊断中的应用 …………… (42)
- 第六节 血清总胆汁酸、胆碱酯酶在慢性肝病中的诊断价值
…………… (51)
- 第七节 病毒性肝炎患者凝血因子、抗凝和纤溶的检测及
临床意义 …………… (56)
- 第八节 乙肝血清病原学检测阴性者经肝病理组织学证实
为慢性乙型肝炎 2 例 …………… (61)

第三章 病理与发病机制

- 第一节 肝纤维化发生机制研究进展 (63)
- 第二节 肝细胞生长因子与肝脏 (75)
- 第三节 肝硬化时一氧化氮的代谢及研究进展 (83)
- 第四节 细胞凋亡与肝癌 (90)
- 第五节 无症状 HBsAg, Anti-HBs 阳性携带者血清 sIL-2R 的变化分析 (95)
- 第六节 肝脏缺血再灌注损伤作用机制的实验研究 (98)
- 第七节 妊娠期肝内胆汁淤积症发病特点 (107)
- 第八节 纤溶酶原激活物及其抑制物与肝脏疾病 (116)
- 第九节 肝脏间质细胞与生长因子在肝纤维化中的作用 (123)
- 第十节 一氧化氮对急性肝功能衰竭大鼠脏器影响的实验研究 (131)
- 第十一节 一氧化氮在大鼠肝纤维化过程中的作用 (138)
- 第十二节 慢性乙型肝炎患者 IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10 的活性测定及其相关性研究 (144)
- 第十三节 肝硬化患者血清叶酸、维生素 B₁₂ 变化及其意义探讨 (148)
- 第十四节 MAPK 和 Stat3 磷酸化在肝细胞癌发生中的作用 (153)
- 第十五节 单纯 TT 病毒感染的临床病理探讨 (158)
- 第十六节 丹参诱导大鼠肝星状细胞凋亡的研究 (164)

第四章 临床流行病学

- 第一节 乙型肝炎自然史研究 (173)
- 第二节 TT 病毒在母婴间传播的研究 (197)
- 第三节 HBV 携带者 16 年后转归 (附 HBsAg adr/ayw

20 例结果分析)	(201)
-----------------	-------

第五章 临床研究

第一节	临床基因扩增实验室的建立	(207)
第二节	肝病基因科研实验室的设置、仪器购置和 PCR 技术的选择	(212)
第三节	甲亢并发病毒性肝炎及甲亢性肝损害—48 例临床比较分析	(217)
第四节	严重闭合性肝损伤 60 例临床探讨	(221)
第五节	脂肪肝 36 例临床特点分析	(225)

第六章 治疗探索

第一节	条件永生化肝细胞移植	(230)
第二节	肝硬化患者营养不良、能量代谢异常与营养支持	(238)
第三节	与 HIV 感染有关的肝病及处理	(243)
第四节	TACE 对肝癌病人血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平的影响	(250)
第五节	干扰素联合丹参、猪苓多糖治疗慢性乙型肝炎长期疗效观察	(254)
第六节	大剂量重组干扰素 α -1b 诱导治疗慢性乙型肝炎的远期随访	(258)

第七章 病例报告

第一节	Mirizzi 综合征误诊为自身免疫性肝炎一例分析	(264)
第二节	病毒性肝炎肝外系统表现 62 例临床观察	(267)
第三节	磷甲酸钠致尿崩症 1 例报告	(272)
第四节	S-腺苷-L-蛋氨酸(SAMe)缓解 Gilbert 综合	

	征引起的胆汁淤积.....	(274)
第五节	肝脏局灶性脂肪变性(附一例报告).....	(278)
第六节	维生素 K ₁ 引起严重过敏反应 1 例	(282)
第八章 其它		
	急性肝功能衰竭动物模型的介绍及其评价.....	(283)

第一章

细胞分子生物学

第一节 HCV 感染的肝炎患者中 HCV 的病毒学研究

【摘要】 目的 对丙型肝炎及丙型肝炎病毒(HCV)同甲型肝炎病毒(HAV)或乙型肝炎病毒(HBV)的混合感染的肝炎患者中的 HCV 进行病毒学检测研究,分析 HAV 或 HBV 的混合感染对 HCV 感染的肝炎患者中 HCV RNA 和抗-HCV 检出率的影响。方法 运用 HCV RNA RT-PCR 检测技术和抗-HCV 检测技术,对云南地区肝炎患者进行了丙型肝炎病毒(HCV)感染的病原学检测研究,同时对 HAV 或 HBV 的混合感染对 HCV 感染的肝炎患者中 HCV RNA 和抗-HCV 检出率的影响进行了比较研究。结果 研究结果表明,HCV 感染的所有丙型肝炎患者中,HCV RNA 的检出率为 96.0%(143/149),抗-HCV 检出率为 28.2%(42/149);在单一 HCV 感染的丙型肝炎患者中,HCV RNA 及抗-HCV 检出率分别为 100%(22/22)和 47.4%(9/19);HCV 同 HAV 混合感染的肝炎患者中,HCV RNA 的检出率为 87.5%(14/16),抗-HCV 的检出率为 31.3%(5/16);HCV 同 HBV 混合感染的肝炎患者中,HCV RNA 的检出率为 100%(28/28),抗-HCV 检出率为 12%(3/25)。结论 云南地区部分肝炎患者中抗-HCV 检出率大大低于 HCV RNA 检出率,此结果可能反映了云南地区部分流行的 HCV 基因型或血清型的高度变异;HAV 或 HBV 的混合感染也会大大降低 HCV 感染的肝炎患者血清抗-HCV 检出率。

【关键词】 丙型肝炎,HCV;混合感染;HCV RNA;抗-HCV,检出率

丙型肝炎病毒(HCV)是输血后肝炎和非甲-非乙型肝炎的主

要病原体。HCV 感染常导致慢性肝炎、肝硬化及肝癌^[1]。由于 HCV 尚不能在常规组织培养上增殖,所以直到 1989 年 Choo 等^[2]发现 HCV 基因组核苷酸序列后,才确立了 HCV 感染的病原学地位,建立了特异性检测血清中 HCV RNA^[3,4]和抗-HCV 的方法^[5]。至今 HCV 感染的诊断仍主要依赖于这两项检测技术。运用 HCV RNA RT-PCR 检测技术和抗-HCV 检测技术,我们对云南地区部分肝炎患者血清样品进行了 HCV 感染的病原学检测,并对影响其检测结果的因素作了进一步分析。

一、材料和方法

1. 血清样品

血清样品均选自昆明市传染病医院治疗的临床诊断为肝炎的患者。本研究中分析的病例均为 HCV 感染者,部分病例合并 HAV 或 HBV 感染,而排除了其它肝炎病毒感染。患者平均年龄为 32.6 岁(4~77 岁)。

2. 病毒学检测

(1) 抗-HAV 北京科卫临床诊断试剂厂生产的试剂盒(北京 302 医院诊断试剂中心)检测患者血清中 HAV-IgM(EIA 法)。操作按说明书进行。

(2) HBV 检测 北京生化免疫制剂中心生产的试剂盒对患者血清中 HBV 感染标志物进行检测。这些标志物包括:HBsAg, 抗-HBs, 抗-HBc, HBeAg, 抗-HBe 和 HBV DNA。两种或两种以上标志物阳性者判为 HBV 感染阳性,否则为阴性。

(3) HCV 检测 用美国 Abbott 公司第二代 ELISA 试剂盒(AxSYM, Abbott Laboratories Diagnostics Division, USA)检测患者血清抗-HCV;用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测血清中 HCV 基因组 5'末端非编码区(HCV-5'NCR),方法见文献[6]。

(4) 抗-HDV 检测 北京科卫临床诊断试剂厂生产的试剂盒检测患者血清中抗-HDV(EIA 法)。操作按说明书进行。

(5) 抗-HEV 检测 用新加坡生产的检测抗-HEV 试剂盒

(Genelabs Diagnostics PTE LTD, Singapore) 检测患者血清 HEV- IgM(EIA 法)。操作按说明书进行。

(6) HGV 检测 用北京医科大学肝病研究所生产的试剂盒检测患者血清 HGV-IgG(EIA 法);用 RT-PCR 法检测 HGV RNA。操作按说明书进行

二、结果

1. HCV 感染的肝炎患者中 HCV RNA 和抗-HCV 检测

研究中对所有的肝炎患者进行了 HAV, HBV, HCV, HDV, HEV 及 HGV 感染的检测。HCV RNA 检测阳性和/或抗-HCV 检测阳性的肝炎患者判为 HCV 感染阳性的肝炎患者。在排除 HDV, HEV 及 HGV 感染情况下,对 205 例 HCV RNA 阳性或抗-HCV 阳性的 HCV 感染者(部分病例合并 HAV 或 HBV 感染)进行了 HCV RNA 和抗-HCV 的检测及分析研究。结果表明,在这 205 例 HCV 感染者中,HCV RNA 检出率为 97.5%(198/203),抗-HCV 检出率为 28.3%(43/152),前者远远大于后者。

2. HCV 感染的肝炎患者中 HCV-RNA 和抗-HCV 的同时检测

对 151 例 HCV RNA 检测阳性和/或抗-HCV 检测阳性肝炎患者同时进行了 HCV RNA 和抗-HCV 检测,结果见表 1。从表 1 中可以看出,在 HCV 感染者中 HCV RNA 和抗-HCV 检测皆阳性的病例仅占 23.8%,HCV 检测阳性而抗-HCV 检测阴性者占大多数。与前面的结果一致,HCV RNA 的检出率远远高于抗-HCV 的检出率。

表 1 肝炎患者中 HCV RNA 和抗-HCV 的同时检测结果

检测数	HCV-RNA+/抗-HCV+	HCV-RNA+/抗-HCV-	HCV-RNA-/抗-HCV+
151	36	107	6
	(23.8%)	(70.9%)	(4.0%)

3. 其它肝炎病毒混合感染对 HCV 感染病毒学检测的影响

为了解其它肝炎病毒与 HCV 混合感染对 HCV RNA 和抗-HCV 检测的影响,我们对 HCV 感染的肝炎患者血清样品中其它肝炎病毒的病毒学感染标志物进行了进一步检测研究,其中包括抗-HAV,抗-HDV,抗-HEV,抗-HGV/HGV RNA,和 HBV 感染标志物(HBsAg, 抗-HBs, 抗-HBc, HBeAg, 抗-HBe, HBV DNA; 3 项及 3 项以上标志阳性者判为 HBV 感染阳性)。在排除 HDV, HEV 及 HGV 感染(感染标志阴性)情况下,对单一 HCV 感染, HCV 同 HAV 混合感染或 HCV 同 HBV 混合感染 3 个组患者中 HCV RNA 和抗-HCV 检测结果进行了比较分析。结果表明,其它肝炎病毒的混合感染可降低 HCV RNA 和/或抗-HCV 的检出率,见表 2。从表 2 结果可看出, HAV 混合感染可明显降低 HCV RNA 和抗-HCV 检出率, HBV 混合感染对 HCV RNA 检出率没明显影响,但可大大降低抗-HCV 的检出率。

表 2 不同病毒感染组肝炎患者中 HCV 病毒学检测

分组	HCV RNA 检出率	抗-HCV 检出率
HCV 感染组	100%(22/22)	47.4%(9/19)
HCV+HAV 感染组	87.5%(14/16)	31.3%(5/16)
HCV+HBV 感染组	100%(28/28)	12%(3/25)

三、讨论

迄今,肝炎患者中 HCV 感染的检测主要是依赖于对患者血清中 HCV RNA 和抗-HCV 的检测。所以,这两种检测方法的特异性和敏感性决定了肝炎患者中“丙型肝炎”的检出率。

通常 HCV RNA 的检测是以 HCV 基因组 5'末端非编码区(HCV-5'NCR)为靶位点,用 RT-PCR 方法进行检测。本研究中用此方法从 203 例 HCV 感染的肝炎患者中检出 HCV RNA 阳性者 198 例, HCV RNA 阳性率为 97.5%。而在这些患者中抗-HCV 的检出率仅为 28.3%(43/152)。这与一般的报道结果差距很大。在国内以往的报道中,丙型肝炎患者 HCV RNA 的检出率约为 38.1%

~71.4%,抗-HCV 的检出率约为 60.0%~96.4%^[7~10],抗-HCV 检出率均高于 HCV RNA 检出率。仅在少数特殊肝炎病例(如肝癌患者)中出现 HCV RNA 检出率高于抗-HCV 的情况^[11]。本研究 HCV RNA 检出率远远高于抗-HCV,提示云南地区肝炎患者中流行的 HCV 的抗原性可能与以往其它地区流行的不同。我们对昆明地区肝炎患者中 HCV 基因型研究结果(另文发表)证实了以上推测。在对肝炎患者中 HCV-5'NCR 核苷酸序列测定所作的基因分型研究中我们发现,云南地区流行的 HCV 以基因组 3(Genotype 3)为主(56.2%),基因组 1 为 34.8%,而且同一基因组内核苷酸序列间变异也很大,没有一例血清中检出基因型 I(1a)。而基因型 I 是美国 Abbott 公司抗-HCV 试剂盒 HCV 检测抗原的模板克隆株病毒。国内检测抗-HCV 试剂盒中的检测抗原除基因型 I 外,还包含有基因型 II(1b)和基因型 III (2a)^[12]。而在中国其它地区流行的 HCV 以基因型 1b(基因型 II)为主,与基因型 I 同属血清型 1。本研究中抗-HCV 检出率反映了云南地区流行的 HCV 基因型(血清型)与国内其它地区的差异。

本研究中用位于 HCV-5'NCR 高度保守的核苷酸序列作引物检测患者血清中的 HCV RNA,并且在进行 RT-PCR 前血清中的 HCV RNA 作了纯化和浓缩,所以检出率得到大大提高。本研究结果还表明,目前商品化的以基因型 I、基因型 II 和基因型 III 病毒抗原为检测抗原的检测抗-HCV 的试剂盒,在检测以其它基因型(或血清型)为主要流行病毒时,就会出现许多的假阴性。此外,其它肝炎病毒的混合感染也会影响抗-HCV 的检出率,特别是 HBV 的混合感染可大大降低抗-HCV 的检出率。本研究结果表明,进一步研制能检测不同血清型(或基因型)丙型肝炎病毒抗原的试剂盒具有重要的价值和意义;对其它肝炎病毒感染的同时检测在丙型肝炎的临床治疗和预后中也具有重要的诊断价值。

(陈元鼎 刘名英 余文霖 李嘉琦 彭梅 刘晓 李惠琼 周曾全)

参 考 文 献

1. Cha TA, Kolberg J, Irvine B, et al. Use of a signature nucleotide sequence of hepatitis C virus for detection of viral RNA in human serum and plasma. *J Clin Microbiol*, 1991, 29:2528-2534
2. Choo QL, Kuo G, Weiner LR, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 1989, 244:359-362
3. Weiner AJ, Huo G, Bradley DW, et al. Detection of hepatitis C viral sequences in non-A, non-B hepatitis. *Lancet*, 1990, 335:1-3
4. Garso JA, Tedder RS, Briggs M, et al. Detection of hepatitis C viral sequence in blood donations by nested polymerase chain reaction and prediction of infectivity. *Lancet*, 1990, 355:1419-1422
5. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*, 1989, 244:362-364
6. 陈元鼎, 刘名英, 周曾全, 等. 中国丙型肝炎患者中发现新的丙型肝炎病毒核苷酸序列. *中国病毒学*, 2000, 15(2)
7. 高志良, 姚集鲁, 吕凌. 丙型肝炎 126 例临床病毒血清学分析. *中华传染病杂志*, 1994, 12:104-105
8. 南月敏, 张进贵, 王麟士, 等. 抗-HCV-IgM 检测对丙型肝炎病毒感染的临床意义. *中华传染病杂志*, 1995, 13:180-181
9. 张东华, 陆志檬, 金根娣, 等. 丙型肝炎患者、献血员外周血单个核细胞中 HCV 基因状态. *中华传染病杂志*, 1997, 15:95-97
10. 张鸿飞, 王林洁, 杨晓晋, 等. 慢性丙型肝炎病毒核酸的分布特征. *中华儿科杂志*, 1997, 35:411-413
11. 范小玲, 彭文伟, 姚集鲁, 等. 肝细胞癌患者乙、丙和丁型肝炎病毒感染状况. *中华传染病杂志*, 1995, 13:129-132
12. 杨振, 祁自柏, 谷金莲, 等. 部分国产 HCV 抗原的质量分析. *中国生物制品学杂志*, 1998, 11:162-165