

戊 型 肝 炎

主 编 黄书明 华文久 王陆军
副主编 章幼奕 黄松平 耿民新

参加编写人员：

王陆军 华文久 李丽君 吴月平
吴玉兰 陈 萍 凌勇武 耿民新
黄书明 黄松平 章幼奕

中 国 中 医 药 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

戊型肝炎/黄书明主编. -北京:中国中医药出版社, 1999. 8

ISBN 7-80156-045-0

I. 戊… II. 黄… III. 病毒性肝炎, 戊型 IV. R512.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 46467 号

中国中医药出版社出版

发行者: 中国中医药出版社

(北京市朝阳区东兴路 7 号 电话: 64151553 邮码: 100027)

印刷者: 北京北七家印刷厂

经销者: 新华书店总店北京发行所

开 本: 787mm×1092mm 32 开

字 数: 171 千字

印 张: 7.625

版 次: 1999 年 8 月第 1 版

印 次: 1999 年 8 月第 1 次印刷

册 数: 7000

书 号: ISBN 7-80156-045-0/R·045

定 价: 12.00 元

前 言

戊型肝炎是本世纪 80 年末发现的新的病毒性肝炎之一，全球流行，广泛见于亚洲、非洲与拉丁美洲地区。我国是病毒性肝炎高发区，据统计，在急性病毒性肝炎中，戊型肝炎发病率为 3.4% ~ 20.5%，平均为 8.6%，对人民健康与劳动生产力的危害甚大。

近年来，国内在戊型肝炎的防治研究方面取得了多项进展，对两株戊型肝炎病毒（HEV）的全基因序列，以及从不同地区分离的 10 余株 HEV 的部分基因序列进行了测定，发现其与墨西哥株 HEV 的核苷酸序列同源性为 79% 左右，与缅甸株属同一亚型，此外，还发现了 HEV 的变异株，用常规方法无法检测到，变异株的发现对研制戊肝诊断试剂和疫苗均有重要意义。现已证明，国产猕猴可实验感染 HEV，并已连续传 3 代，提示它可作为戊肝的动物模型，为研究戊肝的传播机制、发病机理、药物治疗、疫苗效果考核提供了理想的动物模型。目前国内已获得 12 个覆盖 HEV 全基因的克隆，并对各基因片段的抗原位点进行了系统研究。为进一步研制戊肝的诊断试剂和疫苗打下了基础。国内研制成功的抗-HEV 酶联免疫诊断试剂盒和该试剂盒的质控参比系统血清，已获卫生部批准，其质量优于国外同类试剂。此外，还建立了 RT-PCR 法和检测抗-HEV 蛋白印迹试验方法，对戊肝病人粪便和血清进行了检测，阐明了 HEV 病毒血症粪便排毒及抗-HEV IgM 和 IgG 抗体消长规律，对指导我国戊肝的防治具有重要意义。通过对 13 个省、市、自治区中 63 个疾病监测点 31120 人的血清流行病学调查，以及对北京等 11 个城市 1918 例散发性戊肝病人的病原学调查，较系统地总

总结了我国戊肝的临床和流行病学特点。戊肝的基因重组疫苗和核酸疫苗正在深入研究中，已获得一些可喜结果，可望不久用于本病的预防。

为了帮助广大医务工作者了解、掌握戊肝防治的基本知识和研究进展，本书的主编博览群书，广纳众长，结合多年积累的丰富临床经验，编写成戊型肝炎这部专著，从戊肝的分子生物学、发病机理、病理学、流行病学、临床诊断、治疗及预防等方面加以详尽而系统的阐述，本书内容丰富新颖，理论联系实践，基础结合临床，深入浅出，是传染科、消化科、卫生防疫和肝炎防治工作者值得学习的一本参考书，本人有幸先读为快，受益匪浅，谨向读者郑重推荐。

中国中西医结合肝病学会副主任委员

巫善明

上海市传染病医院教授

1999年4月

目 录

第一章 戊型肝炎病毒学	(1)
第一节 戊型肝炎病毒的形态和理化特征	(1)
第二节 HEV-cDNA 克隆及基因组	(6)
第三节 亚型	(33)
第四节 血清型	(34)
第五节 动物实验感染和体外细胞培养	(34)
第六节 HEV 的分类归属	(42)
第二章 戊型肝炎病毒分子免疫学	(44)
第一节 HEV 抗原	(44)
第二节 HEV 蛋白的抗原决定簇	(45)
第三节 HEV 抗原在肝脏中的表达	(47)
第四节 HEV 表达人 B 细胞抗原表位	(48)
第三章 致病机理和病理学改变	(50)
第一节 致病机理	(50)
第二节 病理学改变	(52)
第四章 戊型肝炎的流行病学	(57)
第一节 传染源	(58)
第二节 传播途径	(61)
第三节 人群易感性	(66)
第四节 流行特征	(68)
第五章 戊型肝炎的临床表现、诊断和预后	(72)
第一节 戊型肝炎的临床类型	(72)
第二节 戊型肝炎的症状和体征及其机理	(77)

第三节	戊型肝炎的诊断	(79)
第四节	戊型肝炎的预后	(107)
第六章	肝功能检查	(111)
第一节	肝功能试验的目的和选择	(111)
第二节	酶学检查	(113)
第三节	胆红质代谢功能试验	(121)
第四节	蛋白质代谢功能试验	(124)
第五节	脂类代谢功能测定	(127)
第六节	凝血象检测	(129)
第七节	其他	(131)
第七章	血清标志物感染	(133)
第一节	酶联免疫技术检测方法的评价	(133)
第二节	IgG、IgM、IgA 抗-HEV 的检测与临床评价	(144)
第三节	聚合酶链反应	(159)
第四节	HEV 颗粒的检测	(170)
第五节	HEV 抗原 (HEAg) 检测	(172)
第八章	肝炎病毒的混合感染	(175)
第一节	HAV 和 HEV 混合感染	(175)
第二节	HBV 和 HEV 混合感染	(179)
第三节	HCV 和 HEV 混合感染	(187)
第九章	孕妇、小儿、老年人戊型肝炎	(190)
第一节	孕妇戊型肝炎	(190)
第二节	小儿戊型肝炎	(194)
第三节	老年人戊型肝炎	(197)
第十章	戊型肝炎的治疗和预防	(201)
第一节	治疗	(201)
第二节	预防	(233)

第一章 戊型肝炎病毒学

近年来，随着分子生物学和临床医学的发展，人们认识到所谓非甲非乙型肝炎（NANBH）是由经肠道外传播的非甲非乙型肝炎（PT-NANBH）病毒和经肠道传播的非甲非乙型肝炎（ET-NANBH）病毒引起的，进一步将其分为丙型肝炎（简称丙肝）和戊型肝炎（简称戊肝）。戊型肝炎是一种自限性、粪-口传播的急性病毒性肝炎，多以流行暴发出现，是发展中国家较常见的传染病之一，散发病例呈全球性分布。它对孕妇有致命的危险，在患有戊型肝炎的孕妇中，死亡率可达到15%~20%。疫苗的研究工作正在进行之中。

本章主要叙述戊型肝炎（HE）的病原学和戊型肝炎病毒（HEV）的生物学特性，较详细介绍了HEV基因的分离、克隆和表达及其理化特性、基因特征、亚型、血清型、动物实验感染等。

第一节 戊型肝炎病毒的形态和理化特征

一、病原学的早期研究

1983年前苏联 Balayan 等用 NANBH 患者的粪便提取液对1名曾患过甲型肝炎（简称甲肝）的志愿者进行经口感染，该志愿者于感染后第36天发生急性肝炎的临床表现，出现黄疸并伴血清丙氨酸转氨酶（简称ALT）异常，在感染后28、43、44天，用免疫电镜检测其感染的粪便标本，可见直径27~30nm的圆球状病毒颗粒，可被戊型肝炎病人的急性期和恢复期血清所聚集，但与甲肝和丙肝病人以及实验

感染丙肝病人的血清不聚集。1984 年, Kane 等用免疫电镜检查了采自加德满都的 NANBH 急性期患者粪便, 查到了直径为 27nm 的 20 面体病毒颗粒, 这些颗粒可与病人恢复期血清及感染的狨猴恢复期血清发生凝集反应。1987 年, Pinot 等用非洲象牙海岸暴发区患者及法国散发性患者的粪便除菌处理后给非洲绿猴口服, 收集感染后粪便, 用 ELISA 法查到了病毒抗原。1991 年, 日本 Uchida 等用缅甸散发 NANBH 患者的粪便提取液接种到 4 只食蟹猴, 结果从第 2 周起血清 ALT 及天冬氨酸转氨酶 (AST) 增高, 第 3~4 周达高峰, 同时胆汁和粪便中查到病毒样颗粒, 又用粪便提取液进行了食蟹猴的传代接种, 均发生了相同的急性肝炎改变。尽管用直径 32~34nm 病毒样颗粒接种动物可能有效而可靠地感染, 但其粪便中并不总能获得相同或相似形态的病毒样颗粒。这种现象可能是由于病毒经肠道时引起颗粒的降解或是这些颗粒具有内在的不稳定性, 在肠道中易发生蛋白降解或其他变性而灭活。

1987 年 11 月, 在日内瓦召开的世界卫生组织 (WHO) 病毒性肝炎技术咨询小组第三次会议上, 从病原学与流行病学上将 NANBH 病毒分为两大类: 肠道传播的非甲非乙型肝炎 (Enterically Transmitted Non-A, Non-b Hepatitis 简称 HNANB (E) 或 ET-NANBH) 及肠道外传播的非甲非乙型肝炎 (Parenterally Transmitted Non-A, Non-B Hepatitis 简称 HNANB (P) 或 PT-NANBH)。两者均可呈流行性, 又可呈散发性。近年来, 系列研究表明, 肠道传播或密切接触传播的这两型 NANBH 病原体的确存在。1989 年, 美国 Choo 和日本 Arima 分别克隆并测定了 PT-NANBH 病毒的基因序列; 同年, 美国疾病控制中心 (Center for disease control, CDC) 的 Reyes 等获

得 ET-NANBH 病毒的基因序列。于是, 1989 年 9 月 27 ~ 30 日, 在日本东京召开的国际 NANBH 和经血传播的传染病学会议上, PT-NANBH 病毒和 ET-NANBH 病毒分别被正式命名为丙型肝炎病毒 (Hepatitis C Virus, HCV) 和戊型肝炎病毒 (Hepatitis E Virus, HEV)。

目前所知的 5 种肝炎病毒的分类、理化特性、临床特点等见表 1-1-1, 除 HBV 为 DNA 外, 其余病毒的核酸类型均为 RNA。HAV、HEV 所致的肝炎主要由消化道传播, 多呈急性; 而 HBV、HCV、HDV 所致的肝炎主要经血传播, 除出现急性肝炎外, 都较易转变为慢性肝炎, 后期易发展成肝硬化、肝癌及重型肝炎。由于 HAV、HEV 所致的肝炎主要经消化道传播, 所以易出现流行, 潜伏期亦较短。HBV 所致的肝炎发病潜伏期较长, HCV 所致的肝炎发病的潜伏期存在长、短两种, 所以在流行病学上, 它们都是呈现地方性、散发性。

表 1-1-1 五种病毒性肝炎比较

	甲型肝炎	乙型肝炎	丙型肝炎	丁型肝炎	戊型肝炎
病毒	HAV	HBV	HCV	HDV	HEV
分类	小 RNA 病毒科	嗜肝 DNA 病毒科	黄病毒科	"缺陷病毒"	杯状病毒科
直径 (nm)	27	42	30 ~ 60	35 ~ 37	32
核酸类型	单正 RNA	双链 DNA	单正 RNA	单负 RNA	单正 RNA
核酸长度 (kb)	7.8	3.2	10.0	1.7	7.6
ORF 数	1	4 (或 6)	1	多个	3
包膜	无	有	有	有	无
复制酶	病毒 RNA 指导的 RNA 多聚酶	病毒 DNA 指导的 DNA 多聚酶; 病毒 RNA 指导的 DNA 多聚酶; 病毒核糖核酶 II	病毒 RNA 指导的 RNA 多聚酶	宿主 RNA 指导的 RNA 多聚酶	病毒 RNA 指导的 RNA 多聚酶
传播途径	粪-口	经血	经血	经血	粪-口
流行性	流行性、地方性	地方性、散发性	地方性、散发性	地方流行性	流行性
慢性化	/	2% ~ 7%	50% ~ 70%	2% ~ 70%	/
肝衰竭	罕见	常见	常见	多见	少 (孕妇多见)
病变危险	无	有	有	有	无
临床特点	急性自限性 病初发热 黄疸多	急性肝炎无黄疸病例多 病毒携带者易发生慢性	临床症状轻, 但易 转为慢性肝炎	同时感染可 加重病情	酷似 HA, 淤胆型多, 孕妇重
预后	良好, 无慢性	慢性、肝硬化、肝癌	同 HB	同 HB	比 HA 差
预防	切断粪-口途径 灭球有效	献血员筛选, 控制母婴 和医源性传播	献血员筛选 控制医源性传播	同 HB	切断粪-口途径 灭球无效

二、形态

HEV 病毒颗粒呈圆球形，无囊膜，直径 $27 \sim 38\text{nm}$ ($32 \sim 34\text{nm}$ (占 80%))，平均 32.2nm (图 1-1-1)。世界各国 NANBH (E) 病毒颗粒大小见表 1-1-2，颗粒表面有突起和缺刻 (图 1-1-2)，病毒在胞浆内装配，呈晶格状排列，可形成包涵体，病毒颗粒显示凹型和门邻体样亚单位结构，其杯形的凹陷呈圆形或卵圆形。电镜下可见实心颗粒和空心两种颗粒，实心颗粒内部致密，为完整的病毒颗粒；空心颗粒内部含电荷亮区，为有缺陷的、不含完整的 HEV 基因的病毒颗粒，空心颗粒是实心颗粒不含遗传基因的存在形态，是蛋白质和核酸异常装配的结果。

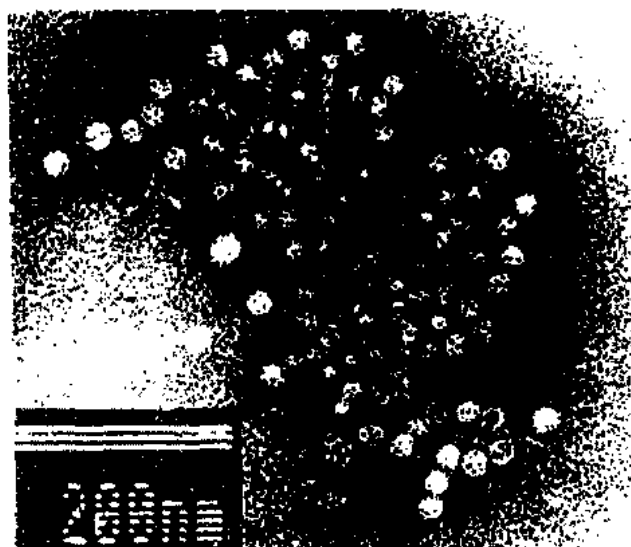


图 1-1-1 从戊型肝炎病人粪便中用免疫电镜法观察到的 HEV 颗粒

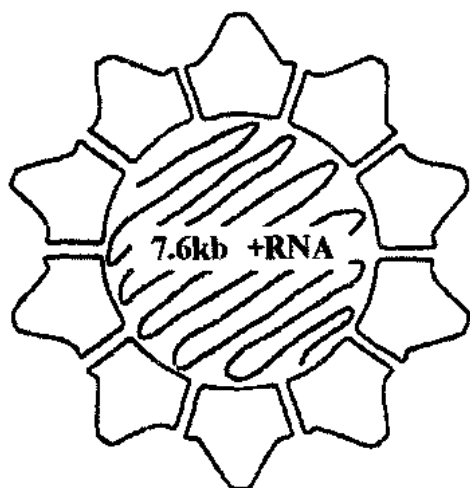


图 1-1-2 HEV 模拟图

表 1-1-2 世界各国 HNANB (E) 病毒颗粒大小

粪便标本来源	病例号 (发病后天数)	病毒颗粒 大 小	每 5 个方格 内的 VLPS △
尼泊尔 (加德山谷, 1981 ~ 1982)	1 (4)	27 ~ 32nm	7200
缅甸 (仰光, 1982)	4 (4 ~ 7)	27 ~ 32nm	20 ~ 100
巴基斯坦 (卡拉奇, 1985)	1 (7)	27 ~ 32nm	150
前苏联 (塔什干, 1983)	1 (-1)	27 ~ 32nm	300
索马里 (1986)	1 (5)	27 ~ 32nm	155
墨西哥 (1986)	1 (-2)	27 ~ 32nm	5 ~ 10
印度 (1988)	1 (20)	27 ~ 32nm	
中国 (新疆, 1989)		27 ~ 32nm	

注: △ VLPS, 病毒样颗粒 (Virus like particles)

三、理化及生物学特性

蔗糖梯度离心时,完整的病毒颗粒的沉降系数为 183s,有缺陷的病毒颗粒的沉降系数为 165s,在酒石酸钾和甘油中的浮力密度为 $1.29\text{g}/\text{cm}^3$,在氯化铯中的浮力密度为 $1.30\text{g}/\text{cm}^3$ 。HEV 病毒颗粒性质极不稳定,不能耐受高渗盐类,包括氯化铯,对冻融在 $-70^\circ\text{C} \sim +8^\circ\text{C}$ 悬液贮存敏感,在蔗糖溶液和磷酸盐缓冲液中保存,可结成团块而导致活性下降,在液氮中能长期保存,在 pH 中性偏碱的环境中较稳定,在镁和锰离子存在下可保持其完整性。见表 1-1-3。

表 1-1-3 HEV 的理化和生物学特性

-
1. 病毒颗粒直径为 $27 \sim 38\text{nm}$, 平均 32.2nm , 用免疫荧光显微镜可观察到
 2. 为圆球状, 无包膜颗粒, 颗粒表面有缺刻和突起, 在 -20°C 保存可有裂解
 3. 沉降系数为 183s, 浮力密度为 $1.29\text{g}/\text{cm}^3$
 4. 基因组为单链 (+), 聚腺苷化, 全长为 7.5kb 的 RNA, 分子结构为 $5' - \text{NS} - \text{S} - \text{polyA} - 3'$
 5. 在 BSC-1、HEK 和 AGMK 细胞系中培养未获成功
 6. 可感染灵长类动物
 7. 可能属于杯状病毒科
-

第二节 HEV-cDNA 克隆及基因组

一、HEV 基因的分离、克隆和表达

1989 年美国学者 Reyes 等用传 3 代的 HEV 株感染食蟹猴, 从胆汁中提取 HEV-RNA, 在 $\lambda\text{gt}10$ 中构建了 HEV-cDNA 基因文库, 用 cDNA 探针杂交备选克隆进行鉴定, 结果获得

1个阳性克隆，命名为 ET1.1 克隆（约含有 1.3kb 的基因片段），该克隆可与索马里、巴基斯坦和前苏联戊肝病人粪便以及实验动物肝内长度为 7.5kb 的单股正链多腺苷 RNA 发生杂交，但与实验感染和未感染 HEV 猕猴宿主 DNA 不发生杂交。该克隆还编码一种 RNA 依赖的 RNA 聚合酶正义主蛋白 [Protein of RNA dependent RNA Polymerase (RDRP) Consensus motif]。该克隆代表 HEV 缅甸株 [简称 HEV (B)] 的部分基因结构。1991 年 Yarbough 等用 λ gt11 作为表达质粒，从墨西哥肠道传播的非甲非乙型肝炎病人粪便中提取 HEV-RNA，建立了 λ gt11 HEV cDNA 文库，经免疫筛选，获得了 406.3.2 和 406.4.2 两个阳性 cDNA 克隆。1992 年 Huang 等人报道一组含 9 个相互重叠的克隆，代表了 HEV 墨西哥株 [简称 HEV (M)] 完整的基因结构。在随后的几年里，缅甸、巴基斯坦、印度、中国等地区 HEV 毒株部分或全基因序列被鉴定清楚。上述克隆的详情参见表 1-2-1。

表 1-2-1 HEV-RNA 的 3 个 cDNA 克隆

克隆名称	分离地区	标本	长度	方法	报告时间
ET1.1	缅甸	胆汁	1299bp	鉴别杂交	1990
406.3.2	墨西哥	粪便	126bp	免疫筛选	1991
406.4.2	墨西哥	粪便	99bp	免疫筛选	1991

3 个 cDNA 克隆在 HEV 基因组上的定位参见图 1-2-1。

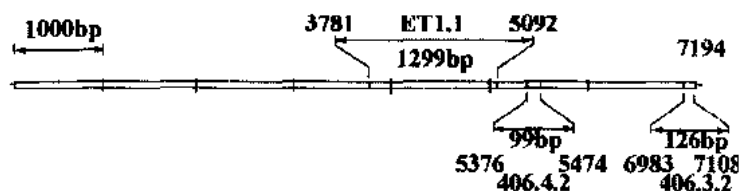
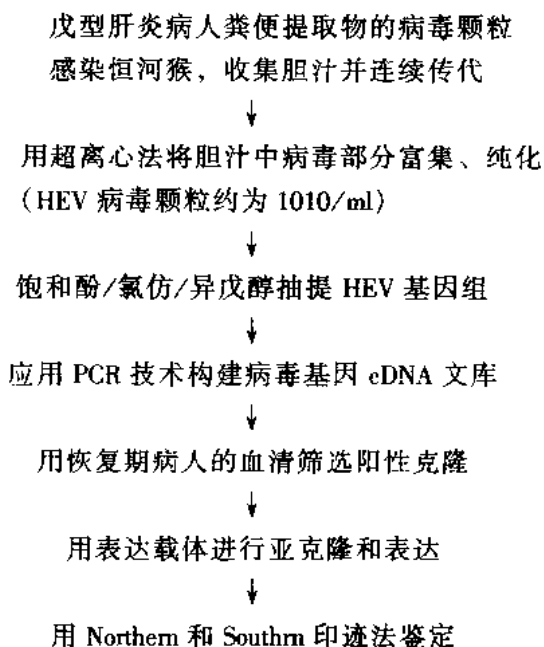


图 1-2-1 3 个 cDNA 克隆在 HEV 基因组上的定位

注：图中 7194bp 的线图表示不包括多聚腺苷酸尾在内的 HEV 基因组。

Ichikawa 等成功地分离并克隆了 HEV 基因组的 cDNAs。在大肠杆菌中获得了表达的病毒蛋白质，后者能与 HE 患者的血清起阳性反应。目前 HE 基因的分离和克隆等主要步骤是：



Reyes 等首次克隆了 HEV 的 cDNA，定名为 ET1.1。此 ET1.1 cDNA 片段为 1.3kb 大小，其限制性内切酶图谱如图 1-2-2：

为了证实 ET1.1 是 HEV 的 cDNA 片段，而不是其他来源的 cDNA 序列，Reyes 等进行了许多步骤的鉴定过程。

首先，根据 ET1.1 序列合成一对引物：

5'-GGGCCCCAATTCCTTCT-3' 210 引物

5'-TTTTCAGGTGCGTGCC-3' 228 引物

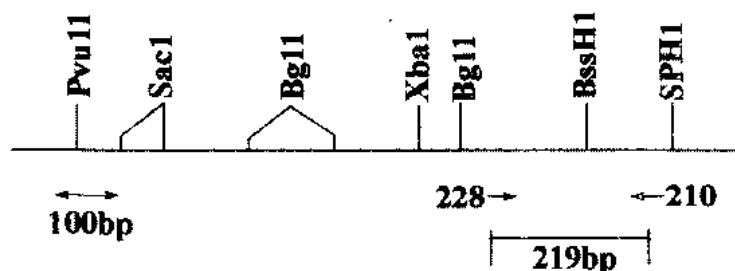


图 1-2-2 HEV cDNA 克隆 ET1.1 限制性内切酶图谱

分别从实验感染的恒河猴、未感染 VLPs 的恒河猴、人的正常胎肝及质粒 ET1.1 分别制备 DNA 样品作为模板，同时进行标准程序的 PCR 扩增，结果：ET1.1 为阳性，只有实验感染 VLPs 的恒河猴肝脏中可以扩增出特异性的 PCR 产物，而未感染 VLPs 的恒河猴、人正常的胎肝及菌株（1088）来源的 DNA 模板，PCR 扩增皆为阴性。这从一方面证实了 ET1.1 是一种 VLPs 感染恒河猴肝脏中特有的核苷酸序列。

采用分子杂交实验，结果也同样证实了 ET1.1 是 HEV 特异性的。以 ET1.1 作为标记探针，从感染 VLPs 和未感染 VLPs 恒河猴的胆汁、感染或未感染的墨西哥人胎儿以及巴基斯坦、缅甸、索马里、塔什干人粪便提取物中提取 RNA，逆转录为 cDNA，进行 Southern blot 杂交，结果证明未感染 VLPs 恒河猴的胆汁为阴性，而实验感染的恒河猴、患者的标本都呈阳性，说明此法克隆的 ET1.1cDNA 确实为 HEV 特异性的。ET1.1 的部分核苷酸序列及推导的氨基酸序列与其他正链 RNA 病毒的比较见图 1-2-3 和图 1-2-4。

699 GTGTTT GAGAAAT AGCTTTTCTGAGTTT GACTCCACCCAGAAAT AACTTTCTCTGCGGTCTA GAGTGTGCTATT ATG GAGGAGTGT
V F F N D F S E F D S T Q N N F S L Q L E C A I M E E C

735 GGGATGCCGCAGTGGCTCATCCGCCCTGTATCAOCTTATAAGGTCTGCGTGGATCTTCAGGCCCCAAGGAGTCTCTGCGAGGG
G M P Q W L I R L Y H L I R S A W I L O A P K E S L R G

817 TTTTGGAAAGAACTACTCCGGTGAGCCCGGCACTCTTCTATGGAATACTGTCTGGAATAAGGCCGTATTACODACTGTATGAC
F W K K H S G E P G T L L W N T V W N M A V I T H C Y D

901 TTCCGCGATTTTCAGGTGGCTGCCCTTTAAAGGTGAIGATTGCGATAGTACTTTGCGAGTGAGTATCGTCAGACATCCAGGAGCTGCT
F R D F Q U A A F K G D D S I V L C S E Y R Q S P G A A

985 GTCCTGATCGCCGGCTGT1002
V L I A G C

图 1-2-3 ET1.1 克隆的部分核苷酸序列

HEV	VFENDFSEFDSTONNFSLG-LECAIMEEC-GMPQWLIRLYHLIRSAWILQAPKESLR-GFWKKH	-----	S-KHSGEPGTLWLN
HCV	GFSYDTGCFDSTVTFESDIR-TEEAYQCCDDLPQARY-AIKSLTERLYYGGPLNSR--GENCGYRRCRAS-RASGVLTSSGN		
HAV	GLDLDFSAFDASLSPFMIREAGRIMSLS-GTPSHFGTALINTIYSKALLYNCCYHVCGC	-----	MPSGSPCTALLN
JE	MYADDTAGWDTRITRTDLE-NEAKVLELLDGEHRMLARAIETLYRHKKVVMRPAAE--GKTVMDVISREDORGSGQVITYALN		
POU10	FA-FDYTGVDASLS-PAWFEAL-KMVLKIGFGORVDY-HDYLNHSHILYKNKTYCVKGG	-----	MPSGCSGTSIRN
FMD	WVDVDYSAFDANHCSAMNIMFEEVFRITDFGRHPNAEWILKLTNTEHAYENKRITV-EGG	-----	MPSGCSATSIN
EMC	VYDVDSYNSFDSTHSVAMFRLLAEFFTPENG-F-DPLTREYLESIASTHAFFEEKRLTGG	-----	LPSCGAATSMIN
SNBV	VLETDIASFDKS-GVDDPLKLECAFGEISSTHLPITGTRKPGA--M	-----	MKSGMFLTLVN
TMV	VLELDISKYDKS-QNEFHCAVEYEMRRL-GRFLGEWVKQG-HRKTLTK-DITL-GYKTC-IMY	-----	QRKSGDVTFFGN
BMV	FLEADLSKFDKS-QGELHLEFQREILLAL-GFPAPLTNWSDF--HRDSYLS-DPHAKVGMS--VSF	-----	QRRTGDAFTYFVN
CPMV	VLCCDYSFDGLLSKOVMDVIASMINELCGGE-DQLKNAPRNILLMACCSRLAICKNTVWRVECG	-----	IPSGHFMIVYN

HEV	TYWNIMAVITHE	-----	YDFRDFQVAAFKGGDSIML-CSEYRQSPG--A-A--VLIAGC
HCV	TLTCYIKARAADRAAGLODCTMLVG	-----	GDDLWH-DESAGVQED--A-A--SL-RAF
HAV	SIINNVNLYYVFSKI	-----	FGKSPVFCOALKILCYGDDIV-FSRDVGQIDNLDLQKQVDEF
JE	TFTNIAVQVLRIMEAEGVIGPOHLEQLPRKTKIIVRTWLFENGEEVRIMASISGDDCVK	---	PLDDFATALHFL-NAM
POU10	SIINNIILRTLLKTYKGID	-----	LDHLKIMAYGDDVIAS--YPHEVDAS--LLAGS
FMD	ILINNIYLYALRHHYEGVE	-----	LDTYTMSYGGDDVVA--SDYDLDF--EALKP-H
EMC	TIINNIIRAGLYLTYNKFE	-----	FDDVKVLSYGGDLLVA--TNYQLDFDKV--RASLAKTG
SNBV	TVUNVVASRYLE	-----	ERLKTSRCAAFIGDNNIH--GWSDKEMAERCATWL-N
TMV	TVIAACLASML	-----	PMEKIKGAFCGDDSLY-FPKGCBPDVOHSAN-LMWNFE
AMV	TIVTLACLOHVDLM	-----	DPNKKPVASGGDSLUG--TVEELPRDQEF-LFTLFLNLE
BMV	TLTYTMAMIAVASDLS	-----	DCCDAIFSGDDSLIF-SKVPKALDTDM-FISLPMIE
CPMV	SIRNEILIRYHYKKLMREQQAE	-----	LMVQSPDKLIGLVTYGGDNLISVNAVVTYPYDGKKL-GQSLACGG

图 1-2-4 据 ET1.1 推导的氨基酸序列以及与其他 11 种 RNA 病毒的比较

ET1.1cDNA 片段克隆化获得成功，首次阐明了 ET-NANBH 病毒，即 HEV 的部分 cDNA 序列，具有重要意义。ET1.1cDNA 片段克隆化成功，还为 HEV 全基因克隆化提供了特异性的探针，并据此表达出 HEV 的病毒抗原，对 HEV 的分子生物学研究具有极大的推动作用，功不可没。

HEVcDNA 克隆 ET1.1 具有以下一些特点：第一，只与 HEV 实验感染的恒河猴胆汁中来源的 cDNA 呈阳性杂交。第

二，与感染肝脏中分离的 RNA 呈特异性杂交的长度为 7.6kb，因此当时就推测 HEV RNA 长度为 7.6kb 或更长一些。现已完全证实了当初的推测是正确的。HEV RNA 长度为 7.6kb。第三，这种 ET1.1 片段具有编码 RNA 依赖性的 RNA 聚合酶的部分高度保守序列，而这是正链 RNA 病毒的一个重要的特点。第四，对于感染和未感染 HEV 的灵长类来说，ET1.1 都不是其肝脏本身所拥有的基因序列。第五，计算机检索表明，在已知核苷酸的基因库（GeneBank）中，这种 ET1.1 的核苷酸序列是独一无二的，没有相同的一个克隆，因而是一种独特的一级基因的核苷酸结构。

二、HEV 基因组表达研究

1. HEV RNA 开放读码框架分析

HEV 基因组为正性、单链、线状 RNA，全长为 7.2 ~ 7.6kb，含有 7194 个核苷酸。核苷酸组成分别为：A 17%、C 32%、G 26%、U 25%、G + C 含量为 58%。（表 1-2-2）。编码 2400 ~ 2533 个氨基酸，由 5' 端非结构区（简称 NS）和 3' 端结构区（简称 S）组成。用基因组的 3' 末端作探针能从感染的肝脏中发现 HEV 的两个亚克隆的转录子，即带有 Poly（A）的 3.7kb 和 2.0kb 的序列。此外，3' 端有一 150 ~ 300 个腺苷酸残基组成的多腺苷（A）尾巴。整个基因组有 3 个开放性阅读框架（open reading frame, ORF）。HEV 的基因结构及 3 个 ORF 在 HEV 基因组上的定位参见图 1-2-2。HEV 的表达需要利用 3 个 ORF 和 3 个转录子（7.5kb、3.7kb 和 2.0kb）。HEV 基因组 ORF 的组成和功能见表 1-2-3。