

# 病毒性肝炎的新进展

姚光弼 钱本余 编

上海科学技术文献出版社

# 目 录

|                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| 病毒性肝炎研究的现况和展望      | 钱本余 ( 1 )          |
| 国内病毒性肝炎研究近况        | 康来仪、姚光弼 ( 7 )      |
| 病毒性肝炎血清学诊断的进展      | 顾彬昌、陶义训 ( 14 )     |
| 病毒性肝炎血清学指标的评价      | 徐志一 ( 23 )         |
| 病毒性肝炎的病理           | 应越英、翟为溶、胡锡琪 ( 29 ) |
| 慢性活动性肝炎的不同类型       | 刘厚钰 ( 35 )         |
| 暴发性肝功能衰竭           | 刘厚钰 ( 43 )         |
| 肝炎消毒及其方法学的研究       | 胡善联 ( 51 )         |
| 甲型肝炎流行病学研究的进展      | 胡善联、徐志一 ( 56 )     |
| 甲型肝炎病毒和疫苗          | 胡孟冬 ( 60 )         |
| 乙型肝炎的流行病学和预防       | 康来仪 ( 66 )         |
| 乙型肝炎病毒的分子生物学       | 闻玉梅 ( 76 )         |
| 分子杂交技术在乙型肝炎和肝癌中的应用 | 顾健人 ( 84 )         |
| 慢性乙型肝炎的自然病程和转归     | 姚光弼 ( 91 )         |
| 慢性乙型肝炎的免疫学机理       | 姚光弼 ( 95 )         |
| 病毒性肝炎药物治疗研究进展      | 姚光弼、黄晓莉 ( 105 )    |
| 乙型肝炎疫苗             | 周翊钟、钱本余 ( 117 )    |
| 原发性肝细胞癌与乙型肝炎       | 俞顺章、黄敬亨 ( 125 )    |
| $\delta$ 因子        | 闻玉梅 ( 131 )        |
| 非甲非乙型肝炎            | 钱本余 ( 135 )        |

# 病毒性肝炎研究的现况和展望

钱 本 余

## 引 言

病毒性肝炎包括甲型肝炎、乙型肝炎和非甲非乙型肝炎。甲型肝炎不会引起慢性肝炎，而且大多数为亚临床型，然而由于当前我国环境卫生与卫生习惯还较差，甲型肝炎的感染率很高，30岁以上人群中90%左右，50岁以上人群中几乎100%已受甲型肝炎感染。因此，虽然在甲型肝炎感染者中只有一小部分罹患临床肝炎，在每年的急性肝炎患者中，约35~45%是属甲型肝炎，是导致劳动缺勤的主要因素之一。

乙型肝炎的危害性更剧。许多患者在感染乙型肝炎后演变为慢性乙型肝炎病毒携带状态，特别是在新生儿期从慢性乙型肝炎携带者母亲感染到乙型肝炎的婴儿，约90%成为慢性乙型肝炎携带者。据调查，我国一般人群中慢性乙型肝炎携带者率为6~15%，总人数超过1亿。上海地区对6,265名妊娠妇女的测定结果显示，慢性乙型肝炎病毒携带者率为12.5%。慢性乙型肝炎病毒携带者不仅构成乙型肝炎的传染源，而且其中有许多人罹患慢性活动性肝炎，经年不愈，最终发展为肝硬化，有些人则演变为原发性肝癌。据台湾省的一项前瞻性研究，成年男性慢性乙型肝炎病毒携带者与非携带者相比，6.2年中其形成原发性肝癌的相对危险性为217倍；随访慢性乙型肝炎病毒携带者中25%最终将发生肝癌。慢性乙型肝炎病毒携带状态是造成我国肝癌高发的一个主要原因。

非甲非乙型肝炎虽然调查数据尚不多，但据初步调查结果，约占急性肝炎中的20~25%。非甲非乙型肝炎也可引起慢性肝炎和肝硬化，约30~50%的输血后非甲非乙型肝炎转为慢性。此外，也有可能引起原发性肝细胞癌。

因而，病毒性肝炎是危害我国人民健康的严重疾病，特别是乙型肝炎。

## 国内外研究现况

### 乙型肝炎

#### 乙型肝炎的诊断检测试剂

自从1963年Blumberg发现澳大利亚抗原并于以后证实其为乙型肝炎病毒表面抗原以来，临床和人群检测发现，乙型肝炎在亚洲、非洲以及南欧一些地区的发病率极高，人群中乙型肝炎携带者有高达15~20%者。根据乙型肝炎的地理分布，估计我国必然也是一个高发区。为此，从1971年起即着手乙型肝炎表面抗原检测试剂的研制工作，于1972年春制备成功乙型肝炎表面抗原检测试剂且在人群中进行检测，证明我国确系乙型肝炎的高发区。经过近十年的研究，目前国内已能制备检测血清中乙型肝炎病毒五项标志——乙型肝炎表面抗原、乙型肝炎表面抗体、乙型肝炎核心抗体、乙型肝炎e抗原、乙型肝炎e抗体——的各

种检测试剂,其中酶联免疫吸附剂测定法和放射免疫法的灵敏度已接近国际上最常用的 Abbott 试剂盒,然而,还未能标准化和全面批量生产供应,影响各项乙型肝炎研究,特别是流行病学研究的开展和质量。

### 乙型肝炎疫苗

乙型肝炎的传布环节众多,血液、唾液、精液中均曾有乙型肝炎病毒检得。由于我国乙型肝炎病毒携带者率极高,加上传布环节众多,因此最好的预防方法是疫苗接种。

由于慢性乙型肝炎病毒携带者除携带少量乙型肝炎病毒外,尚有大量过剩的乙型肝炎表面抗原。这些表面抗原不是完整的病毒,因而无感染性,但其所激发的抗体——乙型肝炎表面抗体——却有保护效力。据此,美国默克药厂和美国国立卫生研究院研究从乙型肝炎病毒携带者的血液中提取纯化乙型肝炎表面抗原,制备疫苗,并于 1975 年春报道了在猩猩上取得的初步结果。国内于 1975 年春在见到美国的报告之前即已根据同一原理提出从慢性乙型肝炎病毒携带者血清制备疫苗的方案。目前,国外已有美国默克药厂和法国巴斯德研究所的两种牌号的乙型肝炎疫苗投放市场,经百万余例接种证明安全和有效。国内则北京和上海的一些单位均已有小批量生产。

鉴于上述疫苗需以慢性乙型肝炎病毒携带者的血浆作为原料,对美国、西欧等人群中乙型肝炎携带者率低的国家和地区,原料来源比较困难,成本较高。为此,正在研究基因工程疫苗和人工合成疫苗。基因工程疫苗现美国默克药厂已初步研制成功,并完成第一期临床试用,预计在二年内可投入市场使用。我国已成功地将 HBsAg 基因组插入酵母细胞,取得一定的进展,预计有可能在三年内初步试制成功。

最近,美国报道将乙型肝炎病毒 DNA 的乙型肝炎表面抗原基因组插入牛痘病毒取得成功。经过这一基因重组的牛痘病毒能产生乙型肝炎表面抗原;接种这一病毒的家兔除皮肤出现牛痘外,还可激发产生乙型肝炎表面抗体,其滴度超过保护人体感染乙型肝炎病毒所需的水平。中国科学院生物化学研究所最近也已取得成功。

目前,对乙型肝炎表面抗原的氨基酸排列已经清楚,并且已经了解那些片段具有共同抗原,可以据之而人工合成乙型肝炎疫苗。人工合成疫苗中关于特异多肽的合成还比较方便,问题是如何使这一较短的特异多肽联结至合适的载体,使之能具有足够的免疫原性。对此,国际上争论颇多,有认为即使研究成功,其成本亦颇为高昂,至少在若干年内不能与基因工程疫苗相竞争。

### 乙型肝炎的预防和控制

在慢性乙型肝炎病毒携带者率高的地区,例如我国,乙型肝炎的传布主要发生在新生儿期和幼年时。新生儿感染乙型肝炎病毒后 90~95% 成为慢性携带者,成年人感染乙型肝炎病毒后仅 3~5% 成为慢性携带者。上海地区的流行病学调查显示,5 岁年龄组的慢性乙型肝炎病毒携带率已接近最高点。人群中的慢性乙型肝炎携带者,40~50% 是由母婴传布所引起。因此,控制乙型肝炎的重点应放在预防幼年期感染乙型肝炎,特别是阻断母婴传布。法国在塞内加尔所作的研究提示,在婴幼儿期接种乙型肝炎疫苗有防止乙型肝炎的效果。上海医科大学和浙江医科大学等使用美国国立卫生研究院生产的乙型肝炎疫苗,显示在出生后立即接种乙型肝炎疫苗具有阻断乙型肝炎母婴传布的效果。在 21 例 HBsAg 和 HBeAg 均阳性的母亲的婴儿中,3 例未接种疫苗者均呈乙型肝炎表面抗原阳性,而接种疫苗的 18 例中仅 1 例阳性。上海市卫生防疫站等最近亦作了在出生后立即接种乙型肝炎疫苗(由中国科

学院生物化学研究所和上海市卫生防疫站制备)阻断乙型肝炎母婴传布的试验,并比较单纯接种乙型肝炎疫苗和同时加用高效价乙型肝炎免疫球蛋白的效果,结果显示单纯接种乙型肝炎疫苗的保护率为84.95%,合并应用高效价乙型肝炎免疫球蛋白和乙型肝炎疫苗的保护率为93.76%。根据以上情况,在新生儿和婴儿中大面积推广乙型肝炎疫苗接种是控制乙型肝炎、减少慢性乙型肝炎携带者(从而也减少了传染源)、保障新一代健康的一项重要措施。

预防注射时共用针筒、口腔科器械的消毒不严格、针刺治疗中刺针消毒不严、以及其他许多医疗护理制度的不严格执行,经证明均可引起医源性感染。生活上的密切接触,包括共用牙刷、指甲刀、剃刀等,也可引起乙型肝炎的传布。为此,应加强卫生宣传并制定各项相应的严格管理制度。

此外,鉴于我国慢性乙型肝炎病毒携带者率高达10%,其中30%左右为感染力强的e抗原阳性携带者。对这些人是否应予某些职业限制(例如幼托机构和饮食业),对其密切接触者是否应接种乙型肝炎疫苗……等,以控制乙型肝炎的发生,均尚需要进行一些设计良好的流行病学研究以阐明之。

### 乙型肝炎的治疗

乙型肝炎病毒对肝脏造成损害主要是通过免疫机理。免疫反应剧烈者出现黄疸型肝炎,重者甚至出现暴发型肝炎。免疫反应轻者出现无黄疸型肝炎甚或亚临床型肝炎,然而容易演变为慢性携带状态。急性暴发型肝炎除对症支持措施外,尚无特异治疗方法,病死率很高。

干扰素、阿糖腺苷能抑制乙型肝炎病毒的增殖,使DNA多聚酶转为阴性、e抗原阳性转为e抗体阳性,对e抗原阳性的慢性乙型肝炎似有一定效果。目前,国外已有用基因工程的方法制备干扰素,国内也正由中国科学院生化研究所和中国医学科学院病毒组列为重点攻关项目;阿糖腺苷也正在试制。然而,在慢性乙型肝炎病毒携带者,携带二年以上者其肝细胞中大多已有乙型肝炎病毒基因整合在内。干扰素和阿糖腺苷虽能抑制乙型肝炎病毒的增殖,但不能使整合在肝细胞中的乙型肝炎病毒基因消除,从而也尚不能解除这些患者易患原发性肝细胞癌的危险性。

国内包括上海地区曾用中西医结合的方法对慢性乙型肝炎和慢性乙型肝炎病毒携带者的治疗作了许多探索工作,然而尚无肯定的结论。

### 乙型肝炎病毒的基础研究

自从Blumberg于1963年发现澳大利亚抗原(乙型肝炎表面抗原)以来,通过十余年的研究,现已明确乙型肝炎病毒是一双层结构,外壳为表面抗原,核心为一双股DNA,其中一股有裂隙,此裂隙处为DNA多聚酶。整个核心为核心抗原,e抗原是核心的断片。而且,对乙型肝炎病毒DNA的核苷酸排列顺序均已清楚。通过基因杂交技术,了解到大多数原发性肝细胞癌的细胞染色体中均已有了乙型肝炎病毒的基因渗入,为乙型肝炎与原发性肝细胞癌的关系提供了客观证据,并在胰腺、脾脏、胆管上皮、血管壁平滑肌细胞、心肌等中亦发现有HBV-DNA渗入,提示乙型肝炎病毒不仅嗜肝,而是一种多器官病毒。国内现已能进行HBV-DNA分子杂交的检测。

通过对动物中乙型肝炎样病毒的研究,例如土拨鼠、地松鼠、北京鸭肝炎病毒的研究,可以作为乙型肝炎的研究,包括慢性感染、抗原携带和癌变关系的动物模型。

### 乙型肝炎的免疫学

乙型肝炎的发病和演变为慢性携带状态和慢性肝炎,主要是通过免疫学的机理。国外

对乙型肝炎免疫学的研究除一般的体液免疫和细胞免疫外,现多致力于自然杀伤细胞、T 杀伤细胞、T 细胞亚群和乙型肝炎病毒靶抗原及白蛋白受体的研究。国内在 1976 年前后作过一些体液和细胞免疫的研究。近几年在免疫复合物、自然杀伤细胞、T 杀伤细胞、以及病人干扰素低下的机理方面做了一些工作。并发现慢性肝炎患者的白细胞中有 HBV-DNA 渗入。

### δ 因子

δ 因子是一种不完全病毒,只能依赖乙型肝炎病毒而繁殖。δ 因子可与乙型肝炎病毒同时感染,也可在乙型肝炎病毒携带者形成叠加感染。叠加感染可使肝炎的病情加剧,易于出现暴发型肝炎和慢性肝炎。δ 因子主要也是通过血液和紧密接触而传布,在意大利及欧洲的某些地区和海湾国家较为多见,逐渐有向美国蔓延的趋势。我国人群中慢性乙型肝炎病毒携带者率很高,幸而,迄今 δ 因子的发生率很低。

## 甲型肝炎

自从 Feinstone 于 1973 年在甲型肝炎病人的粪便中发现甲型肝炎抗原以来,取得了许多突破。现已明确,甲型肝炎是一种 RNA 病毒,属于肠道病毒 72 型,感染甲型肝炎病毒后仅部份患者罹患临床肝炎,大部份为亚临床型,一般均能自愈,不会引成慢性携带状态,也不会演变为慢性肝炎和肝癌。Provost 于 1979 年组织培养甲型肝炎病毒取得成功。默克药厂已初步研制成功甲型肝炎减毒疫苗,预计在 3~5 年内可投放市场。

国内于 1976 年首次从一例甲型肝炎潜伏期患者的粪便中提取甲型肝炎抗原取得成功,进而建立了测定甲型肝炎抗体的方法。目前,除了能测定抗-HAV 外,还能测定 IgM 抗-HAV。上海地区一般人群的抽样检查显示,抗-HAV 阳性率随年龄的增长而增高,30 岁以上人群的阳性率为 90% 左右,50 岁以上的人群则为 100%,说明由于环境卫生习惯较差,甲型肝炎的感染率极高,几乎所有的人在其生存时间内均受到甲型肝炎感染。因此,虽然感染甲型肝炎病毒后仅部份患者有临床肝炎,且预后较好,不会形成慢性肝炎,但由于其感染率如此之高,每年由于甲型肝炎造成的劳动力损失仍很可观。

甲型肝炎的预防犹如一般的肠道传染病。然而,由于环境卫生和卫生习惯的改善与经济、文化的发展有关,不是短时期内所能达到,因此,疫苗的研制和使用就很重要。目前国内一些单位对甲型肝炎病毒的组织培养已获成功,关键是在提高组织培养中甲型肝炎病毒的滴度和使之减毒。

## 非甲非乙型肝炎

非甲非乙型肝炎在急性病毒性肝炎中所占的比例,文献报道从 10~45% 不等。根据上海医科大学所作的初步调查,约占 20~25% 左右。非甲非乙型肝炎转为慢性者也颇多,约占 15%,同时也有可能通过母婴传布。因此,非甲非乙型肝炎是继乙型肝炎之后的第二种重要的病毒性肝炎。

国外对非甲非乙型肝炎所作的流行病学研究和猩猩接种试验提示,非甲非乙型肝炎至少有两种甚或三种。一种甚或二种类似乙型肝炎的病毒,主要由胃肠道外途径传布。另一种则与甲型肝炎相似,主要是通过粪-口传布。

但是,迄今为至,尚未能得到肯定的非甲非乙型肝炎病原体,对所发现的一些抗原、抗体系统尚未达成一致的意见,也尚无确立的诊断非甲非乙型肝炎的特异方法。非甲非乙型肝炎还主要是依靠排除诊断,即排除甲型肝炎、乙型肝炎、巨细胞病毒性肝炎、E-B 病毒肝炎等。

## 展望和预测

### 甲型肝炎

甲型肝炎疫苗在美国已经研制成功,预期在 3~5 年内即可投放市场。我国在甲型肝炎疫苗的研制上也已取得了一些成功的开头。预计在 5~7 年内制备甲型肝炎病毒减毒疫苗将无多大困难。届时,通过在人群中普遍接种疫苗,再加上随着经济、文化发展而来的环境卫生和卫生习惯的改善,甲型肝炎可望得到控制和基本消灭。

### 乙型肝炎

乙型肝炎的预防重点是切断其母婴传布,因为人群中的慢性乙型肝炎携带者 40~50% 系来自母婴传布。新生儿感染乙型肝炎病毒后 90~95% 成为慢性携带者,而成年人感染后仅 3~5% 成为慢性携带者。理论上,出生后迅即同时接种乙型肝炎疫苗和注射高效价乙型肝炎免疫球蛋白的效果最好。然而,高效价乙型肝炎免疫球蛋白的价格昂贵,材料来源困难。幸而,初步试用结果提示单纯接种乙型肝炎疫苗也有良好效果。

以慢性乙型肝炎携带者血清作为原料的血源型乙型肝炎疫苗国外已正式投放市场,通过广泛使用证明其有良好效果。国内也已初步试制成功。基因工程乙型肝炎疫苗美国已初步研制成功,并已进入临床试用。最近并有报道将乙型肝炎病毒 DNA 中的 HBsAg 基因组插入牛痘病毒,经过这一基因重组的牛痘病毒具有激发乙型肝炎表面抗体的能力。从上述研究势头看来,预期在三年内将有成熟的基因工程乙型肝炎疫苗问世,五年内将有价格低廉、接种方便的“乙型肝炎基因工程牛痘疫苗”型疫苗出现。这种疫苗对经济实力较差、需要接种疫苗人数众多的国家来说,尤其具有重要意义。

通过投入足够经费,大批生产乙型肝炎疫苗,在新生儿中普遍推广接种乙型肝炎疫苗,并在一些乙型肝炎感染高危人群(例如医务工作者和集体机构人员)中有选择地接种,再加上严格贯彻各项医疗和卫生制度,控制传布环节,预期在十年内可以在新一代中基本控制乙型肝炎,并且可以基本上控制乙型肝炎的新发感染。

乙型肝炎中的疑难问题是已经成为慢性乙型肝炎感染或携带者的治疗问题。对感染病程较短,乙型肝炎 DNA 尚未整合至肝细胞染色体中的病人,应用阻抑 DNA 合成的药物有一定效果。对于乙型肝炎病毒 DNA 已整合至肝细胞染色体中的病人,阻抑 DNA 合成的药物对之无效,较有希望的方法可能是通过免疫的途径。在这方面迄今尚无重大突破。目前各方面均在努力探索,然而尚难以预测何时能取得突破。

乙型肝炎的另一重要问题是  $\delta$  因子叠加感染于慢性乙型肝炎携带者,易出现暴发性肝炎和慢性肝炎。我国人群中慢性乙型肝炎携带者高达 6~15%,  $\delta$  因子感染的蔓延将导致极为严重的问题。幸而,迄今我国  $\delta$  因子还很少见。为此,应特别注意防止  $\delta$  因子从国外传入。

### 非甲非乙型肝炎

在乙型肝炎得到基本控制之后,非甲非乙型肝炎将更趋突出。目前,非甲非乙型肝炎尚无特异性诊断标志物,只能依靠排除性诊断,从而掩盖了一些发病率。在乙型肝炎发病率较低的地区,非甲非乙型肝炎在整个病毒性肝炎中所占的比例可达40%。在输血后肝炎中,绝大部份已是非甲非乙型肝炎。在这十年中虽然作了大量的研究工作,取得了一些成绩,例如发现一些似与非甲非乙型肝炎有关的抗原-抗体系统,但迄今尚未取得重大突破。目前,许多国家正在继续投入大量力量进行研究,预期有可能在5~10年内会有所突破,找到非甲非乙型肝炎某些主要型别的病原体,以期最终达到制备出有效的疫苗。

## 参 考 文 献

- [1] 胡孟冬等:上海地区正常人群甲、乙型肝炎血清学指标的初步调查。中华传染病杂志 1983, 1 (1): 42
- [2] 陶义训、矢野右人等:上海、长崎互测 HBV 血清标志物方法的评价。中华传染病杂志。1983, 1 (1): 31
- [3] 康来仪等:乙型肝炎母婴传播及其阻断方法的初步研究,中华传染病杂志。1983, 1 (4): 187
- [4] 徐志一等:急性散发性病毒性肝炎的病原学研究,中华传染病杂志。1983, 1 (4): 192
- [5] 浙江省卫生厅科教处,浙江省医药卫生科技情报站,医学科研动态,1983,第1期(总第6期)
- [6] 北京市卫生防疫站等:散发性非甲非乙型肝炎的分布,公共卫生与疾病控制杂志,1983, 2(3): 5
- [7] Bassendine MF et al, Adenine arabinoside therapy in HB Ag-positive chronic liver disease: a controlled study, Gastroenterology, 1981, 80 (5): 1016
- [8] Beasley RP et al, The e antigen and vertical transmission of hepatitis B surface antigen. Am J Epidemiol, 1977, 105, 94
- [9] Beasley RP, 肝细胞性肝癌与病毒性乙型肝炎。国外学者来访报告,1984, 4(6): 1
- [10] Beasley RP et al, Incidence of hepatitis B virus infection in preschool children in Taiwan. J Infect Dis, 1982, 146, 198
- [11] Beasley RP et al, Incidence of hepatitis among students at a university in Taiwan. Am J Epidemiol, 1983, 117 (2): 213
- [12] Brechot C et al, Presence of integrated hepatitis B virus DNA sequences in cellular DNA of human liver cellular carcinoma. Nature, 1980, 286, 533
- [13] Hardler,  $\delta$  因子感染。国外学者来访报告, 1983, 3 (3)
- [14] Hilleman MR, 乙型肝炎疫苗和甲型肝炎疫苗。国外学者来访报告, 1983, 3 (1): 9
- [15] Maupas P. et al, Efficacy of hepatitis B vaccine in prevention of early HBsAg carrier state in children. Lancet, 1981, I, 289
- [16] Shafritz DA, Integration of hepatitis B virus into the genome of liver cells in chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma. New Engl J Med, 1981, 305 (18): 1067
- [17] Smith GL et al, Infectious vaccinia virus that express hepatitis B virus surface antigen. Nature. 1983, 302, 487
- [18] Stevens CE, 乙型肝炎疫苗及其在一般人群中的应用。国外学者来访报告, 1984, 4 (1): 4
- [19] Stevens C E, 乙型肝炎的围产期传布与免疫预防。国外学者来访报告, 1984, 4 (1): 2
- [20] Szmunes W et al, Hepatitis B vaccine, Demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high-risk population in the United States. New Engl J, Med, 1980, 303 (15): 833
- [21] Trepo C et al, NonA, Non B Hepatitis. Scand J Gastroenterol, 1982, 17 (Suppl 77): 75

# 国内病毒性肝炎研究近况

康来仪 姚光弼

病毒性肝炎(简称肝炎)是严重危害人民健康和影响劳动缺勤的一种传染病,业已列为全国性防治和科学技术攻关的重点病种。国内自70年代初,开始建立乙型肝炎表面抗原抗体系统的检测技术,广泛开展肝炎的防治研究,1978年在杭州召开了第一次全国病毒性肝炎学术会议,交流和检阅了防治和科研成果。自这次会议以来的五年间,我国肝炎防治研究又取得了很大进展,现根据1983年郑州全国第二届传染病与寄生虫病学术会议中交流的227篇论文,结合近年国内报道,就以下几个方面加以概述。

## 病 原 学

1980年前,国内不少地区相继成功地直接从潜伏期或急性早期甲肝患者粪便中分离到甲型肝炎病毒(HAV)。嗣后,北京、上海、浙江、黑龙江等地应用各种组织细胞分离培养HAV。1982年上海首先报告用经克隆过的人肝癌传代细胞(Alexander PLC/PRF/5),从江苏省1名甲型肝炎潜伏期患者粪便中分离到一株HAV,连续传了6代,并观察到与一般已分离到的肠道病毒不同,在初代细胞培养中,初次HAV出现的潜伏期长,病毒不释放至细胞外,整个培养过程中细胞保持正常形态,免疫荧光显示阳性颗粒仅分布于细胞浆内,用抗-HAV阳性血清可中和之。1983年又成功地采用我国建株的人胚肺二倍体细胞株(SL<sub>2</sub>细胞)分离到3株HAV,适应传代已在14代以上,其初代病毒抗原在细胞浆内出现,潜伏期为50~125天不等,连续传代后潜伏期缩短,至第4代时约10天左右。应用免疫荧光法染色,可见病毒颗粒仅分布于感染的细胞浆内,抗原呈细小均匀的沙粒样分布,在免疫电镜下见到成堆聚集的27~30毫微米病毒颗粒,目前第4代TCD<sub>50</sub>/毫升为 $10^{-5.0} \sim 10^{-7.0}$ /毫升,这为分离繁殖HAV以供制备甲型肝炎疫苗和诊断试剂打下了基础,但尚须提高传代的稳定性和病毒繁殖数量。

甲型肝炎病毒的动物模型,1980年浙江首先报告用甲型肝炎患者粪便滤液感染红面猴,可见到粪便排毒,出现血液抗-HAV反应,有轻度的肝功能变化,但经肝穿刺未见组织学变化。1982年上海报告用恒河猴增殖HAV的实验研究,用甲型肝炎患儿的大便滤液,经口服和静脉注射,感染3只幼龄(2岁)的恒河猴,结果大便中检出HAV,在免疫电镜下见到26~30毫微米的颗粒,排毒高峰在感染后20~40天之间,抗体呈现4倍升高,而对照组阴性,上述实验结果均显示HAV可引起红面猴和恒河猴感染,但只有抗体反应和肠道少量排毒,肝损害和其他指征不显著,尚不能确定为动物模型。

对乙型肝炎病毒分离已进行了多年,曾用过鼻咽癌高分化梭形细胞传代株、人胚肺纤维细胞、人胚肝组织作HBV分离,可出现特异性细胞荧光颗粒,但不能继续传代,也不能重复。尽管用组织细胞分离培养HBV工作未能突破,但是,乙型肝炎基因工程技术获明显成

果。上海(1982年)、北京(1983年)分别在大肠杆菌和小鼠L细胞上表达HBsAg,但表达量低,还不能供实际使用。最近上海又在酵母菌和猴肾细胞中成功地表达了HBsAg。此外,还在鸭龄2年以上的鸭血清中,发现类HBV的鸭病毒(DHBV),阳性率达32%,直径40~45毫微米,内有DNA多聚酶和双链DNA,病毒颗粒表面与HBV的HBsAg有部分交叉反应,并在鸭龄1~7日幼鸭血清中发现DHBV状的颗粒,提示DHBV可经过垂直传播给了子代。

福建、北京、上海等地通过排除法,从拟诊为急性非甲非乙型肝炎患者的血清中找到病毒样颗粒,并能与其恢复期血清凝集,但迄今尚未能确切证实为非甲非乙型肝炎病毒。

## 特异性免疫诊断

北京、上海、浙江、天津、吉林、辽宁、贵州等地相继用放射免疫(RIA)、固相放射免疫(SPRIA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)检测抗-HAV、IgM和HAAg,其敏感性和特异性与Abbott药盒相近。西安还报告以ELISA检测抗-HAV·IgM,用抗-HAV(Fab)<sub>2</sub>酶结合物取代常规使用的抗-HAV·IgG酶结合物,有防止类风湿因子的干扰作用。1983年11月中华医学会和卫生部科委肝炎专题委员会联合召开全国乙型肝炎诊断试剂检定评价会议,对当前国内各生物制品研究所和有关科研、临床单位研制的乙型肝炎诊断试剂,按统一技术方法和评定标准进行实际操作鉴定并与Abbott等药盒进行对比。HBsAg的检测,全国有RPHA、RIA、ELISA三种试剂,RPHA试剂已达中量生产,每年供RPHA血球达2千万份,灵敏度稳定在120~250 ng/ml,漏检率仅2.5~3.0%,可普及应用,虽然与国际水平尚有距离,但今后如用单克隆抗-HBs致敏血球,可使灵敏度提高。RIA试剂,我国最佳灵敏度已突破1 pg/ml值,达国际水平,作小规模试验的可能性已具备。ELISA试剂,目前实验和反应模式尚未完全定型,界限(Cut off)值偏低,因而假阳性比较高,灵敏度还在60 bg/ml上下水平,故仍处研究阶段。国内检测抗-HBs的试剂,北京生物所提供的SPRIA试剂(载体为聚苯乙烯塑料小珠)与Abbott药盒相比,敏感度达到93.4%,总符合率达90.4%,灵敏度相同。此外,我国用ELISA检测抗-HBc,总符合率在90~100%,已达国际水平。对HBcAg的来源,今后应从尸肝提取转向基因工程制备。ELISA检测e抗原、e抗体比琼脂扩散法灵敏度可大为提高,但仍属基础研究阶段。

近几年,国内已将单克隆抗体和基因工程技术应用到乙型肝炎的诊断试剂上。表达HBcAg的大肠杆菌株可以较满意地用于抗-HBc检测,同时还建立了单克隆抗体杂交瘤细胞株4株,可分泌抗-HBc。分泌抗“a”、“d”、“r”决定簇的杂交瘤细胞株已有20余株,开始用于检测HBsAg。<sup>32</sup>P标记的HBV·DNA探针,可供研究HBV复制及其与肝癌的相关。检测抗-HBc·IgM的RIA和ELISA也已开始建立,对急性乙型肝炎和慢性乙型肝炎活动的诊断具有重要意义。

## 流 行 病 学

1979~1980年,按统一要求和试剂,对全国(除台湾省外)随机选取121个农村点、88个城镇点作肝炎流行病学调查,明确了我国各类肝炎的发病率、患病率和HBsAg携带率,表明我国同时为甲、乙两型肝炎高发区,但是各省、市之间相差悬殊。甲型肝炎流行率以上海最低,

山西最高;由东北向西南呈高的流行率带,而长江以南省、市大多流行率较低;农村流行率明显高于城市;在年龄上,低发区流行率顶峰在20~34岁组,但高发区在10岁左右,上海报告30岁以上人群抗-HAV阳性率达90%。

乙型肝炎流行率的地区分布也极不均匀,HBsAg携带率与抗-HBs阳性率均以华东、中南各省、市为高,尤以江西省为最,华北诸省则较低,尤以山西省最低;农村高于城市;HBsAg携带者的年龄曲线,一般有儿童和成人两个峰,儿童峰在农村以5岁达顶点,城市则在10岁左右,而成人峰顶点,则城市和农村分别为30~34岁和35~39岁组。西藏地区人群HBV的感染情况,有其独特的表现,儿童HBsAg阳性率相当高,但成年人更高,一直持续到60岁,而抗-HBs阳性率则很低。

各类肝炎的发病率、患病率和HBsAg携带率均男性高于女性,而抗-HBs阳性率却女性高于男性;城市医务人员HBsAg阳性率低于城市其他职业人群,但抗-HBs阳性率明显高于其他人群。我国HBsAg亚型的分布,东北、华北各省、西北大部分、华东部分地区均以adr占绝对优势(77~95%),长江以西各省以adw为主,新疆、西藏、内蒙地区部分少数民族以ayw占优势,而汉族仍以adr为主。通过这次调查,提供了我国肝炎地理流行病学资料,揭示了一定流行规律,指出了防治重点地区和对象,同时对进一步研究肝炎的流行病学,包括对环境、生活因素、人体遗传素质等的研究,都提供了重要线索。

各地解放后大致出现过3~4次肝炎流行高峰,两峰间隔为5~8年,每次持续2~4年。每年肝炎发病均有明显季节性,在大、中城市常为春季高峰,但广大农村常呈夏秋季高峰。上海1980年调查,全年三型肝炎比例,甲型肝炎占46.7%,乙型肝炎占35.5%,非甲非乙型肝炎占17%;但春季高峰月份甲型肝炎可达70~80%,而乙型肝炎恒定,似说明甲型肝炎流行可导致地区肝炎周期性和季节性的出现。这几年,杭州、天津、沈阳、北京等地也开展三型肝炎比例调查,乙型肝炎占25%,非甲非乙型肝炎占15%,而甲型肝炎达60%以上。

甲型肝炎在广大农村每年出现一定数量的暴发点。近年来,大、中城市也仍有甲型肝炎暴发流行。国内已发现甲型肝炎传染源不局限于急性显性感染者,还有急性亚临床感染者,并发现丙种球蛋白可减轻症状,但无法阻断感染者排毒,传播仍以粪-口途径为主。甲型肝炎疫苗现正在积极研制。

医源性传播调查发现,医院内环境和各种医疗用具以及医务人员的手HBsAg检出率高达5~10%。开封报告了一项针灸与传播乙型肝炎关系的研究,显示连续针刺一年以上者乙型肝炎流行率比无针刺史对照者的流行率高出近3倍,并在放置针具的纱垫浸出液中,可查见20毫微米球形颗粒,提示通过各种注射器、针灸针、采血针、拔牙用具、红白细胞采血管、内窥镜、阴道扩张器等可传播乙型肝炎。对一人一针一筒或一人一用一消毒的原则应予坚持和贯彻。输入抗-HBsAg阴性、抗-HBc阳性献血员血液,引起受者输血后肝炎,均已引起各地重视。流行病学调查资料揭示乙型肝炎可能经口感染,尤其通过共餐、合用牙刷引起传播,但一般只见于家庭内感染。天津还报告一起非甲非乙型肝炎通过食物传播引起流行。

母婴传播乙型肝炎,是我国重要传播途径之一,传播机率平均为40~50%,其中HBsAg和HBeAg双阳性母亲所致的传播机率达90~100%。河南省报告HBsAg阳性母亲分娩时阴道分泌物、羊水、新生儿胃内容物能查到HBsAg,阳性率达20%以上;各地还报告脐带血HBsAg阳性率不到4%,表明母婴传播的主要暴发时间在围产期。广西、北京、吉林等地对蚊子、臭虫和虱子传播HBV进行研究,表明这些昆虫不能成为传播乙肝的生物媒介。

乙型肝炎的免疫预防进展甚速,现已能制备不同滴度的 HBIG (1:1024~1:26万, PHA)和乙型肝炎血源疫苗,主要用于阻断母婴传播,尤其用于 HBsAg、HBeAg 双阳性母亲的新生儿。实践证明,下论 HBIG 还是疫苗均为安全有效。上海单用 HBIG (血凝滴度为 1:1024~2048),其保护率为 61%,单用疫苗为 85%,疫苗加 HBIG (1:260,000)为 93%。北京、黑龙江也取得类同效果。上海将提纯的 HBsAg 用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离多肽,将多肽<sub>1</sub>(P<sub>1</sub>)和多肽<sub>2</sub>(P<sub>2</sub>)混合制成疫苗,经豚鼠免疫接种后,能使动物产生抗-HBs 血清反应,但比乙型肝炎表面抗原提纯灭活疫苗晚出现 2 周,滴度也不及后者高,抗体下降也快。对乙型肝炎 HBsAg 多肽疫苗的人群观察证明其有抗原性,但远不如接种 HBsAg 疫苗者的抗-HBs 反应出现得早、滴度高。乙肝基因工程疫苗正在进行研究。戊二醛、食具净 333、微波对 HBsAg 灭活性能良好,可以推广使用。

## 免疫学和遗传学研究

病毒性肝炎患者血清内存在着抗肝特异性脂蛋白(LSP)抗体,在急性肝炎中仅短暂出现,恢复期消失;在慢性活动性肝炎时常持续阳性,且为高滴度。此种抗体在 ADCC 细胞(K 细胞)的共同作用下,造成肝细胞的损伤。对 37 例慢性活动性肝炎患者进行检测,34 例(92%)显示其淋巴细胞对兔肝细胞有细胞毒作用。并可被人的 LSP 吸收而清除此作用,因此认为是 ADCC 反应,系造成肝组织持续破坏的原因之一,推测其靶抗原可能即是 LSP。另有用间接荧光法测定肝炎患者的肝细胞膜抗体 LMAb,认为其针对的抗原与 LSP 不同,与 HBsAg 感染亦无关。此检测有助慢性活动性肝炎的诊断, LMAb 可能也参与体内 ADCC 反应,造成慢性活动性肝炎的肝损伤。慢性活动性肝炎时出现的自身免疫反应与免疫调节失常可能有关,应用 ConA 诱导的 Ts(抑制性 T 细胞)功能检查,发现有 87.5% 慢性活动性肝炎患者的 Ts 功能低于正常,且与 LSP 抗体和 ADCC 反应有相关性;在慢性活动性肝炎患者,抑制性细胞功能低下和肝脏自身免疫反应的持续存在,可能是造成肝细胞慢性损伤的重要因素。然而 77.8% 急性肝炎患者的 Ts 功能在正常范围,提示 Ts 在肝脏急性炎症的恢复和防止肝细胞的慢性损伤中起有重要作用。

循环免疫复合物(CIC)在病毒性肝炎中的意义已有多篇报道,在慢性活动性肝炎和重症肝炎时 CIC 检出率高、量大,并与 C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub> 下降相关,提示有补体系统的激活。有人报告在慢性肝炎患者中 CIC 的检出率与血清中 T 细胞功能抑制物的检出率相关,当沉淀去除 CIC 后,血清免疫抑制活性随之消失。此 CIC 介导的抑制活性可被消炎痛所阻断,提示前列腺素参与抑制过程。另外,用固相放射免疫法测定血清内 HBsAg/IgM 复合物,急性乙型肝炎的阳性率达 93.3%,慢性迁延性肝炎和慢性活动性肝炎的阳性率则分别为 33.3% 和 50%,可作为急性期早期诊断方法之一。最近发现在 HBsAg 表面存在有多聚人血清白蛋白的受体,在 HBeAg 阳性的血清中尤为明显。用血凝法测定乙型肝炎患者血液中 HBsAg 白蛋白受体,在急性肝炎、慢性迁延性肝炎和慢性活动性肝炎中的阳性率分别为 60%、87% 和 100%;其滴度与 HBsAg 滴度呈正相关,可认为是 HBV 的一种新的血清标志。

慢性乙型肝炎患者淋巴细胞对病毒诱生  $\alpha$  干扰素的能力低下,已得到证实。慢性活动性肝炎和慢性迁延性肝炎患者淋巴细胞诱生干扰素的平均效价明显低于急性肝炎患者和正常人。据一组报告,乙型迁延性肝炎病人白细胞诱生干扰素 ( $\text{Log}_{10}\text{CPEI}_{50}$   $3.37 \pm 0.6$ ),

显著低于正常成人( $4.63 \pm 1.11$ ), 慢性活动性肝炎病人偏低( $4.10 \pm 0.096$ ), 但不及迁延性肝炎病人显著。无症状 HBsAg 携带者为  $4.57 \pm 0.93$ , 与正常人无明显差别。有人报告慢性活动性肝炎患者中存在血清抑制因素, 但最近有报告指出, 对 28 例慢性乙型肝炎研究, 未发现有  $\alpha$  干扰素的抑制因素和抗干扰素抗体。值得注意的, 在慢性乙型肝炎患者中用 Con A 诱生的  $\gamma$  干扰素效价并不降低。

鉴于慢性乙型肝炎患者中存在着免疫调节异常, 因而从遗传角度研究是否存在着差异。对 117 例乙型肝炎的初步研究, 发现 HLA-A<sub>3</sub>、A<sub>8</sub>、A<sub>11</sub> 与慢性活动性肝炎关联。对乙型肝炎家庭聚集的调查发现, 慢性迁延性肝炎患者与 HLA-A<sub>10</sub> 显著关联, 家族中的 HBsAg 携带者与 HLA-A<sub>11</sub> 呈关联。另一报告对 147 对 7~14 岁同卵和异卵孪生子的 HBV 感染的调查表明, 同卵和异卵孪生子与同年龄非孪生子的儿童的 HBV 感染率之间未见差异。乙型肝炎患者周围淋巴细胞染色体的畸变率与姐妹染色体互换率均高于正常对照, 并与免疫功能异常有一定的关系。

## 临 床 研 究

### 临床病程和转归

据京、津、沪等地研究, 在儿童急性肝炎中, 甲型肝炎约占 50~60%; 成人急性肝炎中, 甲型肝炎约占 30% 左右。甲型肝炎临床特点为急性起病, 先驱期多有发热(儿童常有高热), 病程短, 预后良好, 90% 以上患者在二个月完全恢复, 少数成人恢复较慢, 但一年内均痊愈, 不发展为慢性肝炎。乙型肝炎预后则差, 根据 1983 年全国传染病学术会议资料, 对 767 例急性乙型肝炎随访 2~10 年, 临床痊愈者为 582 例(75.9%), 转慢性迁延性肝炎者 151 例(19.7%) 慢性活动性肝炎者 34 例(4.4%), 后者中有 7 例有早期肝硬化\*。在此 767 例中, 有 302 例(39.4%) 于随访时 HBsAg 仍为阳性。凡年龄轻(<12 岁)、女性、急性起病和有黄疸者转慢性较少。对 448 例慢性乙型肝炎随访 8 年, 其中 66 例(14.7%) 发展为肝硬化, 25 例(5.6%) 并发原发性肝癌。关于无症状 HBsAg 携带者的转归, 对 52 例随访 10 年, 其中 17 例(32.7%) HBsAg 转阴, 5 例出现抗-HBs, 仅 1 例抗-HBc 阳性(1:1000)。在此 17 例中, 15 例临床上健康, 无肝病现象, 2 例有轻度慢性迁延性肝炎。33 例(67.3%) 持续 HBsAg 阳性, 其中 8 例有慢性迁延性肝炎, 4 例慢性活动性肝炎, 1 例肝硬化, 其余 20 例无症状, 肝功能正常。

### 肝炎的多系统损害

除主要损害肝脏外, 常累及多种器官。据 1983 年全国传染病学术会议资料, 分析 791 例急性肝炎, 102 例有肝外系统的表现, 占 12.8%, 其中以皮肤病变最多, 共 69 例(67.6%); 皮肤以丘疹、斑丘疹为最常见, 次之为瘀点、毛细血管扩张, 少数是无痛性结节、瘀斑、荨麻疹、环形红斑、猩红热样皮疹、小水疱、蜘蛛痣等。其他肝外症状有关节疼痛、心律失常、间质性肺炎、肾小球肾炎、血细胞减少、反应性网状细胞增多、肠梗阻等。另有报告 5 例肝炎合并再生障碍性贫血, 4 例死亡, 1 例尚在治疗中。在 942 例慢性肝炎患者中, 126 例具有肝外表现, 主要为关节肌肉病变、发热、皮肤损害、肾炎、心肌病变、间质性肺炎、血细

\*由于慢性乙型肝炎急性发作以及慢性 HBsAg 携带者重叠感染非甲非乙型肝炎与急性乙型肝炎的临床鉴别相当困难。因此, 这些急性乙型肝炎病例中可能杂有原为慢性乙型肝炎或 HBsAg 携带者的病例。所以, 这一转为慢性迁延性肝炎和慢性活动性肝炎的比例可能偏高—编者注。

胞减少、干燥综合征、白塞氏综合征等,也有合并肾小管性酸中毒的报告。近年来注意到,病毒性肝炎患者伴发糖尿病者中,部份系由于应用糖皮质类固醇激素、静滴葡萄糖或噻嗪类利尿剂等所诱发,可能原来已有隐性糖尿病存在。在慢性活动性肝炎患者中则较多出现糖耐量异常、胰岛素释放反应延迟和血糖增高等现象。但是,慢性肝病是否可引起真正的糖尿病,即所谓“肝性糖尿病”,有待进一步证实。

### 慢性肝炎

近年来,肝穿刺活检在肝炎诊断中应用又趋增加。各地对慢性乙型肝炎的组织病理资料证明,病理学检查是诊断慢性活动性肝炎和慢性迁延性肝炎的主要依据。慢性迁延性肝炎的组织学特点为:(1)肝小叶结构保持完整,肝板拥挤,肝窦狭窄,肝细胞变性;(2)单个或灶性肝细胞坏死;(3)灶性炎症及枯否氏细胞灶性和弥漫性增生;(4)汇管区扩大,炎症细胞浸润或有轻度小叶周边炎,或伴轻度纤维组织增生。慢性迁延性肝炎的病变又可归纳为三个类型:慢性小叶性肝炎型、汇管区类型和间隔形成型。

慢性活动性肝炎的特点是小叶周边有碎屑样坏死,肝界板破坏或消失,及伴有肝细胞变性坏死,间叶反应均较明显。根据病变的程度和进展也可分为:轻型、中型和重型三种。应用双桥 PAP 法检测肝组织内的细胞膜 HBsAg (胞膜抗原),可区分为胞膜抗原 I 型和 II 型,并认为 I 型可能是发生碎屑样坏死的一个重要先决因素。比较慢性肝炎的临床诊断和病理诊断的正确性,在一组 79 例的分析中临床诊断符合率 68.4% (慢性迁延性肝炎为 78.9%,慢性活动性肝炎为 65%)。病理诊断符合率为 77.3% (慢性迁延性肝炎为 72.2%,慢性活动性肝炎为 86.1%)。由于肝穿刺时为盲目采样,取样误差可达 20% 以上,故慢性肝炎仍应强调临床、生化、免疫和病理学结合的综合诊断。

选择临床和实验室检查的 13 项(或 12 项)指标,编制成电子计算机辅助诊断程序或计算诊断卡,使慢性乙型肝炎临床分型诊断与病理诊断的符合率可达到 90% 以上,同时有助于判断是否需作肝活检。关于无症状 HBsAg 携带者肝组织光学显微镜和电子显微镜检查表明,肝细胞有一定程度的异常,因此可认为无症状携带者与轻型慢性迁延性肝炎在本质上是相同的。

### 重症肝炎

急性重症肝炎检查表明,肝组织学的变化可分成二类:一类为水肿型,以肝细胞高度水肿为主,伴程度不等的肝坏死灶。此型预后较佳,22 例中有 19 例存活(73.1%),长期随访大多恢复,仅个别发展为肝硬化。另一类为坏死型,有大块性肝坏死,无肝细胞再生,此型预后很差,22 例全部死亡。重症肝炎患者血浆氨基酸分析,支链/芳香氨基酸比值明显降低,色氨酸和蛋氨酸增高,有诊断和判断预后的价值。血气分析表明重症肝炎患者常伴碱中毒(呼吸性或代谢性碱中毒),血氧分压和氧饱和度降低,提出了肝性脑病时给予谷氨酸钠(钾)的危害性,以及给氧的必要。重症肝炎的并发症和死亡原因主要为:出血、感染、脑水肿、酸碱和电解质紊乱以及肾功能衰竭等。也有报告强调内毒素血症、肺水肿和霉菌感染的重要性。

### 治疗

中西药物对各型病毒性肝炎有确切疗效的甚少。虽有报告提出胸腺素治疗重症肝炎和慢性活动性肝炎似有一定效果,但设有对照的双盲试验,未能证明胸腺素对慢性活动性肝炎和慢性迁延性肝炎有效。免疫核糖核酸治疗慢性乙型肝炎效果,各学者意见不一致。有人收集近年来用 HBsAg 特异性免疫核糖核酸治疗慢性乙型肝炎 272 例,对于改善肝功能、降低

HBsAg 滴度、促使 HBsAg 阴转有一定作用,但确切疗效尚待证实。聚肌胞的疗效大致可以否定,因为人体内存在溶解聚肌胞的核酸酶,因而诱生干扰素的作用不能达到预期的效果。事实上聚肌胞对慢性肝炎患者诱生干扰素能力低或无诱生作用。54 例慢性肝炎用聚肌胞治疗后,仅 1 例 HBsAg 转阴。双盲对照法研究强力新甘草甜素对慢性肝炎的效果,发现治疗组与安慰剂组无明显差异。猪苓多糖、云芝多糖、香菇多糖等免疫增强剂以及肝炎灵(山豆根)等中草药制剂也试用于慢性肝炎,但缺乏严格对照,故无法定论。重症肝炎的治疗仍以综合治疗为主,近年来应用氨基酸注射液、支链氨基酸注射液、胰岛素-胰高糖素疗法等,但尚不能明显降低病死率。关于皮质激素在重症肝炎和慢性活动性肝炎中的应用,近年来趋向于持否定的意见。

### 参 考 文 献

- [1] 中华医学会,病毒性肝炎,第二届全国传染病与寄生虫病学术会议论文摘要,1983 年 11 月,1~136
- [2] 中华医学会、卫生部科委肝炎专题委员会,乙型肝炎诊断试剂检验评价报告。全国乙型肝炎诊断试剂检验评价会议,1983,5~13,北京。
- [3] 康来仪等,一起甲型肝炎暴发流行的调查。中华传染病杂志,1983,1(2),168~172
- [4] 徐志一等,急性散发性病毒性肝炎的病原学研究。中华传染病杂志,1983,1(4),192~194
- [5] 周保华等,北京市城乡甲型病毒性肝炎抗体阳性率初步调查。中华传染病杂志,1983,1(1),40~41
- [6] 康来仪等,乙型肝炎母婴传播及其阻断方法的初步研究。中华传染病杂志,1983,1(4),187~191
- [7] 王宝恩等,慢性病毒性肝炎多系统损害的脑床与免疫学观察。中华内科杂志,1982,21(7),401
- [8] 钟家骅等,病毒性肝炎与糖尿病。中华消化杂志,1983,3(4),240
- [9] 曾民德等,慢性肝病糖代谢紊乱的研究。中华消化杂志,1983,3(4),225
- [10] 谭承项等,肝组织内 HBsAg 的免疫组织化学研究。中华内科杂志,1983,22(1),13
- [11] 刘德恭等,急性和亚急性重型病毒性肝炎的研究——临床与病理关系和临床分型探讨。中华消化杂志,1982,2(4),194
- [12] 余叔侃等,重症肝炎中的内毒素血症。中华内科杂志,1983,22(3),156
- [13] 邱向南等,肝衰竭并发肺水肿 34 例临床病理观察。中华消化杂志,1983,3(4),245
- [14] 谢贤泰等,病毒性肝炎患者淋巴细胞对分离体肝细胞的细胞毒作用。中华内科杂志,1982,21(2),88
- [15] 李求是等,慢性肝病患者的免疫调节失常。中华内科杂志,1983,22(1),33
- [16] 苏盛等,HBsAg 特异性 iRNA 治疗慢性乙型肝炎的展望。中华内科杂志,1983,22(1),60
- [17] 欧阳颀等,对聚肌胞治疗慢性乙型肝炎的看法。中华内科杂志,1983,22(1),60
- [18] 杨宜等,14 氨基酸注射液——800 对肝昏迷的疗效研究。中华传染病杂志,1983,1(1),1
- [19] 沈耕荣等,治疗肝昏迷新药——14 氨基酸——800 临床资料总结。鉴定会资料,1982,11 月,上海
- [20] 姚光弼,肾上腺皮质激素对治疗各型病毒性肝炎的评价。江苏医学,1983,9(4),200

# 病毒性肝炎血清学诊断的进展

顾彬昌 陶义训

人类病毒性肝炎至少有三种：甲型肝炎，乙型肝炎，和非甲非乙型肝炎。宿主在被不同的肝炎病毒感染后可呈现相应的抗原血症和抗体反应，成为血清学诊断的依据。血液中与各种肝炎病毒相关的抗原、抗体及其它有关的特异性物质称为病毒性肝炎血清学标志物。测定这些标志物对于不同类型病毒性肝炎的诊断以及病程和预后指示，高危人群的随访和监护，血液制品的生产和输血性传染源的控制，病毒携带者母亲的检出，肝炎的流行病学调查，肝炎疫苗的鉴定和考核，与肝炎病毒感染相关的肝癌及某些自身免疫性疾病的病理探索，以及其它有关的医学和生物学研究都至关重要。本文就近年来对于病毒性肝炎血清学诊断方法的进展和有关的最新成就作一简要的综述。

## 病毒性肝炎血清学标志物

自从60年代中期Blumberg用琼脂免疫扩散试验发现与血清性肝炎相关的澳大利亚抗原，即现称乙型肝炎表面抗原(HBsAg)以来，随着新检测技术的发展，对甲型肝炎病毒(HAV)和乙型肝炎病毒(HBV)感染已发现了各种相应的血清学标志物，并建立了敏感的测定方法。

### 甲型肝炎

甲型肝炎抗原(HA Ag)存在于HAV感染的潜伏期和发病早期患者的肝脏和粪便中，但血液内的水平较低。其相应抗体抗-HAV，是HAV感染的主要诊断指标。IgM类抗-HAV是急性感染的指针，IgG类抗-HAV则是恢复期和对HAV呈免疫性的指针。由于HAV细胞培养的成功，检测试剂中需用的HA Ag已有可能大量生产，其来源不必依赖于HAV感染的动物模型狨猴或黑猩猩的肝脏或疫区患者的粪便。抗-HAV的检测在近期内可能在临床检查中普及。

### 乙型肝炎

乙型肝炎表面抗原HBsAg是HBV的外壳蛋白。血清HBsAg的存在是HBV感染的直接指针。HBsAg可分为a, d/y, r/w等亚抗原决定簇，每种亚决定簇还可进一步细分为若干亚亚决定簇，它们是HBV不同的基因表型的表现。除了流行病学研究和临床HBV重复感染时用以鉴别病原株表型，以及研制HBV疫苗时用以鉴定制品的免疫原性外，目前尚不能肯定HBsAg亚型的临床意义。HBsAg的相应抗体(抗-HBs)是感染后康复和对HBV呈免疫性的指针。HBsAg和抗-HBs的检测现已比较普遍地应用于肝炎的临床诊断，献血员和血液制品的筛检，以及流行病学调查。

乙型肝炎核心抗原(HBcAg)系HBV的内核。至今未发现血清中存在游离的HBcAg，需首先分离HBV颗粒，除去血清中的抗-HBc，然后用去垢剂分解HBV后进

行测定。因此血清 HBcAg 的测定在临床实验室仍难于开展。抗 HBcAg 的抗体(抗-HBc)是 HBV 感染的可靠指针,但抗-HBc 不是 HBV 的中和抗体。IgM 类抗-HBc 是 HBV 急性感染和复制活跃的指针,而 IgG 类抗-HBc 只指示已往感染。检测抗-HBc 试剂中需用的抗-HBc 可以从 HBV 无症状携带者血清制备,而需用的 HBcAg 过去只能从携带者血清中纯化的 HBV 或从 HBV 感染的人或黑猩猩的尸肝提取,来源十分困难。最近,已通过基因工程技术由大肠杆菌合成成功,因而抗-HBc 的检测预期不久将可作为临床实验室的常规项目。

**乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)** HBeAg 是 HBV 内核的主要结构蛋白,它的一级结构与 HBcAg 基本相同,并可由 HBcAg 经蛋白酶局部降解后转化而成。血清 HBeAg 的滴度基本上与 HBsAg 滴度平行,与 HBsAg 同样是 HBV 感染的直接指针。HBeAg 基本上只能在 HBsAg 阳性的血清中检得,但也有少数病例其血清 HBeAg 阳性,而 HBsAg 则在可检水平以下。在 HBV 感染的自然过程中,血清 HBeAg 的存在由游离的小分子形态逐渐转化为与宿主 IgG 相结合的不均一性大分子形态,最后转为抗 HBeAg 抗体(抗-HBe)阳性。在 HBV 慢性携带者中约 20~30% 的血清兼有 HBeAg 和抗-HBe。在琼脂免疫扩散试验中,血清 HBeAg 有三种呈平行分立沉淀线的亚型。游离小分子 HBeAg 只有二个抗原决定簇,称为 HBeAg/a 和 HBeAg/b。第三种 HBeAg 亚型决定簇可能与 IgG 的结合状态相关。相应的血清抗-HBe 也分为抗 HBe/a 和抗 HBe/b,第三种抗-HBe 可能与抗 IgG 自身抗体相关。有报告证明大分子 HBeAg 结构中的 IgG 是一种抗-HBc。血清抗-HBe 同样是 HBV 感染的指针。与抗-HBc 相仿,抗-HBe 不是 HBV 的中和抗体。抗-HBe 阳性的 HBV 携带者血液的传染性较 HBeAg 阳性者弱,但仍可有感染性,血清 HBsAg 阴性的抗-HBe 阳性者也不能排除感染性。抗-HBe 的确切临床意义尚不明确。最近的一些报告表明慢性非活动性肝炎和原发性肝癌患者血清中抗-HBe 的阳性率较高。由于血清 HBeAg 的纯化极为困难,抗-HBe 免疫血清至今未制备成功,而可用作诊断试剂的高滴度抗-HBe 阳性血十分难得,因此尽管已建立各种敏感的检测方法,血清 HBeAg 和抗-HBe 的检测仍未能普遍应用。最近,已有制备成功单克隆抗-HBe 的报告,但由于 HBeAg 分子只呈现二个不同的单一抗原决定簇,这些单克隆抗-HBe 的应用尚有待方法学的进一步改进。

**$\delta$  抗原( $\delta$ -Ag)**  $\delta$  因子是一种 RNA 缺陷病毒,其增殖需要有 HBsAg 的存在,因而只能在同时具有乙型肝炎感染,或在 HBsAg 携带者中才能感染。在患者的肝细胞中可检得  $\delta$ -抗原。IgM 类抗- $\delta$  是急性  $\delta$  肝炎的指针。我国  $\delta$  Ag 和抗- $\delta$  的检测仅有个别报道。

**聚蛋白受体(pHSAr)** pHSAr 存在于 HBsAg 颗粒的表面。最近的研究证明血清 HBsAg 表面的 pHSAr 活性与血清中 HBeAg 的存在呈相关关系。用放射免疫法测得的 HBV 携带者的 HBsAg 与 pHSAr 滴度比,血清 HBeAg 阳性者显著低于血清抗-HBe 阳性者,这种滴度比的转化与血清从 HBeAg 阳性到抗-HBe 阳性的转化相平行。因此,这种滴度比可认为是机体免疫状态和 HBV 感染状态的宿主因素的反映。对 pHSAr 的本质和临床意义仍在探索中。

**乙型肝炎病毒基因(HBV-DNA)** 由 HBV 获得的和由基因工程产生的 HBV-DNA 已被证明可直接引起黑猩猩的 HBV 感染。分子杂交技术证明它的某些核甙片段可存在于 HBV 感染者的肝细胞 DNA 中,并可在 HBV 感染者血清中检出。用改进的微量硝酸纤维薄膜斑点自显影法,只需 20 微升血清样品,经过 1 小时的  $^{32}\text{P}$  标记 HBV-DNA 分子杂交