

86H43

肝炎血清标志检测及其临床意义

章华础 肖祥熊 编



同济大学出版社



内 容 简 介

本书共分六章。资料取材广泛、新颖、实用。基本反映了国内外近年来有关病毒性肝炎血清学标志的研究进展。对病毒性肝炎各种血清标志检测的临床意义作了详细的阐述；对病毒性肝炎的病原学、分子生物学、免疫病理学的研究以及肝炎血清标志各种检测方法的评价等也作了必要的介绍。

本书可供内科、儿科、传染病学、检验科及其他临床各科医师和卫生防疫医师的参考。亦可作为医学院校师生的教学参考书。

2001/18

责任编辑 王祖德
封面设计 沈德恩



肝炎血清标志检测及其临床意义

章华础 肖祥熊 编

同济大学出版社出版

(上海四平路1239号)

新华书店上海发行所发行 同济大学印刷厂印刷
开本 787×1092 1/16 印张 9 字数 230 千字
1991年5月第1版 1991年5月第1次印刷

印数 1-5000

ISBN7-5608-0852-2/R.33

定价: 4.40 元

目 录

第一章 病毒性肝炎的命名和分型 (1)	第五节 乙型肝炎各临床类型的免疫病理学 (34)
第一节 概论..... (1)	第四章 病毒性肝炎血清标志检测的临床应用 (37)
第二节 乙型肝炎病毒及其抗原、抗体发现的历史..... (2)	第一节 甲型病毒性肝炎标志检测的临床应用..... (37)
第三节 乙型肝炎的三个抗原抗体系统..... (2)	第二节 乙型病毒性肝炎标志检测的临床应用..... (40)
第四节 肝炎病毒及其抗原、抗体的命名..... (3)	一、HBsAg 检测的临床应用 (40)
第五节 其它嗜肝病毒属..... (4)	二、抗-HBs 检测的临床应用..... (44)
第六节 病毒性肝炎的病原学分型..... (4)	三、HBcAg 检测的临床应用 (46)
第七节 病毒性肝炎的临床分型..... (5)	四、抗-HBc 检测的临床应用..... (49)
第八节 病毒性肝炎的基本组织学改变..... (7)	五、HBeAg 检测的临床应用 (51)
第九节 病毒性肝炎的病理组织学诊断..... (9)	六、抗-HBe 检测的临床应用..... (53)
第二章 病毒性肝炎的分子生物学 (12)	七、抗 HBc-IgM 检测的临床应用..... (54)
第一节 甲型肝炎病毒的分子生物学..... (12)	八、抗 HBc-IgA 检测的临床应用..... (57)
第二节 乙型肝炎病毒的分子生物学..... (14)	九、HBsAg/IgM 复合物检测的临床应用..... (60)
第三节 丙型肝炎病毒的分子生物学..... (17)	十、多聚人血清白蛋白受体测定的临床应用..... (62)
第四节 丁型肝炎病毒的分子生物学..... (18)	十一、血清前 S ₁ 蛋白及抗前 S ₁ 蛋白抗体测定的临床应用..... (66)
第五节 戊型肝炎病毒的分子生物学..... (18)	十二、乙型肝炎病毒前 S ₂ 蛋白测定的临床应用..... (68)
第三章 病毒性肝炎的免疫病理学 (20)	十三、血清 HBV DNA 测定的临床应用..... (72)
第一节 现代免疫学的某些基本概念..... (20)	十四、HBV DNA 多聚酶测定的临床应用..... (74)
第二节 病毒性肝炎的免疫反应..... (25)	十五、乙型肝炎病毒 Pre-S ₂ 抗体测定的临床应用..... (78)
第三节 病毒性肝炎免疫反应引起的组织损伤..... (30)	十六、HBxAg 和抗-HBx 检测的临床应用..... (80)
第四节 乙肝患者 T 细胞亚群及抑制细胞功能的研究..... (32)	

第三节	丙型肝炎血清标志检测 的临床应用.....	(83)	案(1990年全国病毒性肝炎学术 会议修订).....	(105)
第四节	丁型肝炎抗原抗体系统 测定的临床应用.....	(86)	附录二	本书中略语的英汉对照.....
第五节	戊型肝炎血清标志检测 的临床应用.....	(89)	附录三	中华人民共和国法定计量 单位.....
第五章	病毒性肝炎血清学标志的 评价.....	(92)	附录四	中华人民共和国法定计量 单位使用方法.....
第一节	甲型肝炎.....	(92)	附录五	与医学有关的常用的许用 单位和非许用单位.....
第二节	乙型肝炎.....	(93)	附录六	人体检验新旧单位参考值 的换算及实际应用中的一些问题...
第三节	丙型肝炎.....	(98)	附录七	血清学及免疫学检查新旧 单位参考值对照表.....
第四节	丁型肝炎.....	(99)	附录八	常量、微量和超微量度、 量、衡单位名称.....
第五节	戊型肝炎.....	(99)		
第六章	病毒性肝炎血清标志检测 方法的评价.....	(101)		
附录一	病毒性肝炎诊断和防治方			

第一章 病毒性肝炎的命名和分型

第一节 概 论

病毒性肝炎 (viral hepatitis) 是由肝炎病毒所致的全身性传染病,主要累及肝脏。临床上以食欲减退、恶心、乏力、肝脏肿大压痛及肝功能异常为主要表现,部分病人有发热及黄疸,少数病人可变成慢性。

病毒性肝炎除了众所周知的甲型和乙型

外,尚有非甲非乙型肝炎和丁型肝炎。对于非甲非乙型肝炎的研究,近年来取得较大进展,已被确认它是由两种不同的肝特异性病毒所引起,并建立了特异性的诊断方法。结合流行病学和临床特点,可把肠道传播的非甲非乙型肝炎(ET-NANBH) 定名为戊型肝炎;而把肠道外传播的非甲非乙型肝炎(PT-NANBH) 称为丙型肝炎。这样,按病毒不

表 1-1 病毒性肝炎及其抗原、抗体发现的历史

年份	人 物 或 机 构	说 明
1963	Blumberg	发现血友病人与澳大利亚土著血清间有沉淀线,后将这种抗原命名为澳大利亚抗原 [Au(1)]
1967~	Blumberg 及 Prince	分别指出 [Au(1)] 与肝炎有关
1968	国际肝炎学术会议	改名 [Au(1)] 为肝炎相关抗原(Hepatitis B Associated Antigen)
1970	Dane	在肝炎病人血清中发现病毒颗粒,命名为 Dane 颗粒,即乙型肝炎病毒
1971	国际肝炎巴黎会议	改名 HAA 为 HBAg (Hepatitis B Antigen, 乙型肝炎抗原)
1971	Le Bouvier	HBsAg 亚型的确定
1971	Alemide	用 Tween 80 裂解 Dane 颗粒得核心抗原(HBcAg)
1971	Hirshman 等	发现 HBV DNA 多聚酶
1972	Magnius	用免疫扩散法在表面抗原阳性人血中找到另一种抗原(e 抗原),同年又发现 e 抗体
1973	Feinstone	发现甲型肝炎病毒颗粒(HAV)
1974	美科学院病毒肝炎委员会	建议把 HBAg 改为 HBsAg
1974	Robinson	首次用电镜观察到 HBV DNA 的环形分子
1975	Williams	鉴定了 e ₁ , e ₂
1977	世界卫生组织(WHO)	对乙肝三大抗原-抗体系统作了统一命名
1977	Rizzetto	发现 δ (Delta) 抗原和抗体
1978	Courouce-pauty	叙述了 e ₃
1978	Brahic	建立了 HBV-DNA 原位杂交技术
1978	Fritsch	ayw 亚型的病毒 DNA 克隆入大肠杆菌
1979	Trepo	发现非甲非乙型肝炎的病毒颗粒
1979	Provost	HAV 体外组织培养成功
1979	Galibert	对 ayw 亚型病毒的 DNA 核苷酸顺序进行了分析,并绘制出 HBV-DNA 物理图
1983	吴祥甫等	adr 亚型病毒基因组的克隆和限制性酶切图谱
1983	Gust 等	HAV 的克隆及基因表达
1983	Balayan 等	首先从志愿者体内分离出 HEV
1983	Duermeyer 等	使用 ELISA 法诊断戊型肝炎
1989	美国 Chiron 公司 Choo 等	应用分子克隆技术获得肠道外传播的非甲非乙型肝炎病毒的 cDNA 克隆 (Chiron C ₁₀₀),并将该病毒命名为丙型肝炎病毒。而肠道传播的非甲非乙型肝炎病毒则称戊型肝炎病毒(HEV)
1989	Kuo 等	应用重组酵母合成的 HCV 抗原,先后建立了检测抗-HCV 的放射免疫分析 (RIA)和酶免疫试验

同,病毒性肝炎目前有甲型^[1~4]、乙型^[5~8]、丙型^[9~14,33~40]、丁型^[15~19]、戊型^[10~11]五种(表1-1)。这些均分别由独特的嗜肝性病毒所引起。1. 甲型肝炎(简称甲肝)由甲型肝炎病毒(HAV)引起;2. 乙型肝炎(简称乙肝)由乙型肝炎病毒(HBV)引起;3. 丙型肝炎由丙型肝炎病毒(HCV)引起;4. 丁型肝炎即 δ 肝炎,由 δ 病毒所引起;5. 戊型肝炎则由戊型肝炎病毒(HEV)所致。除肝炎病毒外,其它病毒如EB病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、埃可病毒(Echo 6、19)、柯萨奇病毒B群、风疹病毒、黄热病病毒、腮腺炎病毒及腺病毒等都可引起肝脏炎症,但这类病毒所致的肝炎,属其全身感染的一部分,故不包括在病毒性肝炎这个特定的范围。

第二节 乙型肝炎病毒及其抗原、抗体发现的历史^[10~11,20~22]

1963年Blumberg等在进行人类血清成分的研究时,发现两例多次接受过输血的血友病患者的血清中含有一种不寻常的抗体。最初,选取24份有代表性的人血清标本进行测试,仅发现其中一份来自澳大利亚土著居民的血清与这种抗体起反应。1965年把存在于这位澳大利亚土著居民血清中的这种相应的抗原,称为“澳大利亚抗原(Australia Antigen)并以[Au(1)]表示之。1967年Krugman等人研究了两型病毒性肝炎,一种潜伏期短,发病急,转氨酶增高持续时间短;另一种潜伏期长,发病隐袭,转氨酶增高持续时间长,作者将前者命名为MS-I型肝炎,后者命名为MS-II型肝炎,两者无交叉免疫性,说明两者所致的病毒抗原不同。Krugman同时发现肝炎病人血清中,20%具有澳大利亚抗原,因此认为这种抗原与肝炎有关,称其为肝炎相关抗原(Hepatitis Associated Antigen简称HAA)。1968年Prince等在黄疸型血清性肝炎患者血清中发现此种抗原,并认为

这是血清性肝炎的特点,因此称此抗原为血清性肝炎抗原,简称SHAg。直到1972年,世界卫生组织(WHO)建议将此抗原称为乙型肝炎表面抗原,简称HBsAg。1970年Dane发现乙型肝炎病毒颗粒,称Dane颗粒。以后在用电镜和免疫电镜进一步研究Dane颗粒的结构和抗原性时,发现了两个抗原-抗体系统,即:乙型肝炎表面抗原(HBsAg),存在于Dane颗粒的表面,其相应的抗体简称抗-HBs;乙型肝炎核心抗原(简称HBcAg),存在于Dane颗粒核心中,其相应的抗体即为抗-HBc。1972年Magnius等用免疫扩散法在慢性HBsAg携带者血中找出一个新的抗原-抗体系统,并命名为HBeAg和抗-HBe。1977年意大利学者Rizzetto等用免疫荧光法在慢性乙型肝炎肝细胞中发现一种新的抗原,称为Delta(δ)抗原,但它是一种有缺陷的病毒样传染因子,其复制需要有活动性乙型肝炎病毒感染存在。因此,到目前为止已经知道,Dane颗粒是完整的乙型肝炎病毒本身,而乙型肝炎病毒至少有三个抗原-抗体系统(表1-1)。

第三节 乙型肝炎的三个抗原抗体系统

在乙型肝炎患者的血清中除可见到完整HBV颗粒外,还可见到不带有DNA的小颗粒(图1-1、1-2)小颗粒可有二种形式,一种直径22nm球形颗粒;另一种呈管形,直径22nm,长50~200nm不等,完整的HBV颗粒直径约42nm,由一个核心部分和双层外壳组成。外层壳厚约7nm,具有的抗原性与早年命名的澳大利亚抗原一致。这种抗原在病毒颗粒表面,后改称为乙型肝炎表面抗原(HBsAg)。血清中发现的小颗粒均具有HBsAg的抗原性,与其相应的抗体是乙型肝炎表面抗体(抗-HBs)。HBsAg与抗-HBs被称为HBV的第一抗原抗体系统。HBV核心

部份直径 27nm, 核心壳即 HBV 内层壳, 厚约 2nm, 有其独特的抗原性, 称乙型肝炎核心抗原(HBcAg), 与其对应的抗体为乙型肝炎核心抗体(抗-HBc)。HBcAg 和抗-HBc 被称为 HBV 的第二抗原抗体系统。核心抗原在体内经过代谢失去了一部分氨基酸并改变了空间结构, 使其失去了原来的抗原性, 转化成具有另一种抗原活性的抗原, 被称为 e 抗原。e 抗原也可刺激机体产生抗体, 相应的抗体称为 e 抗体(抗-HBe)。HBeAg 和抗-HBe 构成 HBV 的第三抗原抗体系统。由于核心抗原(HBcAg) 在外周血中不易测出, 故三对系统用常规方法实际只能检测两对半, 因此俗称“两对半试验”。

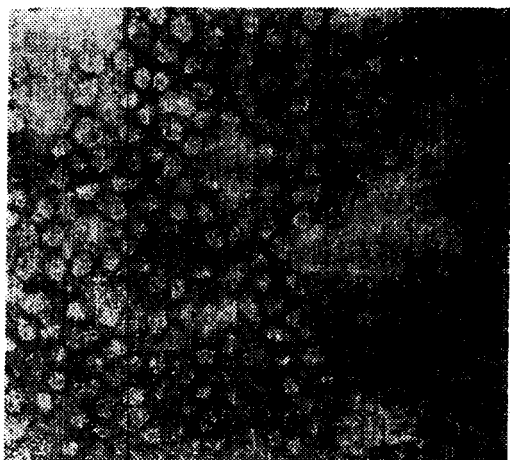


图 1-1 在电镜下, HBsAg 阳性乙型肝炎患者血清中存在的三类颗粒($\times 120,000$) [23]

第四节 肝炎病毒及其抗原、抗体的命名

1977 年世界卫生组织(WHO) 对已知乙肝血清学标志作了统一命名, 现参照 1977 年 WHO 专家委员会修改的肝炎病毒与抗原、抗体的命名意见进行补充, 简介如下:

一、甲型肝炎:

甲型肝炎病毒 HAV

甲型肝炎抗原 HAAg

抗甲型肝炎病毒的抗体 抗-HAV

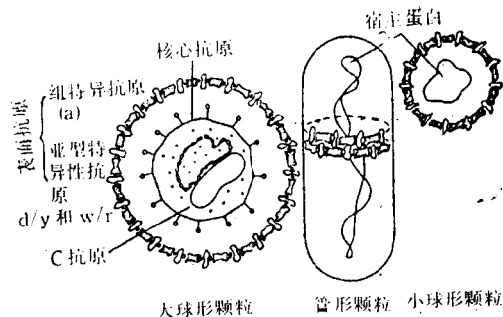


图 1-2 乙型肝炎病毒三类颗粒形态示意图 [23]

抗甲型肝炎病毒 IgM 抗体 抗-HAV

IgM

抗甲型肝炎病毒 IgA 抗体 抗-HAV

IgA

抗甲型肝炎病毒 IgG 抗体 抗-HAV

IgG

二、乙型肝炎:

乙型肝炎病毒(即 Dane 颗粒) HBV

乙型肝炎表面抗原 HBsAg

抗乙型肝炎表面抗原的抗体 抗-HBs

乙型肝炎核心抗原 HBcAg

抗乙型肝炎核心抗原的抗体 抗-HBc

抗乙型肝炎核心抗原 IgM 抗体 抗-

HBc IgM

抗乙型肝炎核心抗原 IgG 抗体 抗-

HBc IgG

乙型肝炎 e 抗原 HBeAg

HBeAg/e₁、e₂、e₃

抗乙型肝炎 e 抗原的抗体 抗-HBe

DNA 聚合酶 DNAP

三、丙型肝炎(肠道外传播的非甲非乙型肝炎, PT-NANBH):

丙型肝炎病毒 HCV

丙型肝炎抗原 HCAg

抗丙型肝炎病毒的抗体 抗-HCV

四、丁型肝炎(即 δ 肝炎):

丁型肝炎病毒抗原 Delta 抗原(δ 抗原)

抗 Delta 抗原的抗体 抗- δ

五、戊型肝炎(肠道传播的非甲非乙型肝炎, ET-NANBH):

表 1-2 DNA 嗜肝病毒属性质比较^[24]

	HBV	WHV*	GSHV**	DHBV***
病毒体	42nm 球状, 核心 27nm, 具有 DNA-P 活力	45nm 球状, 核心 27nm, 具有 DNA-P 活力	47nm 环状, 核心 30nm, 具有 DNA-P 活力	42~45nm 球状, 核心 27nm, 具有 DNA-P 活力
基因组	DNA, 环状, 大的单链空隙, 3182 对核苷酸	DNA, 球状, 大的单链空隙, 3308 对核苷酸	DNA, 环状, 大的单链空隙, 3250~3300 对核苷酸	DNA, 球状, 大的单链空隙, 3000 对核苷酸
表面抗原颗粒	血中大量 HBsAg 22nm, 球状和圆柱状	血中大量 WHAg 20~25nm, 球状和圆柱状, 与 HBsAg 有弱交叉反应 (0.1~1%)	血中大量 GSHAg 15~25nm, 球状和圆柱状, 与 HBsAg 有弱交叉反应	DHBAg 40~46nm, 球状和卷绕状
自然宿主	人	东方土拨鼠	地松鼠	北京鸭, 其它品种鸭
选择性群体				
中的分布	0.1~20% 持续感染	16~30% 持续感染	0~5% 持续感染	5~10% 持续感染
传播	垂直, 水平	?	?	卵传播
侵犯组织	肝	肝	肝	肝
	健康携带	健康携带	健康携带	健康携带
相关疾病	急、慢性肝炎 肝细胞性肝癌	慢性肝炎 肝细胞性肝癌	?	?

* 土拨鼠肝炎病毒

** 地松鼠肝炎病毒

*** 北京鸭肝炎病毒

戊型肝炎病毒 HEV

戊型肝炎抗原 HEAg

抗戊型肝炎病毒的抗体 抗-HEV

第五节 其它嗜肝病毒属

目前把 HBV 定为是嗜肝性病毒。至今至少已发现三种动物病毒属嗜肝性病毒, 它们在基因组、病毒颗粒形成、感染脏器、流行病学特征等与感染人的 HBV 相似(表1-2)

第六节 病毒性肝炎的

病原学分型

病毒性肝炎的命名应包括病原学分型和临床分型两部分。病毒性肝炎的病原学分型可分为甲型、乙型、丙型、丁型(δ 肝炎)和戊型五种。

一、急性甲型病毒性肝炎的病原学诊断标准:

(一) 急性肝炎患者血清抗 HAV IgM 阳性。

(二) 急性期、恢复期双份血清抗-HAV IgG 效价比呈 4 倍以上增高者。

(三) 急性期早期大便抗-HAV 免疫电镜看到有抗体桥连的 HAV 颗粒凝集团者。

(四) 急性期粪便中抗 HAV-IgA 阳性 (ELISA)。

(五) 不符合于急性乙型、丙型、丁型、戊型肝炎病原诊断指标者。

二、急性乙型病毒性肝炎的病原学诊断标准:

(一) 急性期早期血清 HBsAg 阳性或伴 HBeAg 阳性, 并随病程进展滴度下降者。

(二) 急性期抗 HBc IgM 阳性, 并随病程转为抗-HBc IgG 阳性者或呈抗-HBc IgM 弱阳性, 但经 RIA 或 ELISA 检测, 效价在 1:10000 以上者。

(三) 急性期 HBsAg 阴性, 但抗-HBs 或抗-HBe 于发病后 2~9 个月阳性者。

(四) 不符合于急性其他各型肝炎病原学诊断指标者。

以上前三项中任一项阳性加第四项就可确诊。

三、慢性乙型肝炎病原学诊断:

(一) 凡确诊为急性乙型肝炎的患者, 于发病后 6 个月, HBsAg 血症不消退, 抗-HBc 滴度不下降, 抗-HBs 不阳转者 (绝大部分), 可诊为慢性乙型肝炎。

(二) 凡慢性肝炎 HBV 感染指标不明显或只有抗-HBc 一项指标阳性, 应进行肝穿

利用荧光抗体技术、ELISA 染色技术进行肝内 HBcAg、HBsAg 检测,其中一项阳性者亦可诊断为乙型肝炎。

(三)凡无任何临床症状及体征、肝功能正常但 HBsAg 血症持续阳性 6 个月以上,并经肝穿刺证实肝脏无肝炎病理改变者可视为 HBsAg 健康携带者。

四、丙型肝炎病原学诊断:

(一)凡确诊为急性肝炎的患者血清抗-HCV 阳性。

(二)不符合于其它各型急性肝炎病原诊断指标并除外 EB 病毒、巨细胞病毒等的急性感染者。

五、丁型肝炎病原学诊断:

(一)凡 HBsAg 阳性,具有临床和/或实验室的急性肝炎证据和血清中抗 HD 和/或抗-HD IgM 阳性者,可诊断为急性 HDV 感染。

(二)若能于起病 2 周内自血清中检出 HDAg,是最直接的诊断依据。

(三)应用 HDAg cDNA 探针进行分子杂交检测血中及/或组织中的 δ -RNA (HDV-RNA)阳性。

(四)确定患者系同时感染(联合感染)抑或重叠感染,除病史外,需视抗 HBc-IgM 存在与否可以判断。联合感染者的抗 HBc-IgM 阳性,而重叠感染者是阴性。另外,联合感染时抗-HD IgM 呈一过性或低水平升高,而重叠感染时则持续升高。

六、戊型肝炎的病原学诊断:

(一)凡确诊为急性肝炎的患者应用荧光抗体阻断分析抗 HEV 阳性者,或免疫电泳(IEM)检查粪便中找到 HEV 颗粒者。

(二)不符合于其它各型急性肝炎的病原诊断指标者。

以上各型肝炎可合并感染,亦可重叠感染,故在病原诊断时应仔细判断,进行鉴别。

第七节 病毒性肝炎的临床分型

一、病毒性肝炎临床分型:

(一)急性肝炎:

1. 急性黄疸型。
2. 急性无黄疸型。

(二)慢性肝炎:

1. 慢性迁延性。
2. 慢性活动性。

(三)重型肝炎:

1. 急性重型。
2. 亚急性重型。
3. 慢性重型。

(四)淤胆型肝炎。

(五)肝炎后肝硬化。

二、各临床型的诊断依据:

(一)急性肝炎:

1. 急性无黄疸型肝炎:应根据流行病学资料、症状、体征、化验及病原学检测综合判断,并排除其它疾患。

(1) 流行病学资料:①密切接触史:指与确诊病毒性肝炎病人(特别是急性期)同吃、同住、同生活或经常接触肝炎病毒污染物(如血液、粪、尿)而未采取防护措施者。②注射史:指在半年内曾接受输血、血液制品及消毒不严格的药物注射、接种、针刺治疗等。

(2) 症状指近期内出现的持续几天以上的,无其它原因可解释的症状,如乏力、食欲减退、恶心、厌油、腹胀、便溏、肝区痛等。

(3) 体征指肝肿大并有压痛。部分患者可有脾肿大。

(4) 化验主要指血清谷丙转氨酶(SGPT)活力增高。

(5) 病原学检查见上节(HBsAg(+),或抗 HBc(+),或抗 HBs 效价增高 4 倍以上)。

凡流行病学资料、症状、体征、化验四项中三项明显阳性,或化验及体征(或化验与症状)均明显阳性,并排除其它疾病者可确

诊。

凡单项血清谷丙转氨酶增高或仅有症状、体征或仅有流行病学史及(2)、(3)、(4)三项中之一项,均为可疑者。对可疑者应进行动态观察或结合其他检查(包括肝活体组织检查)作出诊断,可疑者如病原学诊断为阳性,且除外其它疾病可以确诊。

2. 急性黄疸型肝炎:凡急性发病,具有不同程度的肝炎症状、体征及化验异常,血清胆红素在 1.0mg 以上,尿胆红素阳性,并排除其他原因引起之黄疸,可诊断为急性黄疸型肝炎。

(二)慢性肝炎:

1. 慢性迁延性肝炎:有明确或可疑肝炎的病史,病程超过半年尚未痊愈,病情较轻,有肝区痛、乏力、化验正常或血转氨酶升高,而不够诊断为慢性活动性肝炎者或肝活体组织检查符合于慢性持续性肝炎(CPH)的组织学改变者。

2. 慢性活动性肝炎(CAH):慢性活动性肝炎的临床诊断依据如下:

(1) 症状:既往有肝炎者,目前有较明显的肝炎症状,如乏力、食欲差、腹胀、便溏等。

(2) 体征:肝肿大,质地中等硬度以上,伴有蜘蛛痣或肝病面容或肝掌或脾肿大而排除其它原因者。

(3) 实验室检查:血清转氨酶活力反复或持续升高,伴有浊度试验(麝浊、锌浊)长期明显异常者,或血浆白蛋白减低,或白/球蛋白的比例明显异常,或 γ 球蛋白明显增高者;或血清胆红素长期或反复增高者;有条件时作免疫学检测如IgG、IgM、抗核抗体、抗平滑肌抗体、抗肝细胞膜脂蛋白抗体、类风湿因子等。

(4) 肝外器官表现:如关节炎、肾炎、脉管炎、皮疹或干燥综合征等。

以上四项中有三项为阳性,或第(2)、(3)两项为阳性,或肝活体组织检查符合慢性活动性肝炎(CAH)的组织学改变者。

三、重型肝炎:

(一)急性重型肝炎(即暴发型肝炎):急性黄疸型肝炎起病后10天(有指三周)以内,迅速出现精神、神经症状(嗜睡、烦躁不安、神志不清、昏迷等)而排除其他原因者,肝浊音区进行性缩小,黄疸迅速加深,肝功能异常(特别是凝血酶无时间延长)。尤应重视昏迷前趋症状(如行为反常、性格改变、意识障碍、精神异常),以便作出早期诊断。因此,急性黄疸型肝炎病人如有高热、严重的消化道症状(如食欲缺乏,频繁呕吐,腹胀或有呃逆),极度乏力,同时出现昏迷前驱症状者,即应考虑本病。即使黄疸很轻,甚至未出现黄疸,但肝功能明显异常,又具有上述症状者,亦应考虑本病。

(二)亚急性重型(即亚急性肝坏死):急性黄疸型肝炎,起病后10~14天(有指三周)具备以下指征者。

1. 黄疸迅速上升(数日内血清胆红素上升 $>10\text{mg}\%$ 、肝功能严重损害(SGPT升高、浊度试验阳性、白/球蛋白倒置, γ 球蛋白升高),凝血酶元时间明显延长(凝血酶元活动度低于40%)或胆碱脂酶活力明显降低。

2. 高度无力及明显食欲减退或恶心呕吐,重度腹胀及腹水,可有明显出血现象(对无腹水及明显出血现象者,应注意是否为本型的早期)。

(三)慢性重型(包括重型慢性活动性肝炎或具有高度活动性的肝硬化):表现同亚急性重型肝炎,但有慢性活动性肝炎或肝炎后肝硬化的病史、体征及严重肝功能损害。

四、淤胆型肝炎:

(一)类似急性黄疸型肝炎,但自觉症状常较轻。常有明显肝肿大、皮肤瘙痒。

(二)肝功能试验:黄疸指数明显升高,以直接胆红素为主,表现为梗阻性黄疸,如碱性磷酸酶, γ -转氨酶、胆固醇明显升高,SGPT中度增高,而浊度试验多无改变。

(三)梗阻性黄疸持续三周以上者。

(四)除外其它肝内、外梗阻性黄疸(包括药源性等)。

五、肝硬化:

(一)活动性肝硬化:慢性活动性肝炎的临床表现依旧存在,特别是转氨酶升高,硷性磷酸酶减少,肝脏质地变硬,脾进行性增大,伴有门脉高压征,如食道静脉曲张、腹水,肝功能明显异常。

(二)静止性肝硬化:1.有或无肝病史,转氨酶正常,无黄疸、肝质硬、脾大、伴门脉高压征、血清白蛋白低。2.肝活检提示肝组织有假小叶形成,在其周围炎症细胞很少,间质及实质界限清楚。

肝硬化的影象学诊断(B型超声波诊断、CT诊断)以及腹腔镜诊断有参考价值。

第八节 病毒性肝炎的 基本组织学改变

肝穿刺活检对病毒性肝炎的诊断和分型十分重要,如慢性活动性肝炎(慢活肝)和慢性迁延性肝炎(慢迁肝)其病理转归及临床处理有所不同,但从临床表现有时不易鉴别,又如慢活肝和肝硬化,就一般概念而论,前者是可逆的而后者则不然,但它们有时很难从临床加以区别,而这些在病理上均有明显的不同。

肝穿活检由于标本很小,故具有一定的局限性,如肝硬化病例当活检组织中不包括完整的假小叶或慢活肝、慢迁肝病例的活检组织中没有汇管区时,则可能造成诊断上的困难,故检查的肝组织应有足够的大小,以便取得较正确的病理诊断。

各型病毒性肝炎的病理变化基本相同,仅病变的部位或程度有别。肝炎为全身性感染,但病变主要在肝脏。病毒性肝炎的病理变化是以肝细胞发生变性和坏死为特征的炎症过程,同时出现肝细胞再生、炎症细胞浸润和间质增生等病变。

肝脏病变一般呈弥漫性,即上述病变出

现在肝的各小叶中。病毒性肝炎的病理变化是一种综合性病变过程,包括肝细胞变性、坏死、炎性细胞浸润和细胞再生(包括肝细胞、枯否氏细胞、纤维结缔组织细胞等)。从病理发生过程、免疫病理学和临床表现等方面分析,病毒性肝炎的各种病理变化中,以肝细胞病变(特别是坏变过程)占主导地位。

黄疸型和无黄疸型病毒性肝炎的病理变化,没有本质上的区别,仅在病变程度上前者较重,淤胆多见,且于早期出现;后者较轻以及肝内组织学上多无淤胆现象。

多数情况下,病毒性肝炎的组织学改变程度、临床表现与实验室检查的异常改变是相一致的,但也有些病例活检所见组织学改变与临床不一致。各型病毒性肝炎的病理变化不能区别,除非用免疫荧光技术检查显示肝细胞胞浆的HBsAg或胞核内的HBcAg,则可确定为乙型病毒性肝炎。

病毒性肝炎组织学变化与其他原因引起的肝炎,例如药物中毒(磷、氯仿等)性肝炎等是不相同的。其它原因引起的肝炎,其肝细胞坏死为肝小叶带状坏死或区域性坏死,而病毒性肝炎的肝细胞坏死为散发的个别肝细胞或灶性坏死。药物中毒性肝炎为中性粒细胞浸润;细菌性肝炎(血源性或胆管性)亦以中性粒细胞浸润为主;而病毒性肝炎则以单核细胞、淋巴细胞浸润为主。

肝组织的病变程度和类型随机体的免疫状态而异,在免疫反应正常的患者中,由于出现免疫反应常导致受病毒感染的肝细胞发生坏死,同时病毒也被清除;在免疫反应低下(或受抑制)的患者,受感染的肝细胞虽免于遭受免疫性攻击,但病毒却不能被清除,感染持续存在,往往导致病变的慢性化。目前认为,引起肝细胞损伤的免疫反应,主要是细胞介导的毒性作用。

肝细胞坏死或溶解与淋巴细胞的毒性作用密切相关。近年来对淋巴细胞攻击作用的形态变化和肝细胞坏死的发生有了更深入的了解。

研究,淋巴细胞“攻击”作用的超微结构病变在电镜下可见下列过程:1. 淋巴细胞的浸润及其与肝细胞密切接触显然是发挥“攻击”作用的先决条件,此时可见淋巴细胞借胞浆突起形成伪足,插入肝细胞之间或细胞之中而引起破坏。值得重视的是这些肝细胞的胞浆中均有HBsAg存在,这一情况提示淋巴细胞攻击的靶细胞,显然是感染了HBV的肝细胞。

靶抗原使致敏淋巴细胞发挥多种细胞毒作用,包括Tk细胞介导的抗原特异性淋巴细胞毒,K细胞的抗体依赖细胞毒;此外还有非特异性有丝分裂因子诱导的细胞毒及自然杀伤细胞毒素等等。各种细胞毒作用于肝细胞膜,引起膜上离子泵的功能障碍,使细胞内外离子平衡失调,影响膜内外水盐分布,引起肝细胞水肿变性或嗜酸性变,严重者可导致细胞坏死。

慢性乙型肝炎中肝细胞坏死主要有两种形式即:小叶内灶性坏死及汇管区周围碎屑样坏死,近年来的研究证明上述两种坏死的机理不尽相同,其中局灶性肝细胞坏死是由于T细胞溶解作用所致,坏死的细胞常含增殖的病毒;而碎屑样坏死却与肝细胞膜抗原所致的自家膜抗体反应有关,该膜抗原的产生是病毒增殖所致,因此上述反应在病毒增殖的高峰期最为明显,但由于此时抑制T细胞的增加,故膜抗体反应大部遭受抑制。病毒增殖停止后的反应随患者的免疫反应而异,其中抑制T细胞正常者,膜抗体反应受到抑制,在抑制性T细胞减少者,该反应往往持续存在,肝组织病变的炎症浸润与自身免疫性慢性活动性肝炎类同。

病毒性肝炎的肝脏病理改变,主要有肝细胞变性、坏死、炎症细胞浸润和肝实质及间质的增生性改变。

一、肝细胞变性 & 坏死^[7,25~29]:

(一)肝细胞浆疏松及气球样变:肝细胞增大,胞浆疏松而淡染,如肿胀细胞直径比正

常肝细胞大一倍以上者称之为气球样变。

(二)嗜酸性变:肝细胞胞浆红染,胞体缩小,胞核深染而固缩。此乃肝细胞脱水、氢离子与钾离子的交换而使肝细胞内pH下降所致。电子显微镜下观察,见粗面内质网之核糖体显著减少。此种改变往往是不可逆的。如胞核消失则成嗜酸性小体。

(三)肝细胞坏死:根据坏死的程度可分为:1. 单个肝细胞坏死;2. 点状或灶性坏死;3. 碎屑样坏死(Piecemeal necrosis):1960年Cohen最先提出碎屑样坏死这一概念,当时他对肝脏进行免疫荧光研究发现,这种独特的病变与γ-球蛋白升高密切相关。如肝细胞坏死发生于肝实质和间质交界处,同时伴有界板破坏,称为碎屑样坏死。如肝细胞坏死发生于新形成的间隔和肝实质交界处,则称为间隔周围碎屑样坏死(Perisepta piecemeal necrosis)。当坏死发生于门管区与肝实质交界面,同时伴有界板破坏,致使局部糜烂者,称为门管区周围碎屑样坏死(Periportal piecemeal necrosis)。在碎屑样坏死区内,残留肝细胞被大量淋巴细胞和新生胶原纤维束分割包围而呈碎片样分布,或相互离解、脱落和凋谢。这种被隔离而存活的肝细胞,可形成腺泡(acinus)样结构或假小叶。这种坏死是慢性活动性肝炎的特征性病理改变,对诊断慢活肝具有决定性意义;4. 融合性坏死(Confluent necrosis):是指肝实质内两个以上的灶性坏死之相互融合,这是重型慢活肝的特点。5. 架桥样坏死(bridging necrosis):不同中心静脉区坏死性病灶与不同门管区坏死性病灶可不断扩展而相互连接,形成各种类型的架桥样坏死。两个肝小叶的中心静脉区坏死性病灶被此扩展相连,称为中心区-中心区架桥,这种架桥样坏死属于融合性坏死性质,其边缘很少有碎屑样坏死,故有可能愈合,愈合后常无纤维化。同一肝小叶的门管区周围坏死性病灶与中心静脉区坏死性病灶彼此扩展相连,

称为门管区-中心区架桥,这种架桥样坏死也属于融合性坏死性质,但它分割肝小叶,能促使病变向肝硬化发展;两个门管区周围坏死性病灶彼此扩展相连,称为门管区-门管区架桥,这种架桥样坏死纯属碎屑样坏死发展的后果,侵袭性很强,对加速肝炎向肝硬化发展起更重要的作用,因此它也是慢活肝向重型发展的特点;6.亚大片坏死(Submassive necrosis)及大片坏死(massive necrosis):在一个肝小叶内接近2/3的肝细胞已坏死,或中带及外带的大部分肝细胞已坏死者称为亚大片坏死,超过这种范围时称大片坏死。

二:炎症细胞浸润^[3,7,8]:

病毒性肝炎时,肝组织内浸润的主要炎症细胞为淋巴细胞,其次是单核细胞、浆细胞和组织细胞。

(一)肝实质细胞浸润:正常情况下肝窦中可有少量淋巴细胞;如果淋巴细胞出现于Diss间隙或肝板之间,即表示有炎症反应。肝实质坏死灶可见多少不等的炎症细胞浸润,不同类型的病毒性肝炎其数量可有明显差异。

有人研究,每10mg正常肝组织仅含1000个淋巴细胞,而急性病毒性肝炎时,每10mg肝组织所浸润的淋巴细胞可达100,000~250,000个^[3]。

现在已经能够应用单克隆抗体技术鉴定肝组织内的淋巴细胞亚群^[30]。在淋巴细胞毒性损害的肝实质点状坏死和灶性坏死区中,浸润的炎症细胞主要为OKT₃阳性的细胞毒性T-淋巴细胞^[31]。因此认为肝实质点状及灶性坏死的成因与细胞毒性T-淋巴细胞介导的细胞毒效应有关。慢性肝炎时,尚可见到大量浆细胞及嗜伊红细胞浸润。大片坏死时可见有中性粒细胞的浸润。

(二)间质内的炎症细胞浸润:当碎屑样坏死时,大量淋巴细胞及单核细胞可见于汇管区或浸润于所形成的纤维隔内,有时可形

成淋巴滤泡。

三、增生性改变:

(一)实质性增生:主要指肝细胞的再生,表现为肝细胞核大小不一,出现双核肝细胞,并可见多核及双排肝细胞索,胞浆染色呈嗜碱性。肝细胞再生现象在病毒性肝炎十分常见。促发肝细胞再生的因素有人提出既有肝内因素也有肝外因素,后者包括肽激素(Peptide hormones)和生长因子(growth factors)等。

(二)间质增生:主要表现为:1.小胆管及血管的增生;2.枯否(kupffer)细胞增生及肿胀;3.纤维组织增生。肝纤维组织增生是病毒性肝炎慢性化的主要特征。纤维组织增生有轻有重,重者可以形成被动纤维隔和主动纤维隔。1.被动纤维隔:由于肝细胞坏死,网状纤维支架塌陷、集中、合拢而形成,用网状纤维染色可以清晰地显示出来。被动纤维隔中炎症细胞浸润稀少,和邻近肝实质界限分明。中心区-中心区(Central to Central)架桥样坏死后容易形成这种纤维隔,久则也可以有胶原纤维增生。2.主动纤维隔:由于碎屑样坏死胶原纤维增生扩展而形成,呈楔状穿插伸入肝小叶间或肝小叶内,用胶原纤维染色可以清晰地显示出来。主动纤维隔中常有密集的炎症细胞浸润,和邻近肝实质的界限比较模糊,其边缘往往有碎屑样坏死。门管区-门管区(portal to portal)架桥样坏死后容易形成这种纤维隔;门管区-中心区(portal to central)架桥样坏死后所形成者,往往兼有主动-被动纤维隔的性质。

第九节 病毒性肝炎的 病理组织学诊断

一、急性普通型病毒性肝炎:急性黄疸型和无黄疸型肝炎的病变基本相同,但无黄疸型者较轻。主要是肝细胞胞浆疏松及气球样变,继之肝细胞嗜酸性变并可形成嗜酸性

小体,进一步发展为肝细胞灶性坏死与再生,主要在肝小叶内有淋巴细胞浸润。部分黄疸型肝炎病例,毛细胆管内有胆栓形成。

二、急性淤胆型肝炎:病理组织学特点是:(一)肝细胞变性较轻,少有坏死;(二)肝细胞浆内胆汁淤积,毛细胆管扩张并含微胆栓;(三)肝细胞排列呈腺状结构;(四)门管区有明显的小胆管增生;(五)肝实质内、门管区及小胆管周围以中性多核白细胞浸润为主。

三、慢性迁延性病毒性肝炎:慢迁肝的病变与急性肝炎相似,但程度较轻,可见较多的毛玻璃样肝细胞(ground-glass Cell)。大致可分为三种类型,病程均在半年以上。

(一)慢性小叶性肝炎:主要是肝小叶内的炎症和肝细胞的变性、坏死,门管区的改变不明显。

(二)慢性间隔性肝炎:肝小叶内炎症反应及变性、坏死轻微,门管区有纤维细胞增生形成间隔。间隔内炎症细胞很少,不形成假小叶。

(三)慢性门脉性肝炎:肝实质变性坏死较轻,有少数点状坏死,偶见嗜酸性小体;门管区有密集的炎症细胞浸润,甚至形成淋巴滤泡,致使门管区扩大;但无界板破坏或碎屑样坏死。

四、慢性活动性病毒性肝炎:慢活肝病程一般在一年以上,组织学上可分为轻、中、重三型。

(一)轻型:以门管区周围碎屑样坏死为主要特征;肝小叶内病变包括肝细胞变性、点状坏死、灶性坏死、甚或灶性融合性坏死,伴以炎症反应。

(二)中型:有广泛的碎屑样坏死;肝实质性坏死较重,可以架桥样坏死及主动纤维间隔形成。

(三)重型:坏死范围更广泛,呈多小叶融合性坏死;坏死还有密集的炎症细胞浸润及大量纤维组织增生,与肝实质交界面有广泛

的碎屑样坏死;肝小叶的完整性已被破坏,有时和早期肝硬化难以鉴别。

除上述三种类型外,还有少数慢性活动性病毒性肝炎的肝实质病变并不严重,却伴有显著的肝内胆汁淤积,血生化改变符合阻塞性黄疸,这种病例被称之为淤胆型慢性活动性病毒性肝炎。

五、急性重症病毒性肝炎:即暴发性病毒性肝炎,国内主张分为坏死型和水肿型两种。不过水肿型未被公认。

(一)坏死型:肝组织的主要病变是大块肝坏死,坏死的新旧程度一致;若迁延数日,坏死的肝细胞溶解,并被吞噬细胞清除,仅剩下扩张而高度充血的肝窦;肝小叶网状纤维支架、门管区、血管和胆管结构仍然保存;坏死区内淋巴细胞稀疏,可见少数中性多核白细胞;门管区有巨噬细胞等炎症细胞浸润,巨噬细胞常吞噬脂褐素;看不到小胆管增生及kupffer细胞增生;肝内胆汁淤积不明显。本型肝炎功能衰竭的成因是大量肝实质丧失。病程11天后肝细胞出现修复反应,如能存活,不易形成肝硬化。

(二)水肿型:肝实质除灶性坏死外,更突出的是肝细胞高度水肿,呈极其显著的气球样变。本型肝炎功能衰竭的主要成因是细胞器功能严重抑制和肝内微循环障碍。

六、亚急性重症病毒性肝炎:是指肝细胞的大片或亚大片坏死与肝细胞的增生同时存在,残存的肝细胞增生成团或呈假小叶结构,并可见网状纤维支架塌陷,大量增生的胆管及较重的淤胆。

七、慢性重症病毒性肝炎:慢性重症病毒性肝炎的病变同亚急性重症肝炎,并具有慢活肝或肝硬化的病理特征。

[附] 病毒性肝炎、肝硬化和原发性肝癌的病理分型和诊断标准(草案)(摘录其中的肝炎部分)

病毒性肝炎的病理分型和诊断标准

急性病毒性肝炎病理组织学诊断标准

1. 小叶结构紊乱;
2. 肝细胞气球样变;
3. 肝细胞嗜酸性变;
4. 单个细胞坏死或点状坏死;
5. 枯否氏细胞增生肥大;
6. 小叶内及门管区炎性细胞浸润,以淋巴细胞为主;
7. 门管区水肿,可有成纤维细胞增生。

胆汁淤积型除以上病变外其特点为:

1. 肝细胞气球样变显著;
2. 肝内胆汁淤积明显,毛细胆管淤胆扩张可形成“假腺体”。

3. 门管区小胆管增生,有中性粒细胞浸润;

慢性迁延性病毒性肝炎病理组织学诊断标准

1. 小叶结构无明显紊乱;
2. 肝细胞气球样变一般不见,除非加重或复发时;
3. 嗜酸性小体很少,每个小叶可能见到1~2个;
4. 地伊红染色阳性,可有毛玻璃样肝细胞(免疫荧光等可证实);

5. 可有少数灶性坏死;
6. 枯否氏细胞轻度肥大;
7. 门管区浆细胞、淋巴细胞浸润;
8. 门管区周围轻度纤维化;
9. 枯否氏细胞及巨噬细胞内有脂褐色素。

慢性活动性病毒性肝炎病理组织学诊断标准

1. 小叶结构紊乱;
2. 肝细胞气球样变,严重时可发生溶解坏死;
3. 肝细胞嗜酸性变及嗜酸性小体较多;
4. 地伊红染色阳性,可有毛玻璃样肝细胞(免疫荧光等可证实);
5. 灶性坏死较多;
6. 界板破坏,有碎屑样坏死;
7. 可有“架桥”形成;
8. 可有肝细胞小岛;
9. 小叶周围界板处肝细胞可有腺体样结构;
10. 枯否氏细胞增生肥大;
11. 门管区浆细胞、淋巴细胞浸润,可有淋巴滤泡形成;
12. 门管区周围纤维组织增生显著;
13. 可有输出静脉炎;
14. 枯否氏细胞及巨噬细胞内有脂褐色素。

参 考 文 献

- [1] Ilan Y et al, Am J Gastroenterology, 85(5):586, 1990
- [2] Toppet V et al, pediatr Radiol, 20(4):249, 1990
- [3] Pavia AT et al, Am J Epidemiol, 131(6):1085, 1990
- [4] Stroffolini T et al, Community Med, 11(4):336, 1989
- [5] OGata N et al, Hepatology, 11:1017, 1990

- [6] Shafritz DA et al, J Infect Dis, 151:1081, 1985
- [7] 李梦东、顾长海主编, 传染病学新进展, 科学技术文献出版社重庆分社, 第1版, 第143页, 160~173页, 1986
- [8] 李梦东主编, 实用传染病学, 科学技术文献出版社重庆分社, 第1版, 第18页, 1989
- [9] Colombo M et al, Lancet, 335(8701):1345, 1990
- [10] 庄辉综述, 国外医学流行病学传染病学分册, 6:241, 1989
- [11] 陶其敏, 陈伟然综述, 临床肝胆病杂志, 6(2):59, 1990
- [12] Wejstal R et al, J Med Virol, 30(3):1788, 1990
- [13] Cuthbert JA, Am J Med Sci, 299(5):346, 1990
- [14] Sbolli G et al, J Med Virol, 30(3):230, 1990
- [15] Smedile A et al, Hepatology, 6:1297, 1986
- [16] Chen PJ et al, Hepatology, 8:1121, 1988
- [17] Saracco G et al, Ann Inter Med, 108:380, 1988
- [18] Rizzetto M et al, J Hepatology, 1:187, 1985
- [19] Tassopoulos NC, J Med Virol, 30(3):174, 1990
- [20] 王彩福、苏盛主编, 病毒性肝炎的理论及临床, 陕西科学技术出版社, 第1版, 第24页, 1986
- [21] 徐肇明等编著, 病毒性肝炎研究进展, 上海科学技术出版社, 第1版, p.13~30及p.109~110, 1980
- [22] 侯肇岳等编著, 病毒性肝炎标志与ELISA, 上海长江生物医学试剂服务部, 第1版, 第11~13页, 1986
- [23] 刘锡光等主编, 病毒性肝炎实验诊断, 人民卫生出版社, 第5~7页, 1986
- [24] 侯肇岳等编著, 病毒性肝炎标志与ELISA, 上海长江生物医学试剂服务部, 第1版, 第9~10页, 1986
- [25] 全国病毒性肝炎专题学术会议, 中华内科杂志, 24(增刊):52, 1985
- [26] 李梦东、顾长海, 重庆医学, 1:45, 1983
- [27] Ishak KG, Am J Clin pathol, 65:787, 1976
- [28] Schaffner F, Am J Med, 49:658, 1970
- [29] Abe H et al, Gastroenterology, 82:983, 1982
- [30] Klebanoff SJ, Ann Intern Med, 93:480, 1980
- [31] 张太和等, 中华内科杂志, 24(增刊):11, 1985
- [32] 李梦东主编, 实用传染病学, 科学技术文献出版社重庆分社, 第1版, 第21~22页, 1989
- [33] Choo QL et al, Science, 244:359~362, 1989
- [34] Kuo G et al, Science, 244:362~364, 1989
- [35] Estebon JI et al, Lancet, II, 294~296, 1989
- [36] Contreras M et al, Lancet, II:505, 1989
- [37] Kuhn P et al, Lancet, II:324, 1989
- [38] Editorial, Lancet, II:307~308, 1989
- [39] Kuhn P et al, Curr stud Hematol Blood Transfus, 56:9~22, 1989
- [40] 孟宗达等, 中华预防医学杂志, 24(5):316, 1990

第二章 病毒性肝炎的分子生物学

第一节 甲型肝炎病毒 的分子生物学

根据已了解的 HAV 的生物学特点, HAV 属小 RNA 病毒科^[1]。与其它小 RNA 病毒相似, HAV 颗粒无囊膜, 直径约 27~32 nm, 含单股正链 RNA 基因组, 但与其它小 RNA 病毒不同, HAV 对一些化学物理因子的抵抗力较强, 60°C 加热 1 小时仍稳定不活。HAV 在离体组织细胞上繁殖周期长, 除个别毒株外 (HM-175), 对细胞新陈代谢无明显干扰, 不引起细胞病变, 因此在组织细胞上极易形成持续感染状态^[12~14]。尽管脊髓灰质炎病毒 (Polio V)、鼻病毒、埃可病毒和柯萨奇病毒 (cox v) 有许多血清型, 但已知的 HAV 血清型却只有一种。HAV 不阻断宿主蛋白合成, 许多抗病毒药物能抑制其它小 RNA 病毒的生长, 但对 HAV 的复制并无影响。电子显微镜下 HAV 表现为饱满的实心颗粒和无核酸的空心颗粒。浮密度 $< 1.30\text{g/cm}^3$ 者一般为空心颗粒。由 $\text{Vp}_1 \sim \text{Vp}_4$ 四种主要多肽和一种次要多肽构成蛋白质衣壳, 衣壳内为单股 RNA (32~35s)。HAV 的许多特性与肠道病毒相似, 故被归类于小 RNA 病毒科、肠道病毒属、肠道病毒 72 型^[2~5]。该科包括肠道病毒、鼻病毒、口蹄疫病毒及脑心肌炎病毒等^[6, 7]。它们的基因结构大致相似, 但核苷酸序列完全不同, 所有小 RNA 病毒成员只有一个开放性基因读框^[8~10]。在基因的 5' 及 3' 端都有一段非蛋白编码区, 并有一个多聚腺苷酸的尾部^[11]。

HAV 为正链单股线形的 RNA 病毒。病毒 RNA 本身及 cDNA 均可感染对 HAV 敏感的实验动物或离体组织细胞, 产生成熟

的病毒颗粒, 并可在动物身上进行人工感染传代^[15~16]。

HAV 全基因约含 7500 个核苷酸。各 HAV 株间基因序列中的核苷酸数目略有不同, 以 HM-175 为例, 全基因含 7478 个核苷酸, 可编码 2227 个氨基酸 (以下简称 AA)。5' 端非蛋白编码区共有 734 个核苷酸, 其起始部有一与核苷酸链共价结合的糖蛋白 (VPG), 它是 HAV 基因编码的, 为病毒复制的引物。5' 端非编码区位于单股长条的开放阅读框架 (ORF) 前, 3' 非编码区位于其后。5' 端非蛋白编码区之后, 从 735~3107 为 HAV 壳蛋白 (结构蛋白) 编码区, 可编码 791 个 AA, 从 5' 端开始依其顺序分别称为 Vp_4 (735~803), 分子量为 10,000~14,000 Dalton; Vp_2 (804~1469), 分子量为 27,000 Dalton; Vp_3 (1470~2207), 分子量为 24,000 Dalton 和 Vp_1 (2208~3107) 分子量为 33,000 或 34,000 Dalton^[17~19]。 Vp_1 与 Vp_3 构成病毒壳蛋白的主要抗原多肽, 产生中和抗体。把 HAV 基因从 5' 端开始分成三个区, 命名为 p_1 、 p_2 、 p_3 区。病毒结构蛋白位于 p_2 区, 转录及基因调控位于 p_2 区。HAV 在病毒蛋白表达过程中, 首先合成一个大分子的病毒蛋白 Vp_0 , 然后由病毒基因编码的蛋白水解酶消化切割成 11 个小分子多肽。迄今, HAV 在世界各地只有一个血清型, 因此反映在基因结构上, 各病毒组间虽有不同, 但没有显著差异。

5' 非编码区有两个聚嘧啶带。5' 端附近的 1 区不为其它小 RNA 病毒共有。与其它小 RNA 病毒同源的第 2 区, 位于编码区起始点附近。据认为, 5' 非编码区含有辨认和结合宿主核糖体的重要信号。

ORF 编码含 2227 个氨基酸的多聚蛋白。2 个蛋氨酸密码子(被 1 个天门冬酰胺密码子分隔)都可能是翻译的起始点。类似其它小 RNA 病毒,多聚蛋白可被编为 3 个区, p_1 区编码 4 个衣壳蛋白 1A~1D,常称为 $Vp_1 \sim Vp_4$, p_2 和 p_3 区编码蛋白 2A~2C 和 3A~3D。

HAV 和其它小 RNA 病毒的氨基酸序列相似,据此,已绘出 HAV 大多数蛋白和基因部位的对应图。HAV 蛋白氨基端的氨基酸序列化确定了 Vp_1 和 Vp_3 的部位。与蛋白 Vp_2 一致的合成肽抗体的产生证实了 Vp_2 的部位。Western 印迹法可使合成肽抗体与 Vp_2 反应。HAV Vp_2 (1B) 比 Vp_3 (1C) 小,而大多数小 RNA 病毒的 Vp_2 比 Vp_3 大。HAV Vp_4 明显小于其他小 RNA 病毒的 Vp_4 。核苷酸序列分析预测的 HAV Vp_4 分子量(2500)与生物物理方法测定的不同(14000)。不同于另 3 个衣壳蛋白,Western 印迹法测不出 vp_4 。

已生产 HAV 蛋白 3B(Vpg) 羧基端一致的合成肽抗体,从而证实了 Vpg 的部位。这个抗体可与共价结合了 Vpg 的 HAV RNA 发生免疫沉淀。计算机比较 HAV 和其它小 RNA 病毒的氨基酸序列,绘出了其余非结构蛋白的基因图。

病毒体衣壳蛋白包括 $Vp_1 \sim Vp_4$, Vp_1 为最大,它可能和 Vp_3 一起构成抗原部位的免疫决定簇。 Vp_2 和 Vp_4 可能来源于其共同的前体 Vp_0 ^{[20][21]}。 Vp_2 含 1 个丝氨酸残基,它可能作为亲核剂催化 Vp_0 裂解成 Vp_4 和 Vp_2 。推测裂解发生于 RNA 衣壳包装期间,这是小 RNA 病毒成熟的最终步骤。Gust 等发现 Vp_1 、 Vp_2 和 Vp_4 位于病毒颗粒的表面, Vp_3 位于颗粒内部^[22]。但 Gerlich 等的结果不同,他们测得 Vp_1 于表面,而 Vp_2 、 Vp_3 藏于颗粒内^[20]。

HAV p_2 区含非结构蛋白 2A、2B 和 2C。蛋白 2A 和 2B 与其它小 RNA 病毒几无同

源。脊髓灰质炎病毒(polio v)蛋白 2A 是蛋白酶。HAV 蛋白 2C 的羧基部分和其它小 RNA 病毒同源。如与 polio v 也同源,则 HAV 蛋白 2C 可能和病毒转录有关。

p_3 区编码蛋白 3A、3B、3C 和 3D。HAV 蛋白 3B 是 $Vp\delta$,它共价结合 HAV RNA 5' 端。脊髓灰质炎病毒、脑心肌炎病毒的蛋白 3C 是病毒蛋白酶。polio V 3C 的蛋白水解活性需要半胱氨酸(氨基酸 147)和组氨酸(氨基酸 161)残基,HAV 蛋白 3C 和其他小 RNA 病毒 3C 进行比较,发现这两个残基也存在于 HAV。据认为,HAV 蛋白的 3D 是依赖 RNA 的 RNA 多聚酶,其中的 14 氨基酸带与其它小 RNA 病毒高度一致,代表了多聚酶的活性部位。

已知 HAV 只有一个血清型,病毒交叉中和研究未发现不同地理分布的 HAV 株有什么差异。同样,临床研究也表明,免疫血清球蛋白可保护世界各地 HAV 感染的病人。Weitz 和 Siegl (1985) 对来自 8 个国家和地区 HAV 病毒株,用寡核苷酸分析法进行了结构基因核苷酸序列的比较分析,其中 6 个为组织培养适应株,它们间的核苷酸序列只有 1~4% 不同,其中 2 株分别在狨猴传 12 代(P_{12})和 30 代(P_{30}),然后再适应于组织培养。此 2 株的核苷酸序列与单纯适应于组织培养组比较,有 6.5% 和 10% 的差别^[23~25]。

Cohen 曾比较了 HM-175(狨猴传 3 代)和在 PLC/PRF/5 肝癌细胞上适应的 LA 病毒株^[26]。该两毒株的基因都是 7478 个核苷酸,两者间有 91.7% 的核苷酸序列和 98.5% 的 AA 序列相同,在编码区共有 589 个核苷酸序列不同,其中 551 个(87%)发生在三联密码子的第三位核苷酸,因此极少引起蛋白质序列的改变;在 5' 端非编码区的核苷酸序列有 96% 相同。LA 组及 CR₃₂₆(组织培养适应株)在 5' 端非编码区有 99% 核苷酸序列相同。

Robertson^[27]用寡核苷酸引物序列分析