

病毒性肝炎的防治

BINGDUXING GANYAN
DE FANGZHI

编 著 者

宋清林 陆正德 杨 江 雷祖才 田珍广

审 阅 者

陈菊梅 杨守纯 王一骏

人民军医出版社

1988年 北京

病毒性肝炎的防治

宋清林等编著

•

人民军医出版社出版

(北京复兴路22号甲3号)

北京市孙中印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

•

开本: 787×1092毫米 1/32·印张: 7.875·字数: 175千字

1988年5月第1版 1988年5月第1次印刷

印数: 1—15500 定价: 2.30元

〔科技新书目, 162—099②〕

ISBN 7-80020-064-7/R·63

目 录

第一章 病毒性肝炎的病原学	(1)
第一节 概论	(1)
第二节 甲型肝炎病毒	(3)
第三节 乙型肝炎病毒	(9)
第四节 非甲非乙型肝炎病毒	(27)
第五节 δ (Delta) 抗原	(35)
第二章 病毒性肝炎的流行病学	(37)
第一节 甲型肝炎的流行环节及特征	(37)
第二节 乙型肝炎的流行环节及特征	(45)
第三节 非甲非乙型肝炎的流行环节及特征	(78)
第四节 δ 肝炎病毒感染	(87)
第三章 病毒性肝炎的预防	(94)
第一节 综合性预防	(94)
第二节 免疫预防	(98)
第四章 病毒性肝炎的消毒	(114)
第一节 筛选和评价肝炎病毒消毒药物的方法	(114)
第二节 目前对HBV有效消毒药物和使用方法 的介绍	(117)
第五章 病毒性肝炎的诊断	(131)
第一节 病原诊断	(131)
第二节 病理诊断	(133)
第三节 临床诊断	(135)
第四节 对单项谷丙转氨酶升高的认识	(138)
第五节 乙型肝炎的特异性诊断	(141)
第六节 无症状表面抗原携带者的诊断	(142)

第七节	HBV 感染肝外系统性损害的临床诊断	(145)
第八节	肝穿对病毒性肝炎的诊断价值	(150)
第九节	慢性病毒性肝炎的发病机理	(152)
第六章	病毒性肝炎的治疗	(155)
第一节	评价乙肝疗效应注意的几个问题	(155)
第二节	目前治疗肝炎药物的分类	(156)
第三节	急性病毒性肝炎的治疗	(156)
第四节	慢性病毒性肝炎的治疗	(158)
第五节	重症病毒性肝炎的治疗	(168)
第七章	实验室检测技术	(173)
第一节	肝功能实验室及其有关血清学检测	(173)
第二节	甲型肝炎抗原和抗体的检测	(187)
第三节	乙型肝炎表面抗原和抗体的检测	(195)
第四节	乙型肝炎核心抗体的检测	(205)
第五节	乙型肝炎 e 抗原和 e 抗体的检测	(209)
第六节	乙型肝炎其它标志的检测	(211)
第八章	肝炎问答	(225)

第一章 病毒性肝炎的病原学

第一节 概 论

迄今所知，病毒性肝炎在病原学上可分为甲型、乙型和非甲非乙型，均分别由独特的嗜肝性病毒引起：（1）甲型肝炎由甲型肝炎病毒（HAV）引起；（2）乙型肝炎由乙型肝炎病毒（HBV）引起；（3）非甲非乙型肝炎由一种或数种与甲型和乙型肝炎病毒都无关的病毒引起。另外，还有D型肝炎，由 δ （delta）抗原伴随HBV所致。虽然有多种病毒如黄热病病毒、单纯疱疹病毒、风疹病毒、巨细胞病毒（CMV）疱疹（EB）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份，故不包括在病毒性肝炎这个特定范围内。

关于肝炎病毒及其相应的抗原系统发现的历史，详见表1。

肝炎病毒及其抗原、抗体的命名

参照1977年世界卫生组织专家委员会修改的肝炎病毒与抗原、抗体的命名意见，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

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

表 1 肝炎病毒及其抗原发现的历史

年 限	名 称	发 现 者
1965	澳大利亚抗原(HAA), 即HBsAg	Blumberg
1970	Dane氏颗粒即乙肝病毒本身	Dane
1971	HBsAg亚型的确定	Le Bouvier
1971	发现HBVDNA多聚酶	Hirshman
1972	e抗原、e抗体	Magnius
1973	甲型肝炎病毒颗粒(HAV)	Feinstone
1974	首次用电镜观察到HBVDNA	Robinson
1975	核心抗原(HBcAg)	Almeida
1975	提出HBsAg亚型决定簇的顺序谱系	Le Bouvier
1975	鉴定了 e ₁ 、e ₂	Williams
1977	发现了δ (delta)抗原和抗体	Rizzetto
1978	叙述了 e ₃	Courouce—pauty
1978	建立了 HBV—DNA原位杂交技术	Brahic等
1978	ayw亚型的病毒DNA克隆入大肠杆菌	Fritsch
1979	发现非甲非乙型肝炎的病毒颗粒	Trepo
1979	HAV体外组织培养成功	Provost
1979	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	Galibert
1983	adr亚型病毒基因组的克隆和限制性酶切图谱	吴祥甫等
1983	HAV的克隆和基因表达	Gust 等

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/e ₁ 、e ₂ 、e ₃
抗乙型肝炎e抗原的抗体	抗-HBe
DNA 聚合酶	DNAP
乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸	HBVDNA

(三) 非甲非乙型肝炎

非甲非乙型肝炎病毒	NANBV
非甲非乙型肝炎抗原	NANBAg
非甲非乙型肝炎抗体	NANBAb

(四) δ 肝炎

Delta 抗原	δ Ag
抗-Delta抗原的抗体	抗- δ

第二节 甲型肝炎病毒

近年来,对于甲型肝炎病毒(HAV)的研究有了较快的进展。继1967年 Deinhardt 首次报告猕猴可作为HAV的实验动物模型,1973年 Feinstone 等应用免疫电镜方法在急性甲型肝炎病人的大便中发现HAV颗粒以来,已建立检测HAV及其相应抗体的特异的、敏感的血清学检测方法。从而大大地推动了甲型肝炎病原学、临床诊断、流行病学和疫苗等方面的研究进展。

一、甲型肝炎病毒的结构、形态以及生物学特征

(一) 形态: HAV 是一种 27~32nm 大小的20面对称体颗粒。颗粒表面有32个子粒,核衣壳无表面突起和包膜存在。负染后在电镜下观察,可见有空心和实心颗粒,其比例

不等，在一般情况下，实心与空心颗粒相混杂，而以实心者为主（图1）。



图1 甲型肝炎病毒的电镜照片（ $\times 150,000$ 倍）

（二）浮密度：近年来，应用高度提纯的甲型肝炎粪便材料，进行浮密度测定，主峰在 $1.33\sim 1.34\text{g/ml}$ ，重复性强，次峰可在 $1.25\sim 1.31\text{g/ml}$ 和 $1.39\sim 1.44\text{g/ml}$ 左右。已有资料表明，不同密度的 HAV 颗粒和不同来源如狨猴肝脏、人或实验动物的大便的 HAV 表面具有共同抗原成份，现有的血清学试验方法不能区别。

（三）沉降系数：HAV 的沉降系数为 $156\sim 160\text{s}$ 左右，这部份颗粒是具有传染性的 HAV 颗粒。

（四）多肽特点：应用免疫沉淀试验表明，有四种多肽是 HAV 结构成份。其分子量分别为 $33,000$ （ VP_1 ）、 $26,500$ （ VP_2 ）、 $22,500$ （ VP_3 ）、 $14,000$ （ VP_4 ）。由于应用毒株不同及实验条件的差异，各国学者报告的分子量方面可有

少许出入，但均显示 HAV 有同样的多肽组成。

(五) 核酸组成：HAV 在肝脏内只存在于细胞浆中，提纯的病毒核酸经胰核糖核酸酶处理，可消除其传染性，故认为系小型RNA病毒。在病毒RNA末端有多聚腺苷酸(Polyadenylic Acid)序列存在，约由40~80核苷酸(Nucleotide)组成。基因组为一单个片段的单链RNA，对酸和乙醚的抵抗力强，以及HAV在病程早期可出现于肠道内，并于大便中排出等特征，均符合微小核糖核酸病毒科肠道病毒属特点。现国际病毒分类学委员会已正式命名HAV为肠道病毒72型，但建议仍沿用其习惯称呼——HAV。

二、HAV细胞培养

最近二三年来的工作表明，HAV可在多种组织细胞中生长，包括某些人、灵长类动物的原代细胞株或传代细胞系和半传代细胞株。目前已报告的持久感染HAV的细胞株有恒河猴胚肾细胞传代株(FRHK-4)、Buffalo绿猴肾传代细胞株(BGMK)和人胚纤维母细胞株等，前两种细胞株在接种HAV后无细胞病变，在上清液中亦检测不到HAV。后一种细胞株在接种HAV后，虽无细胞病变，但在上清液中可检测到HAV。HAV在细胞培养系统中高效的传代方法，有微载体细胞培养（即在右旋糖酐微载体悬液上建立大型FRHK-4(细胞培养表面积为4500cm²/g干重右旋糖酐)、大型烧瓶多层培养（即在烧瓶内安置多层塑料架，增加每个烧瓶的细胞生长面积）以及快速传代培养（即每24小时传代1次）等。由于持久感染HAV细胞株和高效传代方法的建立，从而可大量生长供HAV基因组、单克隆抗体、诊断、疫苗研究用HAV或HAAg。

三、病毒的复制和抗原性

实验研究认为, HAV 在肝细胞内复制, 由窦状隙释入血循环, 经胆小管进入胆道系统, 最后从肠道经粪便排出。虽曾设想病毒在肠内复制, 但经静脉感染动物时, 肠道上皮细胞内无病毒存在的证据。

世界各国已分离出许多株 HAV, 在免疫学上似乎无差异或属基本相似。由人类及灵长类动物的粪便、胆汁、肝脏及血清中所分离出的 HAV 颗粒具有相同的抗原免疫性, 并不表明 HAV 存在不同亚型病毒株。最近, Weitz 等从中美洲、北美洲、欧洲、澳大利亚和中国所获得的 7 株 HAV, 在 PLC PRF/5 及 MRC-5 (人双倍体胚肺细胞) 细胞中增殖, 分析各 HAV 株的基因和抗原性表明, 在各种 HAV 之间存在着差异。此问题还有待进一步研究和阐明。

四、动物试验

近年来, 通过动物实验证明, 黑猩猩和两种南北狨猴、白须狨 (*Saginus mystax*) 和恒河猴对 HAV 易感。另外, 泉猴 (*Aotus Tririgtatus*) 和线尾猴 (*Macaca Thibetana*) 亦可感染 HAV。但这些动物由粪便中排出 HAV 量均不及狨猴和黑猩猩为高。残尾猴是狨猴属中的一种, 其生态学特点与恒河猴明显不同。我国毛江森等通过注射或口服感染我国残尾猴 (又名红面猴) 成功。该动物感染 HAV 后, 表现为 SGPT 和乳酸脱氢酶异常升高, 粪便中排出 HAV, 血清抗-HAV 阳转。从被感染的残尾猴粪便中分离到的 HAV 可在该类猴中连续传代。残尾猴和泉猴能否成为 HAV 的动物模型, 尚需进一步研究。

易感动物接种感染后 1~2 周肝细胞内证实有 HAV 存在, 最高含量在接种后 20~25 天, 持续 8 周。接种后 12 天出现病毒血症, 持续仅数日, 未发现有慢性病毒血症存在。粪便中

HAV的排出于SGPT上升达高峰或黄疸出现前开始。

五、甲型肝炎的血清学诊断

人类与灵长类动物感染甲型肝炎后，由粪便中排出病毒，排毒量在SGPT升高前1~2周达高峰，肝功能受损后急剧下降。抗-HAVIgM可能在SGPT上升前即已出现，发病1个月内滴度很高，3个月后迅速下降。血清抗-HAVIgA同血清抗-HAVIgM同样很早出现，但下降较慢，持续时间超过1年。粪中抗-HAVIgA亦于发病早期出现，持续多年（图2）。

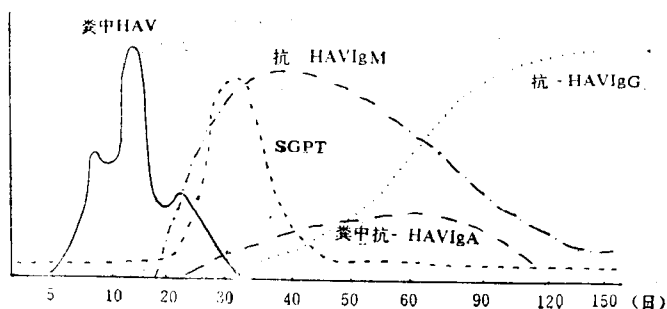


图2 甲型肝炎排毒和各种抗体消长动态

粪中甲型肝炎病毒的检测可采用免疫电镜、ELISA（酶联免疫法）或RIA（放射免疫测定法）。从粪中查出甲型肝炎病毒（HAV），可确诊为甲型肝炎感染。一般在潜伏期末和发病早期，从粪便中排出HAV机会多。据庄辉等报告，发病前1~15天收集粪便标本，HAV阳性率为87.5%，但在发病前16天收集便粪，HAV为阴性。说明HA病人至少在发病前15天即可随粪便排出HAV。于发病后1~7天HAV阳性率为42.86%，8~15天为13.33%。说明发病后也

可随粪便排出 HAV。但是, 检测结果阴性时, 也不能完全排除甲型肝炎的诊断。亚临床感染者亦可能排出甲型肝炎病毒。

粪中抗-HAVIgA的检测可采用ELISA法。Locarin_i 从45名甲型肝炎病例的54份粪便中, 仅查出10份为阳性。

血清抗-HAVIgG的检测可采用ELISA法。抗-HAV-IgG在人体持续多年, 既往感染者大都为阳性。发病初期抗-HAVIgG为阴性, 后期阳转或滴度有4倍以上的升高, 可判定为甲型肝炎感染。抗-HAVIgG是免疫指标, 可能维持终身。

血清甲型肝炎总抗体(包括抗-HAVIgG与抗-HAV-IgM)的检测可采用ELISA或RIA, 既往感染者大都为阳

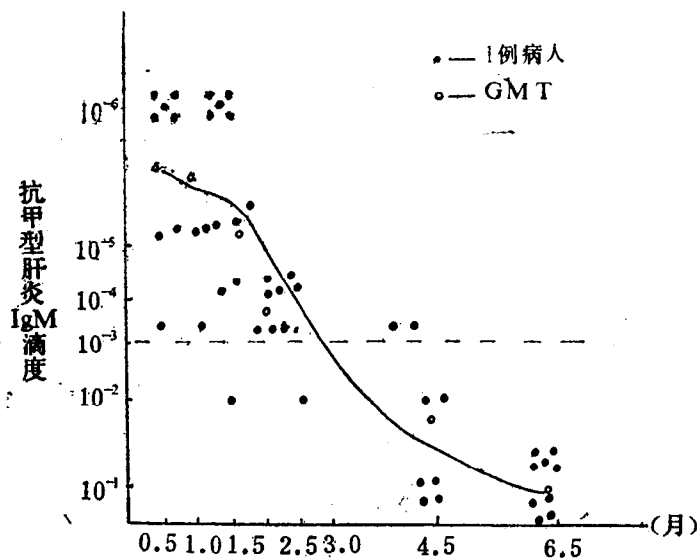


图3 抗-HAVIgM滴度于病后不同月份的动态变化

性，常用于人群免疫水平调查。病人发病早期亦大多为阳性，后期滴度升高。有人采集双份血清，首份在病人入院时采集，末份在住院后30~39天采集。在确诊的甲型肝炎病人中，抗-HAV滴度呈4倍增长率，仅为52%。因此，甲型肝炎总抗体滴度无4倍以上增长时，不能否定甲型肝炎诊断。但甲型肝炎总抗体始终为阴性时，可排除甲型肝炎的诊断。

血清抗-HAVIgM的检测，一般采用ELISA或RIA法。它仅出现于新感染的早期，第二次感染时不再出现，是对新感染进行早期诊断的极好指标。病初滴度大多在 10^{-6} 以上，2~3个月后迅速下降，下降动态同Logistic曲线配合甚佳（见图2）。将被检血清稀释至 10^{-3} ，几乎所有甲型肝炎病人都出现阳性。正常人血清稀释至 10^{-2} 仍为阴性。诊断滴度为 10^{-3} ，特异性和灵敏度都很满意。抗-HAVIgM已被公认为甲型肝炎新感染早期诊断的主要指标，病后不同月份的动态变化见图3。

第三节 乙型肝炎病毒

自1970年Dane等发现HBV颗粒以来，一直难以确定HBV属于何种DNA病毒。最近美国发现，至少有三种动物病毒与人类HBV极为相似，即美洲旱獭肝炎病毒（WHV）、美洲黄鼠肝炎病毒（GSHV）和鸭肝炎病毒（DHV），从而认识到在动物可能存在一个新的人类HBV样病毒族。最近，Robinson等将本族病毒命名为肝DNA病毒族（Hepadna virus group），并将HBV定为I型。

一、肝DNA病毒族的特点

（一）病毒体（具有27nm核心的双壳颗粒，直径为40

~50nm) 及其不完全形式 (22nm球状和管状颗粒) 均具有特殊的超微结构。

(二) 病毒环状DNA长度相当于3,200碱基对, 具有单股片段。

(三) 病毒DNA多聚酶可修复病毒DNA中的单股片段。

(四) 多肽共价连接于DNA长股5'末端。

(五) 病毒具有特殊的表面抗原, 核心抗原和e抗原。

(六) 具有特殊的病毒多肽。

(七) 具有同源性DNA和病毒多肽。

(八) 病毒核心具有蛋白激活酶活性。

(九) 亲肝特性。

(十) 血中长期存在大量不完全病毒形式的持续感染。

(十一) 病毒感染与肝炎、肝细胞癌和免疫复合物性肝外组织损害有关。

肝DNA病毒族的发现, 对于建立研究HB及其有关疾病(如慢性肝病和原发性肝癌)的动物模型, 进一步研究HBV具有重要意义。其各类病毒特征比较见表2。

二、HBV结构及复制

HBV属于脱氧核糖核酸(DNA)病毒, 组织培养尚未成功。HBV与其相关抗原颗粒在电镜下有三种不同形态(见图4): 直径22nm的小球形颗粒最多, 曾测得每毫升血清含HBsAg颗粒为 3.35×10^{13} 个, 相当于134或194 μ g; 直径相同、长度可超过200nm的管形颗粒次之, 上述两种颗粒不含有核酸; 直径42nm的大球形颗粒即Dane颗粒最少, 大约每毫升为 $10^3 \sim 10^9$ 个; 有人报告小球形颗粒、管状体和Dane颗粒的相对数量是10~2,000和1之比。HBV颗粒即Dane颗粒的结构由两部份组成, 一是包膜, 由

表 2 亲肝DNA病毒族各类病毒特征比较

	HBV (人乙型肝炎病毒)	WHV (美洲旱獭肝炎病毒)	GSHV (美洲黄鼠肝炎病毒)	DHV (鸭肝炎病毒)
病毒体	42nm, 球状, 核心27nm; P=1.24(CsCl) 具有DNA多聚酶活力	45nm, 球状, 核心27nm, 与HBcAg有交叉反应(10%), P=1.225(Csd) 具有DNA多聚酶活力。	47nm, 球状, 核心30nm 与HBcAg有交叉反应, 具有DNA多聚酶活动	40~45nm, 球状, 核心27nm, 有刺突, 与HBcAg有交叉反应, P=1.16(CsCl), 具有DNA多聚酶活力。
基因组	DNA, 球状, 双股和单股, 有DNA多聚酶3182碱基对	DNA, 球状, 双股和单股, 有DNA多聚酶3330碱基, 与HBV有3~5%同源物	DNA球状, 双股和单股, 有DNA多聚酶, 3200碱基对	DNA球状, 双股和单股, 有DNA多聚酶 3000碱基对
表面抗原颗粒	血中大量20~25nm, 球状和丝状(>500nm)HBsAg颗粒, P=1.19~1.20(Csd)	血中大量20~25nm球状和丝状(>500nm) WHsAg颗粒, P=1.18(Csd) 与HBsAg有交叉反应。	血中大量15~25nm球状和丝状(>750nm) GSHsAg颗粒 P=1.13(Csd) 与HBsAg有弱交叉反应	血中大量 35~60nm球状卷绕状DHsAg未见丝状颗粒, P=1.14(Cscl) 与HBsAg有弱交叉反应。
表面抗原亚型	有	?	?	?
多肽B抗原	P23/27 有	P22/25 可能有	P22/25 可能有	?
病毒复制	胞浆性?	?	?	通过RNA 介质
持续感染	0.1~20%	16~30%	0~50%	北京鸭 5~10%
传播	垂直水平	?	?	垂直(经卵)
侵犯组织	肝	肝	肝	肝
相关疾病	健康携带 急、慢性肝炎 肝细胞癌	健康携带 急、慢性肝炎 肝细胞癌	健康携带 ? ?	健康携带 ? ?

表面抗原 (HBsAg) 组成, 不含核酸。最近的研究结果表明, 在包膜上还有附加的聚白蛋白受体 (Poly Albumin - receptor PAR)。另一个结构是核心, 它含有几种成份, 即核心抗原 (HBcAg) 和e抗原 (HBeAg)。HBeAg是核心的分解产物, 用蛋白酶K来消化HBcAg, 可以得到HBeAg, 所以 HBcAg 也是很重要的一个核心标记物。另外一个重要的核心成份是 HBV-DNA。它是一个不完整的双链, 即含一个完整的链和一个不完整的链, 这个不完整的链就留下了一个空缺, 这个空缺可由DNA多聚酶 (DNA-P) 补齐, DNA-P是病毒的一个组成部分, 它是病毒的蛋白质而不是宿主细胞的成分。

乙型肝炎病毒的复制: Dane 颗粒核心内的环状双股DNA是HBV的基因组。环状DNA聚合酶反应使单股空隙关闭, 形成含有3200对核苷酸的双股环状DNA分子。这比已知任何病毒的双股DNA均小, 其分子不超过3~4倍蛋白质的平均分子量。它所携带的遗传信息量仅相当于10,000道尔顿分子量的蛋白质编组密码。所以HBV复制所需的遗传信息不可能全由这个DNA分子供给, 相当部份需依赖宿主本身基因。22nm的小球形颗粒所含6~9个多肽分子量总和约为320,000~49,000。合成这些多肽需比已知HBV-DNA更多的遗传信息, 表明此颗粒缺乏完全的病毒基因组而不能独自复制。推测HBV复制的过程可能是HBV进入肝细胞浆脱去衣膜, 其环形DNA基因组逸入肝细胞核内, 进行DNA复制, 由于核内DNA不能直接控制胞浆中蛋白质合成, 故将基因组的遗传信息转录给信息核糖核酸 (mRNA) 以控制蛋白质合成。mRNA可转移到胞浆中, 按照转录来决定HBsAg和HBcAg合成遗传信息之核苷酸顺序进行翻译, 从而在

内质网中合成HBsAg和HBcAg蛋白质。HBcAg蛋白质和胞核内环形DNA装配成核心颗粒，然后逸至胞浆中的HBsAg包膜即形成完整的HBV。多余的HBsAg蛋白质则构成22nm的小球体。mRNA-HBs半衰期比mRNA-HBc长，可能是HBsAg合成明显过剩的一种因素。由于受感染，肝细胞中多数仅有HBsAg，少数为HBcAg，二者共存者更少。因此，关于HBV基因在受染肝细胞中的表达推测为：Dane颗粒中只有一种产生HBcAg或复制HBcAg的基因，故同一肝细胞受两种基因颗粒感染时，才能合成完整的有感染力的病毒颗粒。

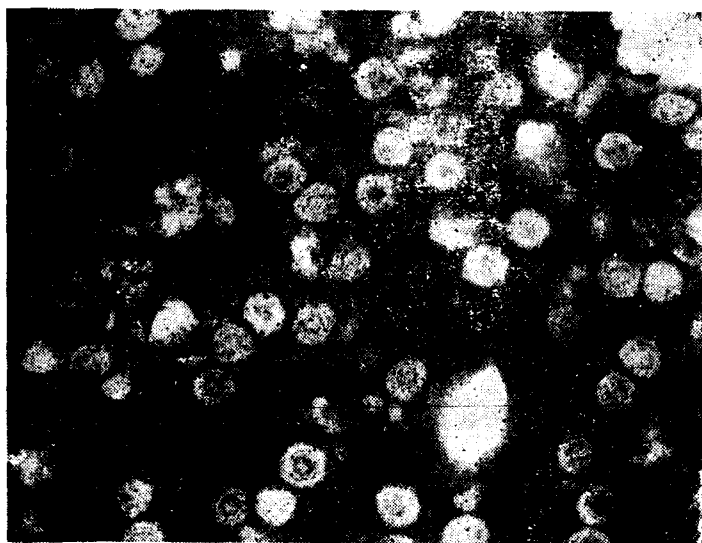


图4 乙型肝炎病毒(HBV)三种颗粒电镜照片(×156000倍)

三、乙型肝炎血清学标志物及其临床意义

人感染乙型肝炎后于潜伏期末在血中出现HBsAg、