

传染病讲座

主 编 罗端德
副主编 易建华



人民卫生出版社

传染病讲座

主 编 罗端德

副主编 易建华

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

传染病讲座/罗端德主编. —北京:
人民卫生出版社, 2002

ISBN 7-117-05094-2

I. 传… II. 罗… III. 传染病-防治 IV. R51

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 056827 号

传 染 病 讲 座

主 编: 罗 端 德

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 31.5

字 数: 729 千字

版 次: 2002 年 9 月第 1 版 2002 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-05094-2/R·5095

定 价: 44.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

随着现代医学科学技术的迅速发展,人类对传染病与寄生虫病的研究取得了丰硕的成果,尤其是基础医学如免疫学、分子生物学的飞速发展和新药、新疗法的不断涌现,为传染性疾病的诊断、治疗和预防开辟了新的领域,因而不少传染病和寄生虫病得以控制,甚至消灭。然而,近年来新出现的一些传染病如艾滋病、汉坦病毒肺综合征、朊毒体病、埃博拉出血热、莱姆病等不仅传播迅速,而且危害极大;而一些老的传染病又再度肆虐于人类,如结核病、性传播疾病等的发病率不断上升,对这些疾病的预防和控制提出了新的挑战。为反映近年来国内、外有关的研究进展,我们邀请国内相关领域的专家、教授编写了这本《传染病讲座》。全书共分 60 讲,不仅选题新颖、内容广泛、重点突出,而且既讲述了相关领域基础研究的最新进展,又介绍了疾病诊断、治疗和预防的新方法,力求具有先进性、科学性和实用性。可作为传染病学科中、初级医师尤其是广大基层医院专科医师知识更新的参考读物,也可作为进修、考研和晋级的指导性教材。

本书编写过程中得到了国内相关领域长期从事基础与临床研究的知名专家、教授的大力支持和帮助,并于百忙中惠赐宏文。在此,我们表示深深的谢意!由于我们的学识水平有限,加之编纂时间仓促及经验不足,书中缺点和疏漏等在所难免,祈望同道与读者赐教指正,我们将不胜感谢!

罗端德 易建华

于华中科技大学同济医学院

2002 年 9 月

目 录

第 1 讲	重型肝炎的发病机制与治疗原则	(1)
第 2 讲	慢性病毒性肝炎的免疫发病机制	(12)
第 3 讲	病毒性肝炎治疗性疫苗的研究进展	(22)
第 4 讲	乙肝病毒准种特点与抗感染病基因治疗	(28)
第 5 讲	乙肝病毒基因变异与临床	(40)
第 6 讲	病毒性肝炎的基因治疗	(49)
第 7 讲	戊型肝炎研究进展	(57)
第 8 讲	庚型肝炎研究进展	(69)
第 9 讲	TTV 病毒的研究进展	(73)
第 10 讲	慢性病毒性肝炎的抗病毒治疗	(80)
第 11 讲	肝移植治疗重型肝炎的研究近况	(90)
第 12 讲	病毒性肝炎的肝外损害及表现	(95)
第 13 讲	病毒性肝炎的基因诊断及进展	(100)
第 14 讲	HIV/AIDS 的研究进展及治疗原则	(114)
第 15 讲	汉坦病毒肺综合征研究的若干进展	(123)
第 16 讲	肾综合征出血热的出血机制及诊治	(130)
第 17 讲	汉坦病毒分子生物学研究进展	(137)
第 18 讲	两种新发现的脑炎病毒	(143)
第 19 讲	埃博拉出血热研究进展	(148)
第 20 讲	禽流感病	(156)
第 21 讲	狂犬病的流行现状及治疗	(160)
第 22 讲	登革热与登革出血热	(165)
第 23 讲	细菌性脑膜炎的研究近况	(172)
第 24 讲	百日咳研究的若干进展	(179)
第 25 讲	感染性休克的分子机制及治疗对策	(189)
第 26 讲	链球菌属感染	(196)
第 27 讲	霍乱弧菌 O ₁₃₉ 感染的研究近况	(207)
第 28 讲	EHEC O157 出血性肠炎	(212)
第 29 讲	肝脏疾病并发的细菌感染	(219)
第 30 讲	感染性腹泻	(228)
第 31 讲	肺外结核病	(240)
第 32 讲	细菌对抗生素耐药的机制与对策	(251)
第 33 讲	抗真菌药物及临床应用	(257)

第 34 讲	日本血吸虫病诊断与化疗研究进展	(268)
第 35 讲	中枢神经系统寄生虫感染	(275)
第 36 讲	弓形虫病临床研究近况	(281)
第 37 讲	广州管圆线虫病的诊治研究进展	(289)
第 38 讲	寄生虫病防治中的一些新问题	(292)
第 39 讲	莱姆病的临床研究近况	(297)
第 40 讲	朊毒体病	(305)
第 41 讲	肝纤维化的研究近况	(312)
第 42 讲	自身免疫性肝炎研究进展	(320)
第 43 讲	药物性肝损害	(330)
第 44 讲	酒精性肝病	(341)
第 45 讲	妊娠期肝病	(351)
第 46 讲	人工肝支持系统与临床应用	(361)
第 47 讲	肝硬化顽固性腹水及其治疗	(371)
第 48 讲	肝性胃肠功能障碍及其处理	(377)
第 49 讲	肝源性糖尿病	(382)
第 50 讲	黄疸的发生机制及鉴别诊断	(390)
第 51 讲	感染中毒性脑病	(401)
第 52 讲	感染性疾病引起的肝损害	(406)
第 53 讲	感染性疾病引起的肾损害	(414)
第 54 讲	经输血引起的感染性疾病	(428)
第 55 讲	医院感染及其控制对策	(433)
第 56 讲	性传播疾病与防治	(443)
第 57 讲	发热待查	(451)
第 58 讲	弥散性血管内凝血的诊断与治疗	(462)
第 59 讲	磁共振成像技术在传染病诊断中的应用	(471)
第 60 讲	B 超在传染病诊断中的应用	(482)

第 1 讲 重型肝炎的发病机制与治疗原则

顾长海 于乐成

一、发病机制

- (一)乙型重型肝炎发生机制早期著名假说
- (二)T 细胞毒致乙型肝炎肝坏死机制
- (三)以肿瘤坏死因子为核心的炎性细胞因子网络致乙型肝炎肝坏死机制
- (四)CTL 介导的乙型肝炎肝细胞凋亡
- (五)HBV 感染时病毒清除与肝细胞免疫病理损伤并非同步
- (六)HBV 基因变异与乙型肝炎重型化
- (七)AICD 与重型肝炎肝衰竭
- (八)免疫抑制诱导性暴发性肝衰竭发病机制独特
- (九)结语

二、治疗原则

- (一)基础支持疗法
- (二)依据重型肝炎发病机制进行多环节治疗

研究和阐明重型肝炎的发病机制,最重要的目的是为了对其进行合理有效的治疗。本文特就重型肝炎的发病机制和治疗原则加以概述。

一、发病机制

病毒性肝炎的病原体有 HAV、HBV、HCV、HDV、HEV、HGV、TTV、SEV 等。HAV 和 HEV 属非囊膜肝炎病毒;HBV、HCV、HDV 属囊膜肝炎病毒。一般讲,各型肝炎病毒感染均可能引起重型肝炎,但发生率有很大差别。非囊膜肝炎病毒感染后,重型肝炎发生率很低;囊膜肝炎病毒感染易发生重型肝炎,其中 HBV 感染和 HDV 感染发生重型肝炎者较多见,单纯 HCV 感染发生重型肝炎者较少。我国 HBV 感染率很高,所以我国重型肝炎绝大多数由 HBV 感染所引起。HGV、TTV、SEV 感染与重型肝炎的关系尚不明确,其它非嗜肝病毒,如单纯疱疹病毒、巨细胞病毒、EB 病毒和某些 Coxsackie 病毒感染也偶可引起重型肝炎。重型肝炎的发病机制尚不十分清楚,相比较而言,乙型重型肝炎发病机制研究较深入,是本文阐述的重点。

(一)乙型重型肝炎发生机制早期著名假说

1. Dudley 假说 早在 1972 年,Dudley 等提出了乙型暴发性肝炎的细胞免疫机制假说,认为进入体内的 HBV 与肝细胞相接触,然后侵入肝细胞并在其内增殖,产生新的

HBV 颗粒和过剩的病毒外壳(即囊膜),此时并不引起肝细胞损伤。当 HBV 颗粒及外壳转移出肝细胞时,HBV 特异抗原被整合入受感染的肝细胞膜;释入血循环中的 HBV 特异抗原被免疫活性 T 淋巴细胞识别,T 淋巴细胞即发生增殖而产生致敏 T 淋巴细胞,继而致敏 T 淋巴细胞与受感染肝细胞膜上的 HBV 特异抗原发生反应,这种 T 淋巴细胞/HBV 抗原相互反应可致 T 淋巴细胞合成和分泌多种可溶性淋巴因子。在细胞免疫功能健全的情况下,如果绝大多数肝细胞被感染,将引起暴发性肝炎。

2. Woolf 假说 1976 年, Woolf 等提出如下假说: 鉴于脾脏是抗体产生的主要场所,某些 HBV 感染患者脾脏产生抗 HBs 早而量大,抗 HBs 可以通过脾静脉超大量出现于门静脉血中;与此同时,受 HBV 感染的肝细胞被致敏 T 淋巴细胞攻击而溶解,HBsAg 即释放入肝血窦中。超量抗 HBs 与 HBsAg 在肝血窦内相结合并形成免疫复合物,激发肝内局限性第Ⅲ型超敏反应——Arthus 反应。在该反应中,免疫复合物沉积于肝血窦内皮表面,结合、固定并激活补体,吸引中性粒细胞浸润和血小板聚集,结果导致局部已受 HBV 感染和未受 HBV 感染的大量肝细胞发生缺血性坏死,从而发生暴发性肝炎。

上述两种著名假说,现在看来虽有许多不完善之处,但其基本精神至今未被否定,仍被广泛引用。

(二) T 细胞毒致乙型肝炎肝坏死机制

20 世纪 80 年代初,乙型重型肝炎免疫发病机制的研究进入一个新阶段,公认一般情况下肝细胞坏死不是 HBV 在其内大量复制所致,而主导机制是机体强烈的细胞免疫反应。

在乙型肝炎,诱导靶细胞破坏的决定因素至少有三个,一个是靶抗原在靶细胞上表达,一个是 I 类 MHC 分子在靶细胞上表达,一个是免疫效应细胞功能健全,三个因素必须彼此协同,才能发挥细胞毒性致伤作用。①免疫效应细胞:乙型肝炎肝组织内浸润的优势淋巴细胞是 CD8⁺ CTL,大量浸润于肝实质坏死区,并见“侵入肝细胞”现象;②靶抗原:公认肝细胞膜上表达的 HBcAg 是 CTL 攻击的主要靶抗原;此外,在肝细胞膜上表达的 HBeAg、前 S1 蛋白和前 S2 蛋白,也可能是 CTL 攻击的靶抗原;③ I 类 MHC 分子:其在肝细胞膜上表达的状况,调控着 CTL 的免疫反应强弱。

CTL 攻击受 HBV 感染的肝细胞是通过所谓“双识别”机制实现的,即肝细胞必须有 HBcAg 等靶抗原和 I 类 MHC 分子的同时表达,CTL 必须同时识别这两种抗原物质才能与其结合而攻击溶解肝细胞。

日本学者报告,乙型肝炎病情恶化期肝内 CTL 浸润增多,肝细胞膜 I 类 MHC 分子及细胞间粘附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)表达增强,支持暴发性肝炎发病机制以 CTL 介导的强烈细胞免疫反应为主的观点。同时发现,病情恶化期血清中可溶性 CD8、可溶性 ICAM-1 和可溶性 IL-2 受体水平进一步升高,这些可溶性因子对 CTL 介导的细胞免疫反应发挥调节作用。

ICAM-1 是一种见于肝细胞等多种细胞膜上的特殊免疫球蛋白;淋巴细胞功能相关抗原 1(lymphocyte function-associated antigen-1, LFA-1)是 CTL 等淋巴细胞的表面抗原之一。ICAM-1 作为 LFA-1 的配基,表达于靶细胞膜上,能吸引 LFA-1 阳性淋巴细胞,使其与靶肝细胞粘附。现认为 ICAM-1/LFA-1 相互作用能增强 CTL 对靶肝细胞表面的

靶抗原(HBcAg等)和I类MHC分子的“双识别”,强化CTL对靶肝细胞的结合、攻击和破坏。因此,活化CTL(LFA-1阳性)对靶肝细胞的毒性效应,显然接受ICAM-1的调控。肝细胞膜上同时表达HBcAg等HBV抗原、I类MHC分子和ICAM-1这三种蛋白分子者,更易成为CTL攻击的靶细胞(图1-1)。

(三)以肿瘤坏死因子为核心的炎性细胞因子网络致乙型肝炎肝坏死机制

近年,以活化单核巨噬细胞释放的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)为核心的细胞因子网络受到极大关注。TNF分为三类:由活化单核巨噬细胞产生者称TNF- α ;由活化T细胞产生者称TNF- β ;由活化自然杀伤细胞(NK细胞)产生者称TNF- γ 。其中以TNF- α 最重要,研究最深入广泛。细菌内毒素和多种病原微生物,能刺激单核巨噬细胞活化,产生和释放TNF- α 等细胞因子。

严重乙型肝炎患者肝脏Kupffer细胞正常屏障功能受损,肠源性内毒素极易进入全身血液循环,发生肠源性内毒素血症。我们通过对以TNF- α 为核心的细胞因子进行系列研究,证实乙型重型肝炎血浆TNF- α 水平显著升高,与病情严重性及预后相关;也发现HBsAg刺激可使肝细胞对TNF- α 细胞毒的敏感性增强,而且HBV感染对内毒素激活的单核巨噬细胞释放TNF- α 有明显促进作用;TNF- α 必须与其肝细胞膜特异受体(mTNF- α R)结合才能发挥细胞毒效应,mTNF- α R表达增多可增强TNF- α 对肝细胞的致伤作用,并证明HBV感染时TNF- α 通过mTNF- α R高表达而对肝细胞毒性作用强化;可溶性TNF- α 受体(sTNF- α R)能抑制TNF- α 与肝细胞膜mTNF- α R的结合,乙型重型肝炎sTNF- α R相对不足是TNF- α 加重肝损害的重要机制。

TNF- α 的体内分布以肝脏最多,约占全身的1/3。推测TNF- α 通过受体机制进入肝细胞后,与线粒体等细胞器结合,激活某些蛋白酶和使磷脂酶A₂活性升高,并诱导肝细胞内自由基产生,引起肝细胞膜性结构损伤和DNA链断裂,从而导致肝细胞变性和坏死。TNF- α 还能和表达有mTNF- α R的肝血窦内皮细胞牢固结合,促进粒细胞在局部聚集并活化,释放髓过氧化物酶和溶酶体酶,损害肝血窦内皮细胞。肝血窦内皮损伤可促使肝血窦内纤维蛋白沉积和微血栓形成。TNF- α 亦能促进小血管基底膜纤维蛋白粘连素含量减少,导致血管壁通透性增强。再加上诸多其它因素,造成继发性肝内微循环障碍和缺血缺氧性肝细胞坏死。

在内毒素等因素刺激下,活化单核巨噬细胞还释放IL-1、IL-6、IL-8、血栓素、血小板活化因子、白三烯、转化生长因子 β (TGF- β)、内皮素、反应氧中间物(ROI)等炎性细胞因子,彼此构成一个独特的细胞因子网络,共同参与肝细胞坏死的发生机制,其中TNF- α 发挥着关键核心作用,其它介质则发挥着协同、辅助和增强作用。

肝细胞再生功能受损是重型肝炎的一个重要病理生理环节。被干扰素 γ (IFN- γ)激活的NK细胞对再生肝细胞有毒性效应,转化生长因子 β 1(TGF- β 1)是最强的肝细胞增殖抑制因子,可能参与重型肝炎患者肝细胞再生功能障碍的发生机制。对重型肝炎大块和亚大块肝坏死的发病机制以图1-2示之。

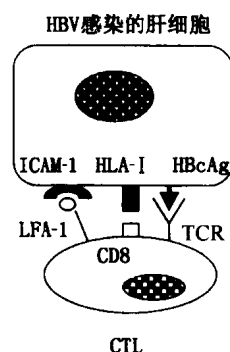


图1-1 CTL粘附、攻击靶肝细胞模式图



(四) CTL 介导的乙型肝炎肝细胞凋亡

— 4 —

导的“兄弟相杀(fratricide)”、“旁分泌(paracrine)”和“自分泌(autocrine)”机制介导。所谓“兄弟相杀”,是指表达 FasL 的肝细胞杀伤与其接触的 Fas 的肝细胞,使之发生凋亡;所谓“旁分泌”机制是指肝细胞分泌可溶性 FasL,与周围肝细胞 Fas 相结合导致周围肝细胞发生凋亡(兄弟相杀的另一种形式);所谓“自分泌”机制是指肝细胞分泌可溶性 FasL 与自身表达的 Fas 相结合,导致自身凋亡(图 1-3)。这些发现提示:同时表达 Fas 和 FasL 的肝细胞,既可以是 Fas 介导凋亡的对象,也可以是 Fas 介导凋亡的效应细胞。

2. 大量肝细胞凋亡在暴发性肝炎发病机制中起重要作用 各型重型肝炎都存在 Fas 系统激活现象。患者肝组织残存的肝细胞岛 Fas 呈过度强表达,其外周有 FasL 阳性 T 细胞包绕,这种特点强烈表明 CTL 通过 Fas 系统以凋亡形式破坏和清除肝细胞。用 CTL 介导 HBV 转基因小鼠引起暴发性肝衰竭,几乎所有动物均在 3 日内死亡,而用可溶性 Fas 处理的动物则均受到了保护,无一例在 3 日内死亡,这是因为可溶性 Fas 先与 CTL 的 FasL 结合,使后者丧失了与肝细胞膜表面 Fas 结合的能力,从而阻止肝细胞凋亡的发展。

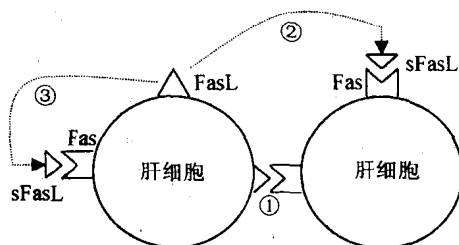


图 1-3 肝细胞介导肝细胞凋亡模式图

① 兄弟相杀;② 旁分泌机制;

③ 自分泌机制(自杀)

FasL: Fas 配体, sFasL: 可溶性 Fas 配体

Ogasawara 等强调指出, Fas 系统激活致大量肝细胞凋亡在暴发性肝炎发病机制中起重要作用。Fas 单克隆抗体属激动性抗体(agonist antibody),将 Fas 单克隆抗体注入有表达 Fas 抗原能力的小鼠腹腔,可见血清 AST、ALT、羟丁酸脱氢酶和血清胆红素水平分别升高 200 倍、1000 倍、50 倍和 10 倍,肝组织呈多发性出血坏死,全肝肝细胞广泛凋亡,仅残存少数正常肝细胞,动物呈现暴发性肝炎的临床特点。

Ando 等应用 HBsAg 特异性 CTL 在 HBsAg 转基因小鼠引发的急性坏死炎症性肝病模型中,证明 MHC-I 限制性 CTL 所致肝脏病理损伤是一种有规律的三步过程:

第一步,肝细胞凋亡期。HBsAg 特异性 CTL 与 HBsAg 阳性靶肝细胞迅速直接反应,导致靶肝细胞发生凋亡。

第二步,局限性坏死炎症反应。CTL 诱导大量其它淋巴细胞和中性粒细胞到其附近,导致坏死炎症病灶形成,并见肝细胞凋亡和坏死向坏死炎症病灶周围扩展。

第三步,广泛性坏死炎症反应期。肝脏呈现大块肝细胞坏死、炎性细胞浸润和 Kupffer 细胞增生,很像 HBV 感染所致暴发性肝炎的组织学改变。肝内炎性细胞,特别是单核巨噬细胞,其数量至少超过注射 CTL 时的 100 倍,提示可能是单核巨噬细胞在此期显著扩大了 CTL 的细胞毒性。鉴于在此期预先注射 IFN- γ 中和性单克隆抗体可使 CTL 对肝毒性降低 97% 以上,动物病死率降至 0%,故断定 IFN- γ 参与了此期的发病机制。研究者推论:此期活化 CTL 产生并释放大量的 IFN- γ ,使肝内单核巨噬细胞广泛激活,最终破坏几乎所有的 HBsAg 阳性肝细胞,致使动物因暴发性肝衰竭而死亡,这种三步过程也适合人类暴发性肝炎。

慢性 HBV 感染诱导的肝衰竭(chronic HBV induced liver failure),其 CTL 对 HBV 抗原的应答能力实际上很差,HBV 感染与肝细胞凋亡的关系更复杂。

近年发现,受 MHC-I 限制的 Th1 细胞,不仅可以辅助 CTL 和 B 细胞的功能,而且还可能有直接溶解 HBsAg 阳性肝细胞的作用,并可通过自身表达 FasL 而介导肝细胞凋亡。这一过程正常发生,有利于清除 HBV 感染的肝细胞,若过度放大则可能导致暴发性肝衰竭。

(五)HBV 感染时病毒清除与肝细胞免疫病理损伤并非同步

HBV 感染人体后,机体对 HBV 的清除和肝细胞的免疫损伤是两个不同但在一定条件下又密切相关的过程,正确认识两者的关系很有必要。

习惯认为,HBV 侵入血液循环后,首先感染以肝细胞为主的多种靶细胞,在细胞内复制、转录、表达并分泌 HBsAg、HBeAg、HBcAg 等病毒抗原及完整的病毒颗粒;在血液和肝细胞膜上的病毒抗原达到一定的量后,即可诱导特异性细胞免疫应答和体液免疫应答。活化的特异性 CTL 通过分泌穿孔素和淋巴毒素等直接杀伤靶细胞,和/或藉多种机制诱发靶细胞凋亡,使 HBV 自靶细胞内释放出来,由抗 HBs 等加以清除。即抗 HBV 免疫和免疫病理损伤是同步的。

然而,近年用 HBV 转基因小鼠研究显示,小鼠的免疫系统可通过某种机制在不损伤肝细胞的情况下抑制 HBV 的复制和表达;用 HBV 感染黑猩猩发现,在肝细胞损伤发生之前,体内大部分 HBV(包括肝细胞内和肝细胞外)即已被清除。因此,HBV 的清除可以不伴肝细胞的免疫病理损伤。

研究显示,注入 HBV 转基因小鼠体内的已致敏的 HBV 特异性 CTL,可以通过非靶细胞破坏性机制抑制肝细胞内 HBV 的表达和复制。介导这种细胞内抗病毒效应的物质是由病毒特异性 CTL、活化的巨噬细胞及 T 细胞等所分泌的 IFN- γ 和 TNF- α 等炎性细胞因子。应用聚次黄嘌呤胞嘧啶核苷酸,可诱导肝脏产生 IFN- α/β ;淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)、腺病毒或鼠巨细胞病毒(MCMV)等感染时,也可诱导体内特别是肝组织局部产生 IFN- α/β 、IFN- γ 和 TNF- α 等细胞因子并明显抑制肝细胞内 HBV 的复制而不损伤肝细胞。

黑猩猩体内非靶细胞损伤性抗细胞内病毒机制很可能也是由 IFN- γ /TNF- α 等炎性细胞因子介导的。黑猩猩肝组织内 HBV DNA 早在 T 细胞 mRNA 升高之前即已下降,T 细胞 mRNA 升高是与肝组织损伤相关的一种暂时性反应,按照病毒感染的一般规律,它应在感染后 2 周左右即可被诱导。因此,急性 HBV 感染时黑猩猩 T 细胞向肝组织的延迟浸润(第 16 周)提示被感染肝细胞表面缺乏足够的经过处理的病毒抗原,早期浸润肝组织并分泌抗病毒细胞因子的可能不是特异性 CTL,而是其它细胞,例如自然杀伤细胞(NK 细胞)等。支持这一推测的依据有:①T 细胞识别抗原需有 MHC-I 分子的表达和限制,而 MHC-I 在正常的肝细胞很少或不表达,除非肝组织存在炎症反应;但 NK 细胞等可在无 MHC-I 表达的情况下识别被感染的肝细胞;②NK 细胞等非 T 细胞也可产生 IFN- γ 和 TNF- α 等细胞因子;③核酸酶保护试验显示黑猩猩肝组织中 IFN- γ 和 TNF- α 在无靶细胞病变的前 T 细胞期病毒清除过程中即已产生。

(六)HBV 基因变异与乙型肝炎重型化

HBV 为了逃避环境和免疫压力,常发生基因变异。这种变异可发生于 HBV 的每一基因区,其中 S 基因区(包括前 S1、前 S2 和 S 基因)和 C 基因区(包括前 C 基因和 C 基因)变异与乙型肝炎重型化可能有关。

1. S 基因区变异 S 基因区编码产物有 HBsAg 大蛋白(L)、中蛋白(M)和小蛋白(S),正常比例约 30:20:50。慢性 HBV 感染者可发生前 S1 基因 C 端大段碱基缺失和前 S2 基因起始密码子变异。前 S1 基因 C 端含有前 S1 启动子负调控区,此区缺失突变会造成对 L 蛋白合成阻遏作用降低,致使 L 蛋白合成增多;前 S2 起始密码子缺失突变,则导致 M 蛋白合成受抑,L 蛋白比例增高。L 蛋白过多对肝细胞有直接毒性,并使肝细胞对炎性细胞因子致伤的敏感性增强,结果造成严重肝细胞损伤,可能是引起重型肝炎的机制之一。

2. C 基因区变异

(1)前 C 基因变异:前 C 基因经典的变异是第 1896 位核苷酸(nt)由 G 突变为 A(nt1896G→A,也称 A1896 突变或 A83 突变),可使前 C 基因第 28 密码子 TGG(色氨酸)转变为终止密码子 TAG,中断前 C mRNA 翻译为 HBeAg 前体蛋白,在翻译水平上造成 HBeAg 不能产生,从而形成以 HBeAg 阴性、抗 HBe 阳性、HBV DNA 阳性为特点的前 C 基因突变株感染。众所周知,肝细胞膜表达的 HBcAg 是 CTL 识别和攻击的主要靶抗原,而 CTL 在免疫识别上并不能区分 HBcAg 和 HBeAg,所以 HBeAg 是干扰 CTL 免疫识别和造成免疫耐受的主要因素。前 C 基因突变株感染时缺少 HBeAg,干扰 CTL 免疫识别的因素消除,CTL 攻击靶肝细胞的活性增强,容易引起重型肝炎。不过对此观点也有不支持的看法。

(2)C 基因变异:C 基因调控序列包括基本核心启动子(basal core promoter,BCP)、核心上游调节序列(core upstream regulatory sequence,CURS)、负调节元件(negative regulatory element,NRE)等。CURS 能定向调节 BCP 的活性,NRE 可抑制或消除 CURS 的这种活性。这些调节序列均可发生变异,最常见最重要者是 BCP 内 nt1762A 被 T 取代(T1762 突变)、nt1764G 被 A 取代(A1764 突变)。这种 BCP 变异影响细胞内转录因子与该区的特异性结合,降低了前 C mRNA 的转录效果,导致 HBeAg 水平下降或形成血清 HBeAg 阴性的 HBV 感染。BCP 变异对 HBeAg 合成的影响不是绝对的。T1762 和 A1764 联合突变使 HBeAg 下降到变异前水平的 1/5~1/3,并不是完全抑制其合成。BCP 变异株与野毒株的比例波动决定着患者血清 HBeAg 水平,可使 HBeAg 阳性和 HBeAg 阴性不断发生变换。

暴发性乙型肝炎患者 HBV BCP T1762 和 A1764 变异率很高,有人分析 43 例 130 个克隆,全部有 BCP T1762 和 A1764 突变,说明这种变异与暴发性乙型肝炎的发病有关。国内也证明重型乙型肝炎患者 HBV BCP 存在较多的变异,血清 HBeAg 多为阴性。C 基因变异株在宿主细胞内复制,可增强宿主细胞 HLA-I 表达密度,从而促进 CTL 对宿主细胞的免疫杀伤,这一因素也许与重型乙型肝炎的发病有关。

(七)AICD 与重型肝炎肝衰竭

近年来,T 淋巴细胞“激活诱导性细胞死亡(activation-induced cell death,AICD)”与病毒性肝炎肝损害,包括重型肝炎的关系已开始引起人们的注意。

AICD 是指外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell,PBMC)发生的一种特殊凋亡。T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、单核细胞、多形核白细胞等均可发生 AICD。由于 T 细胞处于机体免疫应答和免疫调节的中心位置,所以 AICD 大多数情况下是指已激活的 T 细胞发生的凋亡,即 T 细胞在抗原递呈细胞(antigen presenting cell,APC)和 IL-

1、IL-2 等细胞因子的辅助下被抗原性物质(包括超抗原)或其它因素活化后,再次刺激 T 细胞受体/CD3 复合物(TCR/CD3 complex)可诱导有关凋亡因子的表达,促使 T 细胞死亡。因此,AICD 有时也称为“抗原诱导性细胞死亡(antigen-induced cell death)”。

AICD 反映了 T 淋巴细胞,包括 CTL、Th1、Th2 等的功能状态,与病原体感染特别是各种病毒感染、自身免疫性疾病、恶性肿瘤等的发生、发展及转归密切相关,因而具有十分重要的生理和病理意义。

既往对各类重型肝炎时肝细胞凋亡状况的研究较多,但对淋巴细胞 AICD 与病毒性肝炎转归关系的探讨很少。虽然目前有关淋巴细胞 AICD 与重型肝炎关系的研究报道仍然不多,但两者的关系确实已开始引起人们的关注。

成人慢性乙型肝炎(CHB)时,HBeAg(一)突变株的出现常与肝细胞损伤加重相关。较之感染野生型 HBV,成人感染 HBeAg(一)的 HBV 突变株易发生暴发性肝衰竭(FHF),据推测可能在这些情况下 HBeAg 发生突变或根本不产生 HBeAg,减弱或失去促进 CTL、Th1 细胞等发生 AICD 的能力,使 CTL、Th1 细胞经受 AICD 减弱、存活时间延长,CTL 及 Th1 应答相对亢进,对靶肝细胞(表达有膜型 HBeAg 或 HBcAg 的肝细胞)的毒性作用大大增强和延续,导致肝细胞大量坏死。

北京 302 医院季伟等对 6 例轻度 CHB、2 例中度 CHB、2 例重度 CHB、5 例慢性重型乙型肝炎患者外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocyte, PBL)凋亡情况的检测表明,重度 CHB 或慢性重型乙型肝炎患者 PBL 发生 AICD 显著少于轻度或中度 CHB 患者。他们认为轻度或中度 CHB 患者 PBL 发生 AICD 增加是这些患者体内 HBV 感染持续存在但免疫病理损伤较轻的一个重要原因,而重度 CHB 或慢性重型乙型肝炎患者 PBL 发生 AICD 减少可解释此类患者为何肝组织损害严重。

(八)免疫抑制诱导性暴发性肝衰竭发病机制独特

免疫抑制诱导性暴发性肝衰竭(fulminant hepatic failure, FHF)是由纤维淤胆性肝炎(fibrosis cholestatic hepatitis, FCH)迅速发展而来的肝衰竭。严重的免疫抑制状态,特别是器官移植后大量使用免疫抑制剂是其重要的诱发因素和发病前提,HBV 等肝炎病毒在这些状态下的直接致肝细胞病变作用是其发生的最直接的原因。因此,免疫抑制诱导性暴发性肝衰竭在本质上是一种特殊的病毒性肝炎肝衰竭,其发病机制是独特的。

目前认为,严重的全身性免疫抑制为 HBV 等肝炎病毒得以直接损害肝细胞创造了条件。引起严重全身性免疫抑制的情况包括:①因肝移植、肾移植、骨髓移植、心脏移植等器官移植而使用糖皮质激素(泼尼松龙或甲基泼尼松龙)、硫唑嘌呤(Azathioprine, AZA)、环孢素(Cyclosporine)等强力全身免疫抑制剂时;②获得性免疫缺陷综合征(AIDS)终末期全身免疫系统功能崩溃时;③因患急性淋巴细胞性白血病等恶性肿瘤而接受全身高强度化疗时;④其它可引起全身免疫抑制的情况。

在上述情况下肝炎病毒充分激活,高度复制,过度表达病毒抗原和/或病原外泌障碍。随着肝细胞内 HBsAg(特别是 L 蛋白)的进行性增多,肝细胞可出现毛玻璃样凝固性坏死、局灶性退变及溶解性坏死,血清 ALT 升高。HBsAg 的过度表达还可耗竭肝细胞的营养成分而导致肝细胞损伤、功能衰竭。HBcAg 除有可能类似 HBsAg 过度堆积并导致肝细胞机械性损伤及继之所引发一系列生理生化功能改变外,另一可能机制是细胞核中的 HBcAg 能与宿主细胞的 DNA 直接结合并阻碍其复制和转录,因为 HBcAg 中有一富

含精氨酸、丝氨酸和脯氨酸的区域,此序列与宿主细胞 DNA 结合蛋白的对应功能区相似。HBsAg 和 HBcAg 在肝细胞内的过度堆积,是发生 FCH 并继之导致肝衰竭的最直接、最主要的机制。

绝大多数学者倾向于认为免疫机制在 FCH 发生中所起的作用甚微。

糖皮质激素(泼尼松龙或甲基泼尼松龙)还可与 HBV 基因组中的糖皮质激素反应元件(glucocorticoid-responsive element)结合,促进 HBsAg 等病毒抗原的表达,直接有利于 FCH 的发生。硫唑嘌呤可引起胆汁淤积、肝窦周围纤维化、静脉血管亚阻塞性损伤、肝内小管再生性增生等,虽然并不常见,但对部分 FCH/免疫抑制诱导性暴发性肝衰竭的某些病理改变的形成可能直接起一定作用。

(九)结语

总之,乙型重型肝炎的发病机制十分复杂,是多因素作用的结果,归纳起来可分两个方面:一是原发性损伤,包括免疫病理反应和 HBV 本身的作用;二是继发性损伤,即以 TNF- α 为核心的细胞因子等炎性介质对肝脏的致伤效应。

原发性损伤(第一次打击)和继发性损伤(第二次打击)叠加,则导致大量肝细胞死亡和肝衰竭,而且继发性损伤所起的作用可能大于原发性损伤。

HAV、HCV、HDV、HEV 感染虽都可引起暴发性病毒性肝炎(FVH),但从宏观上讲,其发病率远比乙型肝炎肝衰竭为少,研究的历史也短,故发病机制相关资料不多。我国慢性重型肝炎很多,其发病机制十分复杂,各型肝炎病毒感染所致重型肝炎的发病机制详情及差别如何,均有待今后进一步研究。

二、治疗原则

重型病毒性肝炎是发生急性肝衰竭的病毒性肝炎,其形成是肝细胞以不同速度发生大块或亚大块坏死的过程。重型肝炎能否逆转,决定因素是存活肝细胞的数量多寡。如果肝细胞坏死殆尽,将丧失再生基础,使用药物使肝衰竭逆转的机会甚微,所以必须在尚有相当数量肝细胞存活的早期或较早期抓紧监护和治疗,这是提高存活率的关键。同时,应根据不同临床类型进行辨证施治。

(一)基础支持疗法

合理的基础支持疗法十分必需和重要。每日静滴 10%葡萄糖液 1000ml,内加能量合剂和大剂量维生素 C。重型肝炎发生低血糖者颇多,凡血糖低于 3.5mmol/L,应即刻静注 50%葡萄糖液 50~100ml。对重型肝炎主张增加输注高渗(30%~50%)葡萄糖比例,以最大限度地减少水分摄入。

酌情每日或 2~3 天输注新鲜血浆、白蛋白或新鲜全血。新鲜血浆和全血可补充凝血因子,提高调理素水平,有利于预防出血和继发感染;但反复输注血制品有引起 HCV/HBV,或 HDV/HBV 重叠感染而加重病情之虑,故应严格筛选血制品,纠正输注血制品越多越好的观点。

重型肝炎极易发生稀释性低血钠,如血钠 < 120mmol/L 应严限水分,若 < 115mmol/L 则酌给 3%氯化钠液 150ml 静滴。低钾血症易引起代谢性碱中毒,诱发或加重肝性脑病,应及时处理。但单纯补钾很难纠正,比较有效的方法是补充钾盐,同时加用保钾利尿剂(螺内酯、氨苯蝶啶),停用排钾利尿药。本法易引起高钾血症,应注意。

门冬氨酸钾镁有促进肝细胞代谢、改善肝功能、降低胆红素及维持电解质平衡之效,可每日 20mg 溶于 10% 葡萄糖液内静滴。

胰高血糖素-胰岛素疗法可促进肝细胞再生、降低血氨、纠正氨基酸失衡,在日本 77%~85% 暴发性肝炎用此疗法。用法是胰高血糖素 1mg 加胰岛素 10U,溶于 10% 葡萄糖液内静滴。

(二)依据重型肝炎发病机制进行多环节治疗

重型肝炎发病机制分原发性免疫病理损伤和继发性肝内微循环障碍,肝炎病毒感染是激发强烈免疫反应的启动因素。按照这一公认的发病机制,对重型肝炎应进行多环节治疗。

1. 重型肝炎早期

(1)抗病毒治疗:针对重型肝炎肝细胞缺乏抗病毒状态及部分病例肝内病毒活跃复制的事实,有人主张采用干扰素 α (IFN- α)治疗。IFN- α 不能单用,必须与免疫抑制剂合用,以防免疫反应增强而加重肝坏死。本法副作用大,现国内基本不用。但拉米呋啶(Lamivudine)等核苷类似物的应用有上升趋势。

(2)免疫调控疗法:目前国内外对免疫抑制剂治疗重型肝炎持否定态度。但 Muto 等曾于 1993 年报告,从全日本各大医疗中心收集的数百例暴发性病毒性肝炎,用肾上腺皮质激素疗法者占 52.7%~64.2%,仅次于支链氨基酸溶液、胰岛素-胰高血糖素和血浆置换疗法位居第 4 位。我们认为,鉴于众所周知的副作用,若病程早期病情发展较缓和,尽量不用该药;若病情发展迅猛,为了抑制强烈的免疫反应和炎症反应,制止其向中晚期转化,可以选用此疗法。若应用时机抓得准,可使部分患者病情迅速逆转。我们采用糖皮质激素中剂量显效后逐渐减量的长程疗法,挽救了一些患者的生命,但凝血酶原时间超过 30 秒者难以奏效,加之副作用多,现已少用。中晚期病例(特别是亚急性型和慢性型)此疗法应属禁忌。国内慢性重型肝炎很多,估计其发病机制与暴发性肝炎不同,一些学者主张使用免疫调控剂胸腺肽- $\alpha 1$ (Thymosin- $\alpha 1$)进行治疗,并取得一定疗效。据报道该药能增强 Th1 细胞功能,但又抑制 TNF- α 等炎性细胞因子的活性。

(3)阻断肠源性内毒素血症和以 TNF- α 为核心的细胞因子网络:间歇应用广谱抗生素以抑制肠道细菌内毒素释放,口服乳果糖浆以促进肠道内毒素排泄,有一定好处。抗内毒素单克隆抗体和抗 TNF- α 单克隆抗体能阻断内毒素和 TNF- α 的有害作用,可能有一定的应用价值。

(4)改善肝内微循环和保护肝细胞:前列腺素 E_1 (PGE $_1$)可拮抗血栓素,扩张小血管,改善肝肾微循环;可通过蛋白激酶系统解除核内组蛋白对 DNA 合成的阻遏,促进肝细胞再生;可提高肝细胞内 cAMP 水平,抑制磷酸酯酶对肝细胞的破坏作用;还可抑制活化单核巨噬细胞释放 TNF- α 等炎性介质,从而保护肝细胞。日本前列腺素 E_1 用药率为 64%,我们应用已久,疗效缓和。用法是每日 200 μ g,溶于 10% 的葡萄糖液内缓慢静滴。若患者在用糖皮质激素,可将两药溶于同一瓶液体静滴,可减轻前列腺素 E_1 的副作用。

(5)阻止 ROI 破坏肝细胞:ROI 对肝细胞膜性结构类脂中多不饱和脂肪酸的脂质过氧化反应是造成肝细胞坏死的附加因素,维生素 E 和乙酰半胱氨酸(Acetylcysteine)有强大的抗氧化作用。研制维生素 E 乳化剂,可供大剂量静脉途径给药。此外,还原型谷胱甘肽注射液(TAD、勃乐斯等),既有助肝脏解毒功能,又具抗氧化作用,可以试用,国内

有供应。

(6)促进肝细胞再生:肝细胞再生因子(HGF)通过刺激DNA合成而促进肝细胞再生,国内应用广泛,用法为20~100mg溶于葡萄糖液内静滴。肝脏病理活检显示,不管用不用HGF,重型肝炎肝细胞再生均较活跃,再生肝细胞仍可发生变性坏死,说明病毒感染、免疫反应及TNF- α 等在不断发挥破坏性作用。我们认为促进肝细胞再生仅仅是重型肝炎多环节治疗中的一环,如把HGF疗法放在压倒一切的位置是不合理的。

(7)高价营养疗法:重型肝炎100%有严重营养缺乏,是加重肝衰竭的重要因素。Forbes等证明用脂肪乳Intralipid治疗暴发性肝衰竭安全有效。现医药市场供应的中长链脂肪乳Lipofundin更不易引起肝脏脂肪浸润,可加入静脉高价营养疗法配方中应用,能有效补充营养。我们对脂肪乳的看法是通过有效补充高营养,有助于逆转肝衰竭,乃主要的和根本的,即使有引起肝脏脂肪浸润之可能,也是十分次要的。

2. 重型肝炎中晚期 除不宜用干扰素和免疫抑制剂外,上述各种疗法可继续应用。本病中期存活率明显降低。脑病型主要是治疗肝性脑病和防治脑水肿,以20%甘露醇脱水疗法为主,佐以头部抬高和头部降温等综合措施,如在颅内压监测仪指导下进行治疗更合理;若已发生肝肾综合征,则应用甘露醇脱水应谨慎。对顽固性脑水肿,有人主张用戊巴比妥疗法。戊巴比妥通过活跃Na⁺-K⁺ATP酶(钠泵)而达到治疗脑水肿的目的,方法是戊巴比妥钠100~150mg,每15分钟静注1次,1小时4次,然后持续静滴每小时1~3mg/kg,如引起血压降低应及时用升压药,以确保脑血流灌注压。腹水型主要是用白蛋白和利尿剂,宜保钾利尿剂(螺内酯、氨苯蝶啶)与排钾利尿剂(氢氯噻嗪、呋塞米)伍用,注意剂量和药物组合的调整。晚期病例主要是防治各种致死性并发症。晚期病死率极高,用上述内科疗法欲逆转其致死性后果实属困难。

重型肝炎的治疗效果,除与病期早、中、晚有关外,国外公认还与病型密切相关,暴发型内科疗法比亚暴发型及迟发型明显较好,此规律值得我们参考。

目前国内外生物人工肝支持系统的研制有很大发展。“培养肝细胞-血浆置换-血液吸附透析过滤三合一”的生物人工肝支持系统,其对重型肝炎有一定的近期疗效,特别适用于拟行肝移植的患者。

原位肝移植治疗重型肝炎的研究已获重大进展,新移植正常肝再被肝炎病毒感染是一棘手问题,主要通过强大抗病毒疗法进行预防。