

肝脏疾病研究新进展

主 编 郭丽曼 卓 越 武荣国

哈尔滨地图出版社

肝脏疾病研究新进展

GANZANG JIBING YANJIU XINJINZHAN

主 编 郭丽曼 卓 越 武荣国
副主编 郭公新 韩桂华 孟庆国
宋伟萍 吴 玉 刘惠涛
胡国华

哈尔滨地图出版社

· 哈尔滨 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

肝脏疾病研究新进展/郭丽曼, 卓越, 武荣国主编.
哈尔滨: 哈尔滨地图出版社, 2003. 12
ISBN 7-80529-717-7

I. 肝... II. ①郭... ②卓... ③武... III. 肝疾病
- 进展 - 世界 IV. R575-11

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 118610 号

ISBN 7-80529-717-7



9 787805 297170 >

哈尔滨地图出版社出版、发行

(地址: 哈尔滨市南岗区测绘路 2 号 邮政编码: 150086)

佳木斯大学印刷厂分厂印刷

开本: 850mm×1168mm 1/16 印张: 13.25 286 千字
2003 年 12 月第 1 版 2003 年 12 月第 1 次印刷

印数: 1-1000

定价: 18.00 元

前 言

我国是世界上的肝病大国,更是病毒性肝炎的高发区,仅慢性乙型肝炎病毒携带者就达 1.2 亿,慢性乙肝病人约为 50 万,其中约 50% 为乙、丙型肝炎所致的肝硬化及原发性肝癌。肝癌病死率居我国肿瘤病死率的第二位。肝病不仅影响患者的健康,也给社会 and 患者家庭带来沉重的经济负担和精神压力。因此,传染病的专科医师、肝病专科医师、胃肠病专科医师以及广大的全科医师会经常遇到各种肝炎、肝病的诊断治疗问题,对这些问题的处理正确与否不但会影响到病人的经济利益,更会影响到病人生命健康。临床中遇到的一些疑难病历,都是长期被误诊的病历,如果延误下去,很快会造成病人的死亡。而一旦确诊,经过正确的治疗,病人就会很快地转危为安,医生就可以又挽救回病人的生命。另外,很多诊疗问题,如各种慢性肝炎如何正确治疗,慢性 HBV 携带者如何正确处理母婴传播,特别是宫内传播如何阻断等问题,如果处理不当,不但会给病人造成伤害,也会给国家造成很大的浪费。

为了宣传、普及、肝病防治与诊疗的知识,本书的编者在收集近期最新的医学资料及总结数十年来的临床经验的基础上编写了此书,目的在于从理论上,实践上指导基层医师、全科医师及青年医师正确处理日常工作中遇到的肝病的诊断及治疗问题。

本书的内容以实用为主。第一章一般是以某种常见的临床表现为主,探讨其诊断及治疗。如“黄疸、肝功能正常的诊断和治疗”一节主要是说明,在临床遇到一个有黄疸而肝功能正常的病人,应当考虑可能患有哪些疾病,对这些疾病如何判

断、如何治疗等等。而第二章主要是按照临床分型各种肝炎及其严重合并症的病因、治疗加以详述。本书还介绍了一些消化道肿瘤的中、西医结合及营养免疫疾病,以及罕见病(如布一查综合征)。因此,希望所有的医生,尤其是肝病专科和全科医师都能掌握其诊断原则。

医学科学发展迅速,本书仅为目前我们所掌握的一些医学知识及数十年的经验献给读者,有些还在试用阶段。希望我们大家共同进行研究和验证。

本书由长期从事肝病专业临床防治工作的副主任医师、主治医师编写。第二章第二十、二十二、二十四、二十五、二十七、二十八节,第七章、第八章、第九章、第十章附录一、二、七由郭丽曼编写(共 3.25 万字);第一章第一、二、十节,第二章第十五节由卓越编写(共 3 万字);第一章第三、四、十一节,第二章第七节由武荣国编写(共 3 万字);第一章第五节,第二章第二、四、五节由郭公新编写(共 3 万字);第三章、第四章、第五章、第六章第一、二节由韩桂华编写(共 3.22 万字);第一章第六、八、十三节,第二章第三节由孟庆国编写(共 3 万字);第一章第十二节,第二章第十一、十三、十四、十六、十七节由宋伟萍编写(共 2 万字);第一章第七节、第二章第一、六、八节由吴玉编写(共 2 万字);第一章第九节,第二章第九、十、十二节由刘惠涛编写(共 2 万字);第二章第十八、十九、二十一、二十三节,第六章第三、四节,第十章附录三、四、五、六由胡国华编写(共 2.24 万字)。

由于编写时间仓促,编者水平有限,书中难免存在错误和不妥之处,敬请读者及同行批评、指正。

编 者

2003 年 12 月

《肝脏疾病研究新进展》编委会

- | | |
|-----|--------------|
| 郭丽曼 | 佳木斯大学附属第一医院 |
| 卓越 | 佳木斯大学附属第一医院 |
| 武荣国 | 佳木斯大学附属第一医院 |
| 郭公新 | 佳木斯大学附属第一医院 |
| 韩桂华 | 佳木斯大学附属第一医院 |
| 孟庆国 | 佳木斯市铁路医院 |
| 宋伟萍 | 佳木斯市红十字血站 |
| 吴玉 | 佳木斯市金天慈济医院 |
| 刘惠涛 | 伊春市五营区林业职工医院 |
| 胡国华 | 红兴隆管理局中心医院 |

目 录

第一章 病毒性肝炎疫苗与基因变异的研究新进展····	(1)
第一节 病毒性肝炎治疗性疫苗的研究进展····	(1)
第二节 乙肝病毒准种特点与抗感染病基因治疗 ···	(11)
第三节 乙肝病毒基因变异与临床 ·····	(35)
第四节 病毒性肝炎的基因治疗 ·····	(52)
第五节 病毒性肝炎的基因诊断及进展 ·····	(67)
第六节 慢性病毒性肝炎的免疫发病机制 ·····	(94)
第七节 慢性病毒性肝炎的抗病毒治疗的研究····	(113)
第八节 病毒性肝炎的肝外损害及表现的研究····	(132)
第九节 戊型肝炎研究新进展····	(141)
第十节 庚型肝炎研究新进展····	(163)
第十一节 TTV 病毒的研究新进展 ·····	(171)
第十二节 重型肝炎的发病机制与治疗研究 新进展····	(183)
第十三节 肝移植治疗重型肝炎的研究近况····	(204)
第二章 病毒性肝炎及肝病的诊断和治疗的研究 新进展····	(214)
第一节 各型肝炎的诊断和治疗的研究····	(214)
第二节 慢性病毒性肝炎及其它肝病的诊断与 治疗研究····	(219)
第三节 各种重症肝病的诊断治疗及鉴别诊断····	(232)
第四节 淤胆型肝炎的诊断和治疗····	(240)

第五节	慢性乙肝病毒携带者的诊断和治疗·····	(243)
第六节	慢性丙肝病毒携带者的诊断和治疗·····	(245)
第七节	肝硬化的诊断和治疗·····	(246)
第八节	各种原因腹水的诊断和治疗·····	(250)
第九节	食道及胃底静脉曲张的诊断和治疗·····	(254)
第十节	上消化道大出血的诊断和治疗·····	(255)
第十一节	脾大、脾功能亢进的诊断和治疗·····	(257)
第十二节	肝性脑病(肝昏迷)和肝性脊髓病的 诊断和治疗·····	(259)
第十三节	原发性肝细胞癌的诊断和治疗·····	(261)
第十四节	肝癌无水酒精注射疗法·····	(262)
第十五节	血清甲胎蛋白增高者应当采取的 办法研究·····	(265)
第十六节	急性肝病(血清转氨酶升高),甲—戊型 肝炎血清标志物阴性的诊断和治疗的 研究·····	(268)
第十七节	慢性肝病(血清转氨酶升高)乙、丙、丁型 肝炎血清标志物均阴性的诊断和治疗的 研究·····	(270)
第十八节	肝硬化、病毒性肝炎标志物阴性患者的 诊断和治疗·····	(271)
第十九节	γ -谷氨酰转肽酶增高的临床意义·····	(272)
第二十节	黄疸、皮肤明显瘙痒的诊断和治疗·····	(274)
第二十一节	妊娠黄疸患者的诊断和治疗·····	(275)
第二十二节	黄疸、肝功能一直正常患者的诊断 和治疗·····	(277)

第二十三节	寄生虫性肝病的诊断和治疗·····	(278)
第二十四节	细菌性肝病的诊断和治疗·····	(283)
第二十五节	布—查综合征(Budd—Chiari's syndrome) 的诊断和治疗·····	(286)
第二十六节	肝豆状核变性(Wilson's 病)的诊断 和治疗 ·····	(287)
第二十七节	慢乙肝、慢丙肝应用各种抗病毒药物 均无效怎么办·····	(288)
第二十八节	简单、便宜的免疫疗法简介 ·····	(289)
第三章	肝炎及肝病的中医治疗·····	(292)
第一节	急性肝炎中草药治疗研究·····	(292)
第二节	黄疸的中草药治疗研究·····	(293)
第三节	慢性肝炎中医辨证标准·····	(294)
第四章	肝炎及肝病常用的西药研究·····	(296)
第一节	各种抗病毒药物疗效的研究·····	(296)
第二节	护肝降转氨酶药物的研究·····	(312)
第三节	重症肝炎的诊断和治疗的研究·····	(315)
第四节	淤胆型肝炎的诊断和治疗的研究·····	(316)
第五章	病毒性肝炎的预防方法·····	(328)
第一节	病毒性肝炎及肝癌的预防·····	(328)
第二节	乙肝母婴传播和父婴传播·····	(331)
第六章	肝病诊疗新技术简介·····	(334)
第一节	顽固性腹水的治疗·····	(334)
第二节	影像医学检查·····	(336)
第三节	人工肝支持系统·····	(342)
第四节	肝移植·····	(343)

第七章 其他问题	(346)
第一节 HGV 及 TTV	(346)
第二节 如何判定某种新药或新疗法是否有效	(347)
第三节 病毒性肝炎治疗研究中应注意的几个问题	(349)
第八章 问题与解答	(352)
第九章 特殊病历及典型病历介绍	(359)
第一节 特殊病例介绍	(359)
第二节 典型病例介绍	(361)
第三节 疑难病历介绍	(367)
第十章 附录	(375)
附录一 病毒性肝炎的诊断标准病毒性肝炎 防治方案(节选)	(375)
附录二 原发性肝癌的临床诊断与分期标准	(385)
附录三 酒精性肝病诊断标准(草案)	(387)
附录四 非酒精性脂肪肝诊断标准(草案)	(391)
附录五 2000 年拉米夫定临床应用指导意见	(395)
附录六 2001 年拉米夫定临床应用专家共识	(402)
附录七 药物性肝病的诊断及治疗原则	(409)

第一章 病毒性肝炎疫苗与基因变异的研究新进展

第一节 病毒性肝炎治疗性疫苗的研究进展

目前,对病毒性肝炎治疗性疫苗的研究仅限于可致持续性感染的病毒,即乙型肝炎病毒与丙型肝炎病毒。甲、戊型肝炎病毒很少表现为肝炎,一般均可自愈。丁型肝炎因与乙型肝炎共存,故如能控制乙型肝炎,丁型肝炎也迎刃而解。至今尚未能确认庚型肝炎病毒有致病性。丙型肝炎病毒构成持续性感染的机制不明,而且免疫保护性抗原亦未能定位。此外,在黑猩猩实验感染中已发现丙型肝炎的免疫应答及免疫保护作用与乙型肝炎并不相同。因此,对病毒性肝炎治疗性疫苗的研究主要限于对乙型肝炎的治疗。

一、治疗性疫苗的基础理论

一般病毒感染后,机体在感染中、后期可诱生出体液免疫和/或细胞免疫应答,通过抗体的中和作用,或免疫细胞诱生的 Th1 或 Th2 细胞免疫应答,包括形成杀伤性 T 淋巴细胞 (CTL) 或分泌有抗病毒或激活 CTL 的细胞因子如干扰素 γ

(IFN- γ)、白细胞介素 2(IL-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等,可控制病毒复制和清除病毒而最终恢复。然而在一些病毒感染后,机体不能产生有效的免疫应答以清除病毒,病毒长期存在体内,形成持续性病毒感染。因此,认为机体的免疫应答不正常是构成持续性感染的主要原因。

对乙肝病毒免疫应答不正常的原因可由诸多因素所致:机体的整体免疫应答低下(如应用激素或免疫抑制剂治疗等);同时感染其它病毒(如共感染人类免疫缺陷病毒等);幼龄感染造成对乙肝病毒的免疫耐受以及可能与机体的某些遗传特性相关。对乙肝病毒特异性的免疫应答低下可用提高免疫应答性而纠正,一般常用的提高免疫力的药物如胸腺肽、白细胞介素 2、中草药或卡介苗等均属非特异性免疫调节剂;另一种是特异性免疫制剂,即为特异性提高人体对乙肝病毒抗原的免疫力,如用 HBsAg、HBcAg 等病毒蛋白制备的制品。现将这一类用作主动免疫的制品称为乙肝的治疗性疫苗。

幼龄感染乙肝病毒,感染者免疫系统不够成熟,可能将乙肝病毒误认为是机体的一部分,故不能产生有效的免疫应答而处于免疫耐受状态。为消除或改变免疫耐受状态可采取主动免疫与被动免疫两种途径。主动免疫是注射或用其它免疫途径导入免疫原,使机体产生特异性免疫应答达到清除病毒的目的;被动免疫是用被动输入特异性的免疫细胞或抗体以达到清除病毒的目的。与预防用疫苗的主动与被动免疫相似,主动免疫诱生的免疫应答较为巩固,而被动免疫是外源输入的免疫组份,容易被降解,故常需多次注射且维持时间短暂。

在选择作为治疗性疫苗的免疫原时,应选择被确认的保护性抗原或与恢复相关的抗原表位。此外,应选择免疫原性强

的组份。近来,也有学者在采用免疫表位进行免疫时加入免疫增强剂(如新型佐剂或细胞因子如 IL-2 或 IFN- γ 等)。近年来治疗性疫苗得到充分发展及免疫学理论研究者的重视,这与分子生物学技术的飞速发展有密切关系。这些学科的发展对深入揭示机体的免疫应答及发展重组的基因工程疫苗有显著的推动作用。国内外在研发乙肝治疗性疫苗时多选择包膜抗原(HBsAg、preS)和/或核心抗原(HBcAg)作为免疫原。

二、治疗性疫苗的实验动物研究

(一)鸭乙肝动物模型

本室于 20 世纪 90 年代初期用初出壳及 4 日龄幼鸭建立了鸭乙肝免疫耐受动物模型。这一动物模型可模拟人幼龄感染,血清 HBsAg 及 HBV DNA 为持续阳性,以后通过用 5 种不同的消除免疫耐受的研究策略即 DHBsAg preS 肽—交联破伤风类毒素、DHBsAg preS 肽—破伤风类毒素肽联合免疫、痘苗病毒表达的 DHBsAg、DHBcAg—抗 DHBs 复合物、SMAA 即 DHBsAg—抗 DHBs—Cowan 1 株金葡菌免疫幼鸭。最后发现 DHBsAg—抗 DHBs 复合物及 SMAA 能使 50%左右鸭血清清除 DHBsAg,清除 DHBV DNA 达 60%~80%及少数动物产生抗 DHBs。澳大利亚及法国学者于 1999 年分别用重组 DHBV DNA 质粒在免疫耐受鸭中作质粒 DNA 免疫(又称基因免疫),获得了不同结果。法国学者报告 DHBV DNA 免疫可以使动物清除 DHBV DNA,血中的 DHBV S—preS 可逆转。但澳大利亚学者却未能获得类似结果,认为 DHBV 的 DNA 疫苗无治疗效果。鸭乙肝动物模型的优点为,这一模型是鸭乙肝病毒感染天然宿主,比较类似于人

乙肝病毒感染。其缺点为鸭乙肝病毒感染后,动物并无肝脏病理变化,不致慢性肝炎或肝癌,而且禽类的免疫应答可能不同于哺乳类动物的免疫应答。

(二)土拨鼠肝炎动物模型

土拨鼠是哺乳类动物,土拨鼠肝炎病毒感染可致类似人乙肝病毒感染的慢性肝炎病理变化,并可发展为肝癌。已知幼龄感染土拨鼠肝炎病毒可致持续性病毒感染,并且在较短时间内发展为肝癌。用土拨鼠肝炎病毒模型考核抗病毒药物治疗效果显示出这一模型具有的重要价值。用土拨鼠肝炎病毒的表面抗原、核心抗原作为免疫原治疗土拨鼠肝炎只获得有效的初步实验结果。用编码土拨鼠表面抗原及核心抗原的质粒 DNA 免疫可以在动物中诱生出对相应抗原的免疫应答。但是作为治疗性疫苗则尚不能见到有明显疗效。

(三)人乙肝病毒转基因鼠模型

早在 20 世纪 90 年代初,法国 Pasteur 研究应用持续表达 HBsAg 的转基因鼠作为实验对象,曾用 HBsAg 及 preS/HBsAg 蛋白给转基因鼠注射免疫,结果部分转基因鼠的血清 HBsAg 滴度下降或转阴,并产生低效价的抗 HBs。1995 年,该组用带有编码 S/preS2 的重组质粒 DNA 免疫转基因鼠,每只鼠肌肉免疫注射 100 μ g 重组质粒 DNA。与正常鼠比较,正常鼠在 2~4 周后即可产生抗 preS2 抗体,8 周后产生抗 HBs;脾细胞用特异抗原刺激后,可产生 Th1 型细胞因子,即产生较高水平的 IL-2 与 IFN- γ ;经免疫的转基因鼠 HBsAg 抗原血症可转阴,并可出现抗 HBs;肝脏内 CD8⁺细胞数增加,而且 HBV 的 mRNA 转录水平降低。说明用 DNA 免疫后,转基因鼠肝细胞内 HBV 的 S 基因的转录下调。此外,用

带有编码 preS1/S 的质粒 DNA 免疫转基因鼠后,也同样获得使抗原清除并产生抗体的效果。杀伤性细胞试验也显示免疫动物的特异性杀伤性 T 细胞活性较未免疫动物有明显的增加。在这些小鼠中均未发现有血清 ALT 升高,反映 DNA 免疫所诱生的特异性免疫应答并未引起肝脏损伤。

本室在 HBsAg 持续阳性的转基因鼠中进行了单纯酵母菌表达的重组 HBsAg、含 S 基因重组质粒 DNA (sDNA, DNA 疫苗)、酵母重组 HBsAg-鼠抗 HBs 复合物(YIC)及 YIC+sDNA 共免疫等的对比免疫研究。经过 4 次免疫后,单纯 HBsAg 免疫鼠血清中 HBsAg 水平略有下降,抗 HBs 为阳性,但抗体效价较低,在 HBsAg 体外刺激下脾细胞产生的 IFN- γ 及 CTL 活性均为低于检测水平。sDNA 免疫后,抗体阳转,效价虽不高,但 CTL 活性强,IFN- γ 水平也略有升高。YIC 免疫组鼠抗体效价较高,CTL 应答也较好,IFN- γ 量属中等水平。最有效的属 YIC+sDNA 组,免疫后该组动物血清 HBsAg 下降最明显,产生的抗 HBs 效价最高,诱生 IFN- γ 的水平最高,并且有较强的 CTL 效应。各组动物均未见明显的肝、肾损害。

(四)黑猩猩的实验研究

目前虽尚无用 HBV 实验感染黑猩猩后用治疗性疫苗的报道,但据个人通讯了解到,单用可增强机体免疫的寡核苷酸复合体(CPG)多次免疫,并不能清除 HBV。急性感染 HBV 的黑猩猩实验显示,在血清 HBV DNA 水平下降时,并未发现有 CD8⁺T 细胞的溶解细胞反应(CTL)。因此,起作用的是由淋巴细胞释放的细胞因子,其中以 IFN- γ 和 TNF- α 最为重要。目前认为清除 HBV 机制中,以细胞因子为主,杀伤性

T 细胞虽也起作用,但为辅助性作用。这些实验研究对今后设计治疗性疫苗将有重要的指导意义。

三、治疗性乙肝疫苗的临床研究

(一)蛋白类治疗性疫苗

1. 1996 年法国学者 Brechot 等在 46 名慢性乙肝患者进行了临床研究。其中 42 名患者为 HBeAg 阳性,4 名抗 HBe 阳性。在治疗开始前 3 个月,每月检测血清 HBV DNA 均为阳性,并了解血清 HBV DNA 量的波动范围。每隔 1 个月肌注 $20\mu\text{g}$ HBsAg/preS2,用氢氧化铝为佐剂,共注射 3 针。自第 1 针注射后 6 个月,随访结果为 12/46(26.1%)血清 HBV DNA 转阴,8 名血清 HBV DNA 降低。这 12 名对治疗疫苗有应答的患者及另外 6 名对治疗性疫苗无应答者(即血清 HBV DNA 无变化者),加用 IFN- α 合并治疗,即用 IFN- α 注射的同时,再每月注射 1 针 $20\mu\text{g}$ HBsAg/preS2。结果每 3 个月后 28/46(60.7%)乙肝患者的血清 HBV DNA 转阴(平均随访了 10.8 月),11/42(26%)产生了抗 HBe。在血清 HBV DNA 消失或降低的患者中,18/28(64%)有 ALT 升高,无一例出现 III 型变态反应的相关疾病。所有经治疗的患者中,未发现乙肝病毒 S 基因的变异株。研究结果显示,当 HBsAg/preS 治疗性疫苗与 IFN- α 合并应用后,短期随访可有 60% 左右患者的血清 HBV DNA 转阴。虽然治疗过程中可出现血清 ALT 升高,但并未产生严重的副作用。

2. 1999 年法国学者报道了在 170 名经肝穿刺活检确定为慢性乙型肝炎及伴有 HBV 活跃复制的患者中用两种不同的疫苗进行治疗,患者共分为 3 组。一组用重组的由 CHO 细

胞表达的 S/preS2 抗原为治疗性疫苗；一组用酵母表达的仅含有 HBsAg 的疫苗；另一组为不治疗的对照组。所用蛋白含量为 20 μ g，在先经过 3 个月预观察，并在随访中血清 HBV DNA 量相差不大的 3 组患者中，每月肌肉注射治疗性疫苗一次 (M_1 、 M_2 、 M_3)。经 3 个月间隔后，再在三角肌肌注 3 次疫苗（每次间隔 3 个月， M_6 、 M_9 、 M_{12} ），免疫后随访约 12 个月。12 个月后，皮下注射 500 万单位的 IFN- α ，每周 3 次皮下注射，共 6 个月（即 M_{12} ~ M_{18} ）。至第 24 个月后再注射一次疫苗，计划随访至第 3 年。在治疗过程中，于治疗前、 M_0 或 M_1 与治疗分离外周血白细胞作细胞增殖反应，分别用重组疫苗抗原或血源 HBsAg 作为刺激原。另用合成肽（109~134，124~148 和 139~145）刺激，观察淋巴细胞转化，并且用 HBsAg 刺激后（3 μ g/ml），测定分泌的 IL-2、IL-10 和 IFN- γ 。共有 40 名患者连续 18 个月（ M_{18} ）进行了检测，结果归纳于表 1-1。

表 1-1 治疗性疫苗免疫后患者的外周血淋巴细胞增殖反应

疫苗免疫种类	M_0	M_6	M_{12}	M_{18}
CHO 细胞表达 PreS2/S	0/17**	5/17	5/17	3/17
酵母菌表达 HBsAg	0/10	1/10	1/10	2/10
未免疫	1/13	0/13	0/13	0/13

* M 代表月数；

** 分母代表总人数，分子代表淋巴细胞增殖阳性数

在总计 27 名治疗的患者中，7/27 出现过淋巴细胞增殖反应，但对照组 13 名患者中，无 1 名有细胞增殖反应。在治疗中 M_6 及 M_{12} ，在出现有淋巴细胞增殖反应应答的患者中，HBV DNA 转阴率分别为 28.6% 及 57.1%，而未接受治疗者