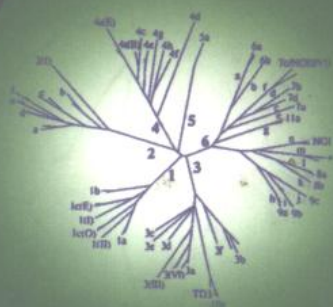


丙型肝炎

主 编 黄建生 任大明

BINGXING GANYAN



人民军医出版社

丙 型 肝 炎

BINGXING GANYAN

主 编 黄建生 任大明

主 审 戚中田

主要编写人员

黄建生 任大明 郑维扬 兰和魁 刘湘源
许 淳 彭 劼 沈先荣 刘菊妍 曾庆彩
柯 岫 李 俊 徐人尔

人 | 民 | 军 | 医 | 出 | 版 | 社 |

(京)新登字 128 号

图书在版编目(CIP)数据

丙型肝炎/黄建生,任大明主编. —北京:人民军医出版社,2000.5
ISBN 7-80157-062-6

I. 丙… II. ①黄… ②任… III. 丙型肝炎-研究 IV. R512.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 48883 号

人民军医出版社出版
(北京市复兴路 22 号甲 3 号)
(邮政编码:100842 电话:68222916)
人民军医出版社激光照排中心排版
潮河印刷厂印刷
潮河装订厂装订
新华书店总店北京发行所发行

*

开本:787×1092mm 1/16·印张:30.375·字数:702 千字

2000 年 5 月第 1 版 2000 年 5 月(北京)第 1 次印刷

印数:0001~5000 定价:40.00 元

ISBN 7-80157-062-6/R·062

〔科技新书目:516—239⑦〕

(购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换)

内 容 提 要

全书共 35 章,由两部分组成。前 10 章主要介绍丙型肝炎病毒(HCV)的颗粒、克隆、表达、变异、分型、抗体、动物模型等基础研究,后 25 章详细介绍了 HCV 的流行病学、发病机制、病理改变、各种 HCV 相关疾病的临床表现、实验室检测、治疗、预防等基础、临床研究。

本书综合了大量的国内外文献,详尽介绍了有关 HCV 的基础知识、临床研究及最新研究进展,也囊括了我国 HCV 研究的所有重要成果,具有全面、系统、完整、深入等显著的特点,是一本内容新颖、有指导价值的丙型肝炎工具书,适于从事肝炎防治的医务人员、科研人员和教学人员阅读参考。

责任编辑 靳纯桥 姚 磊

序

1974年,Prince等人就证实了非甲非乙型肝炎(NANBH)的存在。在此后的十几年时间内,许多研究者采用常规的分子生物学、病毒学、免疫学和细胞生物学等手段,试图获得NANBH的病原体基因及产物,但均未成功。直到1989年,Choo等构建了NANBH患者的 λ gt11 cDNA随机噬菌体表达文库,并从中筛选到一个丙型肝炎病毒(HCV)特异的基因片段5-1-1,有关HCV的诊断、基因克隆表达、致病机制、流行病学、治疗和疫苗等各方面研究才全面铺开。在短短的10年内,HCV的基础及临床研究获得了大量成果,我国的研究人员也投身于HCV研究,做了很多相关工作。

我国是HCV感染的高发区,丙型肝炎患者约占全世界的40%,是严重危害我国人民健康的重要传染病之一。目前,我国HCV血清学检测技术相对落后于国外,加上操作、制度和观念等方面的原因,血源性HCV感染在我国仍占相当大的比例。由于丙型肝炎缺乏有效的治疗方法,慢性化程度高,且与肝硬化和肝癌等的发生与发展相关,大力普及丙型肝炎的知识,开展HCV研究,具有重要的理论及现实意义。

黄建生同志年轻有为,在从事HCV研究的同时,阅读了大量的国内外文献,并在短时间内、在繁忙的学习与工作之余,完成了这部全方位反映HCV国内外现状及最新进展的专著。

我有幸首先拜读了全部书稿,深感其内容全面、新颖、文笔流畅,具有系统性和可读性,是一本小百科全书似的高水平参考书。我衷心希望该书的出版能对我国丙型肝炎研究有所推动,为我国HCV研究跻身世界先进行列做出贡献。

戚中田

1999年6月18日

前 言

病毒性肝炎是严重影响人类健康的常见传染病,以乙型肝炎和丙型肝炎的发病率最高,自然阴转率低,治疗效果差,病程迁延,且与肝硬化、肝癌等的发生及发展显著相关,因此一直是人类希望重点攻克疾病之一。

在广泛采用乙型肝炎病毒(HBV)血清学筛查后,输血后乙型肝炎的发病率逐年降低,国外报道仅占输血后肝炎的5%~10%,而输血后丙型肝炎则占大部分,且呈逐年上升趋势。目前全世界HCV感染者已超过1亿人,其中我国约占40%,可见HCV感染不仅是我国一个医学问题,更是一个值得重视的公众健康问题。

随着Choo等成功克隆了HCV的特异性基因片段后,有关丙型肝炎的基础与临床研究全面铺开,在丙型肝炎诊断、基因克隆、致病机制、流行病学、临床治疗等方面获得了大量高水平的研究成果,丙型肝炎也成为近10年来病毒性肝炎研究的热点。

我们在从事HCV研究之时,发现我国尚无一本系统、全面反映丙型肝炎研究进展的专著,由此萌发了编著该书的想法。该书是在综合了大量的国内外文献的基础上,结合我们在临床医学、分子生物学、免疫学、遗传学等领域的知识编写而成的,希望能全方位反映丙型肝炎的基础、临床基础及临床研究的概况,成为一本名副其实的丙型肝炎工具书,为我国从事肝炎研究的科研人员提供一本有价值的高水平参考书,为推动我国丙型肝炎研究做出积极贡献。该书至少有以下几个特点:

- (1)系统全面:该书内容全面反映了国内外丙型肝炎研究的成就,读者可望从中了解几乎所有有关丙型肝炎的研究情况;
- (2)实用性好:本书对基础及临床研究内容都进行了比较充分、深入的论述;
- (3)条理性好:该书由一人主笔,全书的写作风格一致,重复内容少,前后连贯较好;章节中的分段较细,条理较清楚;各章的小结可帮助读者提炼各个研究领域的主要内容;
- (4)新旧结合:该书不仅注重基础知识的描述,更侧重于展示丙型肝炎的最新进展,国内外文献都追踪到1999年上半年;
- (5)基础临床结合:该书的前部分为HCV的基础研究,随后是临床基础及临床部分,较好地体现了基础研究服务、指导临床的宗旨;
- (6)中外结合:与其它相关著作不同的是,该书在全面阐述丙型肝炎的基础知识及国际最新进展的同时,也收集、归纳了我国在该领域的几乎所有的重要研究成果,特别是中医药治疗,这对我国从事丙型肝炎的研究人员及广大的丙型肝炎患者来说尤为重要;
- (7)正反结合:许多研究得到了完全相反的结论,在无法判断真伪的情况下,我们都分别阐述,以便读者进一步了解及判断;
- (8)横向比较:为方便读者了解其它病毒性肝炎与丙型肝炎的异同,本书的第一章比较详细地介绍了甲型肝炎、乙型肝炎、丁型肝炎、戊型肝炎、庚型肝炎、输血传播病毒相关肝炎的基础与临床知识;由于已型肝炎的病原体尚未确定,所报道的一些相关材料较零乱含糊,因此在本书完稿时删去了该部分内容;

(9)方便查找:在书的后面有索引,英文缩写词可通过索引找到全称,便于读者阅读及查找。

复旦大学遗传所任大明教授在该书的整个编著过程中给予了认真、耐心、详细、周密的指导。他远见卓识的科学洞察力,虚怀若谷的高尚人格,甘当人梯的无私奉献精神,深深地感染了我,也正是他的鼓励与鞭策,才使该书能在较短时间内顺利脱稿。

第二军医大学微生物学教研室戚中田教授在百忙之中对全书进行了细致的审阅,并为本书作序,潘卫老师、赵平老师也协助修改了部分章节,柯岫博士参与了部分章节的编写;第一军医大学南方医院传染科梁炽森教授、彭劫主治医师;解放军 301 医院风湿科刘湘源博士;广东武警医院曾庆彩主治医师等对该书的临床部分进行了认真的审阅、校对和编排;第一军医大学分子生物学研究所王昌才教授,免疫学教研室郭明秋教授,中医系罗仁教授、刘菊妍博士、李俊主治医师,病理学教研室申洪教授,热带医学研究所李明教授、王红副教授;解放军海军医学研究所贾福星研究员、雷呈祥老师;复旦大学遗传所卢大儒教授、徐人尔博士等审阅或参与编写本书的有关章节,提出了很多修改意见;复旦大学遗传所淳于姍娟老师、高大操硕士为本书的插图做了不少工作;此外,还得到第一军医大学免疫学教研室张丽芸老师、陈立茵老师,复旦大学遗传所张伯生副教授、金建中副教授等的帮助,在此一并表示我最诚挚的谢意!

该书的完成,凝聚了复旦大学遗传所微生物遗传组郑维扬博士、兰和魁主治医师、许淳硕士、沈先荣博士、吉冬梅硕士、符薇同学、李玉华博士、庞建新博士、胡全安博士、谢咏梅硕士等的大量心血,他们在繁重的实验之余,不遗余力对书稿反复进行修改与校对,而且在生活上给予我极大的关照及帮助,为该书的出版做出了重要贡献。手足之情,终生难忘,在此也表示我衷心的感谢!我还要感激我的爱人,如果没有她一贯的大力支持、理解与鼓励,就不可能有我数年如一日孜孜不倦的追求,也就不可能有本书的出版!

鉴于该书涉及的知识面很广,囿于作者本身的知识 and 能力水平,对于某些问题的阐述可能不够深入、系统和全面;对于一些内容的编排也未必十分恰当;在丙型肝炎的浩瀚文献中,该书可能还有未尽之处。由于编著的时间较短,内容又较多,书中难免会有错漏、疏忽等方面的不足,恳请各位专家及读者不吝指出,以便有机会再版时纠正。

黄建生
1999 年 6 月
于复旦大学

目 录

第一章 病毒性肝炎总论	(1)
一、甲型肝炎	(1)
二、乙型肝炎	(5)
三、丁型肝炎	(19)
四、戊型肝炎	(24)
五、庚型肝炎	(27)
六、输血传播病毒相关肝炎	(30)
七、各种肝炎病毒主要指标比较	(32)
小结	(33)
第二章 丙型肝炎病毒的颗粒研究	(36)
一、丙型肝炎病毒不是逆转录病毒	(36)
二、核内颗粒	(36)
三、胞浆颗粒	(37)
四、血清颗粒	(38)
五、体外培养颗粒	(39)
六、丙型肝炎病毒理化特点	(40)
小结	(40)
第三章 丙型肝炎病毒基因的克隆	(43)
一、5-1-1 基因片段的克隆	(43)
二、丙型肝炎病毒全基因的获得	(44)
三、丙型肝炎病毒与其它病毒的亲缘关系	(45)
四、我国丙型肝炎病毒全基因的克隆	(45)
五、丙型肝炎病毒基因克隆的意义	(47)
六、丙型肝炎病毒基因克隆可能存在的问题	(47)
小结	(48)
附:美国 HCV-1 分离株核苷酸及氨基酸全序列	(49)
第四章 丙型肝炎病毒基因的结构与功能	(56)
一、5'非编码区	(56)
二、核心蛋白	(58)
三、包膜蛋白	(61)
四、p7 蛋白	(63)
五、非结构蛋白	(63)
六、3'非编码区	(66)
七、各种丙型肝炎病毒分离株全序列基因结构比较	(66)

八、丙型肝炎病毒基因及其表达产物的生物学功能比较·····	(66)
小结·····	(68)
第五章 丙型肝炎病毒的变异研究 ·····	(71)
一、病毒复制·····	(71)
二、变异机制·····	(71)
三、病毒变异·····	(72)
四、丙型肝炎病毒变异的生物学意义·····	(75)
五、丙型肝炎病毒的保守表位分析·····	(77)
小结·····	(80)
第六章 丙型肝炎病毒的分型研究 ·····	(84)
一、以作者命名的丙型肝炎病毒分型法·····	(84)
二、基因分型·····	(87)
三、血清学分型·····	(90)
四、遗传树分型法·····	(92)
五、DNA-酶免疫分型法·····	(93)
六、我国丙型肝炎病毒分型·····	(94)
七、丙型肝炎病毒分型的意义·····	(95)
小结·····	(98)
第七章 丙型肝炎病毒的基因表达 ·····	(101)
一、酵母菌表达系统·····	(101)
二、动物细胞表达系统·····	(102)
三、大肠杆菌表达系统·····	(105)
小结·····	(109)
第八章 抗丙型肝炎病毒的单克隆抗体研究 ·····	(113)
一、抗体研究概况·····	(113)
二、杂交瘤单克隆抗体·····	(113)
三、基因工程抗体·····	(115)
小结·····	(117)
第九章 丙型肝炎病毒与细胞因子 ·····	(119)
一、丙型肝炎病毒与白细胞介素·····	(119)
二、丙型肝炎病毒与肿瘤坏死因子·····	(123)
三、丙型肝炎病毒与干扰素·····	(125)
四、丙型肝炎病毒与生长因子·····	(125)
五、丙型肝炎病毒与集落刺激因子·····	(126)
小结·····	(127)
第十章 丙型肝炎病毒感染的细胞与动物模型 ·····	(130)
一、丙型肝炎病毒感染的细胞模型·····	(130)
二、丙型肝炎病毒感染的动物模型·····	(134)
三、丙型肝炎病毒转基因动物模型·····	(140)

小结	(141)
第十一章 丙型肝炎的流行病学研究	(145)
一、不同人群丙型肝炎病毒的感染情况	(145)
二、传播途径	(146)
三、我国丙型肝炎的流行情况	(165)
小结	(172)
附表:世界部分地区不同人群抗-HCV 的阳性率	(172)
第十二章 丙型肝炎的发病机制研究	(181)
一、丙型肝炎病毒的直接损伤作用	(181)
二、免疫损伤	(182)
三、自身免疫在丙型肝炎病毒感染中的作用	(191)
四、细胞凋亡在丙型肝炎病毒感染中的意义	(192)
小结	(193)
第十三章 丙型肝炎的病理学研究	(197)
一、Knodell 评分	(197)
二、丙型肝炎的基本病理改变	(198)
三、丙型肝炎病理组织学分类与分级	(202)
四、影响病理改变的因素	(203)
五、丙型肝炎与其它肝炎病理改变比较	(204)
六、我国丙型肝炎的病理学研究	(205)
小结	(205)
第十四章 急性丙型肝炎	(208)
一、丙型肝炎病毒感染的临床分型	(208)
二、临床表现	(209)
三、实验室检测	(212)
四、临床诊断	(213)
五、治疗	(214)
六、预后	(214)
小结	(215)
第十五章 慢性丙型肝炎	(217)
一、急性丙型肝炎的慢转率	(217)
二、慢性丙型肝炎分型	(218)
三、慢性化机制与影响因素	(219)
四、病理改变	(220)
五、临床表现	(221)
六、临床诊断	(222)
七、治疗	(223)
八、预后	(223)
小结	(223)

第十六章 丙型肝炎后肝硬化	(226)
一、肝纤维化	(226)
二、肝硬化的病因	(228)
三、肝硬化的分型	(228)
四、病理改变	(229)
五、临床表现	(229)
六、临床诊断	(232)
七、治疗	(232)
八、预后	(234)
小结.....	(234)
第十七章 丙型肝炎病毒相关肝细胞癌	(236)
一、丙型肝炎病毒相关肝细胞癌的发病率	(236)
二、癌基因与抑癌基因在丙型肝炎病毒相关肝细胞癌中的作用	(237)
三、丙型肝炎病毒相关肝细胞癌发生的危险因素	(239)
四、临床表现	(240)
五、实验室检测	(241)
六、临床诊断	(242)
七、治疗	(242)
八、预后	(243)
小结.....	(244)
第十八章 丙型肝炎病毒相关肝功能衰竭	(246)
一、肝功能衰竭的临床分型	(246)
二、丙型肝炎病毒相关肝功能衰竭的发生率	(246)
三、导致肝炎病毒相关肝功能衰竭的危险因素	(246)
四、临床表现	(248)
五、临床诊断	(248)
六、治疗	(249)
七、预后	(251)
小结.....	(252)
第十九章 丙型肝炎与其它病毒性疾病	(254)
一、丙型肝炎病毒合并其它肝炎病毒感染	(254)
二、HCV/HAV 合并感染	(255)
三、HCV/HBV 合并感染	(256)
四、HCV/HDV 合并感染	(258)
五、HCV/HGV 合并感染	(259)
六、多重感染	(260)
七、HCV/HIV 合并感染	(261)
小结.....	(262)
第二十章 丙型肝炎病毒相关自身免疫性肝炎	(265)

一、自身免疫性肝炎的分型	(265)
二、丙型肝炎病毒在自身免疫性肝炎发病中的作用	(266)
三、丙型肝炎患者自身抗体的检测	(268)
四、临床表现	(269)
五、临床诊断	(269)
六、治疗	(270)
小结	(271)
第二十一章 丙型肝炎与乙醇性肝病	(276)
一、乙醇致肝病机制	(276)
二、乙醇对丙型肝炎病毒复制的影响	(276)
三、丙型肝炎病毒感染对乙醇性肝病的影响	(277)
四、饮酒量对乙醇性肝病的影响	(278)
五、乙醇性肝病的病理改变	(278)
六、临床表现	(279)
七、临床诊断	(279)
八、治疗	(280)
九、预后	(281)
小结	(281)
第二十二章 丙型肝炎病毒相关的肝外疾病	(283)
一、丙型肝炎病毒与肝外自身免疫性疾病	(283)
二、丙型肝炎病毒与特发性混合性冷球蛋白血症	(284)
三、丙型肝炎病毒与肾小球肾炎	(286)
四、丙型肝炎病毒与迟发性皮肤卟啉病	(288)
五、丙型肝炎病毒与其它疾病	(288)
小结	(291)
第二十三章 肝功能试验与辅助检查	(294)
一、肝功能试验	(294)
二、辅助检查	(301)
小结	(303)
第二十四章 抗丙型肝炎病毒抗体的检测	(306)
一、放射免疫法	(306)
二、酶免疫法	(306)
三、重组免疫印迹法	(317)
四、斑点免疫法	(320)
五、合成多肽检测法	(321)
六、我国 HCV EIA 的研制	(323)
小结	(326)
第二十五章 丙型肝炎病毒的 PCR 检测	(333)
一、聚合酶链式反应	(333)

二、用于 HCV RNA 检测的 PCR 方法	(336)
三、血清 HCV RNA 的检测	(340)
四、外周血白细胞 HCV RNA 的检测	(342)
五、其它组织中 HCV RNA 的检测	(344)
六、HCV RNA 的定量检测	(344)
七、结果分析与检测意义	(349)
小结	(352)
第二十六章 丙型肝炎病毒抗原的检测	(360)
一、免疫组化法	(360)
二、免疫印迹法	(363)
三、酶免疫法	(363)
四、荧光酶免疫法	(364)
五、免疫 PCR	(364)
小结	(364)
第二十七章 丙型肝炎病毒的核酸杂交检测	(367)
一、原位杂交	(367)
二、原位 PCR	(369)
三、Dot blot 与 Northern blot	(370)
小结	(370)
第二十八章 丙型肝炎的综合治疗	(373)
一、基础治疗	(373)
二、护肝退黄治疗	(375)
小结	(377)
第二十九章 丙型肝炎的干扰素治疗	(379)
一、干扰素简介	(379)
二、治疗对象与方案	(380)
三、各种干扰素疗效比较	(384)
四、治疗后各种指标的变化	(388)
五、干扰素治疗无效、复发及肝功能正常患者的治疗策略	(391)
六、疗效影响因素与预测指标	(392)
七、干扰素敏感性决定区	(394)
八、副作用	(395)
小结	(398)
第三十章 丙型肝炎的中医药治疗	(405)
一、病因病机和辨证分型	(405)
二、辨证施治要点	(406)
三、病毒性肝炎治疗方药现代研究与临床应用	(409)
小结	(416)
第三十一章 丙型肝炎的基因治疗	(419)

一、基因治疗概述	(419)
二、病毒性肝炎基因治疗机制	(420)
三、反义核酸概述	(421)
四、反义核酸对丙型肝炎病毒的抑制作用	(423)
五、ribozyme 对丙型肝炎病毒的催化作用	(425)
小结	(426)
第三十二章 丙型肝炎的其它治疗	(428)
一、病毒唑治疗	(428)
二、熊去氧胆酸治疗	(430)
三、去铁治疗	(431)
四、其它药物治疗	(433)
小结	(435)
第三十三章 丙型肝炎的预防环节	(438)
一、管理好传染源	(438)
二、切断传播途径	(438)
三、保护易感人群	(440)
小结	(440)
第三十四章 丙型肝炎疫苗研究	(442)
一、丙型肝炎重组蛋白疫苗	(442)
二、丙型肝炎核酸疫苗	(444)
三、丙型肝炎口服活菌苗	(447)
四、丙型肝炎植物疫苗	(449)
小结	(449)
第三十五章 丙型肝炎的研究展望	(452)
一、丙型肝炎的重点研究方向	(452)
二、关于我国丙型肝炎研究的一点思考	(453)
索引	(454)

第一章 病毒性肝炎总论

药物、毒素、病毒等都可诱发肝脏的炎症反应,其中病毒是肝炎(hepatitis)的最常见病因。病毒性肝炎(viral hepatitis)是世界上流行久远、广泛、危害极大的传染病之一,以亚洲、非洲、拉丁美洲等一些发展中国家的流行率较高。

1908年,MacDonald等发现急性黄色肝萎缩可能由病毒引起,从而确立了病毒是肝炎的致病因素之一,随后得到大量研究的证实。1947年,MacCallum等建议把传染性肝炎(infectious hepatitis)和血清性肝炎(serum hepatitis)分别命名为甲型肝炎(hepatitis A,HA)及乙型肝炎(hepatitis B,HB)。

尽管对病毒性肝炎病原体的研究已近一个世纪,但直到近20多年来,随着分子生物学、分子免疫学、细胞生物学等学科的建立及

发展,该领域研究才获得重大进展。根据肝炎病毒的生物学特性、临床特点及流行规律等,目前已确定的肝炎包括HA、HB、丙型肝炎(hepatitis C,HC)、丁型肝炎(hepatitis D,HD)、戊型肝炎(hepatitis E,HE)、庚型肝炎(hepatitis G,HG),其相应的病原体分别为甲型肝炎病毒(hepatitis A virus,HAV)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,HBV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus,HCV)、丁型肝炎病毒(hepatitis D virus,HDV)、戊型肝炎病毒(hepatitis E virus,HEV)、庚型肝炎病毒(hepatitis G virus,HGV)。1997年又发现一种新的肝炎病毒,称为输血传播病毒(transfusion transmitted virus,TTV)。下面分别简介各种肝炎的基础与临床研究。

一、甲型肝炎

对HA的研究始于本世纪40年代。1967年Deinhardt等用HAV成功感染了绒猴,1973年Feinstone等经免疫电镜从MS-1病毒株感染的HA患者急性期粪便中发现了HAV颗粒,直径约27~30nm。同年,Masoli等在HAV感染的绒猴肝组织中首次分离到HAV CR326株,并于1979年由Provost等体外培养获得成功。至此,HA作为病毒性肝炎中的一种被确定下来。1981年Von der Helm等首次获得部分HAV cDNA片段,随后Ticehurst等于1983年获得HAV全基因。这些成果对HAV的深入研究起了决定性的作用。

(一)病毒颗粒

1981年,HAV被归入肠道病毒属,但由于还有许多方面与肠道病毒不同,现已被归入新的病毒属,即肝病毒(hepatovirus)或嗜肝RNA病毒(heparnavirus)。

HAV为一单股正链无包膜的球形RNA病毒,具有20面体对称结构,直径27~32nm,由30% RNA及70%蛋白质组成,其衣壳含有32个颗粒,每一个颗粒含4种多肽(VP1~VP4)。HAV的空心颗粒及实心颗粒的沉降系数分别为75~90S及150~160S,在氯化铯中的浮密度分别为1.29g/cm³(空心颗粒)、1.32~1.34 g/cm³或1.40~1.48g/cm³(实心颗粒),但2种颗粒的抗原

性相似。

HAV 属于小 RNA 病毒,与心肌病毒及口疮病毒较为接近。其特点是:①繁殖的周期长,常以月计;②产生的病毒滴度低,多低于 10^7 拷贝/ml;③成熟的病毒检测不到 VP4 蛋白;④HAV 颗粒和抗原定位于细胞浆中;⑤与其它小 RNA 病毒的同源性很低;⑥病原体对热稳定,在 60℃ 可耐受 1h,对酸、碱、乙醚的抵抗作用较其它 RNA 病毒强,在干燥环境中最为稳定,可能是最具抗性的人类致病性病毒,这种稳定性有利于 HAV 的广泛传播和流行。

(二)基因与结构

1. 基因组及其表达产物 HAV 基因组全长 7 478 nt(HM-175 株),由 3 部分组成:

(1)5' 非编码区(5' untranslated region, 5'UTR 或 5' non-coding region, 5'NCR):长 734nt,含有顺式(cis-acting)调控序列,可促进 HAV RNA 与肝细胞浆中的核糖体结合,对 HAV 的复制起关键作用。该基因缺失 2nt 后,HAV 即失去感染性。5'UTR 含有 6 个二级结构区,分别为 I ~ VI 区,Ⅰ区(第 1~41nt)在 5'端形成大的发夹结构,Ⅱ区(第 42~98nt)为推测结构,Ⅲ区(第 99~323nt)有一富含嘧啶区,Ⅳ区和Ⅴ区(第 324~692nt)结构非常复杂,含有内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES),Ⅵ区(第 693~723nt)含有一个短的寡聚嘧啶区。5'UTR 5'端带有一个以共价键结合的糖蛋白分子 VPg,为 HAV 2C 基因的编码产物,病毒复制时可识别宿主细胞的核糖体蛋白。

(2)编码区(coding region, CR):占基因全长的 89%,为单一的开放阅读框(open reading frame, ORF),长 6 681nt,包含 P1、P2、P3 基因。HAV 基因组 RNA 可直接充当 mRNA 转录本,编码一约 250kDa 的结构蛋白及非结构蛋白多聚前体。

P1 区含有 1A、1B、1C 及 1D 结构基因,

保守性极高;编码 VP1~VP4 病毒衣壳蛋白,相对分子质量分别为 30~33kDa、24~27kDa、21~23kDa、2.5~14kDa,其中 1D 基因编码 HAV 抗原(HAV antigen, HAAg)。HAV 主要的免疫决定簇多位于该区,VP1 及 VP3 是主要的抗体结合部位。VP2 及 VP4 可能具有一个共同的前体 VP0,VP2 中的一个丝氨酸残基可能作为亲和剂催化 VP0 裂解为 VP2 和 VP4。

P2 区包括 2A、2B、2C 基因,分别编码 10kDa、27.5 kDa、3kDa 的蛋白质。P3 区包括 3A、3B、3C、3D 等 4 个基因,分别编码 8kDa、2kDa、23kDa、54kDa 的蛋白质。2C 可能是一种整合膜蛋白,而 2B 则是膜相关外周蛋白。P2 及 P3 主要编码与复制、翻译、修饰、包装等相关的非结构蛋白,如 RNA 依赖 RNA 多聚酶(RNA-dependent RNA polymerase, RDRP)、VPg 及各种蛋白酶等。蛋白酶 3C 可酶切 P2 及 P3 多聚蛋白,产生各种非结构蛋白,其 2A-2B 酶切位点为第 836~837aa(Gln-Ala)。但原核表达的蛋白酶 3C 对 P3 各抗原的酶切效率很低,真核表达的蛋白酶 3C 则有高效性。

(3)3' 非编码区(3' untranslated region, 3'UTR 或 3' non-coding region, 3'NCR):长 65nt,有 poly(A)尾巴,也含有顺式调控序列,调节 HAV 的复制,与 HAV RNA 的稳定性有关。

2. 病毒变异与分型 HAV 变异程度较低,如有人曾对 5 株 HAV 氨基酸序列进行分析,同源性达 98%。HM-175 株与 LA 株、MBB 株的核苷酸同源性分别为 95%及 91.7%,后两者的同源性为 92%。HAV HM-175 株共有 624nt 发生变异,核苷酸、氨基酸的变异率分别为 8.3%及 1.5%,其中编码区有 589nt 变异,但出现在第三密码子的变异占 87%。最大变异区位于 P1 及 P2 区;最小的位于 5'UTR 区,核苷酸同源性达 96%~99%。人与猴 HAV 分离株基因存在较大的

差异,野生型 HAV 经连续传代后也会出现变异,主要变异区位于 5'UTR 区。

由于 HAV 存在变异,可把来自不同地区的人源性 HAV 分离株分为 4 个基因型(I~IV 型),型间变异率 $>15\%$,型内变异率 $<15\%$ 。人源性 HAV 多属于 I 型及 III 型,其它 2 型目前各只有 1 个分离株。加上在灵长类动物上发现的 3 个基因型(V~VII 型),HAV 至少有 7 个基因型。不同基因型的 HAV 抗原性相同,因此 HAV 只有一个血清型,且与其它肝炎病毒抗原间不存在交叉反应。

(三)病毒复制

在 RNA 聚合酶的作用下,HAV 合成互补的负链,产生复制中间体,然后再以负链为模板合成新的正链。HAV RNA 与病毒衣壳蛋白具有高度的亲和力,大部分正链 RNA 被包装到病毒颗粒中,只占 0.4% 的负链 RNA 作为模板,产生新的正链,使一部分衣壳蛋白得不到 RNA 而不能形成成熟的病毒颗粒。HAV 在肝细胞浆复制后,经胆汁从肠道排出,但尚无证据表明 HAV 可在肠道中复制。

(四)细胞与动物模型

HAV 可感染非洲绿猴肾细胞、人胚肺二倍体细胞、肝细胞等,体外培养时生长缓慢,复制周期长,产量少,但不会阻断宿主基因的表达,一般不引起细胞的裂解及病变。经多代培养后,HAV 的复制周期缩短,生长加快,此时 HAV 称为细胞培养适应株或快生长株,这是由于经多代培养后,HAV 获得减毒所致,也是 HAV 口服活疫苗研制成功的关键。

HAV 的感染宿主主要为人及黑猩猩、狨猴、猿猴、红面猴、恒河猴等一些高级的灵长类动物,经口或静脉途径均可感染。

(五)发病机制

HAV 通过口咽部、消化道入血后进入肝脏,其所致的肝细胞损伤机制尚不清楚。HAV 感染肝细胞后,并无明显的肝细胞损伤,对所感染肝细胞的蛋白质合成也无明显的影响。HAV 感染黑猩猩在转氨酶明显升高之前,粪便已开始排出 HAV,肝组织中 HAV 也达到高峰;随着转氨酶的进一步升高,才出现淋巴细胞和巨噬细胞的局部浸润及肝细胞坏死,此时 HA 的临床表现进入极期。这些结果提示,HAV 的致病作用可能不是 HAV 对肝细胞的直接作用所致,而是免疫损伤的结果。进一步的实验证实 CTL 效应在 HAV 的发病中起重要的作用,IFN- γ 则是主要的免疫调节因子。

(六)病理改变

在所有的病毒性肝炎中,急性甲型肝炎(acute hepatitis A, AHA)所致的肝组织损伤是最典型的,在谷丙转氨酶(alanine oxoglutarate aminotransferase, ALT)升高过程中,出现肝细胞实质性坏死和肝细胞门脉周围炎症等组织学变化,个别还出现肝脏网状组织中度或重度坏死。组织损伤出现较早,但持续时间短,肝细胞再生快,未见肝组织纤维化、肝硬化(liver cirrosis, LC)等改变。极少数患者可发展为暴发性肝炎(fulminant hepatitis, FH),导致广泛的肝组织坏死。

(七)临床特点

1. 流行情况 HA 主要在发展中国家流行,其流行特征与脊髓灰质炎病毒、肠道病毒属等相似,主要通过肠道传染,也称所谓的“传染性肝炎”。卫生条件较差的地区发病率较高,如在非洲的某些地区,人群中抗-HAV 的检出率高达 90%;而北美、欧洲等地区的感染率较低。人类是 HAV 最敏感感染宿主,儿童及青壮年发病率较高。HA 患者主要