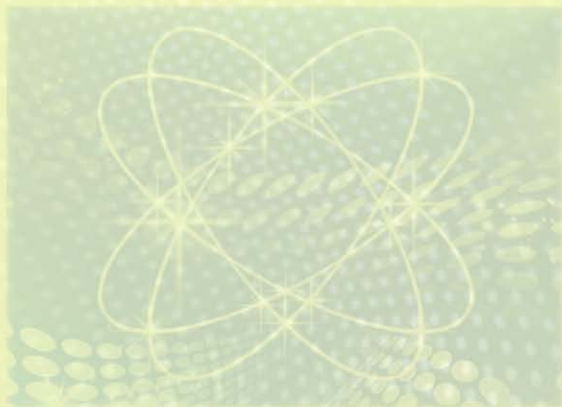


慢性病毒性肝炎诊断与治疗

吕晓峰 李保义 主编

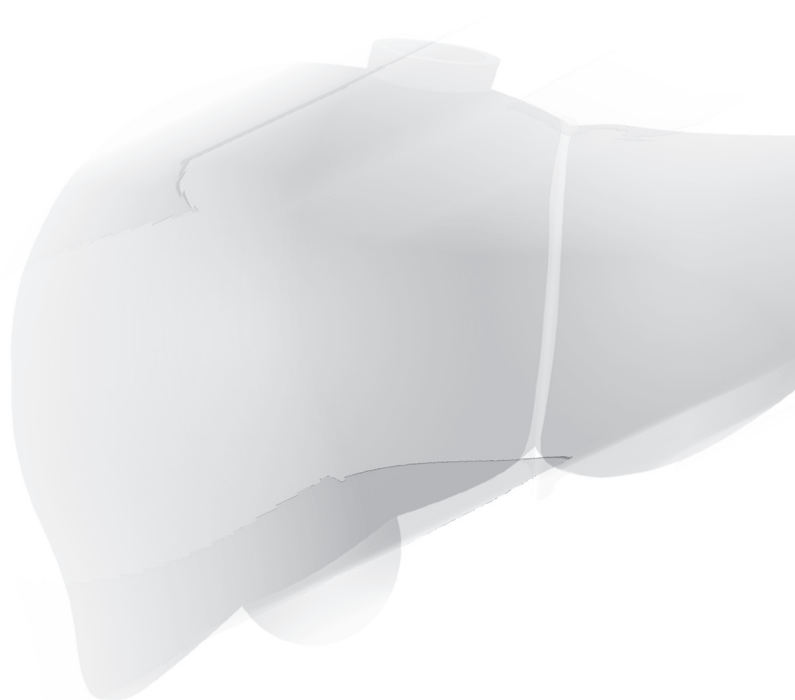


河北科学技术出版社

MANXING BINGDUXING GANYAN
ZHENDUAN YU ZHILIAO

慢性病毒性肝炎 诊断与治疗

吕晓峰 李保义 主编



河北科学技术出版社

编 委 名 单

主 编 吕晓峰 李保义
副主编 郝艳春 郭海军 张同敏 吕 静
编 委 安春绵 崔剑平 张龙阁 安凤霞 薛 雷 王素英

图书在版编目 (CIP) 数据

慢性病毒性肝炎诊断与治疗 / 吕晓峰, 李保义主编. —石家庄: 河北科学技术出版社, 2011. 8
ISBN 978-7-5375-4896-0

I. ①慢… II. ①吕… ②李… III. ①慢性病: 病毒性肝炎—诊疗 IV. ① R512.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 168751 号

慢性病毒性肝炎诊断与治疗

吕晓峰 李保义 主编

出版发行 河北科学技术出版社
地 址 石家庄市友谊北大街 330 号 (邮编: 050061)
印 刷 邢台市日新印刷有限公司
开 本 880×1230 1/32
印 张 9.125
字 数 279000
版 次 2011 年 8 月第 1 版
2011 年 8 月第 1 次印刷
定 价 28.00 元

前 言

众所周知，病毒性肝炎是严重危害我国人民身体健康的一类传染病。按照病原学分类，至少有甲型、乙型、丙型、丁型和戊型等五种肝炎病毒可以导致人类的病毒性肝炎。新近又发现了庚型肝炎病毒和输血传播病毒，但其确切的致病性尚未得到公认，仍需要进一步研究。甲型和戊型肝炎病毒只引起急性病毒性肝炎，除极少数患者会发展成重型肝炎外，大多数患者预后良好。丁型肝炎病毒感染通常以乙型肝炎病毒感染为基础。乙型和丙型肝炎病毒既可引起急性病毒性肝炎，也可引起慢性病毒性肝炎。因此，慢性病毒性肝炎的诊断和治疗是我国病毒性肝炎临床诊治工作的重点和难点。

本书的编写宗旨是为临床医生提供一本新颖而又实用的以慢性病毒性肝炎的诊断和治疗为主要内容的临床参考书。在编写过程中力求做到基础理论与临床实践相统一，先进性与实用性相统一，原则性与可行性相统一，使内容具有先进性、科学性和实用性。由于作者的水平和经验有限，书中难免会有疏漏之处，恳请同道不吝指正。

编 者

目 录

第一章 乙型肝炎病毒的分子生物学与临床	1
第一节 HBV 的基因结构和功能	1
第二节 HBV 分子生物学与乙型肝炎发病机制	5
第三节 HBV 分子生物学与乙型肝炎的病原学诊断	7
第四节 HBV 分子生物学与乙型肝炎的免疫基因疗法	8
第五节 HBV 分子生物学与乙型肝炎的预防	10
第二章 丙型肝炎病毒的分子生物学与临床	13
第一节 HCV 的基因结构	13
第二节 HCV 基因变异及其基因分型	16
第三节 HCV 基因变异与疾病慢性化机制	18
第四节 HCV RNA 定量检测的应用	19
第五节 HCV 与 α 干扰素	20
第三章 乙型肝炎病毒感染的自然史与疾病谱	23
第一节 HBV 感染的自然史	23
第二节 HBV 感染的疾病谱	26
第四章 丙型肝炎病毒感染的自然史和疾病谱	31
第一节 HCV 感染的自然病程	31
第二节 影响丙型肝炎自然史的因素	34
第三节 HCV 感染的疾病谱	37
第五章 乙型和丙型肝炎病毒感染与原发性肝癌	41
第一节 HBV 与原发性肝癌	41
第二节 HCV 与原发性肝癌	44

第六章	乙型肝炎和丙型肝炎病毒血清学标志及其临床意义	51
第一节	HBV 的血清学标志	51
第二节	HCV 的血清学标志	57
第七章	新型病毒性肝炎的病原学	61
第一节	新型肝炎病毒的发现过程	61
第二节	几种新型肝炎病毒的病原学特点	64
第八章	慢性病毒性肝炎临床分型和病理分型	67
第一节	慢性病毒性肝炎临床分型	67
第二节	慢性病毒性肝炎的病理分型	69
第三节	慢性肝炎分型新方案的评价	72
第九章	慢性病毒性肝炎重叠甲型和戊型病毒性肝炎	75
第一节	慢性病毒性肝炎的常见病因	75
第二节	肝炎病毒混合感染的类型	79
第三节	慢性病毒性肝炎重叠甲型和戊型病毒性肝炎的临床特点	80
第四节	慢性病毒性肝炎重叠感染的诊断	81
第五节	病毒性肝炎重叠感染的治疗	82
第十章	慢性乙型肝炎抗病毒治疗的策略与方法	85
第一节	慢性乙型肝炎抗病毒治疗的策略	85
第二节	慢性乙型肝炎抗病毒治疗的方法	88
第十一章	丙型肝炎抗病毒治疗的策略和方法	95
第一节	丙型肝炎抗病毒治疗的策略	95
第二节	丙型肝炎抗病毒治疗的方法	96
第三节	丙型肝炎抗病毒治疗新方法的展望	114
第十二章	慢性病毒性肝炎的高胆红素血症	119
第一节	病毒性肝炎高胆红素血症的定义及表现	119
第二节	胆红素的肝内代谢及高胆红素血症的形成机制	120

第三节	慢性病毒性肝炎高胆红素血症与 肝外梗阻性黄疸的鉴别	121
第四节	慢性病毒性肝炎高胆红素血症的治疗	124
第十三章	慢性肝病的糖代谢紊乱	131
第一节	肝脏与糖代谢激素	131
第二节	慢性肝病时糖代谢紊乱的机制	134
第三节	慢性肝病时糖代谢紊乱的临床表现	135
第四节	肝源性糖代谢紊乱的诊断和治疗	137
第十四章	慢性肝病与肝肺综合征	141
第一节	肝肺综合征的病因	141
第二节	肝肺综合征的发病机制	142
第三节	肝肺综合征的临床表现	144
第四节	肝肺综合征的诊断与鉴别诊断	144
第五节	肝肺综合征的治疗	146
第十五章	肝炎肝硬化的常见并发症	149
第一节	食管—胃底静脉曲张破裂出血的判断和防治	149
第二节	门—体分流性脑病	154
第三节	自发性细菌性腹膜炎	162
第四节	肝肾综合征	166
第十六章	重型肝炎病情及预后的影响因素	173
第一节	病毒因素	173
第二节	年龄因素	177
第三节	重型肝炎的临床表现对病情及预后的影响	178
第四节	实验室检查指标的预后价值	180
第五节	与治疗有关的预后影响因素	184
第十七章	重型肝炎的诊断和治疗	185
第一节	重型肝炎的定义及病原学	185
第二节	重型肝炎的发病机制及临床表现	188
第三节	重型肝炎的预后	189

第四节	各型重型肝炎的诊断要点	189
第五节	重型肝炎的治疗	190
第十八章	慢性无症状乙型肝炎病毒感染	229
第一节	我国 HBV 感染的现状	229
第二节	慢性无症状 HBV 感染过程的阶段性	230
第三节	慢性无症状 HBV 感染的严重远期预后	231
第四节	慢性无症状 HBV 感染的血清学模式与发生机制	232
第五节	慢性无症状 HBV 感染的流行因素	233
第六节	慢性无症状 HBV 感染的预防	234
第七节	慢性无症状 HBV 感染者的治疗	236
第十九章	乙型肝炎疫苗的临床应用	237
第一节	乙型肝炎疫苗的研究和发展简况	237
第二节	高危人群的乙型肝炎疫苗免疫	238
第三节	我国乙型肝炎疫苗应用现状	238
第四节	乙型肝炎疫苗免疫失败的原因	240
第五节	乙型肝炎疫苗无应答者的对策	242
第二十章	慢性病毒性肝炎患者的心理及 社会问题与对策	245
第一节	慢性病毒性肝炎患者的心理问题与对策	245
第二节	慢性病毒性肝炎患者的社会问题与对策	249
附录	《慢性乙型肝炎防治指南》	253
参考文献		275

第一章 乙型肝炎病毒的分子生物学与临床

1963年Blumberg发现乙型肝炎病毒（HBV）的表面抗原（HBsAg，当时称为澳大利亚抗原，其后一度称为乙型肝炎相关抗原），这是HBV研究历史中的重要里程碑。此后几十年中，尤其是20世纪70年代末分子克隆技术建立以后，对HBV等嗜肝DNA病毒分子生物学的研究不断深入，在HBV基因结构与编码蛋白、复制周期、基因变异、耐受机制及与肝细胞癌的关系等诸多领域取得了重大进展。这些研究结果对整个临床病毒学的研究也起到了推动作用。本章拟从临床角度阐述HBV分子生物学的特点及其意义。

第一节 HBV 的基因结构和功能

一、HBV 的基因结构

完整的HBV颗粒又称Dane颗粒，直径为42nm，呈双层结构。外膜是由HBsAg组成的病毒包膜，内核是直径为27nm的核心，由核心蛋白、DNA多聚酶和HBV基因组等组成。

HBV基因组是一不完整的双链环状DNA分子。长链即负链，具有固定的长度，为3200个碱基；短链即正链，其长度可变，为长链长度的50%~100%。长链和短链DNA的5'端位置是恒定的，而短链的3'端位置则不固定。长链和短链之间在各自5'端开始的250个核苷酸可互相配对，使该双链DNA能保持环形，这一段核苷酸双链结构被称为黏性末端。而长链和短链又分别在其黏性末端序列的下游各有一段由11个核苷酸组成的直接重复序列（direct repeat, DR），命名为DR1和DR2。这一重复序列区域与双链DNA的成环及病毒复制密切相关。

HBV基因组有4个开放读框（ORF），即S、C、P和X，分别编码相应蛋白质。HBV基因组的特点是ORF可有重叠，编码序列可重复利用。如P基因与S基因完全重叠，X基因与P基因以及C基因与P基因有部分重叠。

二、HBV 基因的编码蛋白

1. 病毒包膜蛋白：即HBsAg。HBsAg是决定病毒吸附至易感细胞受体的成分。编码HBsAg的基因包括前S₁基因、前S₂基因和S基因，这3个基因片段起始处各有1个AUG（起始密码子），从不同的AUG开始编码可形成大小不同的病毒包膜蛋白，被分别称为大分子S蛋白（由前S₁、前S₂和S蛋白组成）、中分子S蛋白（由前S₂和S蛋白组成）和小分子S蛋白（仅含S蛋白，又称为主要S蛋白）。通常意义上的HBsAg是指小分子S蛋白。

前S₁、前S₂和S蛋白均具有抗原性，从感染过HBV的患者血清中可分别检出相应抗体。前S蛋白及其抗体与HBV复制及乙型肝炎临床转归之间关系的研究表明，前S₁是否存在与HBV是否复制的关系比前S₂与HBV复制的关系更为明显和密切；急性乙型肝炎患者若趋于恢复，则血清中多出现前S₂抗体，当抗-HBs出现后，前S₂抗体水平便逐渐降低。曾有学者发现前S₂基因编码的蛋白具有聚合人血清白蛋白（PHSA）的受体功能，而肝细胞表面也有PHSA受体，据此推测HBV可借PHSA吸附至肝细胞表面。近年来认为这一推论的依据尚不够充分，现在还不能将PHSA受体视为HBV侵入肝细胞时的受体。

动物实验证明前S₂和前S₁蛋白的免疫原性强于HBsAg。某些品系的小鼠对单一HBsAg免疫不产生免疫应答，但却对中分子S蛋白和大分子S蛋白产生良好应答反应，而且还同时产生了对HBsAg的免疫应答。分析发现这是由于前S₁和前S₂蛋白分别具有不同于HBsAg的B细胞表位，同时还能提供对Th细胞的刺激作用，促进抗-HBs的产生，从而使遗传性的低反应或无反应机体产生特异性免疫应答。

2. 病毒核心蛋白和e蛋白：即通常所称的HBcAg和HBeAg。HBV的C基因区编码HBcAg和HBeAg。HBcAg的编码区位于1901~2450nt，HBeAg的编码区位于1814~2450nt，编码产物分别为183个氨基酸残基和212个氨基酸残基。可见两个核心区蛋白的编

码区起始点不同,但终止点相同。在1814~1901nt之间有一段87个核苷酸组成的片段,编码一段由29个氨基酸残基组成的短肽,称为前C蛋白。这29个氨基酸残基中,N端的19个氨基酸残基系一个信号肽,当其在粗面内质网被信号肽酶裂解后,HBeAg就成为仅比HBcAg在N端多10个氨基酸残基的可经高尔基体分泌出细胞的核心蛋白。

HBeAg是以颗粒状态存在的抗原,定位于感染细胞核内,也可在细胞膜上表达。HBeAg则是分泌型的可溶性抗原,可自感染细胞分泌入血循环,也可定位于感染细胞膜。HBcAg和HBeAg均为机体免疫应答的细胞靶抗原。HBcAg免疫原性强,可诱生强烈而持久的体液及细胞免疫。HBcAg和HBeAg的B细胞表位不同,Th细胞表位互相交叉。HBcAg的Tc细胞表位在HLA A₂人体中被定位于第18~27位氨基酸,但在HLA A₃₁/AW68人体中则定位于第141~151位氨基酸。

3. 病毒P蛋白:HBVP基因区的编码产物P蛋白即HBV DNA多聚酶,由832~845个氨基酸残基组成。现已证明,该多聚酶属于依赖于RNA的DNA多聚酶,因此,其具有DNA多聚酶和反转录酶双重功能。进一步研究发现,P蛋白有数个功能区,自N端至C端依次为末端引物(TP)、间隔区、DNA多聚酶及RNA酶H,因此,其功能也就分别与反转录过程的起始、RNA依赖的DNA聚合酶、DNA依赖的DNA聚合酶以及HBV前基因组RNA的降解等功能有关。

4. 病毒的X蛋白:HBVX基因区编码的产物X蛋白,又称HBxAg,由145~154个氨基酸残基组成。用合成的HBxAg抗原多肽免疫动物制备抗体,可用于检测感染组织或血清中的相应抗原和抗体。

HBxAg的功能尚不十分清楚,但其具有反式激活作用的特点已受到广泛重视。有学者报道,单纯慢性乙型肝炎患者中仅10%肝细胞核内有HBxAg,而有肝硬化者肝内约70%有肝细胞核内HBxAg。在我国多数肝细胞癌患者伴有肝硬化,那么常见于肝硬化患者肝细胞中的HBxAg似有可能与肝细胞癌的形成有关。研究表明整合于肝细胞中的HBV DNA所表达的HBxAg可通过反式激活机制调控细胞及其他病毒基因的表达。HBV基因中的增强子、X基因和C基因的启动子都可受HBxAg的反式激活。此外,还证实HBxAg可以与野

生型或变异型的抑癌基因产物p53结合，从而使细胞生长失控，向恶性细胞转化。

三、HBV 的复制

HBV的复制过程或复制周期包括以下几个阶段。

1. HBV进入肝细胞：一般认为病毒与受体的结合是启动病毒感染的首要环节，但由于HBV缺乏感染细胞模型，有关HBV受体的研究难以进行。利用鸭乙型肝炎病毒（DHBV）感染肝细胞模型进行的研究发现，在肝细胞上有1个分子量为 170×10^3 的蛋白分子可与DHBV特异性地结合。后来又发现在鸭的肝、肾、胰组织中存在1个分子量为 120×10^3 的蛋白分子，亦可与DHBV结合。因此，推测可能存在DHBV受体，但其并非单一蛋白，而是一个受体复合物群。HBV进入人肝细胞的受体还有待证实。

2. HBV在肝细胞内移行：HBV穿入细胞膜后，在细胞浆中脱壳，其核酸成分在细胞内网状膜性结构中移行，一部分核酸成分进入细胞核，另一部分核酸成分则处于游离状态。

3. ccc HBV DNA的形成：进入肝细胞核的HBV DNA最初仍是不完整的双链环状结构，在DNA多聚酶的作用下，以单核苷酸填补HBV DNA正链的缺口部分，使其成为完整的双链环状结构，并在此基础上进行螺旋、折叠，最终形成超螺旋DNA（supercoiled DNA，SC DNA），又称共价闭合环状DNA（covalently closed circular DNA，ccc DNA）。这一特殊结构的HBV DNA是HBV基因组复制的原始模板。

4. HBV前基因组的合成：HBV前基因组是指以ccc HBV DNA为模板，由宿主细胞的RNA聚合酶Ⅱ作用下转录而成的3.5kb的HBV RNA。这一RNA前基因组一方面是合成HBV DNA负链的模板，另一方面又是翻译模板，可翻译成HBV DNA多聚酶、HBeAg和HBcAg等病毒蛋白成分。

5. HBV DNA双链的复制：以HBV前基因组RNA为模板，在HBV DNA多聚酶的反转录酶活性的催化下，合成出HBV DNA的第一条链，即HBV DNA的负链。以该负链为模板，在HBV DNA多聚酶的DNA聚合酶活性的作用下，合成HBV DNA的第二条链，即HBV DNA的正链。至此，子代HBV颗粒中核酸成分的复制已经完成。

6. HBV颗粒的装配与释放: HBV DNA与HBcAg、HBeAg、HBV DNA多聚酶等病毒蛋白成分首先组装成核心结构,再包裹以HBV的包膜成分,就形成了直径为42nm的完整HBV颗粒,即Dane颗粒,从肝细胞膜上以芽生的形式释放出来。

(吕晓峰)

第二节 HBV 分子生物学与乙型肝炎发病机制

一、ccc HBV DNA 与 HBV 持续感染

造成HBV在人体内持续感染的机制并不单一,但ccc HBV DNA的存在无疑是一个重要因素。如前所述,ccc HBV DNA是HBV基因组复制的原始模板,如能清除ccc HBV DNA就有望消除HBV感染。但是ccc HBV DNA存在于细胞核中(可在肝细胞,也可在肝外组织的细胞中),目前的各类抗病毒药物很难对其发挥作用。更值得注意的是,随着细胞的衰亡,处于其中的ccc HBV DNA也可能自然降解,但由于ccc HBV DNA只要还存在一部分,就能作为模板复制出大量HBV基因组,这些HBV DNA又不断形成ccc HBV DNA,使其总是处在一种动态平衡之中,换言之,就是存在一个相对稳定的HBV复制的模板库。如何减小或消除这一模板库将是抗HBV治疗的艰难而又重要的任务。

二、前C区基因变异与慢性乙型肝炎的病情发作或加重

一般认为,血清HBeAg转阴,抗-HBe出现后,HBV的复制趋于停止,肝病亦趋恢复。然而在一部分抗-HBe阳性患者中仍存在肝炎活动,且血清HBV DNA阳性。目前认为,这种情况是由于HBV前C区基因的核苷酸发生突变所致。当前C区1896位核苷酸因突变而发生鸟苷酸(G)被腺苷酸(A)所替代时,原来编码色氨酸的密码子TGG就变成了终止密码子TAG,这样就导致HBeAg的编码产生障碍,因为HBeAg的形成需要从前C区到C区基因的完整编码。但是这一突变虽影响了HBeAg的产生,并不影响HBV的复制过程,因此患者可以表现为HBV DNA阳性和肝炎活动。在HBV前C区变异株感染者中,可有不同的临床表现。有的仍表现为HBV慢性携带者,有的有明显的肝炎活动,也有少数患者发展至重症肝炎。这一现象

提示,前C区变异株不一定是强毒力株,不一定都导致严重的临床后果;但在前C区变异株感染的基础上,在因人而异的机体免疫应答过程中,又可能出现肝脏的明显炎症反应乃至肝细胞大量坏死。HBV前C区变异株的形成机制,目前倾向于是HBV在机体的免疫压力下出现的免疫逃避的产物。

三、HBV DNA 转染细胞系和转基因小鼠在乙型肝炎发病机制研究中的应用

乙型肝炎发病机制的研究应在细胞水平和动物模型的研究中才能不断深入以至完全阐明。但是迄今尚未发现能被HBV自然感染且稳定传代的细胞株;黑猩猩虽对HBV易感,但其感染后病变大多呈自限性,与人类常见的慢性持续感染仍不相同。这些问题严重妨碍了乙型肝炎发病机制的研究。而HBV DNA转染细胞株的建立和HBV转基因小鼠的构建成功是乙型肝炎发病机制研究手段方面的重要突破。

1. HBV DNA转染细胞系:1986年有学者采用基因转染技术将HBV DNA全基因组克隆导入体外培养的人肝癌细胞系Hep G2中获得了可表达HBV各种标志物(如HBsAg、HBeAg、HBcAg、HBV DNAP和HBV DNA)的转染细胞系。现在可用于HBV DNA转染的肝癌细胞系已有七八种之多,较常用的是Hep G2株和PLC/PRE/5株。利用这些细胞株可开展乙型肝炎发病机制的研究。有学者用不同的HBV DNA重组体转染同一受体细胞Hep G2,获得了Hep G2/2.2.15和Hep G2/T8两个转染细胞系。进一步观察表明,前者从生长期开始就产生高滴度的HBsAg、HBcAg、HBeAg及完整的Dane颗粒,但该细胞未产生细胞病变;后者仅产生高滴度的HBsAg、HBeAg,测不出HBcAg,也无Dane颗粒,但该细胞在培养期间可出现大量细胞死亡,此时可测出HBcAg。经比较研究发现,2.2.15细胞中HBcAg多为胞浆和胞膜型,而T8细胞中HBcAg只有胞核型,据此可以推测,细胞核型HBcAg在细胞内的聚集与细胞病变有关。通过HBV DNA转染细胞系的研究还发现,HBV DNA复制被抑制时,细胞表面的HLA-I型抗原的表达增加,这一结果一方面提示HBV DNA复制可能对其宿主细胞膜上HLA-I型抗原的表达有抑制作用,另一方面也提示HBV感染的靶细胞因HLA有关抗原的表达低下而可逃避机体的免疫清除。

2. HBV转基因小鼠：将HBV DNA注入小鼠的受精卵细胞中，使HBV DNA与小鼠染色体基因组进行整合，并能传给其子代，这种小鼠即称为HBV转基因小鼠。这种动物模型对于研究在整体动物水平HBV基因表达的调控、HBV的复制与致肝细胞病变的关系、HBV感染和宿主免疫系统的应答以及HBV感染与肝细胞癌的关系，具有十分重要的意义。HBV转基因小鼠在其出生之前就已表达HBV的有关抗原成分，因此，可形成对这些抗原的免疫耐受。这一特点使HBV转基因小鼠可以作为对HBsAg无应答的HBV慢性携带状态的模型。在某种HBV转基因小鼠中发现，肝脏中HBsAg的大量积聚可导致严重的肝细胞损伤，这与HBV慢性携带患者中观察到的因长期分泌HBsAg所致的肝细胞损伤十分类似。此外，通过给HBV转基因小鼠输入经HBV抗原刺激的不同免疫细胞组分，还可研究HBV感染的靶细胞受免疫攻击发生裂解或凋亡的不同机制。

(吕晓峰)

第三节 HBV 分子生物学与乙型肝炎的病原学诊断

检出HBV DNA是HBV感染及病毒复制的直接证据。检测HBV DNA的方法现可分为核酸杂交和核酸扩增两类。核酸杂交是指用HBV特异性的核酸探针检测待测标本中的HBV DNA分子，其特点是特异性强。其敏感性可达每份标本中0.1pg HBV DNA，相当于105个HBV拷贝。这类方法包括斑点杂交、Southern blot（核酸印迹杂交）和bDNA（分支链DNA）杂交等。核酸扩增是指在DNA引物、4种核苷酸和DNA多聚酶存在的条件下体外扩增HBV DNA，以达到用紫外光透射等常规方法即可观察结果的水平。其特点是敏感性极高，可检出相当于10~100个HBV拷贝的HBV DNA。这种方法的技术基础是聚合酶链反应，即所谓PCR方法。

根据核酸杂交和核酸扩增两种方法的特点，其应用范围有所不同，一般主张核酸杂交多用于HBV感染的诊断，而核酸扩增则多用于基础和临床科研。但也不应一概而论。如核酸杂交用于诊断较好，因其特异性强，不易出现假阳性，但在诊断HBV DNA处于低水平（低于核酸杂交法检测水平下限）的HBV感染时，仍可考虑

采用PCR法。又如在科研工作中检测肝或其他组织切片中的HBV DNA时,既可用原位PCR法,也可用原位核酸杂交法,均可获得理想结果。

在观察抗病毒治疗前后HBV DNA水平的变化时,一般也主张采用核酸杂交的方法,较易看出HBV DNA水平的变化;而核酸扩增方法十分敏感,即使HBV DNA已经很低,也很易检出,其结果与HBV DNA高水平时难以区别。但现已有资料表明,经抗HBV药物治疗后,只有HBsAg阴转者才表现为核酸扩增法HBV DNA阴性,也就是说,核酸扩增法检测HBV DNA获阴性结果,才提示体内HBV的彻底清除。因此,在抗HBV疗效观察中也可根据不同的疗效要求来选择不同的HBV DNA检测方法。近年来HBV DNA的定量检测方法不断问世,这在抗HBV疗效观察中将有重要应用价值。

(吕晓峰)

第四节 HBV 分子生物学与乙型肝炎的 免疫基因疗法

基因治疗有狭义和广义两种概念。前者是指将目的基因导入到人体的靶细胞中,使之与宿主细胞的染色体DNA整合,其后目的基因的转录或翻译产物可发挥纠正某种基因缺陷的治疗作用。后者则包括前者以及其他将目的基因导入靶细胞,但不与宿主染色体DNA整合,而其转录或翻译产物也具治疗作用的治疗方法。有人将这些与狭义或传统的基因治疗不同的治疗方法称为免疫基因疗法(immunogene therapy),其含义为利用基因进行的免疫疗法。

根据免疫基因疗法的不同作用机制可大体分为细胞内免疫(intracellular immunization)和细胞外免疫(extracellular immunization)两类。

一、细胞内免疫基因疗法

1. 淋巴因子基因抗病毒疗法:指将编码淋巴因子如IL-2的基因片段通过特定载体导入HBV感染的细胞,在细胞内IL-2的表达可有效地抑制HBV的复制。

2. 反义核酸抗病毒疗法:在DNA双链结构中,具有转录功

能的一条链称为有义链 (sense strand)，另一条链则称为反义链 (antisense strand)。研究发现反义核酸及其衍生物能够特异性地抑制细胞DNA/RNA的复制、转录和蛋白质的合成，这一作用可用于抗病毒治疗。目前，可用于抗病毒基因治疗的反义核酸，主要指反义RNA、核酶RNA和多靶位核酶RNA等RNA分子。具体治疗方法是以针对某种病毒靶基因的反义RNA、特异性核酶及多靶位核酶的编码基因为目的基因，用反转录病毒、载体加以包装，把目的基因导入靶细胞，其编码产物即可在不同环节发挥抑制病毒的作用。目前认为，多靶位核酶是抗病毒基因治疗最具前途的反义分子。已有学者设计出抗HBV的三靶位核酶RNA分子，可分别在3个靶位上切割HBV特异性RNA。

3. 反式激活缺失突变体抗病毒疗法：反式激活是指基因组转录的RNA或翻译的蛋白可激活基因组本身的复制和表达。使具有反式激活功能的RNA或蛋白质的编码基因缺失的基因组称为反式激活缺失突变体。由于失去了反式激活机制，存在这种突变体的病毒感染细胞内病毒基因组的复制及其表达就能受到抑制。HBV具有复杂的反式调节机制。已有报道称HBV的反式激活缺失突变体已构建成功，体外实验确有明显的抑制HBV复制的作用。

4. 诱导细胞自杀抗病毒疗法：即将某种引发细胞坏死或细胞程序化死亡的基因导入到细胞中，在合适的条件下引发病毒感染细胞的自杀性死亡，清除病毒感染的细胞，达到抗病毒基因治疗的目的。可引发细胞死亡的目的基因称之为自杀基因。目前，较常应用的自杀基因有HSV-1和VZV的TK基因（胸腺嘧啶核苷激酶基因）、白喉毒素基因和Fas抗原基因。

5. 胞内抗体抗病毒疗法：胞内抗体 (intracellular antibodies, 或intrabodies) 是指采用抗体基因工程技术将编码特异性抗体的基因片段导入细胞，使其在细胞内表达产生抗体。这种胞内抗体若是病毒复制或转录某一环节所需调节蛋白的抗体，则可发挥抗病毒作用。这些环节可能是蛋白质与DNA的相互作用以及细胞内酶活性的调节等。

二、细胞外免疫基因疗法

上述5种细胞内免疫基因法的共同特点是抗病毒过程和作用部位位于病毒感染的细胞内，而细胞外免疫基因疗法则指通过细胞外因