

57067

K512.6

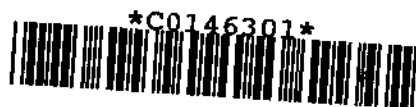
ZYS

上海市

1977年度病毒性肝炎经验交流会

资料汇编

(1977)



病毒性肝炎经验交流会编辑组



目 录

一、病毒学与免疫学

1. 肝炎病毒(HBsAg 阴性)分离探讨.....上海生物制品研究所等
2. 乙型肝炎核心抗原抗体系统的研究.....上海第一医学院流行病学教研组等
3. 乙型肝炎及 HBsAg 携带者中 ϕ 抗原系统的初步研究
..... 上海第二医学院附属瑞金医院传染病科等
4. 肝病患者甲胎蛋白测定及其临床意义.....上海市传染病院 钟家驊整理
5. 成人病毒性肝炎血清免疫球蛋白的观察.....上海市传染病院 巫善明等
6. 慢性乙型肝炎病人的特异性细胞免疫反应
..... 上海第一医学院微生物教研组等
7. 淋巴细胞转化试验对各型病毒性肝炎的检测意义
..... 上海第一医学院华山医院传染病科等
8. HBsAg 免疫豚鼠的免疫 RNA 提取与体外细胞免疫传递观察
..... 上海第一医学院微生物教研组等
9. 从免疫学观点探讨慢性乙型病毒性肝炎.....静安区中心医院内科 姚光弼
10. 甲型肝炎抗原与抗体.....上海第一医学院微生物教研组 闻玉梅
11. 非甲、非乙型病毒性肝炎.....上海市医学科学情报站 高伟士

二、流行病学

1. 上海市病毒性肝炎流行病学若干问题的研究... 上海市肝炎协作组流行病学组
2. 五例 HBsAg 阳性妊娠肝炎及携带者的家庭随访
..... 上海第二医学院附属瑞金医院传染病科等
3. 乙型肝炎垂直传播情况的初步调查.....徐汇区卫生防疫站等
4. 必须重视乙型肝炎通过注射传播的途径.....奉贤县卫生防疫站 史济弘
5. 水源中乙型肝炎病毒污染的可能性.....上海市第六人民医院检验组等

三、新针及中草药治疗

1. 走中西医结合道路,坚持用新针治疗病毒性肝炎
..... 长宁区中心医院内科肝炎病房
2. 新针治疗病毒性肝炎 868 例疗效观察.....上海市纺织工业局第二医院
3. 新针中草药治疗急慢性肝炎的疗效总结.....南市区半淞园街道医院肝炎病房
4. 穴位注射治疗肝炎小结.....卢湾区肝炎隔离室
5. 中西医结合治疗慢性肝病的点滴体会.....中山医院消化科
6. 小儿病毒性肝炎的中医辨证与机体免疫状态的初步探讨
..... 上海第一医学院儿科医院
7. 应用中草药新型制备治疗慢性肝炎的临床体会
..... 南市区斜桥地区医院肝炎专科医院

8. 中医中药治疗乙型肝炎 53 例分析

.....上海中医学院附属曙光医院内科 夏德馨 王灵台

9. 220 例慢性肝炎的辨证施治

上海后方古田医院内科 陈曙霞

10. 景垂片治疗 85 例迁慢性肝炎临床疗效及其细胞免疫状态变化的观察

.....上海中医学院附属龙华医院等

11. 清肝降酶汤治疗慢性迁延性肝炎 90 例的降酶效果观察(摘要)

.....上海市杨浦区中医医院肝病小组 朱彬彬

12. 甜瓜蒂片治疗慢性肝炎疗效观察(摘要).....

上海市传染病院 巫善明 张孝秋

13. 紫参注射液治疗病毒性肝炎的疗效总结

.....紫参临床试用小组 华山医院 郭祥惠整理

14. 复方丹参治疗黄疸型病毒性肝炎的疗效观察

上海市虹桥医院 庄昌贵

15. 北芪注射液治疗小儿病毒性肝炎(摘要).....

上海第一医学院附属儿科医院

16. 秋冬垂盆草治疗迁慢性肝炎 62 例临床疗效观察

徐汇区肝炎协作组

17. 活血化瘀治疗慢性活动性肝炎疗效观察.....

海员医院分院肝科

18. 吹鼻退黄法治疗小儿黄疸型肝炎 20 例分析(摘要)

.....上海第一医学院儿科医院

四、迁慢性肝炎的治疗

1. 病毒性肝炎的治疗.....

王青煌 郭祥惠

2. 免疫核糖核酸治疗慢性乙型肝炎的初步报告上海

.....第二医学院附属瑞金医院传染科等

3. 转移因子治疗慢性乙型肝炎的探讨

上海第二医学院附属瑞金医院等

4. 应用某些调整免疫功能药物治疗慢性肝炎的探讨

.....上海第一医学院华山医院传染病教研组 郭祥惠 徐肇珩

5. I-677 治疗慢性肝炎 197 例临床疗效观察

上海市肝炎协作组临床组

6. 免疫抑制剂治疗慢性活动性肝炎.....

上海后方古田医院内科 陈曙霞等

7. “自身”或“交叉”肝炎疫苗治疗慢肝初步探索

.....上海第二医学院附属瑞金医院传染科等

8. 双链核酸 PI:C 对慢性和迁延性肝炎的治疗效果

.....上海市卢湾区中心医院传染科等

9. 左旋四咪唑合并维生素 E 治疗乙型肝炎 46 例初步小结(摘要)

.....长白医院肝炎病房

10. D-青霉胺治疗慢性肝病的近期疗效考察

上海市虹桥医院杨金龙整理

五、重症肝炎

1. 中西医结合治疗重症肝炎 65 例的临床分析

.....上海第一医学院华山医院传染病教研组 吴鸣鹤 郭祥惠 徐肇珩整理

2. 中西医结合治疗重症肝炎 50 例的小结(摘要).....

中山医院消化科

3. 重症肝炎的激素隔日治疗.....

上海市传染病院 汤柏英等

4. 激素治疗重症肝炎 50 例临床疗效分析

上海市虹桥医院 糜竞华等

5. 中药与激素治疗重症肝炎的疗效比较

中国人民解放军 411 医院传染科

6. 重症肝炎应用激素治疗并发霉菌感染 20 例

..... 上海市虹桥医院 刘立曾 康竞华

7. 抢救两例重症肝炎的体会 中国人民解放军 109 医院传染科

六、检验

1. 血清单胺氧化酶的测定及临床意义 中山医院中心实验室等

2. 精氨酸琥珀酸裂解酶的测定及临床初步观察(摘要)

..... 上海第一医学院中山医院中心实验室等

3. 用改进的免疫粘附血凝试验检测乙型肝炎表面抗原(摘要)

..... 上海市第六人民医院检验组

4. 乙型肝炎表面抗原致敏双醛化红细胞测定乙型肝炎表面抗体方法

..... 上海市第六人民医院检验组

七、其他

1. 病毒性肝炎的病理 上海第一医学院病理解剖教研组

2. 病毒性肝炎的临床转归 杨浦区中心医院内科

3. 慢性活动性肝炎临床分析

..... 上海第一医学院华山医院传染病教研组 贺凤凤 邱祥惠 徐肇明

4. 疑肝患者随访小结 黄浦区肝炎协作组

5. 血清谷丙转氨酶轻度增高患者 140 例中的乙型肝炎感染(摘要)

..... 卢湾区卫生防疫站等

6. 慢性肝炎的诊断和预后(摘要) 上海第一医学院中山医院消化科等

7. 儿童肝电阻的初步观察 上海第一医学院儿科医院

8. 黄疸型肝炎的误诊 中山医院内科

9. 小儿误诊为病毒性肝炎 38 例分析(摘要) 上海第一医学院儿科医院

10. 无黄疸型肝炎 114 例的误诊原因分析 上海隆峰光学仪器厂医务室严忠浩等

八、题录

1. e 抗原的临床分析与初步探讨 上海市传染病院

2. 乙型肝炎 e 抗原和 e 抗体的检测 上海市虹桥医院化验室

3. 甲胎蛋白在病毒性肝炎测定及其临床意义 黄浦区传染病院等

4. 杨柳枝预防小儿肝炎 253 例观察小结(摘要) 上海第一医学院儿科医院

5. 杨柳枝预防传染性肝炎密切接触者发病情况疗效观察

..... 凤城街道医院肝炎门诊等

6. 四年来我校对传染性肝炎防治工作的体会 上海师范大学卫生组

7. 黄浦区肝炎调查报告 黄浦区街道医院七·二一医科大学第一、二期全体学员

8. 长宁区口腔科医生乙型肝炎流行病学调查 长宁区卫生防疫站等

9. 黄浦区部分街道肝炎调查小结(摘要) 黄浦区街道医院七·二一医科大学

10. 肝炎 II 号合剂治疗病毒性肝炎疗效观察 上海市虹桥医院

11. 肝炎 III 号合剂治疗病毒性肝炎疗效观察 上海市虹桥医院

12. 《肝炎 II 方》对 42 例无黄疸型传染性肝炎疗效分析(摘要) 长海医院传染科

13. 中药“茵陈汤”治疗急性病毒性肝炎 487 例疗效观察 上海市工农医院内科

14. “复方五味子片”对乙型病毒性肝炎的疗效观察
.....普陀区普陀路街道医院肝炎病房 孟克明
15. 食醋治疗急性黄疸型肝炎.....杨浦区控江地段医院肝炎病房
16. 长柄果治疗肝病黄浦区长沙路街道医院 孔筱娟
17. 珍珠层粉治疗迁慢性肝炎上海市虹桥医院 庄昌贵
18. 76724 片治疗慢性肝炎南市区肝炎协作组
19. 猪直参治疗黄疸型肝炎 6 例近期观察.....吴淞医院肝炎病房
20. 93 例急性传染性肝炎的中西医结合治疗(摘要)
.....上海后方古田医院内科 丁学屏等
21. 迁慢性 50 例中西医结合治疗的体会徐汇区中心医院内科
22. 中草药治疗慢性肝炎 100 例小结南市区周家渡地段医院 宣耀林等
23. 中草药治疗慢性肝炎上海直流电机厂肝炎防治组 张骏
24. 44 例坏死后性肝硬化腹水中医分型论治的临床分析
.....上海海员医院分院 熊庚义
25. 增强力酸在迁慢性肝细胞免疫功能低下状态的应用
.....上海市第一人民医院内科消化组
26. D-青霉素治疗慢性活动性肝病 25 例(摘要)
.....上海第一医学院中山医院消化科
27. I-677 对病毒性肝炎患者免疫功能肝排池功能及其他化验指标的影响
.....上海市虹桥医院 庄昌贵
28. I-677 治疗肝炎 48 例报告(摘要).....长白医院肝炎病房
29. 乙型肝炎表面抗原阳性者药物转阴试验 201 例随访一年的报告(摘要)
.....长白医院肝炎病房
30. 使肝平治疗病毒性肝炎疗效观察.....上海市虹桥医院等
31. 小剂量肝素治疗黄疸型病毒性肝炎的疗效观察.....上海市虹桥医院
32. 病毒性肝炎的药物治疗进展
.....上海第一医学院华山医院传染病教研组 郭祥惠等
33. 92 例重症肝炎临床分析上海闵行工农医院 戴佩莉
34. 63 例重症肝炎的临床初步分析杨浦区肝炎协作组
35. 51 例重症肝炎临床分析(摘要)上海市虹桥医院 庄昌贵
36. 重症肝炎 22 例的分析(摘要)徐汇区中心医院内科
37. 40 例重症肝炎的临床分析上海市普陀区肝炎协作组
38. 重症肝炎 33 例治疗体会中国人民解放军 109 医院传染科
39. 小剂量肝素治疗重症黄疸型肝炎.....上海市嘉定县人民医院传染科
40. 小剂量肝素治疗重症肝炎(摘要)长宁区中心医院内科 王庆华
41. 乙型肝炎病毒与原发肝癌的关系, I. 肝癌高发地区人群中乙型肝炎抗原流行情况
.....上海市第六人民医院检验组等
42. 乙型肝炎病毒与原发肝癌的关系, II. 肝癌患者及肝炎患者血清中乙型肝炎表面抗原的阳性率.....上海市第六人民医院检验组等

43. 血清谷丙转氨酶试剂配置对测定结果影响金山亭林医院 陈太金
44. 用反向间接血凝试验检测乙型肝炎表面抗原.....上海市第六人民医院检验组
45. 妊娠期 SGPT 升高的调查.....妊娠肝炎协作组
46. 急慢性肝炎的传染性.....长宁区卫生防疫站等
47. 传染性肝炎 31 例远期预后观察上海市第一人民医院
48. 小儿 HBsAg 携带者随访观察一年小结上海第一医学院儿科医院
49. 病毒性肝炎并发急性出血性坏死性胰腺炎 1 例.....黄浦区传染病院

一、病毒学与免疫学

肝炎病毒(HBsAg 阴性)分离探讨

上海生物制品研究所 上海第一医学院儿科医院
徐汇区中心医院 武夷路地段医院
上海电业职工医院 华阳路地段医院

如所周知,病毒性肝炎除已知的甲型肝炎、乙型肝炎外,尚有非甲、非乙型肝炎病毒所致的肝炎。鉴于目前对乙型肝炎病毒的研究已有较好的开端,而对 HBsAg 阴性的肝炎病毒认识尚浅。因此我们于七四年十月起着手从 HBsAg 阴性的肝炎病儿粪便中分离病毒。现将试验结果初步报告如下。

材料和方法

一、粪便标本采集 选择发病在10天以内病毒性肝炎症状典型的病孩(HBsAg 阴性,发病前三个月内未输过血或注射丙种球蛋白者),留粪便量不少于40克,装入洁净的广口瓶中,包扎严密后低温保存。

二、粪便滤液制备 取化冻后的粪便40克,加灭菌生理盐水制成10%悬液,充分搅拌均匀,以每分钟3000转速离心30分钟,上清液通过多层纱布过滤,将滤液装入透析袋中,经生理盐水充分透析,去除粪便悬液中对培养细胞有毒性的物质。然后将透析袋放在聚乙二醇中浓缩约10倍,再以每分钟3000转速离心30分钟,上清液通过6号玻璃砂芯过滤器过滤,除菌的滤液留作接种组织培养分离病毒用。

三、人胚肾单层细胞培养 取健康孕妇经水囊引产的3~7月令人死胎,无菌术取出肾脏,剪成1~2毫米大小组织块,加胰酶消

化成单个细胞,以10%小牛血清水解乳蛋白Hanks液作营养液,放34°C静止培养,待细胞长成单层后备用。

四、病毒分离 将除菌的粪便滤液接种人胚肾单层细胞,每管0.5毫升,共种4管,逐日观察细胞病变,共14天。若无特殊变化,则将此第一代细胞培养物冰冻融化后再盲传第二代,观察细胞病变14天,若无病变则判阴性结果。

五、乳鼠毒力试验 新分离的病毒株在人胚肾细胞连续传3代,将其病毒悬液接种带母鼠的新生(一日令内)小白鼠,每只脑内接种0.02毫升,腹腔0.1毫升,共10只,观察21天。

六、豚鼠免疫血清制备 将新分离的毒株取其适量病毒悬液与等量30%羊毛脂石蜡油佐剂充分混匀乳化,使每毫升乳剂含有卡介苗0.5毫克,接种体重约450克雄性豚鼠腹股沟两侧各1毫升,间隔3周,重复加强免疫一次,7~10天后放血,分离血清,用前血清经56°C水浴灭能30分钟。

七、脊髓灰质炎I、II、III型猴免疫血清(批号依次为:72M1、72M5、72M9)及肠道病毒兔免疫血清(A至H)共8组(批号为73-2)均购自昆明医学生物研究所。

八、肝炎病人双份血清 以HBsAg阴性的肝炎患者(包括成人、儿童)为对象,采集其急性期(发病初期、SGPT异常)及恢复期

(SGPT 已恢复正常,即将出院)的血清,供测定对新分离可疑毒株的中和试验,用前血清均经 56°C 水浴灭能 30 分钟。

九、中和试验 采用人胚肾单层细胞。基本上按昆明医学生物研究所编写的《病毒实验诊断技术》进行。

结 果

一、分离病毒与病例分析 从 20 份肝炎(HBsAg 阴性)患儿的粪便悬液中,我们共分离到 4 株对人胚肾单层细胞有致病变的毒株(表 1)。病变出现有在第 1 代第 2 天(如 S16 株);有第 8 天(S2 株);第 9 天(S109 株);也有在盲传至第 2 代出现病变的(如 S1 株)。这 4 株病毒的 4 个病例,其病史均符合急性病毒性肝炎的,如发热、纳呆、恶心、黄疸等。其中 2 例(住院号 74-3346、75-3613)有肝炎接触史。入院时 SGPT 均大于 200 单位,无其他呼吸系统、神经系统或肠道感染的症状。4 例起病急,恢复快,入院时病程均在 7 天以内,肝功能于病程第 10~38 天恢复正常,住院 25~35 天(这与隔离期要求 30~35 天有关),出院时肝脏均有不同程度的缩小,肝质地恢复正常。入院时血白细胞分类,4 例中有 3 例呈淋巴细胞相对增高的阶段,亦符合病毒性肝炎急性期的表现,住院期间共检查 HBsAg 3 至 4 次,始终为阴性。根据祖国医

学的辨证分型均属湿热型,是符合急性黄疸型肝炎的。

二、毒株的生物学性 病毒 S1 株、S16 株及 S109 株在人胚肾单层细胞上连续传代后镜检病变均表现为小珠状、折光感强,其中 S16 株病变发展极为迅速,对细胞破坏性强,滴度较高,每 0.1 毫升 TCID₅₀ 可达 8.50 左右。S1 与 S109 株的细胞病变进展较慢,细胞维持也较久,滴度均在 6.50 左右。上述 3 株病毒均可感染人胚肺双倍体细胞产生珠状病变。S2 株的细胞病变与前 3 株病毒不同,在人胚肾单层细胞的病变呈圆珠状,较大。病变进展速度比 S16 株慢,但较 S1、S109 株快。每 0.1 毫升 TCID₅₀ 为 6.5 左右。S2 株病毒在人胚肺双倍体细胞上不能产生明显的病变。

4 株病毒接种乳鼠脑内及腹腔后,观察 3 周,均未见小白鼠出现四肢麻痹、瘫痪或病死等现象。

脊髓灰质炎 I、II、III 三型免疫血清对病毒 S109、S1、S16 及 S2 株均无中和作用。肠道病毒免疫血清对 S109、S1、S16 株在人胚肾单层细胞上出现病变的时间延迟,似与肠道病毒有共同抗原,但 8 个组的肠道病毒免疫血清均有类似中和现象,故无法定型。肠道病毒免疫血清不能中和病毒 S2 株,因此 S2 株与肠道病毒抗原无相似之处。

三、病毒的耐热性 进行耐热试验的病毒悬液不含动物血清,试验前将病毒悬液离心沉淀去除细胞碎片,病毒液以 Hanks 液稀释 10 倍后分装容量为 5 毫升的安瓶,每瓶 2 毫升。封闭瓶口后放入指定温度、不同时间试验。结果 4 株病毒的耐热性在 37°C 至少可存活 10 天,其中 S1 株于 56°C 加热 45 分钟后接种人胚肾单层细胞第 1 代未见病变,盲传至第 2 代于 24 小时后即见小珠状细胞病变。

四、毒株间交互中和试验 将病毒 S109、S1、S16 及 S2 株分别免疫豚鼠制成的

表 1 病毒分离

患儿住院号	粪便标本编号*	在人胚肾细胞上出现病变的		细胞病变特点
		代数	天数	
74-3346	S109	1	9	圆珠状病变
75-2992	S1	2	4	圆珠状病变
75-3136	S2	1	8	不同大小的圆珠状病变
75-3613	S16	1	2	圆珠状病变

* 亦即病毒株的编号。

免疫血清与其毒株及其他各株进行交互中和试验。结果 S109、S1、S16 的 3 株病毒均有共同的抗原性,而病毒 S2 株的豚鼠免疫血清对 S109、S1、S16 的 3 株毒株不能中和; S109、S1、S16 的 3 株毒株的豚鼠免疫血清也不能中和 S2 株病毒。由此进一步证明病毒 S2 株与 S109、S1 及 S16 的 3 株毒株的抗原性是不相同的。

五、毒株与病毒性肝炎 (HBsAg 阴性) 的关系 我们收集了 14 例成人、9 例儿童病毒性肝炎 (HBsAg 阴性) 患者的急性期和恢复期血清,与病毒 S109、S1、S16 及 S2 株进行血清中和试验。结果 23 例双份(包括急性期与恢复期)血清几乎对 S109、S1、S16 株病毒均有显著的中和作用,而对病毒 S2 株却出现不同程度的中和。表 2 中 9 例病儿有 1 例、14 例成年病人有 2 例恢复期血清中和抗体对病毒 S2 株有 4 倍升高(13%)。由于血清量不足,血清稀释度只能从 1:10 开始,结果 9 例病儿中有 1 例、14 例成年病人中有 2 例恢复期血清对 S2 病毒出现可疑的中和现象。

表 2 肝炎病者 (HBsAg 阴性) 双份血清(急性期与恢复期)对 S2 毒株的中和作用

对 S2 毒株的中和作用	病 例 数		共 计	
	儿童	成人	病例数	%
恢复期血清抗体 4 倍升高者	1	2	3	13
恢复期血清抗体升高可疑者*	1	2	3	13
恢复期血清抗体未见升高者	7	10	17	74
共 计	9	14	23	100

* 指病人急性期中中和抗体 < 1:10, 恢复期中中和抗体 1:10。

讨 论

据长期来临床和流行病学研究观察,推测除甲型和乙型肝炎病毒可引起人类病毒性

肝炎外,有可能存在其他致人类肝炎的病毒。试图从病毒性肝炎病人的标本中分离肝炎病毒,国内外做了大量的研究工作。挽近, Mosley 等报导 13 名共受 30 次急性病毒性肝炎病毒感染发作的病人,其中有 2 次(7%)是由甲型肝炎病毒所引起的感染,12 次为乙型肝炎病毒(40%)。然而无一例患者在血清学上能证明其遭到甲型或乙型肝炎病毒一次以上的感染。这样有 16 次的感染(53%)不是由于甲型或乙型肝炎病毒所引起。这些“非甲、非乙”的肝炎病毒也不是传染性单核细胞增多症或巨细胞病毒的感染。因而推测尚有其他型别的病毒引起肝炎。

本文报导了从急性病毒性肝炎 (HBsAg 阴性) 患儿粪便中分离到 4 株病毒。这 4 株病毒除 S1 与 S16 株病毒外,从肝炎病儿粪便中分离到的 S109 与 S2 株病毒,曾分别在它们的急性期与恢复期采血,并证明恢复期血清中和抗体比急性期有显著(4 倍以上)增高。这反映 S109 及 S2 株病毒确系病人发病期间所分离到的病毒。

在 23 例 HBsAg 阴性的病毒性肝炎患者急性期、恢复期的双份血清中有 3 例病人恢复期血清对病毒 S2 株有 4 倍中和抗体增高,3 例可疑。我们认为病人恢复期血清对 S2 株病毒有不同程度的中和,除了病人有并发感染的可能外,尚难排除其为人类某些病毒性肝炎病原之一。由于动物模型缺如,目前尚无法证实。但在试验中我们观察到在人胚肺双倍体细胞上无明显病变的 S2 株病毒,通过人淋巴细胞培养后再移种到人胚肺双倍体细胞即可出现广泛而显著的大珠状病变,这在发病机制上的实际意义有待深入研究。

小 结

本文报导了从 20 例急性、早期、症状典型的病毒性肝炎 (HBsAg 阴性) 患儿的粪便中分离出 S109、S1、S16 及 S2 等 4 株病毒。其

中 S109、S1 及 S16 等 3 株病毒可能与肠道病毒有关。不属于肠道病毒的 S2 株与 23 例病毒性肝炎 (HBsAg 阴性) 患者的恢复期血清有 3 例中和抗体 4 倍升高 (13%), 3 例可疑

(13%)。根据肝炎病人恢复期血清对 S2 株病毒有不同程度的中和, 除有可能病人偶合感染外, 尚难排除其为人类某些病毒性肝炎的病原。

乙型肝炎核心抗原抗体系统的研究

上海第一医学院流行病学教研组 上海市卫生防疫站
上海市闸北区中心医院 上海第一医学院生物物理教研组

乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 和乙型肝炎核心抗原 (HBcAg) 是乙型肝炎病毒 (HBV) 两种不同的抗原抗体系统。表面抗原的抗原性是由球形、管形和大颗粒 (常称为 Dane 颗粒) 的外壳共同参与的。核心抗原的抗原性则由乙型肝炎病毒的核心, 即 27 毫微米左右的核壳体 (Nucleocapsid) 所构成。近年来研究指出, 乙型肝炎核心抗体的出现可作为乙型肝炎病毒在体内繁殖的标记。由于核心抗原抗体系统的检测方法不断改进, 目前已广泛应用于临床诊断、流行病学调查、疫苗安全性测定以及研究乙型肝炎病毒基础理论等方面。

1976 年起我们从尸解肝组织中提取得乙型肝炎核心抗原, 应用补体结合试验 (下称补结) 方法测定了上海市不同人群乙型肝炎核心抗体的情况, 并初步制备了豚鼠乙型肝炎核心抗体。现将研究结果汇报如下。

方法及材料

一、核心抗原的提取及纯化

1. 肝脏来源: 从 5 例重症肝炎, 4 例肝硬化, 2 例 HBsAg 携带者中取得尸解肝脏, 这些死者生前血清或死后从血清或组织液中均可检出乙型肝炎表面抗原。尸解距死亡时间, 最短的 3 小时, 最长的 22 小时。保存 -20°C 冰箱备用。

2. 肝匀浆制备: 先将肝组织去除结缔组织及脂肪, 剪成 0.5~1 厘米大小的组织块, 生理盐水洗涤一次 (内含庆大霉素 50 毫克/毫升), 去除部分血液及胆汁, 再用剪刀剪成 2~3 毫米大小的碎粒, 加等量生理盐水, 置组织捣碎器中捣碎。每次 30 秒, 间歇 1~2 分钟, 共 3 次。制成 50% 肝匀浆, 分装小瓶置 -20°C 冰箱保存。

3. 超速离心: 50% 肝匀浆加等量 0.1% Pronase E (西德 Merck 出品, 用蒸馏水配制, pH7.4), 放 37°C 水浴 1 小时, 并不停地振荡使肝组织溶解, 肝细胞破裂, 再置 4°C 过夜。次日吸取上清液及沉淀物的表面膜。超速 25000 转/分 (75000g) 离心 2 小时, 弃去上清液, 沉淀物加少许蒸馏水, 搅拌均匀再置 4°C 中 2~4 小时, 使肝细胞核破裂, 释放出核心抗原颗粒, 然后用低速 (8000 转/分) 离心 20 分钟去除较大的组织块, 上清液再进行 40000 转/分 (110000g) 离心 2 小时, 使乙型肝炎核心抗原颗粒沉淀下来。沉淀物最后按每 2 克肝组织加 1 毫升蒸馏水量稀释, 即为提取的粗制乙型肝炎核心抗原, 可供补体结合试验时使用, 分装试管置 -20°C 保存。

补结试验中使用的对照正常肝抗原系用正常人肝组织, 按上法同样处理。

二、核心抗原电镜及免疫复合物检查

1. 直接电镜: 将提取的核心抗原液悬滴

于石蜡玻片上,用炭膜支持的电镜铜网覆盖于悬滴上10分钟,再用2%磷钨酸负染20分钟。置日本Hitachi-11A电镜下3万倍观察。

2. 免疫电镜:将粗制核心抗原(补结滴度1:256)用生理盐水1:8稀释,吸取0.5毫升加等量的人核心抗体血清(补结滴度>1:32),放37°C水浴中1小时,再置4°C过夜,4000转/分离心30分钟,弃去上清液,沉淀物用蒸馏水反复洗二次。最后加1~2滴蒸馏水,悬滴在石蜡玻片上制作电镜铜网,方法同上。

三、氯化铯同密度沉降平衡法测定核心抗原浮密度 将上述粗制核心抗原(补结滴度1:96)与氯化铯(A. R级)均匀混合配制成密度为1.32克/立方厘米悬液,吸10毫升悬液加到16.5毫升离心管中,上层加6毫升石蜡油置于MSE75型制备离心机水平转头中,28000转/分(100000g),超离24小时,用自制梯度收集仪计滴分段收集梯度材料,每段用Abbe折射仪恒温25±1°C下测定折射率,计算每分段氯化铯的密度。再将每分段材料定量装入透析袋内,在4°C下用1000毫升巴比妥盐水缓冲液透析24小时,其间换液1~2次。经透析后,分段材料用补体结合法测定核心抗原滴度及电镜观察。

四、肝组织电镜超薄切片观察 肝组织先经pH7.2磷酸缓冲液配制的2.5%戊二醛溶液固定。经磷酸缓冲液冲洗后,再以磷酸缓冲液配制的2%锇酸重固定一小时。然后酒精脱水,包埋于Epon 812。超薄切片,经饱和醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。使用JEM-100B电子显微镜观察。

五、动物核心抗体制备 500~600克重的雄性豚鼠在两侧腹股沟淋巴结各注射Freund完全佐剂加等量经氯化铯平衡离心后,补体结合试验及电镜均证实有核心抗原存在的分段材料混悬液(0.5毫升)。一月后在腋下淋巴结按上述剂量再加强一次,共2

次,末次加强后一个月抽血测定核心抗体。

六、血清学方法 本文报告的血清标本采用反向间接血凝法(RPHA)检测乙型肝炎表面抗原,用间接血凝法(PHA)检测乙型肝炎表面抗体,均以 $\geq 1:8$ 的滴度作为阳性。核心抗原及核心抗体的测定采用小量法补体结合试验。每次试验前进行溶血素及补体滴定,正式试验时溶血素应用2个单位,补体应用2个单位。被检血清、核心抗原或抗体、正常肝抗原经56°C30分钟灭活。血清由1:4开始倍比稀释到1:32。每管加稀释血清0.1毫升,核心抗原粗制液0.1毫升(8~16个单位)、补体0.2毫升。4°C冰结合过夜。次日取出放置37°C水浴中30分钟,加1%致敏羊血球0.2毫升,再放37°C水浴30分钟观察结果。判读结果时以血清滴度 $\geq 1:8$ 时为阳性。在正式试验时每份血清标本同时做不同血清稀释度的血清对照管及正常肝抗原对照管。正常肝抗原稀释度同核心抗原。在补结法滴定核心抗原时,用含4个单位核心抗体的人血清进行滴定。

结 果

一、尸解肝脏提取乙型肝炎核心抗原

对5例重症肝炎、4例肝硬化以及2例HBsAg携带者应用肝匀浆酶消化超速离心

表1 11例尸解肝提取核心抗原结果

尸解肝号	临床诊断	性别	年龄	直接电镜	补结滴度
肝5号	重症肝炎	男	32	-	1:256~512
肝8号	重症肝炎	男	64	+	1:256~512
肝9号	重症肝炎	男	90	-	—
肝12号	重症肝炎	男	54	+	1:96~256
肝17号	重症肝炎			+	1:8
肝10号	慢性黄疸、腹水	男	30	-	—
肝13号	肝硬化、腹水	男	30	-	—
肝14号	肝硬化、肺癌	男	65	+	1:16
肝20号	肝硬化	男	30	+	—
肝18号	HBsAg携带者	男	20	-	—
肝24号	HBsAg携带者	男	20	-	—

的方法提取核心抗原,以重症肝炎组患者肝脏核心抗原检出率最高,其中3例直接电镜找到乙型肝炎核心抗原颗粒,4例核心抗原补体结合试验阳性。

电镜下观察到核心抗原颗粒直径为25~27毫微米,这些圆球形颗粒具有刺状突起,形成粒状表面,粗看宛如杨梅。

为了进一步证实核心抗原的特异性,我们曾对12号肝超速离心材料与含有核心抗体的人血清(慢性HBsAg携带者血清)作免疫电镜检查。在免疫复合物中含有27毫微米左右的核心抗原颗粒,成堆聚集,颗粒表面的粒状突起同样较为明显。

12号肝组织经上海实验生物研究所协助超薄切片电镜观察核心抗原的定位情况。结果可见肝组织大部分细胞有病变,肝细胞中细胞器减少或不存在。少数肝细胞中可见到核心抗原颗粒,它不同于肝糖或核糖蛋白体颗粒。胞核中的颗粒,粒粒清晰可辨,无包膜,单独或成群存在。颗粒呈圆形,椭圆形或稍具有棱角,大小不一致,约25~28毫微米。其中较大颗粒电子密度大,较小颗粒中心部分电子密度小,似空心颗粒,少数颗粒表面有刺样突起,成堆存在颗粒的四周有无定形基质环境。胞质中颗粒大部分存在于囊泡、粗糙型内质网或组织坏死区域。颗粒形态与核中较大颗粒相似。

8号肝粗制核心抗原经氯化铯同密度沉降平衡法测定,离心管中氯化铯自然形成梯度,其密度范围由1.27~1.41克/立方厘米。各分段检测结果,乙型肝炎表面抗原因其浮密度较低,可与乙型肝炎核心抗原分离开来。电镜观察与补体结合试验的结果,核心抗原浮密度主要分布在1.367~1.38克/立方厘米。在密度为1.346~1.367克/立方厘米的分段中核心抗原颗粒在电镜下呈大片密集分布。

二、制备豚鼠核心抗体 用经氯化铯同密度平衡离心纯化的核心抗原,由上海生物

制品研究所协助免疫豚鼠3只,均获得核心抗体。补体结合试验的滴度,1只为1:16,2只为 $\geq 1:32$,用间接血凝方法未测得乙型肝炎表面抗体。

三、不同人群核心抗体的检测 用12号肝粗制核心抗原对正常人、迁慢性肝炎、乙型肝炎表面抗原携带者及原发性肝癌的对象进行了核心抗体的测定。正常人选自某学院体检职工共14名,以往无急性肝炎史,乙型肝炎表面抗原、抗体均为阴性。迁慢性肝炎为医院门诊及住院病例共40例,病程均在6个月以上,本次检查时谷丙转氨酶均大于40单位,HBsAg均阳性,表面抗体均为阴性。乙型肝炎表面抗原携带者均为健康献血员,共42例,以往无急性肝炎史。原发性肝癌共检测11例,为中山及肿瘤医院住院病例,AFP均为阳性,其中7例HBsAg阳性,4例HBsAg阴性。为了避免表面抗体在补结方法中的干扰,对上述四组对象事先经过筛选,以无表面抗体者作为核心抗体测定的对象。

不同人群核心抗体检测结果,14例正常人群均为阴性,迁慢性肝炎及携带者的阳性率分别为57.5%及61.9%,而在肝癌组中,核心抗体阳性率高达81.8%。三组中核心抗体补结滴度的几何平均数未见明显差异(表2)。

表2 不同人群核心抗体检测情况

组别	受检人数	核 心 抗 体		
		阳性人性	%	几何平均滴度
迁慢性肝炎	40	23	57.5	1:7.2
HBsAg携带者	42	26	61.9	1:8.6
原发性肝癌	11*	9	81.8	1:12.6
正常人	14	0	0	0

* 肝癌11例中,有4例乙型肝炎表面抗原阴性,其中2例核心抗体阳性

讨 论

1970年Dane从乙型肝炎病人血清中查到40~42毫微米颗粒(后来常称Dane颗

粒), 一般认为是乙型肝炎病毒的完整颗粒。它由 7 毫微米外壳和 28 毫微米内核组成, 内核又由许多五、六面体组成立体对称结构。1971 年 Almeida 用吐温 80 裂解 Dane 颗粒。经免疫电镜方法证实 Dane 颗粒外壳和内核的抗原性不同, 首先指出内核抗原是乙型肝炎病毒的第二抗原-抗体系统(即核心抗原抗体系统)。提纯核心抗原, 国外常用经连续区带离心方法先提取血浆中 Dane 颗粒, 然后裂解而成; 或从感染乙型肝炎病毒的猩猩肝脏及人尸检肝脏内应用超速离心方法大量提纯核心抗原, 我们从尸解肝脏中提取核心抗原成功, 特别是从 HBsAg 阳性的重症肝炎患者尸解肝脏中提取阳性率更高, 为今后进一步广泛研究乙型肝炎核心抗原、抗体系统提供了材料来源。

在本文报告的 8、12、17、20 号肝组织经 pronase 酶消化超速离心后, 可在电镜中观察到核心抗原样颗粒, 大小及形态与文献报告相似。与人核心抗体作用后可形成免疫复合物, 免疫电镜下可见凝集的核心抗原颗粒, 表面呈现刺状突起。在 12 号肝组织的超薄切片中肝细胞核内及浆内均见到 25~28 毫微米的核抗原样颗粒, 呈小团状存在。这与文献报告应用免疫荧光法证实核心抗原主要分布在胞核内的结果是一致的。所以从形态及定位来看, 这类颗粒象是乙型肝炎的核心抗原。

我们还对 8 号肝粗制的核心抗原颗粒进行了浮密度的鉴定, 结果与文献报告关于核心抗原浮密度的分布范围接近。经补体结合试验测定, 核心抗原颗粒在氯化铯中密度为 1.367~1.38 克/立方厘米。电镜观察到的核心抗原密度范围分布较广, 从 1.346 克/立方厘米到 1.367 克/立方厘米。Fields 报告从感染肝细胞核中分离的核心抗原浮密度为 1.33 克/立方厘米。Kaplan 也曾报告从 Dane 颗粒中分离到的核心抗原密度有 1.36 克/立方厘米及 1.30 克/立方厘米两种, 前者具有

DNA 多聚酶活力, 后者都无 DNA 多聚酶存在。

经氯化铯梯度密度离心的纯化核心抗原免疫豚鼠后, 可获得单价核心抗体。本文用补体结合试验测定核心抗体, 结果正常人阴性, 慢性迁延性肝炎患者及 HBsAg 携带者核心抗体阳性率在 60% 左右, 肝癌组为 80% 左右。从血清学试验及动物免疫的结果也可进一步提示, 本文从尸解肝脏中提取到的核心抗原样颗粒, 就是乙型肝炎核心抗原。

有人报告慢性肝炎患者及 HBsAg 携带者核心抗体阳性率可高达 90~100%, 个别补结滴度可达 1:2048。但本文测定结果, 四组人群的核心抗体阳性率及平均滴度均较国外报道为低, 主要的原因可能与应用过多的核心抗原有关。Hoofnagle 用补结法测定核心抗体时核心抗原采用 2~4 单位。本文开始研究时因无参考核心抗体血清, 只能是先盲目稀释核心抗原, 以后用测出含核心抗体的人血清进行滴定, 才发现最初使用抗原单位为 16 单位。此外, 本文血清最高稀释度为 1:32, 在 58 例核心抗体阳性者中, 有 16 例 (27.5%) 滴度 >1:32, 而在统计时, >1:32 滴度对象均作 1:64 计算, 这样也可能是降低核心抗体平均滴度的又一原因。

在本文报告的 11 例肝癌中有 7 例表面抗原阳性, 这 7 例核心抗体均为阳性, 而 4 例表面抗原阴性者中亦有 2 例核心抗体阳性, 总的核心抗体阳性率高达 81.8%, 与有些资料报告关于东南亚、马来西亚、香港等地肝癌病人核心抗体情况相同。核心抗体的出现可视为乙型肝炎病毒最近或正在感染的一个指标。肝癌患者乙型肝炎核心抗体阳性率较高, 似与乙型肝炎感染有一定的联系。今后在进行肝癌病因研究时, 可考虑将核心抗体的检测作为指标之一。

本文使用补结法测定核心抗体虽不如放射免疫或免疫粘附血凝试验那样敏感, 但在抗原纯度不太高时, 此法也较为常用。从肝

脏中提取的粗制核心抗原,即可使用。本文报道的粗制核心抗原虽然有的肝脏批号含有一定量的表面抗原,但其含量较少,在检测核心抗体时不足以影响其特异性。以12号肝粗制核心抗原为例,补体结合滴度为1:96,而用反向间接血凝测定表面抗原滴度为1:16。当补结试验时采用核心抗原滴度为8~16单位时,表面抗原滴度已稀释到1:1~1:2。用这样的核心抗原与单向羊的乙型肝炎表面抗体(对流滴度1:16)同样进行补体结合试验时结果为阴性。

检测核心抗原抗体系统对乙型肝炎流行

病学研究、临床诊断、预后判断、筛选血源,进一步减少输血后肝炎的发生等都是极为需要的特别是当前国内外正在研制乙型肝炎表面抗原亚单位疫苗,为了确保实验疫苗的安全性,在皮下或皮内接种后必须定期检测核心抗体情况,累积科学的数据,从而考核灭活疫苗的安全性,以保障广大人民的身体健康。

注:本文研究过程中,上海实验生物研究所、上海生物制品研究所、农科院畜牧兽医研究所、上海市第六人民医院检验组、上海第一医学院病理教研组给予技术上指导及帮助。上海第一医学院华山、中山医院、市传染病院以及工农、虹桥、卢湾区中心、上海县中心、监狱、肿瘤医院等提供尸检肝脏及血清标本。

乙型肝炎及HBsAg携带者中e抗原系统的初步研究

上海第二医学院附属瑞金医院传染病科 上海第二医学院电镜室、超离室
上海第三钢铁厂保健站 上海市卢湾区肝炎隔离室

Magnius 和 Espmark (1971) 在 HBsAg 阳性血清中发现一组新的抗原抗体系统,并命名为“e”。以后的作者指出了 e 抗原抗体系统仅和 HBsAg 系统同时存在,并认为 e 抗原的存在与肝功能损害、肝组织学异常及预后相关,而 e 抗体的意义则相反。近年来也有认为这种相关不是绝对的。我们于 1977 年 4 月至 1977 年 11 月对乙型肝炎患者及乙型肝炎表面抗原(下称 HBsAg)携带者 480 例、HBsAg 阴性肝炎患者 150 例及健康者 66 人作了 e 抗原抗体(下称 eAg-eAb)的测定,并对 25 份血清标本作了电子显微镜观察,现初步报告如下。

资料及方法

一、检查对象

1. 乙型肝炎组,符合上海市肝炎诊断标准,HBsAg 阳性(包括过去 HBsAg 阳性目前已阴转)者列入乙型肝炎组。根据病情分为急

性肝炎(急性期、恢复期)、迁延性肝炎(活动期、稳定期)、慢性肝炎(活动期、稳定期)。1975、1976、1977 年普查中发现肝功能轻度异常、HBsAg 阳性,但无明显肝炎症状和体征者作为亚临床型肝炎。有肝炎病史、肝质地较硬、有肝掌或/及蜘蛛痣、絮状试验和浊度试验呈强阳性、血清白蛋白 <3 克%、A/G 明显倒置、血清蛋白电泳 $\gamma > 25\%$ 、HBsAg 阳性者为肝硬化。若有黄疸、腹水则为肝硬化失代偿期。有肝炎史但近两年肝功能连续正常而 HBsAg 仍阳性者为肝炎痊愈。

2. HBsAg 携带者组:无肝炎的病史、症状、体征,在 1976、1977 年普查中肝功能正常,但 HBsAg 阳性者。

3. HBsAg 阴性肝炎组:肝炎病人经 HBsAg 两次以上检出均阴性者。

4. 健康人:无肝炎史、体检正常,HBsAg 阴性者。

对上述检查对象作 HBsAg 及 eAg、eAb 测定。

表1 e抗原系统和各类肝炎肝病的关系

类 型		HBsAg	检 查 数	eAg	eAb
急 肝 急 性 期 恢 复 期	+		23	4 (17.4%)	1 (4.5%)
			22	1 (4.5%)	
迁 肝 活 动 期 稳 定 期	+		58	18 (31.0%)	10* (14.1%)
			71	1 (1.4%)	
慢 肝 活 动 期 稳 定 期	+		19	4 (21.1%)	3** (11.1%)
			27	2 (7.4%)	
肝硬化 代 偿 期 失 代 偿 期	+		6	2 (33.3%)	1 (16.6%)
			3	0	
亚临床型肝炎		+	12	2 (16.7%)	2 (16.7%)
肝炎痊愈		+	20	2 (6.7%)	2 (6.7%)
HBsAg 携带者		+	206	27 (13.1%)	35*** (17.0%)
肝癌		+	3	0	0
HBsAg (-)肝炎		-	150	0	0
健康人		-	66	0	1

* 以往HBsAg(+)目前已(-)3例

** 以往HBsAg(+)目前已(-)1例

*** 以往HBsAg(+)目前已(-)2例

二、血清学方法

1. HBsAg 测定用 R-PHA 法。

2. e 抗原抗体测定用 AGD 法, 参比血清经上海市肝炎协作组检验组鉴定, 琼脂成分: 0.001M Tris 0.15M NaCl 2% 聚乙二醇 2% 葡聚糖 0.9% 琼脂糖 pH7.6。

三、电镜检查方法 血清经超速离心处理, 以 4% 磷钨酸 (pH6.4) 作负染色 (用 DXA 2-8 电镜观察并鉴定: 球形 D20~25 毫微米, 管形 D20×50~230 毫微米, Dane 氏颗粒 D42 毫微米。

结 果

一、e 抗原抗体系统和乙型肝炎各临床类型及 HBsAg 携带者的关系 对 HBsAg ≥ 1:16 (R-PHA 法) 者 480 例次作 eAg-eAb 检查, eAg 阳性者 63 例 (13.13%), eAb 阳性者 54 例 (11.25%), 二者共计为 117 例 (占 24.38%)。按临床类型分析, e 抗原阳性率

依次为迁、慢肝 (14.7%、13.0%) > HBsAg 携带者 (13.1%) > 急肝 (11.1%); 肝硬化及亚临床类型检查人数较少, 分别为 22.2% 及 16.7%; 乙型肝炎组 (包括各临床类型) 和 HBsAg 携带者组比较无明显差异 ($P > 0.05$), 以急肝、迁肝、慢肝间比较亦无显著差异 ($P > 0.05$)。

值得注意的是 eAg 阳性率急性肝炎组急性期 > 恢复期 ($P < 0.05$), 迁肝组活动期 > 稳定期 ($P < 0.001$), 慢肝组活动期 > 稳定期 ($P < 0.05$), 均有显著差异或非常显著差异; eAb 仅在恢复期和稳定期出现。说明 eAg 与 HBV 增殖似有一定关系。

在 HBsAg 阴性肝炎的 150 例中无一例 eAg 阳性, 在 HBsAg 阴性的健康人中仅一例 eAb 阳性, 说明 eAg、eAb 仅在过去或现在 HBV 感染的人群中出现 (表 1)。

二、e 抗原抗体系统和性别、年龄关系 从性别分组来看 (表 2), eAg 及 eAb 在性别间无显著差异 ($P > 0.05$)。从年龄分组来看

(表3), 在各组间有非常显著差异 ($P < 0.01$)。而 eAb 阳性率则示相反现象, 其在各组间亦有非常显著差异 ($P < 0.01$)。由此可见 eAg 随着年龄增长阳性率减少, 而 eAb 随着年龄的增长而阳性率增高。

表2 e 抗原系统和性别关系

性 别	检查数	eAg(+)数(%)	eAb(+)数(%)
男	400	50 (12.50)	45 (11.25)
女	80	13 (16.75)	9 (11.25)
合 计	480	63 (13.13)	54 (11.25)

表3 e 抗原系统与年龄关系

年龄组	检查数	eAg(+)数(%)	eAb(+)数(%)
15—	8	2 (25)	
20—	180	36 (20.0)	12 (6.67)
30—	127	11 (8.66)	12 (9.45)
40—	125	12 (9.60)	22 (16.60)
50—	40	2 (5.0)	8 (20.00)
合 计	480	63 (13.13)	54 (11.25)

三、e 抗原抗体系统与 HBsAg 效价的关系 eAg 的检出率是: HBsAg 效价 1:16~128 时为 4.69% (3/64); 1:256~2048 时为 7.21% (8/111); ≥ 4096 时为 17.45% (52/298), 三者有非常显著差异 ($P < 0.001$)。

eAb 的检出率是: HBsAg 效价 1:16~128 时为 1.56% (1/64); 1:256~2048 时为 17.12% (19/111); $\geq 1:4096$ 时为 9.06% (27/298)。

由此可见, HBsAg 的效价与 eAg、eAb 检出率有密切关系。HBsAg 效价越高, eAg 检出率也越高, 而 HBsAg 效价过低或过高则 eAb 检出率均较低(表4)。

表4 e 抗原系统与 HBsAg 效价关系

HBsAg 效价 (R-PHA 法)	检查数	eAg(+)数(%)	eAb(+)数(%)
(-)	222	0	7* (3.15)
1:16~1:128	64	3 (4.69)	1 (1.56)
1:256~1:2048	111	8 (7.21)	19 (17.12)
$>1:4096$	298	52 (17.45)	28 (9.36)

* 其中有 4 例抗-HBs 阳性。

四、e 抗原抗体系统与 Dane 颗粒关系 电镜检查 25 例血清, 在 17 例 eAg 阳性者中, 16 例见到 Dane 颗粒(图 1, 见插图 2); 8 例 eAb 阳性者中均未见到 Dane 颗粒, 管型亦少(图 2, 见插图 2)。说明 eAg 可作为血清是否具有感染性的指标之一, 其检测方法比 Dane 颗粒简单得多。

五、e 抗原抗体系统与 IgG 及 RF 的关系 测 16 例 eAg 阳性肝炎患者及携带者的 IgG, 14 例在正常范围内, 2 例分别为 1846 及 2600 毫克(1 例为慢活肝, 1 例为肝硬化), RF 全部阴性; 4 例 eAb 阳性的携带者 IgG 及 RF 均在正常范围。

讨 论

一、e 抗原抗体系统的临床意义 eAg-eAb 系统和乙型肝炎病毒存在着特异相关的联系, 且大多认为与肝功能损害及肝组织学异常有关, 并与 HBV 感染的预后有关。本资料在 HBsAg 阳性 (R-PHA 法 $\geq 1:16$) 的各类肝炎肝病中及 HBsAg 无症状携带者中 eAg 及 eAb 的检出率为 24.38%。HBsAg 阴性的肝炎 150 例及健康人 66 例中 eAg 均阴性, eAb 仅 1 例阳性(其过去史不详, 也不能排除曾有 HBV 隐性感染的可能)。另外, 本资料各类型 HBsAg 阳性的肝炎和肝病患者中 eAg 的检出率无显著差异 ($P > 0.05$), 与欧美报道有所不同, 但详细分析本资料中 HBsAg 阳性的急性肝炎急性期 eAg 检出率 $>$ 恢复期, 迁肝活动期 $>$ 稳定期, 慢肝活动期 $>$ 稳定期, 在各类肝炎中检出率不一致, 可能与本组检出对象活动期所占比例较少有关, 并说明 eAg 确是反映 HBV 存在和增殖的重要指标; 而 eAb 恰恰相反, 仅在恢复期及稳定期出现, 是病情好转的一个指标。然而, 对此还存在有不同的看法, Smith 等提出 eAg 与肝损害的相关并非绝对, 即并非 eAg 阳性者一定要发展为慢性肝炎, 而 eAb 的出

现也不一定能绝对防止向慢性发展。本资料 HBsAg 携带者中 eAg 阳性率较高(13.1%), 尚待进一步研究。

目前 e 抗原抗体系统检出率较低, 并不是每个乙型肝炎患者血清中都能检出 eAg 或 eAb。本资料也偏低(24.38%)。根本问题仍要解决 eAg 的提纯。

二、e 抗原抗体系统与性别年龄关系

Ohbayask 等在不同年龄组 HBsAg 携带者中 eAg 和 eAb 阳性率作了比较, 发现年龄越小 eAg 阳性率越高, 而 eAb 年龄越大阳性率越高, 本资料 eAg、eAb 阳性率与性别无明显差异, 而年龄组 eAg 及 eAb 检出率也有上述相似结果。我们 1974、1976 年在上海第三钢铁厂作 HBsAg 普查也发现 HBsAg 阳性率随着年龄增高而明显下降, 并在 2 年后 HBsAg 观察中发现年龄越小 HBsAg 新感染率越高, 而 HBsAg 自然阴转率则年龄越大越易阴转。上述结果在防治上具有重要意义。

三、eAg 系统本质的探讨 eAg 的本质尚未完全清楚。已知 eAg 与 Dane 颗粒、DNA 聚合酶密切相关, 而 Dane 颗粒被公认为是完整 HBV, DNA 聚合酶活性增高则是 HBV 增殖的一个指标。Nordenfelt (1976) 在 6 例 HBsAg 阳性献血员中 4 例 eAb 阳性, Dane 颗粒均少见或未见, DNA 聚合酶阴性; 2 例 eAg、eAb 均阴性, 有 1 例见许多 Dane 颗粒及 DNA 聚合酶阳性。而在 6 例血透析患者中 5 例 eAg 阳性均见许多 Dane 颗粒, 及 DNA 聚合酶阳性。我们资料 17 例 eAg 阳性

中 16 例见到 Dane 颗粒; 8 例 eAb 阳性均未见 Dane 颗粒。Dane 颗粒多少不一定和疾病严重程度相关, 有 1 例无症状携带者, 在一个视野中见到 13~15 只 Dane 颗粒, 也支持 HBV 仅在发病中起一定作用。

最近 Neurath 用免疫电镜观察到 eAb 可凝集 Dane 颗粒, 并设想可形成免疫复合物激活补体系统, 最后为血中吞噬细胞及网状内皮系统所清除。因此我们试用 eAb 来治疗一例 eAg 阳性慢活肝, 治疗前、后(5 个月)肝功能无明显好转, HBsAg 效价也无明显下降, eAg 也未转阴。

eAg 是病毒本身的产物还是宿主对肝损害的一种反应, 从免疫扩散上取得的 e 抗原-抗体沉淀线电镜观察不能检出 Dane 颗粒或其它集聚体, 提示“e”是一种非颗粒性抗原, 是宿主对 HBV 感染起反应的一种可溶性蛋白。我们对 2 例 eAg 强阳性血清稀释后作超速离心, 取沉淀物作 eAg 检测均阴性, 提示 eAg 成分不在沉淀的颗粒中, 而属可溶性物质。Neurath (1977) 认为 eAg、eAb 是免疫球蛋白, eAg 属 IgG, eAb 则是 IgG 的抗体。我们测定 16 例 eAg 阳性者的 IgG, 14 例在正常值(1 例慢活肝, 1 例肝硬化)。测定 4 例 eAb 阳性者 RF 均阴性, 反映 eAg 阳性者中 IgG 并不增高, 而 eAb 阳性者中 RF(IgG 抗体)也不高。

(王者煌 陆志襟 高健 杨宜)

肝病患者甲胎蛋白测定及其临床意义

上海市传染病院 钟家骅整理

血清甲胎蛋白(AFP)测定对诊断原发性肝癌有一定的价值。近年来发现在病毒性肝炎、肝硬化等疾患中也可出现血清 AFP 含量

升高。我院用放射免疫自显影(火箭电泳)法, 对 191 例肝病患者和 19 例健康体检者进行了血清 AFP 含量测定, 现将结果分析如下。