

BING XING
BING DU XING GAN YAN

丙 型 病毒性肝炎

高志良 主编
姚集鲁 肖杰生 主审

广东高等教育出版社

第五版

内科学

内 科

病毒性肝炎

第五版

人民卫生出版社

人民卫生出版社

丙型病毒性肝炎

高志良 主编
姚集鲁 肖杰生 主审

广东高等教育出版社
·广州·

图书在编目 (CIP) 数据

丙型病毒性肝炎/高志良主编. —广州: 广东高等教育出版社, 1999.2

ISBN 7-5361-1649-7

I. 丙… II. 高… III. 丙型肝炎 IV. R512.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (98) 第 32682 号

广东高等教育出版社出版发行

(地址: 广州市广州大道北广州体育学院内 20 幢 邮编: 510076)

广东省韶关新华印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 13 印张 300 千字

1999 年 2 月第 1 版 1999 年 2 月第 1 次印刷

印数: 0001~4000 册

定价: 21.00 元

《丙型病毒性肝炎》编写组

主 编：高志良

副主编：周元平 邓子德

主 审：姚集鲁 肖杰生

编写者：（按编排顺序）

姚集鲁	高志良	李 刚	赵志新	崇雨田
柯伟民	谢冬英	俞洪林	谢仕斌	郑荣琴
彭晓谋	邓子德	杨绍基	周元平	陆玮伦

序

人们对于丙型肝炎的认识始于1975年,当时称为非甲非乙型肝炎,以有别于甲型与乙型肝炎,并于1978年成功地把非甲非乙型肝炎传染给黑猩猩。经过多年努力,直到1989年Michael Houghton等揭开了寻找病原体技术新的一页,在还没有看到病毒,没有办法培养、分离病毒,没有免疫学方法确认病毒的情况下,利用分子生物学技术,克隆了丙型肝炎病毒基因,并进行测序及表达病毒抗原,发展了血清诊断试剂。确认了丙型肝炎,并被正式命名。自此以后,丙型肝炎的研究迅速发展,在病毒生物学、流行病学、临床学各方面的研究都十分活跃,吸引了大量的人力、物力,在不到十年时间里,取得很大的成果。我们对丙型肝炎病毒的生物学知识丰富了;我们有了血清诊断的技术方法;我们基本上知道了丙型肝炎病毒的感染面与流行模式;我们初步掌握了疾病的自然病史;我们探索一些成功治疗的方案;我们开始控制住疾病的传播势头;我们正在努力研究有效的免疫预防制品;进展是迅速和令人振奋的。

然而,我们面对的问题仍然不少,需要研究解决的事情还相当多,困难也相当大。很多方面的知识还相当有限。丙型肝炎在我国发病虽不及乙型肝炎多,但它与乙型肝炎一样可引起人类各种急、慢性肝炎及肝硬化。

本书编写的目的旨在系统介绍国内外有关丙型肝炎实验及临床研究的进展,为临床医生、研究生以及对丙型肝炎研究有兴趣的读者提供一本较实用的参考书。

本书是在我们受卫生部委托开设的国家级继续教育班讲义的基础上,由我科的青年专家、研究员高志良博士主编,并主要由中山医科大学附属第三医院传染病学科众多年轻博士们执笔写成,包含了我们在临床与实验研究的许多经验与成果,其中内容难免参有个人管见,定有错漏之处,请读者不吝指正。

姚集鲁

中山医科大学附属第三医院

1998年4月

目 录

第一章 丙型病毒性肝炎概说	(1)
一、丙型肝炎的重要性.....	(1)
二、丙型肝炎研究进程与确认.....	(1)
三、丙型肝炎病毒的基本知识.....	(1)
四、丙型肝炎的临床谱.....	(2)
五、HCV 感染的实验诊断	(3)
六、HCV 感染的传播与流行	(4)
七、HCV 感染的预防	(5)
八、丙型肝炎的干扰素治疗.....	(5)
九、研究展望.....	(6)
第二章 丙型肝炎的病原研究	(7)
一、HCV 的发现	(7)
二、理化性质.....	(8)
三、基因组结构.....	(8)
四、基因组的表达产物.....	(9)
五、基因组序列的多变性	(10)
六、HCV RNA 在感染者体内存在的状态	(12)
七、HCV 的抗原与抗体	(13)
第三章 HCV 基因的克隆、序列分析与体外表达	(17)
一、基因克隆发现 HCV	(17)
二、HCV 基因克隆和全基因序列	(18)
三、HCV 基因组序列、结构及功能	(18)
四、HCV 基因组序列的异质性及基因分型	(20)
五、HCV 基因的体外表达	(25)
第四章 丙型肝炎的流行病学研究	(34)
一、传染源	(34)
二、丙型肝炎病毒感染的分布情况	(34)
三、丙型肝炎的传播途径	(37)
四、丙型肝炎的预防	(42)
第五章 丙型肝炎的发病机制研究	(49)
一、HCV 的直接致病作用	(49)
二、HCV 感染的免疫发病机制	(51)
三、HCV 感染与肝细胞凋亡	(54)

四、HCV 感染者易慢性化的原因	(56)
第六章 丙型肝炎的临床表现	(59)
一、丙型肝炎病毒感染的自然病程和转归	(59)
二、丙型肝炎病毒重叠其他肝炎病毒感染	(64)
三、急性丙型肝炎随访观察	(68)
四、丙型肝炎的组织病理	(71)
五、肝穿刺活体组织检查	(80)
第七章 丙型肝炎分子诊断新技术	(87)
一、血清中 HCV RNA 的定性检测	(87)
二、血清中 HCV RNA 的定量检测	(96)
三、免疫组织化学技术检测肝组织中的 HCV 抗原	(102)
四、原位杂交和原位 PCR 技术检测肝组织中的 HCV RNA	(108)
第八章 丙型肝炎的治疗	(122)
一、抗病毒治疗	(122)
二、一般疗法	(127)
第九章 丙型肝炎病毒感染与原发性肝癌	(131)
一、肝癌的流行病学、病理学和诊断研究进展	(131)
二、肝癌相关病因及致癌机理	(144)
三、肝癌的乙型肝炎病毒感染背景	(147)
四、丙型肝炎病毒感染与肝癌	(151)
附录 HCV 几种主要亚型基因及蛋白序列	(166)

第一章 丙型病毒性肝炎概说

一、丙型肝炎的重要性

丙型病毒性肝炎（丙型肝炎）是病毒性肝炎中的一种重要类型。它是继乙型病毒性肝炎、艾滋病之后的又一种引起全球广泛关注的经胃肠外（血液）传播的重要病毒性传染病。

丙型肝炎的重要性反映在：感染面广，我国 3.2% 的人口受到感染，西方发达国家人口中也高达 0.5% ~ 2% 受累；临床谱广，既有急性肝炎，更有大量无症状病毒感染与慢性肝炎，并可发展为肝硬化，以致肝细胞癌等；对疾病进程与治疗的影响因素多，缺乏特效治疗药物，未有特异性免疫预防疫苗。另一方面，它的重要性也反映在丙型肝炎病毒（HCV）的发现过程，开创了利用分子生物学技术寻找未知病原体的新纪元，有力地推动病毒检测技术的发展。

二、丙型肝炎研究进程与确认

人们对于丙型肝炎的认识开始于 1975 年，当时称为非甲非乙型肝炎，以有别于甲型与乙型肝炎，并于 1978 年成功地把非甲非乙型肝炎传染给黑猩猩。经过多年努力，直到 1989 年 Michael Houghton 等揭开了寻找病原体技术新的一页，在还没有看到病毒，没有办法培养、分离病毒，没有免疫学方法确认病毒的情况下，利用分子生物学技术，克隆了丙型肝炎病毒基因，并进行测序及表达病毒抗原，发展了血清诊断试剂。确认了丙型肝炎，并被正式命名。自此以后，丙型肝炎的研究迅速发展，在病毒生物学、流行病学、临床学各方面的研究都十分活跃，吸引了大量的人力、物力，在不到 10 年时间，取得很大的成果。人类对丙型肝炎病毒的生物学知识丰富了；有了血清诊断的技术方法；基本上知道丙型肝炎病毒的感染面与流行模式；初步掌握了疾病的自然病史；探索了一些成功治疗的方案；开始控制住疾病的传播势头；正在努力研究有效的免疫预防制品；进展是迅速和令人振奋的。

然而，人类面对的问题仍然不少，需要研究解决的事情还相当多，困难也相当大。很多方面的知识还相当有限。

三、丙型肝炎病毒的基本知识

HCV 属于黄病毒科，为球形囊膜病毒，直径约为 50 nm，基因组是正单链线性 RNA

分子，长约 9.5 kb，包括 5'非编码区（5'NC）——一个很大的单一开放读码框架，以及 3'非编码区（3'NC）。

HCV 基因组的变异性很大，这是最令人关注的问题。这对 HCV 感染者的临床过程、诊断、治疗和预防疫苗的发展，都有重大关系。

HCV 基因组变异的最重要特色是序列异源性、变异的多样性与非均一性。

不同地区的 HCV 感染者或同一感染者在病程不同时期，所能分离到的毒株之间，都可能存在差异。甚至同一个体中的血清内，也可能存在多株不同的 HCV。

HCV 基因组的变异以替代突变为主，亦有插入或缺失突变。替代突变常发生于编码氨基酸密码子的第三位核苷酸，因而不常引致氨基酸序列改变，使不同株 HCV 之间的氨基酸序列同源性高于核苷酸序列的同源性。

HCV 基因组变异具有非均一性。5'NC 区与核心区（C 区）高度保守。E 区 ~ NS₂ 区的变异较大，尤其 E₂/NS₁ 区变异最显著，其氨基端有两个高变区（HVR）：HVR1 与 HVR2。这种高度变异性必然导致包膜蛋白多变，从而推测有可能是 HCV 逃避机体免疫监视，形成持续感染，难以形成有效保护性免疫的原因。

基于 HCV 变异情况，HCV 主要分为 6 种（1~6）不同的基因型，并有许多亚型（以 a, b, c 等字母命名）及准种。最常见的是 1a, 1b, 2a 与 2b 等。1 型、2 型、3 型及其亚型呈全球性分布，4 型主要见于非洲（扎伊尔、埃及），5 型是南非的主要基因型，6 型及其亚型主要分布在亚洲。基因型对临床发病机理、治疗的影响仍未明了，许多问题尚有争议，除基因型的作用外，肯定还有许多别因素的影响。

对 HCV 分子生物学以及机体对病毒免疫应答方面更多的认识，才能为发展有广泛保护作用的疫苗，以及有效治疗药物提供必要的基础。

四、丙型肝炎的临床谱

丙型肝炎临床过程复杂多样，没有单一的“典型过程”。潜伏期 3~20 周，平均 7 周。急性感染者轻重不一，仅有 25%~35% 有明显症状，并可出现黄疸，血清 ALT 水平可超出正常上限 10 倍，起病时抗-HCV 可为阳性，HCV RNA 阳性，病程通常持续 2~12 周。大量病者属于无黄疸型或亚临床型。约 15% 左右为自限性病例，在起病几周后 HCV RNA 转阴，ALT 复常。尽管丙型肝炎亦可导致暴发性肝炎，但属罕见。丙型肝炎慢性率十分高，可达 85%。表现为 HCV RNA 持续阳性，ALT 不正常，超过 6 个月。

慢性化的倾向是丙型肝炎的重要特色。慢性丙型肝炎是一种侵袭性、进行性的疾病，在感染的最初一二十年内，表现的临床症状不多，一般属非特异性、间歇性，如易倦、不适，亦可能有恶心、呕吐、右上腹不适等，但通常也较轻。抗-HCV 与 HCV RNA 为阳性。ALT 水平一般在正常上限 10 倍以内波动，亦可为正常。约 1/3 病人 ALT 持续正常，或仅偶尔异常。这些病者不宜称为健康 HCV 携带者，肝活检中虽然少见严重纤维化或肝硬化，但大多数呈轻度慢性肝炎，或只有轻度非特异性改变，少数可为正常。预后大多良好。

抗-HCV 的筛选过程，发现许多无症状 HCV 携带者，一些调查发现，半数以上有

肝病的生化证据。在 HCV RNA 阳性者中, 38% 发现 ALT 不正常。对一组 81 例 HCV RNA 阳性的携带者作肝活检, 13% 有较严重的组织学损害 (包括慢性活动性肝炎与肝硬化), 53% 有轻度的肝组织学改变。

有报道指出抗 - HCV 阳性的供血者长期随访表明, 约 86% 可检出 HCV RNA 阳性, 14% 则虽经多次连续检查, HCV RNA 仍为阴性结果。联系到急性丙型肝炎 HCV RNA 阳性病者的随访, 发现亦有 15% 能够痊愈, 并且 HCV RNA 持续阴性。因此提示有一小部分人在 HCV 感染后, 能够恢复过来, 并且自发清除了病毒。

大多数慢性 HCV 感染者能有较为正常的生命历程。亦有约 20% ~ 30% 的 HCV 慢性感染者最终可能发展为肝硬化。这个进程最短可在 1 ~ 2 年内发生, 但大多数是经历了 10 ~ 30 年左右才发展为肝硬化。这只是作为群体的估计, 但对于个体来说, 我们仍难以可靠地预测病情进程将会如何, 是良性还是恶性。

从世界范围上说, HCV 感染是仅次于 HBV 感染的另一种主要致肝癌 (HCC) 因素之一。大多数与 HCV 相关的 HCC, 是经过长达二三十年的 HCV 感染过程, 在肝硬化基础上发生的。慢性肝炎病人在感染 20 年之后, 其中约有 1% ~ 5% 发生 HCC。已经发生肝硬化的病者中, 大约估计每年有 1% ~ 4% 发展为 HCC。不同的地区, HCC 的发生率亦有较大的差异, 日本、西班牙、意大利等国家较高; 男性高于女性。这些人大多数血清中抗 - HCV 及 HCV RNA 为阳性。HCV 是 RNA 病毒, 基因不会整合到宿主 DNA, HCV 感染发生 HCC 的机制仍未明了。合并 HBV 感染者, 发生 HCC 的危险性高一些。酗酒者不但加速肝硬化的发展, 随后可致 HCC。预防 HCC 的方法最好还是预防 HCV 感染。

影响丙型肝炎病程进展的因素, 包括病毒因素例如病毒量、基因型、准种等; 宿主因素及其他因素, 例如病者年龄因素, 合并别的病毒感染、吸烟、环境污染、酗酒等都受到重视。对所有这些因素, 仍然存在不同的意见。一般认为年长者、免疫缺陷、酗酒以及某些毒株可能会使疾病进展较快, 病情较严重。

五、HCV 感染的实验诊断

诊断涉及确定 HCV 感染的存在, 评估肝脏损害的严重程度, 预后与治疗应答。

抗 - HCV 检测 (EIA - 2 与 EIA - 3) 是最实用的诊断筛选试验, 是否需要做重组免疫印迹试验 (RIBA) 试验, 应视乎临床情况、血清检测条件, 以及 EIA 的阳性可靠程度。HCV RNA 则是 HCV 感染 (及其病毒血症) 诊断的金标准。对于评估肝病严重性方面, 金标准则是肝活检组织学检查。基因分型目前只是一种研究手段, 提供流行病学情况, 而不是临床诊疗所必须的。

HCV 感染的血清筛选试验主要是抗 - HCV 的检测, 这种检测对减少输血后丙型肝炎极为有效。EIA 法检测抗 - HCV, 已经经历过三次技术换代, 第一代 EIA (EIA - 1), 采用单一的重组抗原, 来自 NS₄ 基因, 称为 C100 - 3。但敏感性与特异性均不理想。1992 年第二代 EIA (EIA - 2), 除来自 NS₄ 的抗原外, 加上核心与 NS₃ 基因抗原, 代表一种多抗原的 EIA。最近又发展了第三代 EIA (EIA - 3), 增加了来自 NS₅ 的抗原。灵敏度与特异性又有所提高。为了解决 EIA 假阳性问题, 尤其在低流行地区, 应用 RIBA 作为补充试验很有帮

助。但对抗 - HCV 阳性的高危病者则不一定需要做 RIBA。

HCV RNA 的检测则主要用于现症 HCV 感染（病毒血症）的确诊，以及监测抗病毒治疗的效果。HCV RNA 的检测技术主要有：HCV RNA 的定性检查——检查病者血清是否存在 HCV RNA 基因；HCV RNA 定量检查——检查病者血清中病毒负荷量；HCV 基因分型等三种。

HCV RNA 是 HCV 感染诊断的金标准，但逆转录聚合酶链反应（RT-PCR）技术的影响因素很多，很有必要进行程序标准化，以减少检测结果的不稳定性。

血清中 HCV 定量检测，对 HCV 感染的评估及处理十分重要。最近研究认为在未经治疗的慢性丙型肝炎病者，血清病毒是没有明显波动。干扰素（IFN）治疗有可能降低病毒含量。以下两种主要技术可用于评估病者血清标本中的 HCV RNA 定量水平，即：靶放大方法（定量 PCR）与信号放大技术（bDNA 测定），前者敏感，后者准确。

HCV 基因型的测定，通常亦可分为两类，即筛选试验——检测 HCV 基因内的点突变，以及确证试验——评估 HCV 基因较大的片段。在感染过程中，HCV 基因变异对于临床过程、治疗应答、诊断与处理有可能起的重要作用，应予进一步研究。

肝活检组织学诊断是评价肝病严重性的金标准。因为大多数急、慢性丙型肝炎病者并无特异症状，病史与体检对评估严重性不大可靠。肝活检可明确炎症活动情况，以及纤维化的范围。后者对预示干扰素治疗应答方面是很重要的指标，因此应在治疗开始前进行肝活检。

通常认为症状显著者病情会较严重，但却没有证据证明症状与 ALT 上升程度、肝组织学异常情况之间密切相关。症状不能可靠地反映疾病活动性，不能用作疾病严重性及预后指标。

ATL 上升在一定程度上与肝组织学损害相关，进行一系列 ALT 检测，大致上可以帮助评估疾病之严重程度，当然也会有例外情况。ALT 水平与血清中 HCV RNA 无关。

HCV RNA 与肝组织学改变之间关系尚无一致意见。HCV RNA 定量检查一般认为无助于确定肝脏病变严重性。

HCV 基因型与疾病严重、预后的关系，研究报告结论不一，加上其他因素亦有影响，情况复杂，即使同一基因型有广阔的临床谱，目前许多学者认为基因分型本身无助于评价疾病严重性或预示预后。

六、HCV 感染的传播与流行

HCV 感染是全球性分布，我国抗 - HCV 标化阳性率为 3.2%，东北地区较高，中南地区次之；美国的流行率亦高达 1.8%。

HCV 感染涉及所有年龄组人群，抗 - HCV 流行率随年龄增长而上升，但以青壮年为主，性别差异不明显。

输血与血制品是 HCV 传播的重要因素，但如果有了良好的血源管理，通过筛选，抗 - HCV 阳性血液被排除之后，滥用药物与性传播可能就会显得重要。医院内传播的可能性也是存在的。

围生期传播可以发生，但并不常见，除非婴儿的母亲是有十分高水平的 HCV RNA，美国 CDC（疾病控制中心）估计为 5% ~ 6% 左右；哺乳一般不增加 HCV 感染的危险，最近的资料亦不支持家庭内的暴露是 HCV 感染的主要危险因素。性传播的危险大约亦只有 5% 左右。这都远低于 HBV 感染。

HBV 与 HCV 感染者的病毒血症水平比较，HCV 感染者相对较低，因此，两者在传播上就可能有差异。HCV 的感染直接经皮肤接种（输血、注射等），很容易传播；但“间接”的，非经皮肤途径，对传播 HCV 感染就不那么容易。

七、HCV 感染的预防

HCV 感染的预防，最主要还是减少暴露的机会。血源管理是首要的。业已证明在对供血实行抗 - HCV 筛选后，HCV 急性感染病例已大幅度下降。其他胃肠外（经血）传播的方式与因素亦应重视。

目前还没有丙型肝炎疫苗。暴露后的免疫预防或药物预防尚非有效办法，不推荐使用免疫球蛋白或 IFN - α 作预防。

HCV 感染者不应供血、供器官、供组织或精液。没有证据支持 HCV 感染者应中止妊娠或不哺乳。

八、丙型肝炎的干扰素治疗

自从 1986 年报道应用 IFN - α 治疗非甲非乙型肝炎以来，通过随机临床试验表明 IFN 治疗对一些丙型肝炎病人（ALT 不正常者）有利。从生化功能方面看，经典的 6 个月疗法结束时，可高达 40% ~ 50% 的病者有效；治疗结束后 6 个月，持续有效者仍可达 20%，肝组织学亦有所改善；如果疗程延长到 12 个月，持续有效率提高到 20% ~ 30%。近来趋向于联合用药（IFN 联合病毒唑或别的抗病毒药，细胞因子、细胞因子调节剂等）。尽管如此，丙型肝炎治疗效果仍不尽人意，安全有效的治疗仍有待发展。

IFN 仍是目前最确切的治疗用药，虽然准确治疗机制仍未明，但 IFN 的免疫调控的活性、抗炎与抗病毒特性起重要作用。

当前用于治疗丙型肝炎的 IFN 主要有四类：IFN - α 2b，IFN - α 2a，IFN - α n1 与 C1FN。IFN - α 2b 于 1991 年获美国 FDA 批准，用于丙型肝炎治疗，用法是 3 MU，肌注，每周 3 次，疗程 6 个月，1997 年 3 月准予延长疗程到 12 ~ 24 个月。IFN - α 2a 亦于 1996 年 11 月获准以同一疗法应用于丙型肝炎。IFN - n1 已获 14 个国家（包括欧盟）批准用于丙型肝炎治疗。同样，C1FN 在最近也被通过。上述四种 IFN 均被批准在我国应用。

临床经验表明这几种类型的干扰素，对慢性丙型肝炎有类似的疗效。慢性丙型肝炎病人，ALT 在正常上限值 1.5 倍以上，抗 - HCV 及 HCV RNA 阳性者，是应用 IFN 治疗的指征。尤其是肝活检显示纤维化与中等程度炎症与坏死，发展为肝硬化可能性高的病人应予治疗。但仅有 ALT 持续不正常，肝组织学改变度轻（无纤维化而坏死炎症程度轻），进展为肝硬化较慢者，应用 IFN 与否可个别考虑。如不应用 IFN，可以用其他疗

法，继续监测 ALT，每 3~5 年做一次肝活检。肝功能失代偿者，不是应用 IFN 的适应证。代偿性的肝硬化病人可应用 IFN，但尚没有确实证据显示可延长寿命或延缓 HCC 的发展。ALT 持续正常的病者，一般预后好，不用 IFN，用后因免疫调节作用，改变宿主免疫反应与病毒复制之间的平衡，大约半数病者反而会导致 ALT 异常。

获得 HCV 感染的模式、病毒血症水平、基因型等因素，以及是否有非特异性症状，不应作为决定是否应用 IFN 的依据。由于影响 IFN 治疗成败因素多，评估独立地影响疗效的单一因素是很困难的。

评价 IFN 治疗效果的指标，包括 ALT 正常（生化应答）与 PCR 检测 HCV RNA 为阴性（病毒学应答）。从时间上说则有所谓治疗结束当时的应答（ETR）与治疗停止后一段时间（6 个月或 12 个月）的持续应答（SR）。

在治疗过程中，病情可能会“突破”（Breakthrough），即 ALT 下降到正常范围或 HCV RNA 转阴，但治疗还未完成，ALT 又再上升或 HCV RNA 再度阳性。此外，有些病人可出现复发，即停药后 ALT 再上升，HCV RNA 再次阳性。

组织学上的应答，则是基于肝组织炎症与纤维化两个方面的活动程度计算的积分判定。

IFN 的剂量为 3 MU，每周 3 次，连用 12 个月，是当前推荐的疗法。它比 6 个月疗程在持续应答率方面有显著改进。有些学者认为还可以延长到 18 个月疗程。

对应用 IFN 治疗的病人监测十分重要。治疗前最好先做肝活检，了解炎症、坏死与纤维化的情况，以及是否有其他肝损害存在。在治疗期间应进行一系列 ALT，HCV RNA 的监测。一般可每隔 2~4 周检查一次，尤其重要的是在第十二周进行评估，这时如果 ALT 与 HCV RNA 仍无改变，预料疗效将不理想，应考虑停药并调整治疗方法，包括调整剂量，应用其他 IFN 制剂或联合疗法等。对于治疗后复发的患者，可建议应用 IFN 与病毒唑联合治疗，多中心临床验证仍在进行，初步结果认为疗效能够有所改进。对于复发者来说，如果初治时有应答，复发时再治的疗效，会较初治时无应答者为佳。

迄今，理想的持续应答者，可以期待有较长时间的生化功能、病毒与肝组织学改善。1~6 年随访发现，90% 以上，ALT 维持正常，HCV RNA 转阴，肝组织学明显改善，甚至正常。

IFN 治疗有许多不同的副作用，但通常并不严重，罕见对生命构成威胁的，副作用常与剂量相关。对于副作用应小心观察处理，用药时权衡利弊，精神紊乱与免疫性甲状腺疾病应充分注意。

九、研究展望

有关丙型肝炎防治，许多工作仍有待努力。我们需要继续流行病学的研究与监测；更好地认识疾病的自然病史；研究发病机制与感染清除；了解酒精与本病恶化的相互关系；阐明肝细胞癌如何发生；更多地认识 HCV 的分子病毒学，进一步研究有效的治疗药物与安全有效的疫苗；完善病毒标志的诊断技术与标准；扩大临床治疗试验，寻找理想治疗办法等不同方面，都要作长期不懈的努力，任重道远！

（姚集鲁）

第二章 丙型肝炎的病原研究

一、HCV 的发现

1974 年, 纽约血液中心的 Prince 及其同事, 首先报道了除 HBV 外, 还有另一种因子能引起输血后肝炎。随后 Feinstone 等也相继报道了 22 个病人, 其输血后肝炎也不是由 HAV 或 HBV 引起。这样, 输血后肝炎与 HAV 和 HBV 无关就在两个独立的研究中得到证明, 当时, Lancet 杂志有篇编辑文章在总结这些发现时使用了非甲非乙型 (non A, non B) 这一术语。

1975 年, Alter 等提出 80% ~ 90% 的输血后肝炎均为非甲非乙型肝炎 (NANBH)。1976 年, Koretz 又指出约 60% 的 NANBH 具有慢性化倾向。

1978 年, Bradley 实验室用凝血因子Ⅷ静脉接种 4 只黑猩猩, 发现转氨酶升高并出现肝细胞病毒感染征象, 且排除由 HBV 或 HAV 所致, 因而为以后用黑猩猩作为 NANBH 的合适动物模型奠定了基础。

1979 年 Shimzu 等首次在黑猩猩实验动物中从肝细胞超微结构变化的角度描述 NANBH 的病原因子为一种可被氯仿灭活的微管形成因子 (以后被证实为 HCV)。

1980 年 Grimaud 在 NANBH 肝炎病人的肝组织中发现了 50 (100) 个圆形棒状病毒样颗粒, 直径 22 (27) nm, 与 Shimzu 等在动物中发现的相似。

70 年代末至 80 年代初, 发展的常规酶免疫测定 (EIA) 和放射免疫测定 (RIA) 检测 NANBH 的特异性抗原, 仅在 Bradley 实验室就进行了近 40 000 次测定, 但均无结果, 表明血液中该病毒滴度确实太低。

1982 年发现 NANBH 与散发性肝炎 (约占 20% ~ 50%) 有关。

1984 年发现其与 HCC 有关。

1985 年 Bradley 实验室对 NANBH 的物理化学特性进行研究, 推测其为有包膜病毒, 根据滤过等方法估计病毒直径为 40 ~ 60 nm, 毒粒的沉降系数 S_{20w} 大于 150, 它在蔗糖中的浮力密度为 1.09 ~ 1.11 g/cm³, 当时认为, 这是一种类似披膜病毒的病原体。

之后, 围绕着 NANBH 实质性问题——确定病原体基因结构的研究基于同步发展中的分子生物学技术。在此期间, 由于分子生物学的发展, 进行 HCV 基因组克隆所必需的技术方法, 特别是构建和筛选 cDNA 文库的技术渐趋成熟, 而且已积累了 HBV, HAV 等基因组克隆的经验, 核酸和蛋白测序的技术、核酸和蛋白质印迹技术、基因重组技术及原核与真核细胞高效表达系统已日臻完善。PCR 技术的发展更为低滴度 HCV cDNA 扩增创造了良好的手段。因此, HCV 的基因克隆是在以上基础上第一个主要采用分子克隆技术方法得到甄别和鉴定的人类病毒。其采取的手段是:

(1) 在黑猩猩体内进行病毒传代，使之适应宿主；并对黑猩猩进行免疫抑制，使病情加重而致病毒滴度提高。1983 年 Young 和 Davis 由于用以上方法从一只黑猩猩中获得了 1×10^7 ID/mL 的高滴度血浆。

(2) 根据 HCV 的物理化学特性可推测其分类地位及基因组类型 (DNA 或 RNA)，依据病毒对氯仿敏感的特性以及用过滤方法估测其分子量，推测 HCV 是披膜病毒样或黄病毒样的病毒，由于黄病毒无 3' 聚腺苷酸 [Poly (A)] 尾，因此便在偏碱性的条件下，从高滴度病毒浓缩物中沉淀病毒，提取总 RNA，采用寡核苷酸随机引物合成 cDNA，再插入 λ gt 11 载体中表达。

(3) 大多数慢性感染的病人的体液中含有病毒的特异性抗体，故利用这些病人的血清或血浆对构建的 λ gt 11 cDNA 文库进行免疫学筛选。到 1989 年，Chiron 公司的 Choo 等人经筛选近 1×10^6 DNA 克隆株，终于得到一个输血后 NANBH 特异的 5-1-1 阳性克隆，从而揭开了 HCV 分子生物研究的序幕。

(4) 之后，采用逆转录 - PCR 技术从病毒含量极低的感染性材料扩增并克隆 HCV cDNA，完成了 HCV 全基因组序列克隆及序列测定。

1989 年 9 月 27~30 日在日本东京召开的《国际非甲非乙型肝炎和经血传播的传染病学学术会议》上正式将丙型肝炎命名，1991 年国际病毒命名委员会 (ICTV) 将 HCV 归为黄病毒科丙型肝炎病毒属。

二、理化性质

(1) 病毒颗粒含包膜和棘突，形态类似披盖病毒和黄病毒，含主要脂类外膜，病毒表面具有 22 个棘突。HCV 感染的肝组织标本、培养细胞在普通透射电镜下发现有病毒颗粒的存在。

(2) 病毒大小为直径 36~62 nm，其最低沉降系数为 140 s，可通过 80 nm 的滤器。从新近的 HCV 易感细胞株 (T 细胞株: HPBMa10-2 和 B 细胞株: Naudi) 培养发现 (Shimizu 1996)，免疫电镜检测证实的 HCV 颗粒在胞质内为直径 50 nm，这种颗粒在黑猩猩中也得到证实。

(3) 病毒颗粒在蔗糖中的浮密度 1.14~1.18 个/mL。

(4) 用氯仿 (10%~20% V/V)、福尔马林 (1:1 000) 6 小时及 60℃ 加热 10 小时可使病毒灭活。

三、基因组结构

HCV 基因组为一线状单股正链 RNA，全长约 9 419 bp，含有单一的长开放读框 (ORF)。HCV 基因组由 5' 端非编码区 (332 bp)、结构蛋白编码区 (包括 C 区、E 区) 及非结构蛋白编码区 (包括 NS₁~NS₅ 区) 共 9030 bp、3' 端非编码区 (54 bp) 组成见图 2-1。

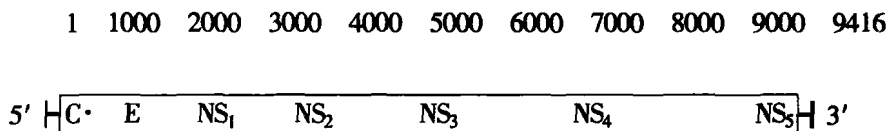


图 2-1 HCV 基因结构示意图

组成 5'端非编码区的基因组序列是不同 HCV 分离株中最为保守的区段。其中可能存在 3~4 个最长可编码 28 个氨基酸的小 ORF，但在 HCV 基因组中的功能尚不清楚。在 5'端的 22 个核苷酸还可以形成发夹结构，该结构在生理条件下的稳定性与甲病毒类似结构相仿。在 5'末端区与瘟病毒相似，它们之间的同源性十分显著，而与黄病毒在该区段的同源性较弱。

3'端非编码区较短且不均一，不同来源的 HCV，这个区域的长短也不一样。3'端多聚尾（poly A 或 poly U）是存在的，已被序列分析所证实。

HCV 的结构蛋白及包膜蛋白编码区在 N 端，而非结构蛋白编码区在 C 端，但整个来看，有关 HCV 的复制与调控机理仍不清楚。

四、基因组的表达产物

HCV 多蛋白的头 190 个氨基酸被初步认为是病毒的核壳蛋白（18~22 kD）。该蛋白无糖基化位点，富含碱性氨基酸（与瘟病毒相似）。

紧接着核壳蛋白的 190 个氨基酸大部分为疏水区，并可能有 6 个糖基化位点，这一蛋白可能是 HCV 的包膜蛋白 1（E₁），约 33~35 kD 的糖蛋白。该蛋白与瘟病毒的 gp 25 相近。

在包膜蛋白的 C 端编码一个约 380 个氨基酸的糖蛋白（gp 70），其编码区的位置与瘟病毒的主要结构蛋白（gp 53）和黄病毒的非结构蛋白 NS₁相应，故称为 E₂/NS₁ 蛋白，见图 2-2。

瘟病毒:	P 20	gp 48/gp 25	gp 53	P 125	P 42	P 58	P 75
黄病毒:	C	M E	NS ₁	NS ₂	NS ₃	NS ₄	NS ₅
HCV :	—C	E ₁ E ₂ /NS ₁	NS ₂	NS ₃	NS ₄	NS ₅	
	(gp 19)	(gp 33)(gp 72)	(gp 23)	(gp 60)	(gp 52)	(gp 116)	

图 2 HCV 与瘟病毒、黄病毒编码蛋白比较

以上 18~22 kD 的强碱性 C 蛋白、33 kD 的疏水糖蛋白 E₁ 及 70~72 kD 的 E₂/NS₁ 糖蛋白构成了 HCV 的结构蛋白，这种排列方式与瘟病毒更为相似（但少一个 gp 48），据认为，这些蛋白都是宿主编码的信号肽酶切割加工的产物。

HCV 的非结构蛋白在 gp 72 的下游区与黄病毒 NS₂，NS₃ 相应的位置上，可表达大约 23 kD 和 60 kD 蛋白，称为 NS₂，NS₃ 蛋白。NS₂ 的疏水性很强，其功能不清楚。NS₃ 含有解旋酶和丝氨酸蛋白酶的结构域。解旋酶具有 NTP 结合活性，可能与 RNA 基因组在复