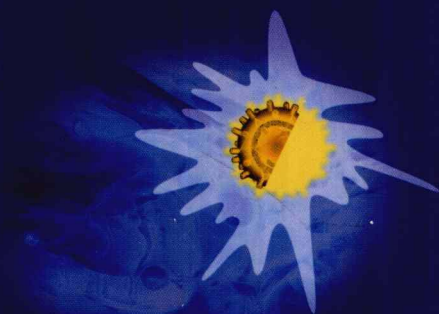


肝炎病毒感染 与肾脏疾病

GANYAN BINGDU GANRAN
YU SHENZANG JIBING

汪年松 ◆ 主编



R373.2
W066

肝炎病毒感染与肾脏疾病

汪年松 主编

上海交通大学出版社

内 容 提 要

本书是一部针对肝炎病毒感染与肾脏疾病关系进行系统研究的学术专著,由多位从事感染疾病、肝病以及肾脏病基础与临床工作的学者与医师,在参考了大量国内外文献并结合各自的临床与学术研究的基础上编写而成。本书首先介绍了肝炎病毒和各型病毒性肝炎的一般概况,然后系统介绍了肝炎病毒感染对肾脏的影响和相应病变,并从基础到临床进行了比较全面系统的阐释。本书不仅实用性强,更有重要的学术参考价值。本书可供内科、传染科、移植科医师和研究生阅读,也可供有关科室工作人员参考之用。

图书在版编目(CIP)数据

肝炎病毒感染与肾脏疾病/汪年松主编. —上海:
上海交通大学出版社,2008
(临床医学新技术丛书)
ISBN978-7-313-05163-9

I. 肝... II. 汪... III. ①肝炎病毒—研究 ②
肝炎—诊疗 ③肾疾病—诊疗 IV. R373.2 R575.1
R692

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 024099 号

肝炎病毒感染与肾脏疾病

汪年松 主编

上海交通大学出版社出版发行

(上海市番禺路 877 号 邮政编码 200030)

电话:64071208 出版人:韩建民

上海崇明南海印刷厂印刷 全国新华书店经销

开本:787mm×960mm 1/16 印张:13.75 字数:257千字

2008年6月第1版 2008年6月第1次印刷

印数:1~3050

ISBN978-7-313-05163-9/R·071 定价:28.00元

版权所有 侵权必究

《肝炎病毒感染与肾脏疾病》编委会

主 编

汪年松 上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科

副主编

王 锋 上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科

编 者

晏春根 绍兴文理学院医学院

毕贞水 山东省曲阜市人民医院

范 瑛 上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科

张晓光 上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科

李军辉 上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科

李 洁 上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科

孙雪鹏 上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科

前 言

肝炎病毒感染是我国乃至全世界的一个严重的社会公共卫生问题,其危害除了肝脏病变以外,还可以诱发许多肝外损伤,其中肾脏损害是一个常见而又棘手的问题,也是目前临床医学与预防医学研究的热点与难点。肝炎病毒可以直接导致肾小球疾病的发生,临床过程复杂多变,其治疗与普通肾炎相比矛盾重重,更为困难。透析与肾移植是终末期肾衰的主要治疗手段,也是目前最为成功的替代治疗技术,然而肝炎病毒的感染严重影响了透析患者的健康状况,并大大制约了包括肾脏在内的器官移植。

本书由多位从事感染疾病、肝病以及肾脏病基础与临床工作的学者与医师,参考大量国内外文献并结合各自的临床与学术积累编写而成。本书首先介绍了肝炎病毒感染的一般概况,然后系统地介绍了肝炎病毒感染对肾脏的影响和相应病变,并从基础到临床进行了阐释。这是一部对于肝炎病毒感染导致的肾脏问题的既实用又有学术参考价值的专著,适用于内科、传染科、移植科医师和研究生阅读,也可作为相关科室工作人员的参考书。由于编者水平有限,书中有遗漏和错误之处敬请读者不吝赐教。

汪年松

2007年12月18日

目 录

第一章 肝炎病毒	1
第一节 肝炎病毒的历史回顾	1
第二节 肝炎病毒的生物学特性	2
第二章 病毒性肝炎	18
第一节 病毒性肝炎的流行病学	18
第二节 病毒性肝炎的实验室检查	22
第三节 病毒性肝炎的诊断	25
第四节 病毒性肝炎的治疗	34
第五节 慢性乙型肝炎抗病毒治疗的几个问题	40
第六节 病毒性肝炎的预防	52
第七节 病毒性肝炎的预后	54
第八节 特殊人群的病毒性肝炎	55
第三章 肝炎病毒感染与肾小球疾病	61
第一节 HBV 相关性肾小球肾炎	61
第二节 HCV 相关性肾小球肾炎	78
第四章 肝硬化性肾损害	98
第一节 肝硬化性肾小球疾病	98
第二节 肝硬化所致肾小管酸中毒	101
第三节 胆汁性肾病	103
第五章 肝肾综合征	106
第一节 肝肾综合征的发病机制	107
第二节 肝肾综合征的临床特点	118
第三节 肝肾综合征的诊断	121

2 肝炎病毒感染与肾脏疾病

第四节 肝肾综合征的治疗	125
第五节 肝肾综合征的预防及预后	130
第六章 肝炎病毒与透析	133
第一节 血液透析相关的 HBV 感染	133
第二节 血液透析相关的 HCV 感染	137
第三节 腹膜透析与 HCV 感染	149
第七章 肝炎病毒与肾移植	163
第一节 HBV 与肾脏移植	163
第二节 HCV 与肾脏移植	167
附录 1 慢性乙型肝炎防治指南	184
附录 2 乙型肝炎病毒相关肾炎的诊断和治疗(草案)	211

第一章 肝炎病毒

第一节 肝炎病毒的历史回顾

在我国,病毒性肝炎是一个严重的公共卫生问题。根据卫生部发布的卫生统计资料,在法定报告的传染病中,病毒性肝炎的发病率和死亡率均占首位。我国病毒性肝炎的平均发病率约为 100/10 万,即每年新发生的急性病毒性肝炎约 120 万例,其中 50%为甲型,25%为乙型,5%为丙型,10%为戊型,另 10%为其他型。

黄疸型肝炎流行可追溯到公元前,绝大多数无疑是甲型肝炎。1883 年德国的 1 289 名造船工人接种了由人淋巴结制备的牛痘疫苗,数周至数月后有 15%出现黄疸,这可能是有史以来第一次记录到肝炎的流行。20 世纪上半期,各地都发现了输血、血制品或接种疫苗后发生的“长潜伏期”肝炎。1908~1944 年间,许多学者通过对“志愿者”的研究,确定肝炎最可能的病因是病毒。

根据流行病学的差异,20 世纪 40 年代将病毒性肝炎分为两型:传染性肝炎和血清性(或同种血清性)肝炎,即后来命名的甲型肝炎和乙型肝炎。1965 年 Blumberg 等发现了当时所谓的“澳大利亚抗原”。1970 年 Dane 等在电镜下鉴定了 Dane 颗粒,即 HBV 颗粒,并阐明了病毒颗粒的表面成分 HBsAg、核壳成分 HBcAg 和 HBeAg。其后 HBV 感染的检测方法迅速建立,进而推动了肝炎流行病学调查的广泛开展。1975 年发现甲型肝炎病毒(HAV)。

1977 年 Rizzetto 等在乙型肝炎病人的肝细胞核内发现了一种新的病毒抗原,并在血清中检出其相应的抗体,5 年后这一新发现的病毒被命名为丁型肝炎病毒(HDV),后者是与 HBV 混合感染的形式发生的。1989 年,在日本东京召开的庆祝东京大学成立 100 周年的活动中,召开了一次有关血液传播疾病和非甲非乙型(NANBH)病毒性肝炎的国际研讨会。会议上,美国疾病控制中心(CDC)的 Bradley 及其同事首次报道从 NANB 肝炎病毒感染的黑猩猩血液及肝脏中克隆出 NANBH 相关的病毒基因片段,即著名的 5-1-1 片段,后者被认为是丙型肝炎的病原基因片段,故将其命名为丙型肝炎病毒(HCV)。1990 年 Reyes 等从肠道传播性非甲非乙型肝炎患者中成功地克隆出病原的基因序列,并将之命名为戊型肝炎病毒(HEV)。

美国学者 1994 年在研究散发性急性肝功能衰竭时发现,在肝细胞胞浆内具有 60~70nm 大小、有包膜的病毒样颗粒,称之为己型肝炎病毒(HFV),但遗憾的是, HFV 的分离测序迄今仍未获成功, HFV 的命名也未得到公认。1995 年美国 Abbott 公司 Simons 等实验室采用代表性差异分析(RAD)方法在接种病人血清而发病的狨猴血清中获得 GBV-A 和 GBV-B 两个相关 RNA 序列,随后又发现 GBV-C, Linnem 等称之为庚型肝炎病毒(HGV/GBV-C)。1997 年 12 月,日本 Nishizawa 等采用 RDA 技术从 5 例输血相关肝炎患者血清标本中获得一段与已知序列几无同源性且非来源于人类的序列,由于这一新序列最初是从一位姓名为 TT 的患者血清中分离所得,故称之为 TT 病毒或 TTV。将此病毒核苷酸序列与 GenBank 数据库中登记的序列相比较,未出现相同的基因序列,表明它可能是另一种新型肝炎相关病毒。目前,这些新型肝炎病毒的发现及命名尚有争议,其正式命名有待于国际病毒分类与命名委员会的最后论定。

第二节 肝炎病毒的生物学特性

一、肝炎病毒病原学

(一) 甲型肝炎病毒(HAV)

HAV 是一种微小核糖核酸(RNA)病毒,直径为 27~32nm,其形态为无包膜的 20 面体立体对称的球形颗粒,有蛋白衣壳和核心,内含单股正链 RNA 基因组。HAV 体外培养已获得成功,可在原代狨猴肝细胞、猴胚胎肾细胞(FRHK-6、FRHK-4)、人胚二倍体成纤维细胞(HEF)、人肝癌细胞(PLC/PRF/5)、人羊膜细胞(FL)、Vero 细胞和非洲绿猴肾细胞(AGMK)等多种细胞中生长繁殖。与其他小 RNA 病毒相反,野毒株 HAV 细胞培养生长不良,一般不引起细胞病变。HAV 在大多数细胞中的生长繁殖过程较长,一般需 2~4 周病毒量才能达到最大值。

HAV 的 RNA 全基因约含 7 500 个核苷酸,但各 HAV 株间基因序列中的核苷酸数目略有不同,经体外传代培养后,各株间衣壳蛋白(VP)氨基酸的一致性可达 98%~100%。该病毒基因组已被克隆和核酸序列分析,仅有一个血清型和一个抗原抗体系统。

HAV 较其他肠道病毒对外界的抵抗力强,对有机溶剂有抵抗力。它耐酸、耐碱、耐乙醚,在 pH3.0 或 pH10~20 的环境中,或 20%乙醚经 4℃作用 24h,病毒稳定。60℃加热 1h 不能完全灭活,80℃ 5min、98℃ 1min 可以完全灭活,故常用煮沸消毒法。它在-70~-20℃可存活多年,并保持其感染力,但不能耐受冷冻干燥。

HAV 对紫外线照射敏感,在不同照射条件下经 1~5min 可灭活。1:4 000 甲醛作用 72h,可使其失去感染力而保持免疫原性。HAV 能抵抗 2%~5% 的来苏和 200×10^{-6} 的有效氯达 1h 以上, $1\,000 \times 10^{-6}$ 含氯消毒剂处理 30min,可使其灭活。

(二) 乙型肝炎病毒(HBV)

HBV 是 DNA 病毒,完整的病毒颗粒又称 Dane 颗粒,直径为 42nm,由外壳和核心组成。外壳蛋白的主要成分为 HBsAg,核心由 DNA、DNA 聚合酶(DNA-P)、HBcAg 和 HBeAg 组成。HBV 复制时,肝细胞和血清中可出现 HBV DNA。血清中测出游离型 HBV DNA 表明传染性强;慢性乙型肝炎患者在肝细胞内若有 HBV DNA 整合,则是肝细胞癌变的原因之一。

对 HBV 基因序列突变的研究认为:在 HBV 的 4 个开读框架(ORF)中,S 区(包括 PreS1、PreS2 区)、P 区、X 区和 C 区(包括 PreC 区)都曾发现基因突变。PreC 区突变的 HBV 突变株,不能分泌 HBeAg,引起的急性肝炎常常是严重的,甚至暴发性肝炎,而且变异的 HBV 被清除的机会少于野生型 HBV,因而更易引起慢性肝炎且迁延不愈。S 基因突变导致 HBsAg 亚型改变。PreS 区的基因突变株可能保持了穿入肝细胞的能力,但却很难被清除,因而可能与 HBV 慢性感染有关,有些个体接种乙型肝炎疫苗后产生抗-HBs,但仍可能被 HBV 的 S 区基因突变株感染,故突变可逃脱宿主免疫系统。特异性免疫治疗时可能诱发 HBV 变异,P 区的突变往往导致复制缺陷或复制水平的降低。

(三) 丙型肝炎病毒(HCV)

HCV 是一个有外壳、大小为 30~80nm 的单股正链 RNA 病毒。HCV 基因组总长 9 416 碱基对,核衣壳和包膜蛋白由基因组的 5' 末端编码组成,HCV 的核心区较保守,外壳编码区较易发生变异。Weiner 等从丙型肝炎病人中分出 6 株 HCV 的基因组,其中至少有 4 个是世界上公认的主要基因型,I 型为美国、欧洲的主要类型,我国大多 HCV 病人属于 II 型。HCV 经 1:1 000 福尔马林,37℃ 96h 处理;加热 100℃ 5min,或 60℃ 10h,其传染性消失。

(四) 丁型肝炎病毒(HDV)

HDV 是一种缺陷性 RNA 病毒,直径为 35~37nm,具有 HBsAg 的外壳,相对分子质量为 68 000,其内部由 HDAg 和一个低相对分子质量的 HDV RNA 组成。目前已知 HDV 只有一个血清型。从人类分离的 HDV 含有 1 683 个核苷酸序列,易变异。HDV 感染可明显抑制 HBV DNA 合成,对 HBV 复制与表达有抑制作用,但是 HDV 能导致病情加重,如诱发暴发性肝炎和感染的慢性化,并可能与原发性肝癌(HCC)的发生有关。分子杂交表明,在抗-HDV IgG 产生后,约有 60% 的患者血清中仍有低水平的 HDV RNA,提示病毒仍在复制;HDV RNA 的消长和

HDAg、抗 HD-IgM 的消长规律一致并与肝细胞损害平行;HDV 感染的无症状携带者,无明显肝组织的损害。HDV 体外培养已获成功,在 HBV 感染的黑猩猩动物实验中,接种 HDV 后 3 周,其肝内发现 HDAg,第四周后血清中出现 HDAg,第九周血清中抗 HD 呈阳性,多次接种 HDV 可见发病潜伏期进行性缩短,病情严重,易形成慢性肝炎,肝脏病变亦进行性发展,感染 HDV 的黑猩猩可在数月至数年内死亡。

(五) 戊型肝炎病毒(HEV)

HEV 属单股、正链 RNA 病毒,直径 29~38nm,为圆形颗粒,表面有圆形突起和缺口,无外壳。HEV 不稳定,在 4℃ 下保存易裂解;在镁或锰离子存在下可保存其完整性。在 pH 呈碱性环境下较稳定。HEV 基因组的核苷酸链长度约为 7 500 个碱基,3'末端具有 PolyA 结构,含有 150~200 个腺苷;5'末端含有 27 个碱基的非编码区,其中含有 ORF 三个(即 ORF1、ORF2、ORF3),ORF 主要编码非结构蛋白、中和 RNA 的负电荷及识别 HEV 感染人及动物时的多肽免疫反应。但目前对 HEV 的免疫学反应知之甚少,有待进一步深入研究。

二、肝炎病毒的致病机制

(一) 甲型病毒性肝炎

甲型肝炎发病机制至今尚未充分阐明。如 HAV 侵入肝细胞之前,是否先在消化道及肠上皮细胞内增殖;HAV 侵入肝细胞之后,通过什么机制引起肝细胞病变,这些重要问题均无肯定的结论。既往认为甲型肝炎的发病机制是 HAV 对肝细胞的直接杀伤作用,近年研究表明:①感染 HAV 的实验动物肝细胞及 HAV 体外细胞培养时均不发生细胞病变;②致敏淋巴细胞对 HAV 感染的靶细胞显示细胞毒性;③病人外周血 CD8⁺ 细胞亚群升高;④病人肝组织内炎症反应明显,浸润较多的 CD8⁺ 细胞、CD4⁺ 细胞及 B 细胞;⑤针对 MHC-I 类抗原的特异性抗体,能阻抑 CD8⁺ 细胞对 HAV 感染靶细胞的杀伤作用;⑥病人外周血淋巴细胞产生并释放 γ 干扰素(IFN- γ)。根据这些研究结果,目前认为甲型肝炎的发病机制倾向以宿主免疫反应为主。发病早期,可能是由于 HAV 在肝细胞内大量增殖及 CD8⁺ 毒性 T 细胞杀伤作用共同导致肝细胞损害,内源性 IFN- γ 诱导受感染肝细胞膜 MHC-I 类抗原表达则促进 Tc 细胞的细胞毒作用;病程后期,可能主要是免疫病理损害,即内源性 IFN- γ 诱导 MHC-I 类抗原表达,促使 Tc 细胞特异性杀伤受 HAV 感染的肝细胞,导致肝细胞坏死,同时 HAV 清除。

(二) 乙型病毒性肝炎

乙型病毒性肝炎发病机制极为复杂,虽然研究资料很多,但仍未充分阐明。

1. HBV 感染肝细胞及肝外细胞的机制

1979 年发现用戊二醛交联的聚合人血清白蛋白 (polymerized human serum albumin, PHSA) 能与 HAV 颗粒特异性结合, 而后又发现这种 PHSA 还能和肝细胞结合, 由此提出“聚合白蛋白假说”。该假说认为人血清白蛋白单体衰老时, 相互聚合成六聚体 (即 PHSA), 通过与肝细胞膜 PHSA 受体结合, 摄入肝细胞并被清除。HBV 颗粒表面也有 PHSA 受体, 与肝细胞膜 PHSA 受体竞相结合 PHSA, 结果 PHSA 在 HBV 和肝细胞膜间架起桥梁, HBV 即黏附于肝细胞, 进而造成感染。进一步研究显示, HBV 表面确有 PHSA 受体, 并定位于前 S2 蛋白上, 即 PHSA 受体的分子基础是前 S2 蛋白。但是, 新近研究表明, 只有戊二醛人工交联的 PHSA 才能结合 HBV 颗粒; 而在人体内天然形成的 PHSA 含量极微, 与 HBV 亲和性也极弱; 或人血清内根本不存在 PHSA, 故目前“聚合白蛋白假说”有不少疑点, 得不到充分的证据。

现已证实, HepG2 肝癌细胞表面有 HBV 受体-35kD 的 PreS1 结合蛋白 (PreS1-binding Protein, PreS1-BP)。在正常人肝细胞提取物中也发现 35kD PreS1-BP。HBV 的 3 种包膜蛋白 (S、PreS1 和 PreS2 蛋白) 均参与病毒与正常人肝细胞间的相互作用, HBs/正常人肝细胞间的相互作用似乎具有精确构造, 而 PreS1/正常人肝细胞间的相互作用具有多肽特异性。另有研究认为, 正常人肝细胞膜上存在一种分子质量为 50kD 的 HBV 结合因子 (HBV binding factor, HBV-BF)。HBV-BF 是一种中性金属蛋白酶, 能裂解 HBV 中蛋白的 N 端部分, 裂解位点在 PreS2 136~141 位氨基酸之间, HBV-BF 通过影响病毒包膜蛋白的结构, 促进 HBV 进入肝细胞和 T 淋巴细胞。现认为 PreS1-BP35 是肝细胞膜与 HBV 结合的受体, 并提出 HBV 可能通过这种受体直接与肝细胞膜结合, 然后侵入肝细胞。HBV 与其受体相结合的位点, 已确定在包膜前 S1 蛋白氨基酸序列的第 21~47 位氨基酸肽段、用抗-前 S1 抗体能阻止 HBV 侵入肝细胞。所以, 目前认为前 S1 蛋白在 HBV 侵入肝细胞的机制中可能起决定作用。

此外, 已发现 HBV 受体也存在于某些肝外细胞表面, 与该受体相结合的位点也确定于 HBV 包膜前 S1 蛋白第 21~47 位氨基酸肽段, 这进一步支持 HBV 能通过受体机制感染肝外细胞。嗜肝 DNA 病毒虽能在肝外器官、细胞内复制, 但从未发现这些器官或细胞有任何因 HBV 感染而发生的病毒改变, 故其病理意义尚不明确。目前特别重视 HBV 感染各淋巴细胞亚群后对其免疫应答功能的影响, 但目前尚未获得成功的结果。有人发现, 当肝内 HBV 消失后, 外周血单个核细胞内仍可保留 HBV DNA。因此, 外周血单个核细胞内 HBV 感染的持续存在, 可能是 HBV 重新侵犯肝细胞, 引起肝脏 HBV 感染复发的一种根源, 也给肝衰竭病人移

植正常肝脏后再感染 HBV 带来危险。

2. 病毒损害肝细胞的机制

一般认为 HBV 对肝细胞无直接致病性,肝细胞病变主要是细胞免疫反应所引起。细胞免疫反应分为两大类:一类是迟发型超敏反应,效应细胞是 $CD4^+$ 辅助性 T 细胞(Th 细胞),受 II 类 MHC 抗原约束,通过释放淋巴因子诱导炎症反应而损伤靶细胞;一类是 T 细胞毒反应,效应细胞是 $CD8^+$ 细胞毒性 T 细胞(Tc 细胞),受 I 类 MHC 抗原约束,通过细胞浆颗粒释放穿孔素(perforin)和颗粒酶而损伤靶细胞或诱导肝细胞凋亡。

乙型肝炎肝细胞免疫病理损害主要是 T 细胞毒反应所介导。HBV 感染过程中,先由单核巨噬细胞对病毒抗原摄取、加工,然后提呈给 Th 细胞,在单核巨噬细胞释放的白细胞介素 1(IL-1)协助下,促使 Th 细胞活化增殖而释放白细胞介素 2(IL-2),IL-2 刺激已被 HBV 抗原致敏的 Tc 细胞发生克隆性增殖,形成大量效应性 T 细胞,攻击受 HBV 感染的肝细胞,导致肝细胞变性坏死。Tc 细胞膜 IL-2 受体表达状况决定着 Tc 细胞对 IL-2 的敏感性及其 T 细胞毒功能。目前认为,Tc 细胞攻击的主要靶抗原是肝细胞膜上的 HBcAg 和 HBeAg,胞膜型前 S1 蛋白、前 S2 蛋白及 HBxAg 也可能是靶抗原。Tc 细胞攻击靶细胞需依赖所谓“双识别”,即只有表达靶抗原和 I 类 MHC 抗原的肝细胞,才可能被 Tc 细胞识别、攻击和破坏。而 α 、 β 、 γ 3 种干扰素(IFN)均能增强肝细胞表达 I 类 MHC 抗原。

3. 乙型肝炎病毒持续感染机制

1) 宿主免疫功能

(1) 免疫耐受:胎儿宫内感染 HBV 可诱导完全性免疫耐受,而围生期或儿童期感染 HBV 可诱致部分免疫耐受。这可能由于胚胎期或新生儿期感染 HBV,处于未成熟阶段的免疫组织或细胞接触 HBV 抗原,对 HBV 抗原敏感的 Th 细胞消失,从而形成免疫耐受性,对 HBV 抗原不产生体液和/或细胞免疫,或仅产生有限的免疫反应性。

(2) 免疫抑制或免疫低下及遗传背景:大约有 10% 的艾滋病(AIDS)患者有慢性 HBV 感染,合并有 AIDS 的慢性乙型肝炎患者肝细胞 HBcAg 表达增加,血清 HBV DNA 和 DNA-P 水平升高,自发的和干扰素诱导的 HBeAg 血清转换率下降。HBV 感染慢性化的原因可能与 AIDS 患者体内 $CD4^+$ 细胞数减少有关。

另外,器官移植、长期应用免疫抑制剂或血透患者常有 HBV 高水平复制,说明免疫抑制可能参与 HBV 慢性化的过程。

成人、儿童和幼儿感染 HBV 后,分别有 5%、30% 和 95% 的患者成为慢性 HBV 感染者,表明机体免疫成熟程度是决定 HBV 持续感染的重要因素。急性乙

型肝炎患者体内有多种抗原特异性 $CD4^+$ T、 $CD8^+$ T 淋巴细胞反应和抗体反应。 $CD4^+$ 淋巴细胞主要通过“T 细胞受体(TCR)”识别抗原呈递细胞(APCs)膜上与 HLA-II 结合的 HBV 外源性抗原而活化、增殖。外源性抗原主要由单核吞噬细胞或 APCs 加工,形成抗原肽后与细胞内 HLA-II 型分子结合,并以复合物的形式表达在细胞膜上。与复合物结合后的 $CD4^+$ T 细胞在协同分子刺激下被活化,并释放多种细胞因子,辅助 HBV 特异性 $CD8^+$ T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞成熟、增殖。研究发现,急性乙型肝炎患者 HBsAg 特异性 $CD4^+$ T 细胞反应较弱,但针对其他抗原的 $CD4^+$ T 细胞反应则较强。机体可能通过一种“分子间互助”(intermolecular help)机制,使多克隆 B 淋巴细胞活化。慢性乙型肝炎患者的 HBsAg、HBeAg 和 HBcAg 特异性 $CD4^+$ T 细胞反应均较弱,这可能是 HBV 持续感染的一个重要因素。内源性抗原是受感染细胞内(如肝细胞)产生的抗原,它们在细胞内被水解为抗原肽后,由细胞内质网膜上的“转运相关蛋白(又称抗原肽转运蛋白,trans protein of antigenic peptides, TAP)”转运至内质网,与 HLA-I 类分子结合,形成 HLA-I-抗原肽复合物而表达在细胞膜上。 $CD8^+$ T 细胞与靶细胞膜上内源性抗原肽结合,并在协同分子的作用下活化,直接或间接地抑制 HBV。近来发现,细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)主要通过释放多种细胞因子直接抑制 HBV 复制和表达,对靶细胞不一定产生病变作用。急性、自限性乙型肝炎患者对 HBV 多种抗原均有明显的 CTL 反应。针对 HBcAg 的 CTL 主要受 HLA-A2 限制,个别则受 HLA-Aw68 和 HLA-A31 限制。慢性乙型肝炎患者的 CTL 对 HBV 各种抗原的反应则较弱。

2) HBV 因素

HBV 复制过程中极易发生变异,变异的 HBV 又极易逃脱宿主免疫杀伤,这可能是 HBV 持续性感染的重要原因之一。S 基因变异时,抗 HBs 失去中和活性,使病毒持续扩散。Pre C 基因突变有利于病毒前基因组 RNA 包装序列的稳定;与 HLA 结合的 HBV 抗原肽变异,或与 TCR 结合的 HBV 抗原肽变异,使 HLA 无法与病毒抗原结合,TCR 也不能识别靶细胞 HLA-抗原复合物,从而干扰免疫系统对 HBV 抗原的加工、呈递、识别和 T 细胞的活化。变异抗原与 HLA 或 TCR 结合的活性下降,但也可出现变异抗原与 HLA 和 TCR 结合后的空间结构发生改变,致使变异抗原不仅不能活化 T 细胞,而且可占据 TCR 位点,产生对野生型抗原识别的“拮抗作用”,引起 T 细胞对靶抗原的免疫耐受。具有拮抗作用的变异抗原被称为“变异肽配体”。

3) 肝外 HBV DNA 的存在

许多研究认为,HBV 可存在于肝外组织。机体内某些组织和器官因受微管屏

障保护,淋病细胞无法浸润;某些类型的细胞不表达相应的 MHC-I、MHC-II 类抗原,无法参与免疫应答,因此,把它们称为“免疫优势部位”。HBV 可在这些组织中持续存在,逃避人体的免疫压力。人体中这些组织包括:肠系膜淋巴结、脾、肾、胰、脑、外周血单核细胞、骨髓细胞和某些内分泌组织,如睾丸、卵巢、肾上腺等。

4) 缺陷 HBV 颗粒产生

近期基础研究指出,由拼接的 2.2kb HBV RNA 产生的缺陷 HBV 颗粒(defective HBV particle, dHBV)大量存在于趋向慢性化的急性乙型肝炎和慢性乙型肝炎患者的血清中;这些缺陷病毒含有与复制有关的前 C/C₁/X 基因序列,但缺乏编码前 S/S 基因启动子。体外 Huh7 细胞系的 dHBV DNA 转染试验发现 dHBV 具有导致 HBcAg 在细胞内集聚和增加 HBeAg 分泌的作用,提示大量的 dHBV 颗粒产生与乙型肝炎慢性化有关。

5) HBV 持续感染机制与药物干预靶位研究进展

由于 HBV 感染引起的急性或慢性肝炎大多由免疫介导,所以了解机体对 HBV 的免疫反应机制有助于发现新的免疫治疗方法。已建立 HBV 感染的黑猩猩和 HBV 转基因鼠模型来了解免疫系统在引起肝炎和清除病毒中所起作用,但动物模型虽然有用,也有其局限性,特别是转基因鼠,HBV 不能复制,也就是说不能产生 cccDNA。

HBV 感染过程受免疫反应强度的影响。在感染的早期阶段,先天性和获得性免疫反应对 HBV 的清除很关键。抗原递呈细胞(APC),尤其是树突状细胞、NK 细胞、和 NKT 细胞在控制 HBV 在肝内复制、激活 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞方面起重要作用。Th 细胞根据它们所分泌的细胞因子的不同分为 Th1 和 Th2 细胞。Th1 细胞主要分泌 IL-12,它主要介导细胞免疫;而 Th2 细胞分泌 IL-4、IL-5、和 IL-10,它激发产生抗体的体液免疫。当 Th1 细胞和 CTL 细胞都被激活而产生针对病毒胞膜蛋白、多聚酶蛋白和核心蛋白的多个特异性免疫反应时,HBV 可被清除。激发 Th2 细胞产生抗体的免疫反应很可能导致 HBV 的持续感染,因此,T 细胞功能差异可能导致 HBV 持续性感染,从而引起新生儿和成人感染时对 HBV 耐受。

细胞因子可以介导 HBV 的非溶细胞性清除,这种新观点已取代了简单的由细胞因子介导、通过 CTL 激活穿孔素或 Fas 依赖途径引起 HBV 感染的肝细胞破坏的观点,这是通过对 HBV 感染的黑猩猩和 HBV 转基因鼠的研究发现的。细胞因子,尤其是 TNF- α 、IFN- γ 和 IFN- α/β 能在不杀死肝细胞的情况下抑制 HBV 复制。转基因鼠体内的这些细胞因子至少能通过两种方式干扰 HBV 生活周期,即 HBV DNA 的转录后降解和 HBV 核心蛋白通过包含前基因组 RNA 的非成熟核心颗粒的清除而导致翻译后丢失。IFN- α/β 激活两种酶:双链 RNA 依赖的蛋白激

酶和双链 RNA 依赖的 2'-5' 寡聚核苷酸合成酶。PKR 的激活可能导致 HBV 蛋白合成的抑制,而 2'-5' 寡聚核苷酸合成酶通过激活 RnaseL 引起 HBV RNA 的降解。

通过对 HBV 转基因鼠的研究已经揭示了细胞内蛋白 La 在 TNF- α 和 IFN 诱导的病毒 RNA 降解中的作用。这种蛋白特异性地结合到病毒 RNA 转录后调节成分的 5' 末端茎环结构上,介导 HBV DNA 从核内运出。近来的研究表明,结合到 La 蛋白上的特异 HBV DNA 可以作为潜在的抗病毒靶位点。

总之,HBV 持续感染的机制比较复杂,涉及病毒和宿主两方面。尽管目前对 HBV 持续感染的机制有了进一步的了解,但仍有许多问题有待研究。

(三) 丙型病毒性肝炎

最初认为丙型肝炎的发病机制是 HCV 对肝细胞的直接损害,随后的研究认为 Tc 细胞介导的细胞免疫反应在丙型肝炎肝细胞损害中起重要作用。Fas/FasL 介导的肝细胞凋亡与抗体依赖性细胞毒(ADCC)效应也可能参与其中。

1. HCV 的直接致病作用

丙型肝炎病人血清中 HCV RNA 含量和 HCV 抗原的出现与血清 ALT 水平呈正相关,HCV 病毒复制常伴随肝细胞损伤。使用干扰素治疗后,随着血清中 HCV RNA 含量的减少,其血清中 ALT 水平也逐渐降低,提示 HCV 可能存在直接致病作用。丙型肝炎病人组织病理学研究也显示 HCV 有直接致肝细胞损伤作用。对慢性丙型肝炎病人和自身免疫性肝炎病人的肝组织病理学比较发现,慢性丙型肝炎病人的组织学变化为汇管区淋巴细胞浸润或淋巴滤泡形成,肝细胞脂肪变性和胆管的损伤,以脂肪变性尤为明显。而自身免疫性肝炎病人肝硬化发生率远高于慢性丙型肝炎病人,大多数发生严重的肝小叶变性和坏死,表现为多核肝细胞、碎屑样坏死及网状纤维支架塌陷。丙型肝炎病人肝小叶炎症和坏死范围较局限,而自身免疫性肝炎病人的肝小叶病变较广泛。这两种疾病的病理差异也提示 HCV 所致肝炎不像自身免疫性肝炎仅以免疫介导,而可能有直接致肝细胞病变的作用。HCV 的直接致病作用推测可能与 HCV 在肝细胞内复制引起肝细胞结构和功能改变、或干扰肝细胞内蛋白质合成造成肝细胞变性和坏死有关。HCV 直接致病作用可以部分解释急性 HCV 感染致肝损伤过程,但这种作用在慢性感染中,可能不是引起肝损伤的直接原因。

2. 免疫发病机制

免疫因素尤其是细胞免疫异常可能是丙型肝炎发病的重要机制。Imawarri 等采用微量细胞毒试验,将丙型肝炎病人肝活检组织作为靶细胞,观察人类 T 细胞克隆(TANB-2 细胞)的细胞毒作用,发现其毒性作用较乙型和急性甲型肝炎病人

显著增强。慢性丙型肝炎病人外周血淋巴细胞(PBL)与自身的肝细胞混合培养能引起肝细胞明显损伤,说明细胞免疫在清除病毒感染的肝细胞中起作用。Spenshen 等发现 HLA-Ⅱ类抗原在肝细胞、淋巴细胞、巨噬细胞及胆管均有表达,CD8⁺细胞在肝细胞坏死区域较多。Lee 等发现,CD4⁺、CD8⁺细胞及肝细胞上 HLA-Ⅰ类表达也有明显增强。因此,Tc 细胞可能在慢性丙型肝炎的发病中起重要作用,这与 HBV 感染有十分相似之处。

HCV 特异抗原能激活 CD4⁺、CD8⁺细胞,提示 CD4⁺细胞在慢性丙型肝炎发病机制中起重要作用,慢性丙型肝炎肝内 T 细胞能识别 HCV 的 C 蛋白、E1 和 E2/NS1 蛋白的多个抗原决定簇,这种识别受 HLA-Ⅰ类限制,也说明 Tc 细胞在慢性丙型肝炎发病机制中起一定作用。另有研究表明,绝大多数慢性 HCV 感染者外周血和肝组织内受 HLA-Ⅱ类限制的 CD4⁺细胞(Th1 细胞)能攻击 HCV 特异的免疫抗原决定簇,CD4⁺细胞对 HCV 核心抗原的反应与肝脏炎症活动有关。HCV 特异的 Th 细胞表面抗原决定簇能增强 TC 细胞对 HCV 抗原的特异反应,提示 Th 细胞能协助和增强 Tc 细胞攻击破坏 HCV 感染的肝细胞。

HCV 基因组 E1、E2/NS1 区在体内很容易发生变异,并导致 HCV 感染者肝细胞膜的靶抗原(E1、E2/NS1 蛋白)决定簇的改变,Tc 细胞就会再次识别新出现的抗原决定簇,并攻击破坏肝细胞,这就是 HCV 基因组变异率越高,其肝组织炎症越严重的原因,也说明免疫介导机制在慢性 HCV 感染者肝细胞损伤中起着重要作用。

丙型肝炎特征性病理改变也提示免疫机制参与 HCV 致肝损害。丙型肝炎基本病理变化为汇管区淋巴样细胞聚集或形成滤泡,小胆管炎细胞浸润或胆管上皮损伤,嗜酸性小体形成,脂肪变性或肝窦淋巴样细胞浸润,其中较为特征的病理改变是汇管区淋巴样细胞聚积或形成滤泡,可见生发中心形成淋巴滤泡。生发中心为激活的 B 细胞,周边为 T 细胞区,含有 CD4⁺、CD8⁺和少数 IL-2R 的激活 T 细胞(CD25),B 细胞及 T 细胞均有 HLA-DR 的表达,在碎屑样坏死区以 CD4⁺细胞为主,而肝小叶内以 CD8⁺细胞数量居多。丙型肝炎肝内门静脉区淋巴小体可能的确是功能性淋巴滤泡,它可诱导和刺激产生效应性 T 细胞和 B 细胞,淋巴滤泡的形成并非是 HCV 感染所致慢性肝炎的特有征象,但其形成及其性质均提示免疫机制参与了丙型肝炎的发病过程。

Alric 等在研究 MHC-Ⅱ类基因对 HCV 感染转归的影响中发现:①持续 HCV 感染和一过性 HCV 感染者在年龄、性别、感染途径和 HCV 血清型等方面均无差异;②一过性 HCV 感染者 DQB1 * 0301 和 DRB1 * 1101 等位基因检出频率明显高于持续 HCV 感染者;③DQB1 和 DRB1 等位基因不影响病毒负载作为一种独立