



第二十五章 肝炎病毒



学习目标

通过本章内容的学习，学生应能：

◆ 记忆

列表 HAV、HBV、HCV、HDV 和 HEV 的结构、传播途径和其他相关疾病、实验室诊断；回忆 HBV 的三种颗粒和抗原组成。

◆ 理解

解释 HBV 的致病性；分析 HBV 与 HCV 与原发性肝癌的关系。

◆ 应用

综合分析 HBV 抗原和抗体的检测结果；实施 HAV、HBV 和 HCV 的防治。

肝炎病毒（hepatitis virus）是一大类能引起病毒性肝炎的病原体。病毒性肝炎是危害人类健康的最严重疾病之一。现已知可引起肝炎的病毒主要有七个型：A、B、C、D、E、G 及 TT，也称为甲、乙、丙、丁、戊、庚型肝炎病毒及 TT 病毒。其中 A、B、C、D 和 E 五型肝炎病毒为公认的肝炎病毒，庚型肝炎病毒及 TT 病毒为肝炎相关病毒。

第一节 甲型肝炎病毒

甲型肝炎病毒（hepatitis A virus, HAV）是甲型肝炎的病原体。1973 年，Feinstone 采用免疫电镜技术在急性肝炎患者的粪便中发现了 HAV 颗粒。HAV 属于小 RNA 病毒科，肝病毒属。小 RNA 病毒科是一类个体微小、无包膜、单链 RNA 病毒，主要包括鼻病毒属、肠道病毒属及肝病毒属等。

一、生物学特性

1. 形态结构 HAV 呈球形，直径为 27 ~ 32 nm，为二十面体立体对称结构，无包膜（图 25-1）。HAV 抗原性稳定，仅有一个血清型。

在 HAV 的核心部位为 +ssRNA——病毒的核酸除决定病毒的遗传特性外，还具有 mRNA 的功能，并有传染性。HAV 基因组长约 7.4 kb，其中央为一个编码长度为 2 200 个氨基酸的开放阅读框（open reading frame, ORF），分为 P1、P2、P3 共三个功能区。P1 区编码 VP1 ~ VP4 四种蛋白；VP1 ~ VP3 构成 HAV 的衣壳蛋白，具有抗原性，可诱导机体产生相应抗体；VP4 含量很少，其功能尚不清楚。P2 区、P3 区编码与病毒复制有关的 RNA 多聚酶、蛋白酶等非结构蛋白。

2. 动物模型与细胞培养 黑猩猩、绒猴和猕猴对 HAV 敏感。经口或静脉注射接种 HAV，均可使动物发生肝炎。在感染动物的肝细胞及其粪便中可检出 HAV 颗粒，其恢复期





血清中也能检出 HAV 的相应抗体。1979 年, Provost 等首次将已适应在绒猴传代的病毒株成功进行了原代肝细胞或恒河猴胚肾细胞 FRh K6 株培养。我国学者也先后使用肝癌细胞株及人胚肺二倍体细胞成功培养了 HAV。HAV 在细胞培养中增殖, 但不产生细胞病变作用 (CPE), 且增殖速度非常缓慢。

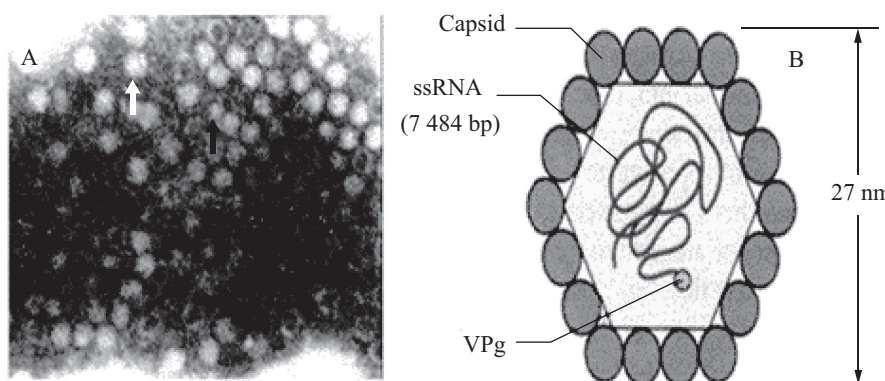


图 25-1 A. 电镜下 HAV 的形态; B. HAV 结构模式图

3. 抵抗力 与其他肠道病毒一样, HAV 对外界抵抗力较强。对乙醚、氯仿、酸 (pH 3) 稳定; 60℃、1 小时不被灭活; 在 25℃ 干燥条件下至少能存活 1 个月; 但 100℃ 煮沸 5 分钟可灭活。过氧乙酸 (2%、4 小时)、甲醛 (0.35%、37℃、72 小时) 等均可消除其传染性。

二、致病性

1. 传染源与传播途径

(1) 传染源: HAV 的主要传染源为患者或隐性感染者。甲型肝炎的潜伏期为 15 ~ 50 天 (平均 30 天)。在潜伏期末与临床症状出现前即有大量 HAV 从感染者粪便排出, 粪便中病毒颗粒的浓度可达 $10^8/\text{g}$ 。发病后 2 周开始, 随着肠道中抗 HAV IgA 及血清中抗 HAV IgM、IgG 的产生, 粪便中不再排出病毒。

(2) 传播途径: HAV 随患者或隐性感染者的粪便排出体外, 污染水源、食物、海产品、食具等, 主要经粪-口途径传播, 可引起散发或大流行。目前我国人群 HAV 感染率为 70% ~ 80%。由于 HAV 比一般的肠道病毒更耐热, 并可在污染的废水、海水及食品中存活数月或更久, 故 HAV 更易引发感染。1988 年, 上海曾因食用被 HAV 污染的毛蚶而发生了甲型肝炎的暴发流行, 患者多达 30 余万, 危害十分严重。由于 HAV 在血液中存在时间远短于 HBV, 通过输血或注射等途径传播 HAV 的概率较低。

2. 致病性 HAV 的感染以儿童和青少年为主, 且多表现为隐性感染; 在显性感染中, 主要为急性感染。HAV 经口侵入人体, 早期可在口咽部或唾液腺中增殖, 然后在肠黏膜及局部淋巴结中增殖, 病毒侵入血液后形成病毒血症, 并最终侵入靶器官肝, 在肝细胞内增殖而引起甲型肝炎。动物实验证明, 甲型肝炎的致病机制除了病毒的直接作用外, 机体的免疫病理反应在导致肝细胞损害方面也具有一定的作用。

三、免疫性

无论 HAV 是显性感染还是隐性感染, 机体均可产生抗 HAV IgM 和抗 HAV IgG, IgM 类抗体在感染早期即出现, 维持 2 个月左右开始下降; IgG 类抗体在急性期后期或恢复期早期出现, 并可维持多年, 对 HAV 的再感染有免疫力。





四、微生物学检验

检测感染者血清中抗 HAV IgM 是甲型肝炎早期诊断最常用的方法。从出现症状开始到病后 12 周, 其抗 HAV IgM 一般均为阳性。抗 HAV IgM 持续时间短, 除检测抗 HAV IgM 外, 也可在发病初期和恢复期采集双份血清进行抗 HAV IgG 检测; 若恢复期抗体效价升高 ≥ 4 倍, 则表明近期感染了 HAV。若仅抗 HAV IgG 阳性, 且动态观察其效价无明显增高, 表示既往感染过 HAV。血清抗 HAV IgG 检测主要用于流行病学调查。

对于怀疑被污染的食品, 可用 ELISA 法检测 HAV 抗原; 或采用核酸杂交、RT-PCR 等检测检测 HAV RNA。

五、防治原则

加强卫生宣传教育、管理好粪便、保护好水源、注重食品卫生安全, 以阻断 HAV 的粪-口传播途径。目前预防甲型肝炎的疫苗有减毒活疫苗和灭活疫苗。我国成功研制了甲型肝炎减毒活疫苗 (H₂ 株和 L-A-1 株), 免疫效果良好, 接种后可获得持久的免疫力。国外多使用 HAV 灭活疫苗。由于 HAV 在细胞培养中增殖缓慢, 故 HAV 的基因工程疫苗是其研究的方向。

易感者若食入 HAV 污染的食物, 或密切接触过急性甲型肝炎患者, 应及时注射人血清免疫球蛋白 (ISG) 进行紧急预防。ISG 制品的抗 HAV 浓度应 ≥ 200 IU/L, 注射后有明显的预防效果。

第二节 乙型肝炎病毒

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 是乙型肝炎的病原体, 在分类上属于嗜肝 DNA 病毒科、正嗜肝 DNA 病毒属。1963 年, Blumberg 在研究人类血清蛋白多样性时发现, 澳大利亚土著人血清中存在一种异常的蛋白质, 并认为其是澳大利亚人特有的抗原, 故称为澳大利亚抗原, 简称澳抗。后经研究确认, 所谓的澳大利亚抗原就是 HBV 的表面抗原。HBV 传播广泛, 估计全世界乙型肝炎患者及无症状 HBV 携带者可达 3.5 亿人, 分布于各年龄组。我国是乙型肝炎的高流行区, 人群 HBV 的携带率约为 10%。HBV 感染后有多种临床类型, 可表现为重症肝炎、急性肝炎、慢性肝炎、慢性活动性肝炎或无症状携带者, 其中部分慢性肝炎可演变为肝硬化或原发性肝癌, 已构成了严重的社会问题。

一、生物学特性

1. 形态与结构 用电镜观察 HBV 感染者的血清可以看到三种不同形态的颗粒 (图 25-2), 即大球形颗粒、小球形颗粒和管形颗粒。

(1) 大球形颗粒: 直径为 42 nm, 具有双层衣壳。外衣壳相当于一般病毒的包膜, 由脂质双层及嵌入蛋白 (membrane spanning protein, MSP) 组成。MSP 包括 HBV 表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg)、前 S1 抗原 (Pre S1) 和前 S2 抗原 (Pre S2)。内层相当于一般病毒的衣壳, 呈 20 面体立体对称; 内层衣壳为核心抗原 (hepatitis B core antigen HBcAg), 其内部为双股未闭合的环状 DNA 和 DNA 聚合酶。大球形颗粒是完整的 HBV, 具有传染性, 是 1970 年由 Dane 在乙型肝炎患者血清中首先发现的, 故称为 Dane 颗粒。

(2) 小球形颗粒: 直径为 22 nm, 是 HBV 感染者血清中最常见的颗粒, 为中空颗粒, 主要成分为 HBsAg, 是病毒在组装过程中过剩的外衣壳, 不含 DNA 和 DNA 聚合酶, 因此, 不具有传染性。





(3) 管形颗粒：直径同小球形颗粒，也是 22 nm，但长短不一，在 100 ~ 500 nm 之间。管形颗粒实际上是由若干个小球形颗粒聚合而成的，也存在于 HBV 感染者血清中，其成分与小球形颗粒相同。

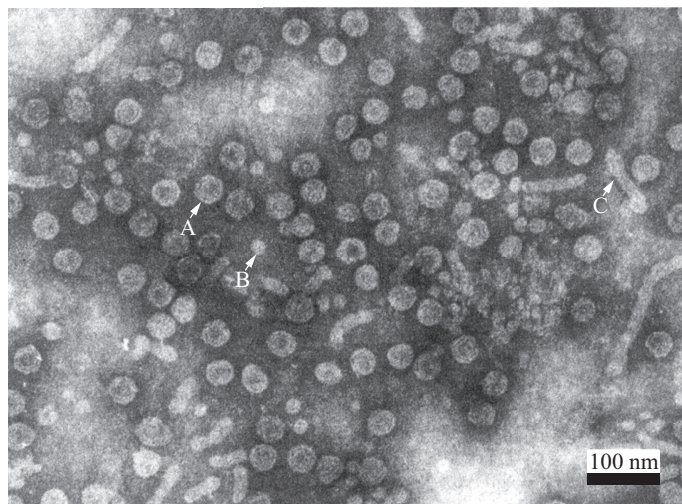


图 25-2 HBV 的三种颗粒

A, 大球形颗粒; B, 小球形颗粒; C, 管形颗粒

2. 基因结构复制方式 HBV DNA 为不完全闭合环状双链 DNA；长链为负链，完全闭合，有固定的长度，约含 3.2 kb。短链为正链，其长度不固定，为负链的 50% ~ 100%。研究证明，在负链 DNA 核苷酸序列上具有 4 个 ORF，分别称为 S、C、P、X 区，ORF 之间可互相重叠，以提高基因组的利用率（图 25-3）。S 区中有 S 基因、pre-S1 基因和 pre-S2 基因，编码 HBV 的外衣壳蛋白（HBsAg、pre-S1 及 pre-S2 抗原）；C 区包括 C 基因和前 C 基因，分别编码 HBcAg 及 HBeAg；P 区最长，编码 DNA 多聚酶，后者既具有 DNA 多聚酶的功能，也具有反转录酶和 RNA 酶 H 的活性；X 区有 X 基因，编码 X 蛋白，可反式激活病毒及细胞的启动子，与原发性肝癌的发生发展有关。

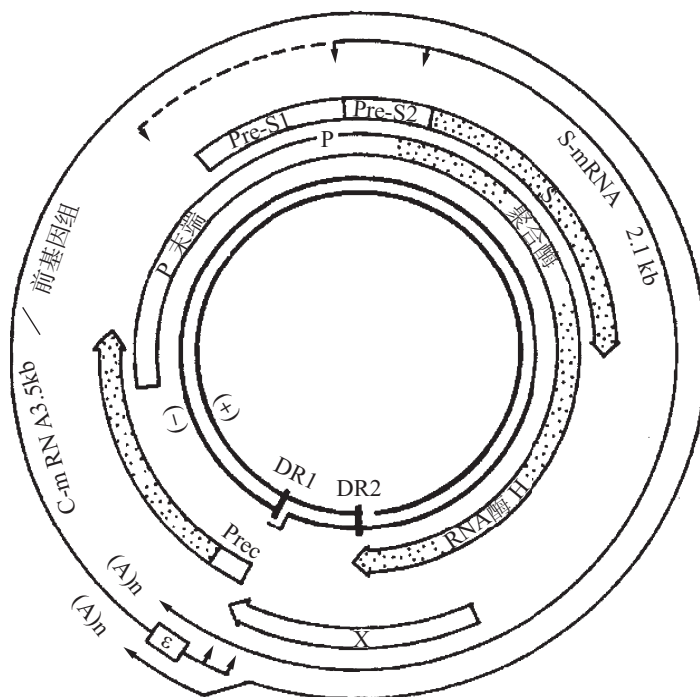


图 25-3 HBV 基因结构模式图





3. 复制方式 HBV 的复制方式较为特殊 (图 25-4)。

(1) HBV 通过 pre-S1 和 pre-S2 与肝细胞表面特异性受体结合, 吸附并进入肝细胞, 在胞质中脱去衣壳, HBV DNA 进入宿主细胞核内。

(2) 在 HBV DNA 聚合酶的作用下, 以负链 DNA 为模板, 对正链裂隙区进行修补, 形成完整的环状双链 DNA。

(3) 完整环状双链 DNA 再形成超螺旋环状 DNA, 在细胞 RNA 多聚酶的作用下, 以负链 DNA 为模板, 转录出 0.8 kb、2.1 kb、2.4 kb、3.5 kb 的 mRNA。0.8 kb 的 mRNA 编码 HBxAg; 2.1 kb 的 mRNA 编码 pre S2 及 HBsAg; 2.4 kb 的 mRNA 编码 pre S1、pre S2 及 HBsAg; 3.5 kb 的 mRNA 可编码 P 蛋白、HBcAg 及 HBeAg 前体蛋白, 同时还作为 HBV 的前基因组 RNA。

(4) 3.5 kb 的 mRNA 转移至细胞质中, 与依赖 RNA 的 DNA 聚合酶一起装入核衣壳中。在 DNA 聚合酶作用下反转录合成负链 DNA, 再以负链 DNA 为模板复制出正链 DNA。

(5) 长短不等的正链 DNA 与完整的负链 DNA 组成病毒的基因组, 在肝细胞的内质网与高尔基体上装配成完整的病毒颗粒, 以出芽或肝细胞死亡方式释放。

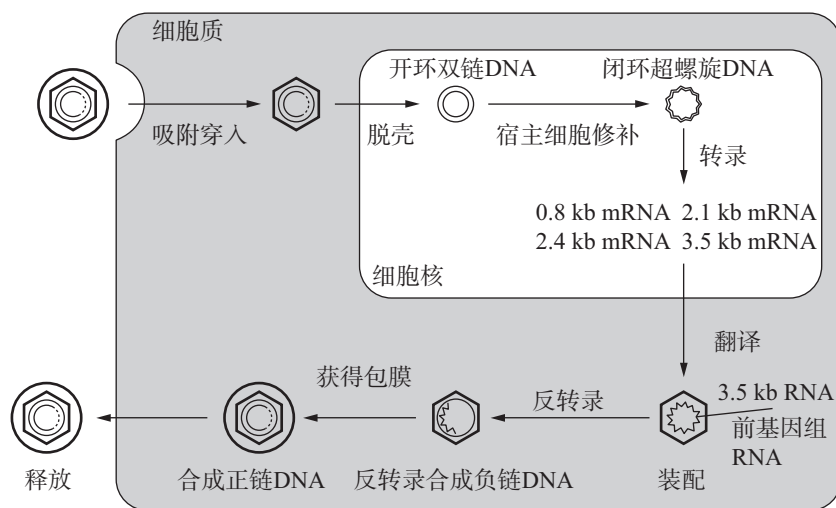


图 25-4 HBV 的复制周期

因为 HBV DNA 聚合酶的功能特殊, 所以 HBV 的复制方式也较为特殊, 能以 RNA 为模板反转录 DNA, 也能以 DNA 为模板复制 DNA, 因此, 现已将 HBV 列为反转录病毒 (retrovirus)。

4. 抗原组成 HBV 的抗原包括 HBsAg、前 S₁ 抗原、前 S₂ 抗原、HBcAg 和 HBeAg。

(1) 表面抗原 (HBsAg): 为糖蛋白, 大量存在于感染者血清中。小球形颗粒、管形颗粒及 Dane 颗粒均具有 HBsAg。HBsAg 的存在是感染 HBV 的主要标志。

HBsAg 有不同的亚型, 各亚型均具有共同抗原决定簇 a 和互相排斥的两组亚型决定簇 d/y 与 w/r; HBsAg 可组合成 4 种亚型, 即 adw、adr、ayw、ayr。HBsAg 亚型的分布具有明显的地区性差异, 且与种族有关。我国汉族以 adr 多见, 少数民族以 ayw 为主, 而欧美各国以 adw 为主, 中东则以 ayw 为主。

HBsAg 具有免疫原性, 可刺激机体产生抗 HBs 抗体; 后者是一种中和抗体, 对机体有保护作用。血清中出现 HBsAg 是 HBV 感染的标志, 反之, 血清中出现抗 HBs 抗体可视为乙型肝炎恢复。HBsAg 是疫苗的主要成分, 因各亚型均具有共同抗原决定簇 a, 故制备的疫苗对各亚型的感染均具有交叉保护作用。

Pre-1 抗原及 Pre-2 抗原与 HBsAg 一同存在于 Dane 颗粒的外衣壳上, 它们比 HBsAg 具有





更强的抗原性,约70%的急性乙型肝炎患者的血清Pre-2抗原呈阳性。抗Pre-2抗体持续时间短,一般仅为2~3个月;而抗Pre-1抗体持续时间较长。抗Pre-1抗体及抗Pre-2抗体也是中和抗体。

(2) 核心抗原(HBcAg):存在于Dane颗粒的内衣壳表面。其外表有HBsAg覆盖,在感染者的血清中通常不易检出。HBcAg在肝细胞表面也可表达,可用免疫组化法在组织切片上检测到。HBcAg抗原性强,可刺激机体先产生IgM类抗体,然后产生IgG类抗体,后者可在血清中存在多年。抗HBc抗体无中和HBV的作用,高效价抗HBc IgM提示HBV在体内复制。

(3) e抗原(HBeAg):是一可溶性蛋白质,为Pre-C蛋白翻译加工后的产物,可游离于血清中。由于HBeAg的出现较HBsAg短暂,而且HBeAg的消长与Dane颗粒出现的时间及DNA多聚酶的消长基本一致,故HBeAg是病毒在体内复制及血清有强传染性的一个指标。HBeAg持续存在时间一般不超过10周,如果超过10周,则提示感染向慢性发展。HBeAg转为阴性,表示病毒复制速度减慢,传染性下降,病情趋于静止。

HBeAg可以刺激机体产生抗HBe抗体,后者对HBV感染有一定保护作用,但中和病毒的能力远不如抗HBs抗体。

5. 抵抗力 HBV的抵抗力很强,能耐受低温、干燥、紫外线和一般消毒剂的作用,不被70%乙醇灭活。高压蒸气灭菌、100℃煮沸10分钟、0.5%过氧乙酸、5%次氯酸钠、3%漂白粉溶液和环氧乙烷等均可灭活HBV,消除其传染性。应指出的是,在对外界抵抗力方面,HBV的传染性和HBsAg的抗原性并不一致,上述消毒手段仅能使HBV失去传染性,但仍可保留HBsAg的抗原性。

二、致病性

1. 传染源 HBV的主要传染源是乙型肝炎患者和无症状HBV携带者。潜伏期为30~160天(平均60~90天)。潜伏期、急性期、慢性活动期感染者的血清均有传染性。HBV携带者的血液中长期含有HBV,但不出现症状,是更重要的传染源。除血液外,在唾液、精液、乳汁、阴道及宫颈分泌物、羊水中也可检出HBV。

2. 传播途径 HBV的传播途径主要有三种:血液或血制品传播、母婴传播和性接触传播。

(1) 血液、血制品传播:人对HBV极其易感,极微量含有HBV的血液(0.004 μl)进入人体即可导致感染,如血液、血液制品、手术、注射、针刺、拔牙、内镜等均可造成医源性传播,共用剃刀或牙刷也可传播HBV。

(2) 母婴传播:HBsAg和HBeAg均呈阳性的孕妇其胎儿宫内感染率为10%。分娩时新生儿经产道也可被感染。HBsAg和HBeAg均呈阳性的母亲所生婴儿在1年内HBsAg阳转率为64%,说明围生期感染率较高。此外,哺乳也可传播HBV。

(3) 性接触传播:在HBV感染者的精液和阴道分泌物中可检出HBV。HBsAg阳性者的配偶较其他家庭成员更易感染HBV,表明HBV可以经性接触传播。

3. 致病性与免疫机制 HBV感染后的临床表现具有多样性,如无症状带病毒者、急性肝炎、慢性肝炎、慢性活动性肝炎、重症肝炎等。HBV的致病机制尚未完全清楚,HBV在肝细胞内增殖并不直接导致肝细胞凋亡。研究表明,免疫反应及病毒与宿主细胞间的相互作用是导致肝细胞损伤的主要原因。免疫反应的强弱与病情的轻重程度及其转归有密切关系。

(1) 细胞免疫介导的免疫病理损伤:HBV在肝细胞内增殖可使其细胞膜表面整合有HBsAg、HBeAg或HBcAg;致敏的T细胞对细胞膜表面带有病毒抗原的靶细胞有杀伤效应。杀伤性T细胞介导的效应具有双重性,既可清除病毒以控制感染,也可导致肝细胞损伤。细





胞免疫应答的强弱程度与临床过程的轻重及转归有密切关系。当病毒感染涉及的肝细胞的数量不多、免疫应答处于正常状态时,CTL可杀死病毒感染细胞,而释放至细胞外的HBV可被抗体中和而清除;临床上表现为急性肝炎,病情可较快恢复。相反,当感染的肝细胞数量众多、机体的细胞免疫应答超过正常范围时,会导致大量肝细胞迅速坏死而导致肝衰竭;临床表现为重症肝炎。当机体免疫功能低下、病毒在感染细胞内复制仅受到CTL的部分杀伤作用时,病毒会不断释放;由于缺少有效的中和抗体,病毒可持续存在,并感染其他肝细胞而导致慢性肝炎。慢性肝炎导致的肝病又可促进成纤维细胞增生,引起肝硬化。

(2) 免疫复合物病理损伤:HBV感染后可诱导机体产生抗HBs、抗Prs1、抗Pre2等特异性抗体,这些抗体可与血清中游离的病毒结合,阻断HBV对肝细胞的吸附而发挥抗感染作用。在部分乙型肝炎患者的血清中,常可检出HBsAg与抗HBs抗体结合形成的免疫复合物。中等大小的免疫复合物可沉积于肾小球基底膜、关节滑液囊等,激活补体,引起Ⅲ型超敏反应;因此,一些患者可伴有肾小球肾炎、关节炎等肝外损害。如免疫复合物大量沉积于肝内,可使肝毛细管栓塞,并可诱导肿瘤坏死因子(TNF)产生,导致急性肝坏死,引起重症肝炎。

(3) 自身免疫应答介导的病理损害:HBV感染肝细胞后,在宿主细胞膜上除表达病毒特异性抗原外,还可引起肝细胞表面结构发生改变,使隐蔽抗原肝特异性蛋白(liver specific protein, LSP)暴露。LSP可诱导机体产生自身抗体,通过ADCC作用、CTL的杀伤作用或释放淋巴因子等,引起肝细胞损伤。在自身免疫应答引起的慢性肝炎患者的血清中,常可测出LSP抗体或抗核抗体、抗平滑肌抗体等自身抗体。

(4) 免疫耐受与慢性肝炎:机体对HBV的免疫耐受是导致HBV持续感染的重要原因。当感染者的特异性细胞免疫和体液免疫处于较低水平或完全缺乏时,机体既不能有效地清除HBV,也不能产生有效的免疫应答以杀伤靶细胞,此时病毒与宿主处于相对“平衡状态”而形成免疫耐受;临床上表现为HBV无症状携带者或慢性持续性肝炎。幼龄儿童感染HBV后,因其免疫系统尚未发育成熟,易对病毒形成免疫耐受。

4. HBV与原发性肝癌 HBV感染与原发性肝癌具有明显相关性。其根据是:①乙型肝炎患者原发性肝癌的发生率远高于正常人群的发生率,HBsAg携带者较未感染HBV者发生肝癌的风险高217倍;②原发性肝癌患者的肝细胞核内可整合有HBV-DNA;③初生时即感染土拨鼠HBV的土拨鼠,饲养3年后几乎100%发生了肝癌,而未感染HBV的土拨鼠无一只发生肝癌。

三、免疫性

1. 体液免疫 HBV感染可诱导机体产生抗HBs、抗HBc、抗HBe、抗Prs1及抗Pre2抗体,其中具有保护作用的抗体是抗HBs、抗HBe、抗Prs1及抗Pre2抗体,尤其是抗HBs、抗Prs1及抗Pre2抗体可中和血液中的HBV,阻止HBV与健康肝细胞结合,是清除细胞外病毒主要因素。若感染HBV后机体长期不出现抗HBs抗体,则急性肝炎可转为慢性。

2. 细胞免疫 特异性CTL是杀伤病毒感染细胞、清除HBV的最主要因素。另外,活化的CTL产生的细胞因子还可以通过肝窦状内皮细胞间隙激活肝内非特异性免疫细胞,如NK细胞、巨噬细胞等,产生大量IFN- γ 和TNF- α 等细胞因子而抑制HBV复制,最终达到清除HBV的目的。

四、微生物学检查

1. HBV抗原抗体的系统检测 由于HBcAg仅存在于肝细胞内,只有将Dane颗粒外衣壳除去后才能检测到HBcAg,且抗HBc IgM与HBcAg代表的意义基本相同,所以HBV抗原抗体的系统检测一般不检测HBcAg。目前临床上检查的HBV抗原和抗体主要包括:HBsAg、抗





HBs 抗体、HBeAg、抗 HBe 抗体及抗 HBc 抗体，俗称五项指标或“两对半”。

2. HBV 抗原抗体检测结果的临床分析 见表 25-1。

表25-1 HBV抗原、抗体检测结果的临床分析

HBsAg	HBeAg	抗 HBs	抗 HBe	抗 HBc	结果分析
+	-	-	-	-	HBV 感染或无症状携带者
+	+	-	-	-	急性或慢性乙型肝炎或无症状携带者
+	+	-	-	+	急、慢性乙型肝炎（俗称“大三阳”）
+	-	-	+	+	急性感染趋向恢复（俗称“小三阳”）
-	-	+	+	+	既往感染恢复期
-	-	+	+	-	既往感染恢复期
-	-	-	-	+	既往感染或“窗口期”
-	-	+	-	-	既往感染或接种过疫苗

3. HBV 抗原抗体系统检测的用途

(1) 乙型肝炎的诊断：HBsAg、HBeAg、抗 HBc (IgM) 阳性，结合临床症状与肝功能检查结果可诊断为乙型肝炎。

(2) 判断传染性：血清中出现 HBsAg、HBeAg 和抗 HBc IgM 阳性，表示具有传染性。抗 HBc IgM 和 HBeAg 通常出现在含高效价 HBsAg 的血清中。

(3) 判断预后：HBsAg、HBeAg、抗 HBc 阳性，并持续 6 个月以上，应考虑乙型肝炎已由急性转为慢性。HBsAg、HBeAg 转阴表示乙型肝炎进入恢复期，预后良好。

(4) 筛选献血员：HBV 主要通过输血、注射传播，因此，必须严格筛选献血员。

(5) 检测乙型肝炎疫苗接种效果：接种乙型肝炎疫苗，后如果出现抗 HBs 抗体，说明机体获得了对 HBV 的免疫力，如果抗 HBs 抗体仍为阴性，需要再次接种。

(6) 流行病学调查：HBV 抗原抗体检测结果有助于了解人群中 HBV 的自然感染率，且可发现无症状 HBV 携带者。在传播乙型肝炎上，HBV 携带者具有重要意义，必须给予高度重视。

4. 血清 HBV DNA 检测 应用 PCR 法，既可定性，也可定量。

五、防治原则

1. 一般预防 针对 HBV 的传播途径采取综合性预防措施，严格检查血制品，严格筛选献血员。手术器械、牙科器械、注射器、针头、针灸针应严格灭菌。

2. 特异性预防 包括人工自动免疫和人工被动免疫。

(1) 人工自动免疫：接种乙型肝炎疫苗是预防乙型肝炎的最有效方法，主要用于未感染人群的预防。第一代乙型肝炎疫苗是血源疫苗，从 HBsAg 携带者的血浆中提取 HBsAg，用福尔马林灭活制备而成。目前使用的乙型肝炎疫苗为基因工程疫苗，也称为第二代疫苗。基因工程疫苗的优点是：可以大量制备且排除了血源疫苗中可能存在的未知病毒感染，已广泛应用，效果与血源疫苗相同。对于新生儿，采用出生时、出生后 1 个月、出生后 6 个月（0、1、6 个月）各注射一次，共 3 次，预防效果较好。

(2) 人工被动免疫：注射含高效价抗 HBs 的人免疫球蛋白，主要用于伤口意外接触 HBsAg 阳性血液或被污染针头刺入时的应急预防；使用剂量为 0.08 mg/kg，接触 HBV 后 8 天内注射有效，2 个月后重复注射一次。





3. 治疗 对于乙型肝炎，至今尚无特效方法治疗。目前多采用广谱抗病毒药物和调节机体免疫功能的药物联合治疗。常用药物有：拉米夫定、利巴韦林、阿糖腺苷（Ara-A）、IFN- α 及清热解毒、活血化瘀的中草药等，对 HBV 感染有一定的疗效。

案例 25-1

患者，男，25 岁。就诊时主诉近一年来厌油腻，乏力，面色发黄。半年前单位体检生化指标结果为：AST 为 120 U/L；ALT 为 140 U/L；总胆红素为 17.1 $\mu\text{mol/L}$ ；血清抗 HAV IgG、抗 HCV IgG 和抗 HDV IgG 阴性；抗 HBc 和抗 HBs 阳性，HBsAg、HBeAg、抗 HBe 阴性。使用各种特异性试剂盒及实验室单抗检测不到 HBsAg，血清 HBV DNA 定量检测结果为 $1.1 \times 10^7/\text{ml}$ ，医生诊断为乙型肝炎病毒感染引起的慢性乙型肝炎。拉米夫定治疗 5 个月后，血清 ALT 水平正常。

思考：

1. 患者感染 HBV，为什么用各种特异试剂盒和实验室单抗测不到 HBsAg？试分析原因。
2. 临床实验室定量检测 HBV 的原理是什么？

第三节 丙型肝炎病毒

丙型肝炎病毒（hepatitis C virus, HCV）可引起丙型肝炎，过去曾称为肠道外传播的非甲非乙型肝炎（PT-NANB）。1989 年，美国 Chiron 公司 Choo 小组采用免疫筛选方法从一名来自慢性感染的黑猩猩血浆中成功克隆了 HCV 的部分 cDNA，接着又从患者血浆中得到多个 HCV 克隆，从而将引起丙型肝炎的病原体分离了出来。HCV 是第一个应用现代分子生物学技术鉴定的、在没有看到病毒颗粒情况下确认的人类病毒。HCV 属于黄病毒科（*Flaviviridae*）的肝病病毒属（*Hepacivirus*），与黄病毒科中黄病毒属如登革热病毒、黄热病毒等相似。

一、生物学特性

1. 形态与结构 病毒体呈球形，直径为 55 ~ 65 nm；有包膜，包膜表面有 7 nm 长的突起，包膜内为 30 ~ 35 nm 的核衣壳，含病毒核酸。

2. 基因组结构 HCV 基因组为一条单正链线状 RNA，长度约为 9.5 kb，由 9 个基因区组成；5' 端非编码区的核苷酸序列保守性强，可用于基因检测诊断（图 25-5）。E1、E2/NS1 区基因容易发生变异，因此，包膜蛋白的抗原性不断变异而引起免疫逃逸，病毒得以持续存在，这是 HCV 感染后易导致慢性丙型肝炎的原因之一。

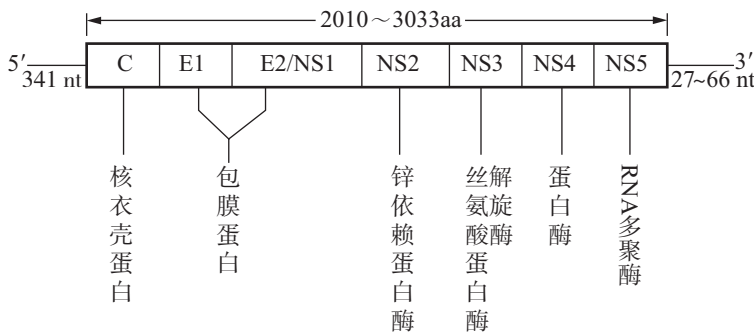


图 25-5 HCV 基因结构示意图





3. 基因型 根据基因组序列, 可将 HCV 分成至少 6 个主要基因型以及 11 个亚型。其中 HCV 1 型分布具有全球性, 占有 HCV 感染的 70% 以上。HCV 1b 型和 2a 型在我国较为常见, 其中以 1b 型为主, 2a 型次之。在临床上, 不同的基因型引起的疾病严重程度不同, 药物治疗效果也不一样。

4. 培养特性 目前 HCV 尚不能在体外培养。黑猩猩是研究 HCV 感染的可靠模型, 其感染过程、急性期表现、宿主免疫应答及长期感染后果等与人类感染 HCV 时非常相似。

5. 抵抗力 HCV 对理化因素的抵抗力较弱, 对酸、热、脂溶剂敏感; 紫外线照射、20% 次氯酸等均可使其感染性丧失。

二、致病性

1. 传染源与传播途径 HCV 的传染源为丙型肝炎患者和无症状携带者。其传播途径与 HBV 相似, 主要为输血、注射传播和医源性传播, 也可通过性接触、密切接触及母婴传播。

2. 临床表现 HCV 感染后表现轻重不等, 有急性肝炎、慢性肝炎和无症状携带者。HCV 感染慢性化比例较高, 40% ~ 50% 的丙型肝炎患者转变为慢性肝炎, 约 20% 的慢性肝炎可发展为肝硬化。HCV 感染与原发性肝癌有密切关系。在意大利、希腊、日本等国, 50% ~ 70% 的肝癌患者血清抗 HCV 抗体阳性; 我国约 10% 的肝癌患者血清中存在抗 HCV 抗体。自癌组织提取的 RNA 用 RT-PCR 检测, 约 10% 可检出 HCV RNA。

3. 致病机制 HCV 的致病机制与病毒的直接作用、免疫病理损伤及细胞凋亡有关。免疫组化染色证实, 病毒不仅存在于肝细胞中, 也存在于肝外细胞 (如淋巴细胞)。肝穿刺病理学检查可见, 肝内淋巴细胞浸润及肝细胞坏死; 部分丙型肝炎患者可出现肾小球肾炎, 提示 HCV 的抗原抗体复合物可沉积于肾小球基底膜。HCV 感染慢性化的机制可能与 HCV 基因易发生变异从而逃逸清除作用。HCV 存在于肝外组织中, 如外周血单核细胞中, 使病毒不易被清除, 这可能是导致 HCV 感染慢性化的另外一个原因。HCV 感染使肝细胞大量表达 Fas 抗原, 同时被激活的 CTL 细胞大量表达 Fas 配体, CTL 与肝细胞膜上表达的 Fas 抗原结合, 诱导肝细胞凋亡。

三、免疫性

由于 HCV 基因易发生变异, 机体感染 HCV 后, 虽然可依次出现抗 HCV IgM 型和 IgG 型抗体, 但不能产生有效的免疫保护。实验感染的黑猩猩恢复后, 再用同一毒株攻击, 几乎无保护力, 提示其免疫力不强。

四、微生物学检查

1. 检测病毒 RNA 因 HCV 在血液中含量很少, 故需用极敏感的方法进行检测。如采用套式 RT-PCR 法, 即从患者血清中提取病毒 RNA, 经反转录酶作用合成 cDNA, 再用两对引物先后扩增, 以求扩增出极微量的病毒 RNA。由于 5' 端非编码区序列最为保守, 故两对引物的序列均应选自该区。荧光定量 PCR 技术不但可以定性, 也可定量检测 HCV RNA, 可用于早期诊断与疗效评估。

2. 检测抗体 以核心区蛋白和 NS3、NS4 及 NS5 区蛋白为抗原, 用 ELISA 法和 Western blot 法检测相应抗体, 可用于丙型肝炎的诊断、献血员筛选和流行病学调查。

五、防治原则

我国已规定必须对献血员进行抗 HCV 检测, 以减少 HCV 的感染与传播; 对血制品也需进行检测以防污染。因 HCV 免疫原性不强, 毒株包膜抗原易发生变异, 疫苗的研制有一定难





度。目前对 HCV 感染尚缺乏特效的治疗药物,通常采用 IFN- α 和利巴韦林联合治疗。

第四节 丁型肝炎病毒

丁型肝炎病毒 (hepatitis D virus, HDV) 最初被称为 δ 因子 (δ 抗原), 由意大利学者 Rizzetto 于 1977 年用免疫荧光法检测乙型肝炎患者的肝组织切片时首先发现。HDV 属于沙粒病毒科、 δ 病毒属。HDV 是一种缺陷病毒, 必须在 HBV 或其他嗜肝 DNA 病毒辅助下才能复制。

HDV 为球形, 直径为 35 ~ 37 nm; HDV 颗粒由 HBsAg 构成其外壳, 内部由 HDV RNA 及与之结合的丁型肝炎病毒抗原 (HDAg) 组成 (图 25-6)。HBsAg 是由同时感染宿主细胞的 HBV 提供的。HDAg 有 P24 和 P27 两种多肽形式, 前者可促进 HDV 的复制, 而后者可抑制 HDV 的复制。HDAg 主要存在于肝细胞内, 也可存在于血清中。HDAg 出现早, 维持时间短, 仅持续 2 周左右, 故血清中一般不易检测到 HDAg。

HDV 基因组为共价闭合环状的单负链 RNA。基因组长度约为 1.7 kb, 是已知动物病毒中最小的基因组。HDAg 可刺激机体产生抗 HD 抗体, 为非保护性抗体, 不能中和与清除病毒。抗 HD 抗体若持续高效价存在, 可作为判断丁型肝炎的指标。HDV 只有一个血清型。

HDV 感染以输血、注射为主要传播途径, 也可通过密切接触和母婴传播。人对 HDV 普遍易感。HDV 有两种感染方式: 一是联合感染 (coinfection), 即同时感染 HBV 和 HDV; 另一是重叠感染 (superinfection), 即乙型肝炎患者或 HBsAg 携带者再感染 HDV。



图 25-6 HDV 结构模式图



知识链接

乙型肝炎与丁型肝炎重叠感染

HDV 是一种缺陷的单负链环状 RNA 病毒, 其基因组由 1 678 bp 组成, G + C 的摩尔分数为 60%, 能形成稳定的二级结构。HDV 有 9 个 ORF, 其中抗基因 RNA 链的 ORF 编码的 215 个氨基酸多肽具有抗原性。HDV 需要在 HBV 或其他嗜肝 DNA 病毒的辅助下才能复制, HDV 的复制是否对 HBV 的复制有抑制作用目前尚不清楚。HDV 感染呈世界范围流行, 常与 HBV 混合感染或重叠感染。HDV 与 HBV 混合感染可出现自限过程, 一般预后良好, 但有时会表现为重症或暴发性肝炎。HBsAg 携带者重叠感染 HDV 时, 可表现为肝炎急性发作; 慢性乙型肝炎患者重叠感染 HDV 时可加速向慢活肝和肝硬化发展。

HDV 感染后 2 周, 机体即可产生抗 HD IgM, 一个月达到高峰, 随之迅速下降。而抗 HD IgG 产生较迟, 通常在恢复期出现。可用免疫荧光法、ELISA 法或 RIA 检测肝组织或血清中的 HDAg。也可用血清斑点杂交法或 PCR 检测 HDV 基因组进行诊断。

HDV 与 HBV 传播途径相同, 因此, 预防乙型肝炎的措施同样适用于丁型肝炎。除切断其传播途径外, 接种乙型肝炎疫苗也可预防 HDV 感染。由于 HDV 是缺陷病毒, 如能抑制





HBV, 则 HDV 也不能复制。

第五节 戊型肝炎病毒

戊型肝炎病毒 (hepatitis E virus, HEV) 属于肝炎病毒科的肝炎病毒属。HEV 引起的戊型肝炎过去曾被称为肠道传播的非甲非乙型肝炎。1983 年, Balayan 通过免疫电镜技术在自愿者和受染猕猴的粪便中首次发现了 HEV 颗粒。1990 年, 美国学者 Reyes 等成功克隆了戊型肝炎病毒部分基因组, 并将其正式命名为戊型肝炎病毒。1991 年, Tam 等得到 HEV 全基因组并进行了测序。

HEV 呈球状, 无包膜, 直径为 27 ~ 34 nm; HEV 有实心和空心两种颗粒, 前者内部致密, 为完整的 HEV 结构; 后者呈透亮区, 为含不完整 HEV 基因的缺陷病毒。HEV 基因组为单正链 RNA, 全长约为 7.5 kb, 包括 3 个相互重叠的 ORF。国际上目前将 HEV 分为 8 个基因型, 在我国流行的主要为 I 型和 IV 型。

HEV 的传染源为戊肝患者和隐性感染者, 主要经粪-口途径传播。感染后其潜伏期为 10 ~ 60 天, 平均约为 40 天。潜伏期末和急性期初的患者粪便排毒量最大, 传染性最强, 是本病的主要传染源。HEV 的传播有明显的季节性, 多发生于雨季或洪水后。

HEV 主要侵犯青壮年人, 戊型肝炎的临床类型可分为急性黄疸型肝炎、急性无黄疸型肝炎、重症肝炎以及胆汁淤积性肝炎四类。HEV 感染后多数患者预后较好, 一般不发展为慢性肝炎。孕妇感染 HEV 后病情常较重, 尤以妊娠 6 ~ 9 个月最为严重, 常发生流产或死胎, 病死率达 10% ~ 20%。HEV 感染有明显的自限性, 发病后 6 周可自然康复, 并可获得牢固的免疫力, 再次感染者少见。

HEV 感染的病原学诊断, 可用电镜或免疫电镜技术检测患者粪便滤液中的 HEV 颗粒, 也可用 RT-PCR 法检测粪便或胆汁中的 HEV RNA。临床上, 目前常用的诊断戊型肝炎方法是检查血清中的抗 HEV IgM 或 IgG, 如抗 HEV IgM 阳性, 则可确诊患者 HEV 感染; 如血清中存在抗 HEV IgG, 则为既往感染, 因为抗 HEV IgG 在血中持续存在的时间可达数月至数年。

HEV 与 HAV 传播途径相似, 主要为粪-口途径传播, 所以一般性预防与甲型肝炎的相同, 主要是加强水源和粪便的管理, 改善供水条件, 注意个人和环境卫生等。

小 结

1. 肝炎病毒及分型。肝炎病毒是指一类主要侵犯肝并引起病毒性肝炎的病毒。目前已证实的人类肝炎病毒包括甲、乙、丙、丁、戊共五型肝炎病毒。其中最重要的甲型、乙型肝炎病毒, 尤其是乙型肝炎病毒。
2. 传播途径。甲型、戊型肝炎病毒主要通过粪-口途径传播; 乙、丙、丁型肝炎病毒主要通过输血、注射传播、母婴传播、密切接触及性接触传播。
3. 临床表现及预后。甲型、戊型肝炎病毒感染后主要表现为急性肝炎, 预后相对较好。乙型、丙型、丁型肝炎病毒感染后可出现多种临床类型: 急性肝炎、慢性肝炎、慢性活动性肝炎、暴发性肝炎、无症状携带者等。乙型、丙型肝炎预后相对较差, 并且与原发性肝癌的发生有关。
4. 实验室检查。在临床上, 五型肝炎病毒均可检测其抗原、抗体或核酸。





5. 预防。对于甲型肝炎，我国成功研制了甲型肝炎减毒活疫苗，免疫效果良好；灭活疫苗在国外研究成功。对于戊型肝炎和丙型肝炎，尚无预防疫苗。对于乙型肝炎，目前使用的乙型肝炎疫苗主要为基因工程免疫。对于丁型肝炎，虽然目前没有疫苗，但由于 HDV 为缺陷病毒，而 HBV 是其辅助病毒，普遍接种乙型肝炎疫苗后，丁型肝炎的发生也可预防。

6. 治疗。甲型肝炎和戊型肝炎为自限性疾病，尚无有效的抗病毒药物，临床上以对症支持疗法为主。乙型肝炎的治疗，目前多采用广谱抗病毒药物和调节机体免疫功能的药物联合治疗。丙型肝炎，尚缺乏特效的治疗药物，通常采用 IFN- α 和利巴韦林联合治疗。对 HDV 感染，尚无特效治疗方法，临床以护肝对症治疗为主。

自测题

一、名词解释

1. Dane 颗粒 2. HBsAg 3. HBcAg 4. HBeAg 5. 重叠感染

二、综合思考

1. 乙型肝炎的临床类型与机体免疫反应之间的相互关系。
2. 乙型肝炎五项指标检测的临床意义。
3. 各型肝炎病毒的传播途径及预防措施。

(吕厚东)

