DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.06.024

肝外和肝组织内HCV抗原表达的特点及其意义

严福明* 郝飞 顾长海 张绪清 赵利斌 (第三军医大学附属西南医院传染病专科中心) 重庆,400038

提 要 目的:探讨丙型肝炎患者肝外组织内丙型肝炎病毒(HCV)感染状况及其意义。方法:采用免疫组化法检测9例丙型肝炎患者肾、心、胰和肠等肝外组织内HCV抗原,并与肝组织内抗原表达进行对比研究。结果:9例患者肝组织和其中6例(66.7%)的4种肝外组织检出了HCV抗原。抗原定位于组织细胞浆内。肝外组织中抗原表达阳性细胞种类多,但未见明显病变。肝组织中仅肝细胞内抗原表达阳性,病变严重。结论:肝外组织存在HCV感染。与肝组织比较,肝外组织感染可能属一种伴随状态,肝脏是感染的中心器官。肝外组织被感染可能是丙型肝炎易慢性化的重要原因之一。

关键词 丙型肝炎病毒;抗原表达;免疫组织化学方法
中图法分类号 R373.21;R446.62

目前,有学者在丙型肝炎患者胰腺等少数肝外组织检出HCV[1,2],由于研究报道甚少,患者肝外组织内HCV感染状况及其意义尚未阐明。为继续深入探讨,我们采用免疫组化法检测了9例丙型肝炎患者肾、心、胰和肠等肝外组织内HCV多种抗原,并与肝组织内抗原表达进行对比研究,结果报告如下。

1 材料与方法

9例病例为1986~1994年收治住院的死亡患者。男8例,女1例,年龄25~48岁。全部病例分别经血清学(抗-HCV)、肝组织内HCV RNA和病毒抗原检测证实为HCV感染者。均合并HBV感染。临床和病理诊断慢性重型肝炎6例,亚急性重型肝炎3例。均有血制品使用史。9例患者肾、心、胰、肠(仅5例)和肝等41份标本取自尸解组织存档石蜡块。

采用链霉菌亲生物素蛋白-过氧化酶连接法(S-P法)[3]检测组织内HCV抗原。主要试剂:抗-HCV CP10、抗-HCV NS3和抗-HCV NS5单克隆抗体,S-P法试剂盒和DAB显色试剂。对照实验包括:①阳性对照;②阴性组织对照;③第一抗体和试剂替代对照。

2 结果

2.1 肝外和肝组织内HCV多种抗原检出情况

9例丙型肝炎患者肝组织和其中6例(66.7%)的4种肝外组织检出了HCV多种抗原。32份肝外组织的抗原检出率66.5%(21/32)。在HCV抗原阳性组织内,三种抗原的检出有显著或非常显著的一致性($\chi^2=4.185\sim9.8351$, $P<0.05$,配对计数资料中两处理独立性的χ^2检验)。同一患者不同肝外组织内抗原检出有良好的平行性,见表1。

表1 9例丙型肝炎肝外和肝组织内HCV抗原检出率

Tab 1 Positive rates of HCV antigens in extrahepatic tissue and liver from 9 patients with viral hepatitis C

Kinds of tissue	n	HCV NS3(+)	HCV NS5(+)	HCV CP10(+)
Kidney	9	6(66.7%)	5(55.6%)	4(44.4%)
Heart	9	5(55.6%)	4(44.4%)	4(44.4%)
Pancreas	9	6(66.7%)	6(66.7%)	5(55.6%)
Intestine	5	3(60.0%)	2(40.0%)	0(00.0%)
Liver	9	8(88.9%)	7(77.8%)	7(77.8%)

2.2 肝外和肝组织内HCV抗原表达的比较

HCV NS3、NS5和CP10等抗原定位于肝外和肝组织细胞浆内,呈膜下型、包涵体型,见图1;均质型,见图2、3;未见核型。

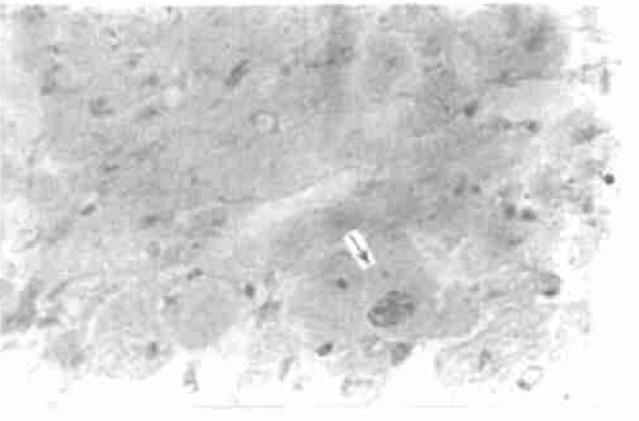


图1 心肌细胞(箭头)内HCV NS5表达阳性呈包涵体型,点状分布 (S-P×400)

Fig 1 HCV NS5 positive expression showing inclusion type and spotted distributed in myocardial cells (S-P×400)

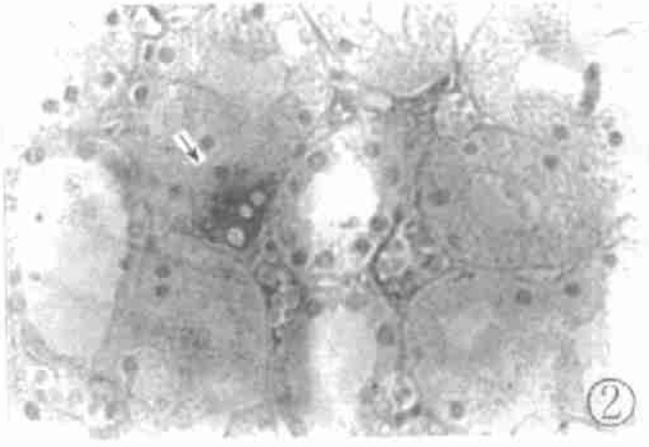
* 严福明,男,38岁,主治医师,硕士,现在解放军第161中心医院 武汉,430010

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

肝外组织中，HCV抗原可在多种组织细胞内表达，如心的心肌细胞，见图1，肠的肠腺上皮细胞，肾的肾小管上皮细胞、间质细胞，见图2和肾小球血管内皮细胞，胰的腺泡细胞和腺导管上皮细胞。组织内抗原表达阳性细胞数量较肝组织内明显偏少，点状分布为主，可见散在分布。阳性细胞的形态结构和大小与阴性细胞类似，阳性细胞及其周围组织未见特殊病变。

肝组织中仅肝细胞内HCV抗原表达阳性，见图3；阳性肝细胞总数量<1%，散在分布为主，可见弥漫性分布，点状分布少见；阳性肝细胞及其周围组织存在严重病变。

同步阳性对照为阳性结果，阴性组织对照及第一抗体和试剂替代对照均为阴性结果。



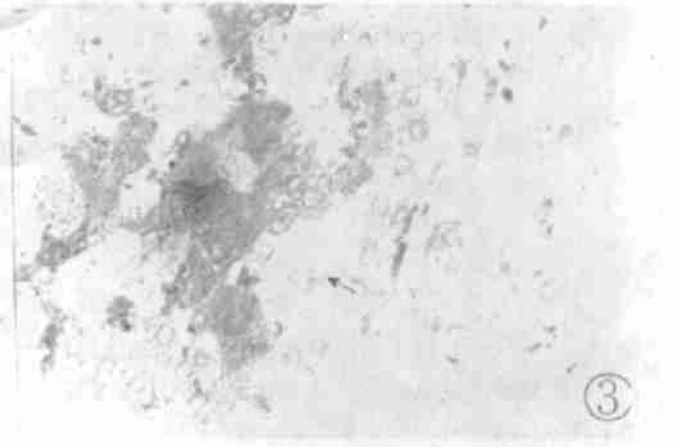


图2 肾间质细胞内HCV CP10表达阳性呈均质型 (S-P×400)

Fig 2 HCV CP10 positive expression showing homogenous type in the interstitial cells of kidney (S-P×400)

图3 HCV NS3表达阳性呈均质型，散在分布于变性坏死肝细胞内 (S-P×400)

Fig 3 HCV NS3 positive expression showing homogenous type scatted in necrosis and degeneration liver cells (S-P×400)

3 讨论

近年来研究显示，HCV可以感染骨髓，胃粘膜，胰腺等肝外组织[1,2,4]，但研究报道少，涉及脏器局限，缺乏水平对比研究。本研究同时在肾、心、胰和肠等脏器检出HCV NS3、NS5和CP10等抗原，表达阳性组织细胞种类各脏器间存在差异，说明HCV能同时感染肝外多个组织，但各组织感染状况可能不尽相同。NS3、NS5和CP10等抗原为HCV复制中的重要蛋白[5,6]，但HCV在肝外组织细胞内是否存在持续增殖复制，有待细胞内原位检出HCV RNA负链来证实。

本研究中，肝组织内抗原表达阳性肝细胞病变严重，肝外组织内表达阳性细胞种类多，但未见明显病变，可能与HCV对肝细胞有致病性[3]，对肝外组织无明显的直接致病作用有关[7]。推测肝外组织HCV感染可能属一种伴随状态，肝脏是感染的中心器官。

文献报道，被感染外周血单个核细胞可充当HCV储存库，还可能为肝组织的反复感染提供病毒来源[8]。本研究中，被感染肝外组织是否有类似意义很值得考虑和深入研究。由于多种肝外组织被感染，HCV更难以被机体所清除，可能为丙型肝炎易慢性化的重要原因之一。

参考文献

1 郎振为，孟 忻，郭新会，等. 丙型肝炎患者胰腺中丙型肝炎病毒C33c抗原的检测. 中华医学杂志，1996，76(3)：229

2 Sansonno D, Iacoelli A R, Cornacchiulo V, *et al*. Detection of hepatitis C virus (HCV) proteins by immunofluorescence and HCV RNA genomic sequence by nonisotopic in situ hybridization in bone marrow and peripheral blood mononuclear cells of chronically HCV-infected patients. Clin Exp Immunol，1996，103(3)：414

3 严福明，郝 飞，顾长海. 重型病毒性肝炎肝组织内丙型肝炎病毒抗原表达的研究. 第三军医大学学报，1998，20(5)：412

4 袁光辉，罗朝霞，黄其通，等. 丙型肝炎患者胃粘膜细胞中HCV NS3、NS5抗原定位研究. 中华传染病杂志，1998，16(3)：148

5 Bartenschlager R, Ahlborn-Loake L, Mous J, *et al*. Nonstructural protein 3 of the hepatitis C virus encodes a serine type proteinase for cleavage at the NS3/4 and NS4/5 junctions. J Virol，1993，67(7)：3835

6 Tomei L, Failla C, Santolimi E, *et al*. NS3 is a serine pro-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

teinase required for processing of hepatitis C virus polyprotein. J Virol，1993，67(7)：4017

7 严福明，郝　飞，顾长海，等．丙型肝炎病毒感染泛嗜性研究．中华肝脏病杂志，1998，6(2)：90

8 田德英，宋佩辉，王卫华，等．原位杂交法检测外周血单个核细胞中 HCV RNA．中华传染病杂志，1998，16(3)：140

（收稿：1998-09-15；修回：1999-04-13）

（编辑　汪勤俭）

Characteristics and significance of expression of hepatitis C virus antigens in extrahepatic tissue and liver

Yan Fuming, Hao Fei, Gu Changhai, Zhang Xuqing, Zhao Libin (Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To investigate the state and significance of infection of hepatitis C virus (HCV) in extrahepatic tissue in patients with viral hepatitis C. Methods: Immunohistochemical assay was used to determine the expression of HCV antigen in the kidneys, heart, pancreas, intestine and liver in 9 patients with viral hepatitis C. Results: The positive staining of HCV antigen was found in the liver of all the 9 patients but in the extrahepatic tissues in only 6 patients. The antigen was localized in the cytoplasm. It was expressed in several kinds of cells in extrahepatic tissues and there was little injury in stainable cells. In the liver, the hepatocytes with expression of HCV antigen were severely injured. Conclusion: There is extrahepatic infection of HCV. This infection plays an important role in HCV infection being apt to be chronic.

Key words hepatitis C virus; antigen; immunohistochemistry

（上接 442 页）

处。充分止血，适度张力缝合骨膜、周围软组织，留置引流管，加压包扎伤口，长腿石膏托外固定。拆线后改用长腿管形石膏外固定出院。

2　结果

术后 3 个月，患肢能作直腿抬高活动，X 线片见移植的髂骨呈“潮湿泥巴塑形”，胫骨半上下植骨端的棱角变钝，有骨痂生成。术后 5 个月，所植松质骨间隙模糊，融合成块，皮质形成，胫骨半上下衔接处的棱角变钝圆，骨痂增多。去除石膏固定，改用自制“竹帘外固定带”固定，指导练步。术后 8 个月，患者在无竹帘外固定带保护下，提大半桶水于不平坦的坡路上行走，使患肢疼痛，有异常活动，X 片见胶胫衔接处下 5 cm 的移植胫骨半有一斜行骨折线，其余部位显示骨融合良好。再用竹帘固定带固定两个月后又能行走如前。术后 15 个月，不用外固定带能步行，胜任上班和操劳家务，X 片见骨折处大量骨痂呈梭状，皮质厚达 1.1 cm，植骨完全融合，骨皮质形成，骨髓腔再通，见图 1。随访 10 年，无肿瘤复发，患肢步行功能良好。



图 1　术后 15 个月正位 X 线表现

3　讨论

股骨下端 $G_3T_3M_0$ 期巨细胞瘤，截肢是不公正的[1]，较好的方法是瘤段切除。功能重建方法有异体半关节移植、人工关节、灭活瘤段骨再植、吻合血管腓骨移植关节融合、异体合成骨移植关节融合以及胫骨半反转植骨关节融合等等。前数种方法均因技术、设备、费用、移植物来源等限制，一般医院难以开展，且也有损伤大、愈合时间长，远期效果欠理想之缺点[2,3]。本例采用胫骨半反转＋髂骨植骨膝关节融合术，五个月骨基本愈合，自制“竹帘外固定带”保护下练步，轻巧方便，虽然丧失膝关节功能，但于避免截肢，防止肿瘤复发，重建下肢长久负重步行功能，却有一劳永逸之优点。一般医院均可开展，尤其对青年劳动患者，不失为实用之方法。

不少文献认为骨缺损达 8 cm，即应用吻合血管的骨移植[4]。本例切除瘤段骨长 14 cm，移植胫骨半长达 23.5 cm，能达到预期效果，其原因作者以为(1)植骨床血运好。(2)坚质骨与松质骨联合植骨，松质骨片、棍、粒状植入，接触紧密，有大量骨髓组织，植骨周围组织适度张力包埋缝合。(3)内固定简单、牢固。(4)“竹帘固定带”保护下逐渐恢复下肢生理负重，能刺激骨痂生长和促进编织骨向层板骨转变[5]。中草药外洗，电磁治疗等均可加速骨愈合。

关键词　骨肿瘤/外科手术

中图法分类号　R738.1

参考文献

1 陈振光，黄克俊，顾洁夫．吻合血管的腓骨游离移植修复长骨肿瘤段切除后的骨缺损．中华外科杂志，1990，28(3)：164

2 刘植珊，李光业，陈永裕，等．异体关节移植术．中华骨科杂志，1990，10(1)：13

3 陈履平，韩祖斌，李承球．人体胫腓骨承重试验研究．中华骨科杂志，1989，9(6)：429

4 韩祖斌．骨的重建作用与骨质疏松症．江苏医药，1990，16(8)：460

（收稿：1998-12-28；修回：1999-06-10）

（编辑　冷怀明）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net