DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.05.018

重型病毒性肝炎肝组织内丙型肝炎病毒抗原表达的研究

严福明* 郝 飞 顾长海 (第三军医大学附属西南医院传染病中心) 重庆,400038

提 要 目的:研究重型肝炎肝组织内丙型肝炎病毒(HCV)抗原表达及特点,探讨 HCV 感染在重型肝炎发生中的地位和作用。方法:用免疫组化法检测20例重型肝炎肝组织内 HCV 抗原。结果:肝组织内 HCV 抗原表达阳性率45%(9/20),其中慢性重型肝炎 60%(6/10),亚急性 42.9(3/7),急性 0%(0/3)。HCV 抗原仅在肝细胞内表达,可呈胞浆均质型、包涵体型和膜下型。9例肝组织 HCV 抗原表达阳性患者均混合乙型肝炎病毒(HBV)感染。结论:单纯 HCV 感染不是重庆地区重型肝炎的主要原因。

关键词 重型病毒性肝炎;丙型肝炎病毒;抗原表达
中图法分类号 R512.6

目前,丙型肝炎病毒(HCV)感染在重型病毒性肝炎(重肝)发生中的地位尚未明确。多数血清学研究认为,HCV 感染很少引起重肝,且常常不能单独成为重肝的致病原因。迄今为止,有关重肝肝组织中 HCV 抗原表达的系统研究报道甚少,而常规血清学检查又不能直接反应重肝肝组织内 HCV 感染状况。因此,本研究选择 HCV 多个区段蛋白的单克隆抗体(McAb),采用免疫组化法研究重肝肝组织内 HCV 抗原表达情况,旨在从免疫病理学角度进一步探讨 HCV 感染在重肝发生中的地位和作用。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象

20例重肝系本科1986~1994年收治并经尸体解剖(尸解)病理诊断证实的病例。重肝临床及病理诊断标准符合1995年全国病毒性肝炎防治方案[1]。其中男性17例,女性3例,年龄19~54岁,平均35.4岁。临床分型:急性3例,入院前平均病程8 d,亚急性7例,入院前平均病程3.2月,慢性10例,入院前平均病程3.2年;病因分型(血清学诊断):HBV 感染12例,HAV/HBV 混合感染2例,HBV/HCV 混合感染4例,未定型2例。均有血制品使用史。

1.2 免疫组化方法

主要试剂有抗 HCV CP10 McAb(本实验室提供[2]),抗 HCV NS3和 HCV NS5 McAbs(北京医科大学肝病研究所提供[3]),链霉菌亲生物素蛋白过氧化物酶连接法(S-P法)试剂盒和3,3-二氨基苯联胺(DAB)显色试剂盒(福州迈新生物技术开发公司提供)。实验中设:① 阳性对照;② 阴性组织对照;③ 第一抗体和试剂替代对照。替代对照实验在 HCV 抗原阳性肝组织切片上进行。免疫组化染色主要操作步骤按 S-P法试剂盒使用说明略加改进后进行。

2 结果

2.1 重肝肝组织内 HCV 多区段蛋白抗原检出率见表1

表1 20例重肝肝组织内 HCV 抗原检出率

Tab 1 Positive rates of HCV antigens in liver autopsy tissues from 20 patients with severe viral hepatitis

Clinical type	n	HCV NS3		HCV NS5		HCV CP10	
		n	%	n	%	n	%
ASH	3	0	0	0	0	0	0
SSH	7	2	28.6	3	42.9	2	28.6
CSH	10	6	60.0	4	40.0	5	50.0
Total	20	8	40.0	7	35.0	7	35.0

ASH Acute severe hepatitis; SSH Subacute severe hepatitis; CSH Chronic severe hepatitis

在9例 HCV 抗原阳性肝组织内,2种抗原同时阳性5例(55.6%),3种同时阳性4例(44.4%)。3种病毒抗原检出率间有显著的一致性(χ^2= 4.0598~7.2566, $P < 0.05$)。

2.2 重肝肝组织内 HCV 抗原表达特征

病毒抗原阳性信号呈棕黄色,密集,定位于肝细胞内,呈胞浆均质型、包涵体型和膜下型,未见核型。在残存肝组织内,抗原表达阳性肝细胞总数 < 1%,呈弥漫性、点状和散在分布,以后者为主。

HCV 抗原阳性肝细胞呈溶解性坏死或显著变性,形态结构正常者罕见。前者多位于肝小叶坏死区内,单个肝细胞高度肿胀,细胞核消失,呈均匀一致的浅棕黄色,见图1或多个肝细胞相互融合,呈较大片不规则浅棕黄色区域,其内个别肝细胞轮廓尚可分辨。还偶见弱阳性信号呈不规则碎片散在于肝组织坏死区内。显著变性者多位于坏死区周围,单个或邻近数个染

* 严福明,男,37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

色阳性肝细胞肿胀或气球样变,但形态结构完整,细胞核清晰可见,是染色阳性肝细胞的主要存在状态和表现形式。

此外,再生肝细胞内也可见 HCV 抗原表达,并有明显变性改变,见图 2



图 1　重型肝炎肝组织坏死区内 HCV NS3表达阳性肝细胞(箭号),呈溶解性坏死　(S-P×400)

Fig 1　HCV NS3 positive expression liver cells (arrow) showing lytic necrosis in the necrotic region of severe viral hepatitis　(S-P×400)

图 2　重肝肝组织内 HCV CP10表达阳性再生肝细胞,呈均质型,点状分布　(S-P×400)

Fig 2　Spotted HCV CP10 positive expression in regenerative liver cells showing homogenous type　(S-P×400)

2.3　HCV 抗原表达的相关因素分析

20例重肝肝组织内 HCV 抗原检出率 45%(9/20),其中 HBV 感染 50%(6/12),HBV/HCV 混合感染 75%(3/4),HAV/HBV 混合感染和未定型 0%(0/4)。重肝不同临床类型间(见表 1)和不同病毒感染类型间的检出率比较差异不显著($P > 0.05$)。

20例重肝血清抗 HCV 阳性率 20%(4/20)。血清抗 HCV 与肝组织内 HCV 抗原检测的总符合率 65%(13/20),其中阳性符合率 75%(3/4),阴性符合率 62.5%(10/16)。血清抗 HCV 阳性率与肝组织内 HCV 抗原检出率间差异不显著($\chi^2 = 0.6187$, $P > 0.05$)。

9例肝组织 HCV 抗原阳性重肝患者血清 HBV 标志物均阳性,共中 HBsAg、HBeAg 和抗 HBc 同时阳性者 2例,HBsAg 抗 HBe 和抗 HBc 同时阳性者 7例。

2.4　对照实验结果

阳性对照实验为阳性结果。阴性组织对照、第一抗体和试剂替代对照等阴性对照实验均为阴性结果。

3　讨论

迄今为止,重肝肝组织内 HCV 抗原表达及特点的研究甚少。然而目前对急性和慢性丙型肝炎的研究结果显示[4-6]:HCV 抗原在肝细胞,少数还可在胆管上皮细胞,窦壁内皮细胞内表达,主要呈胞浆型,偶见核型。表达阳性肝细胞数量多,一般 > 5%,如慢性肝炎,有时高达 50%~70%,如急性肝炎。常呈弥漫性和散在分布。表达阳性细胞病变轻,甚至无明显病变。与这些结果相比,我们发现抗原表达阳性肝细胞数量少,病变严重,以散在不规则分布为主,再生肝细胞内也有抗原表达等是重肝肝组织内 HCV 抗原表达的主要特点。其形成可能与下列因素有关:① 重肝患者体内免疫反应强烈,在破坏肝细胞的同时也清除了部分病毒。② 肝组织变性坏死严重,HCV 难以在肝细胞内活跃复制。③ 在病变较重的肝组织内,坏死区肝细胞内病毒抗原逸出使阳性肝细胞数减少[7]。④ 混合 HBV 感染时 HBV 可能抑制 HCV 复制[8]。⑤ HCV 不断感染肝细胞并引起病变。

HCV 感染在重肝发生中的地位和作用尚有争议。本组 20例重肝肝组织内 HCV 抗原检出率 45%,9例肝组织 HCV 抗原阳性者均存在慢性 HBV 感染,说明重庆市重肝患者中 HCV 感染率较高,但单纯 HCV 感染不是重肝的主要原因。张定风等[9]报道,重肝血清抗 HCV 阳性率 58.5%(38/65),显著高于慢性肝炎的 8.8%(21/239),认为 HCV 与重肝发病有重要关系。本研究显示 HCV 抗原表达阳性肝细胞病变严重,坏死区肝细胞内有病毒抗原表达,同时伴 HBV 感染,该结果是否提示 HCV 在重肝发病中的作用在于混合 HCV 感染可能导致慢性 HBV 感染的重型化。这是一个需要深入研究并有待阐明的问题。

参考文献

1 北京第五次全国传染病寄生虫病学术会议.病毒性肝炎防治方案(试行).中华传染病杂志,1995,13(4):241

2 王　阁,李梦东,郝　飞,等.丙型肝炎病毒核心抗原单克隆抗体杂交瘤细胞株的建立和初步鉴定.第三军医大学学报,1995,17(4):289

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

3 高建恩,郭建平,纪和平,等.丙型肝炎病毒 NS3蛋白单克隆杂交瘤细胞株的建立及初步鉴定.中华实验和临床病毒学杂志,1995,9(3):209
4 Ballardini G, Groff P, Giostre F, *et al*. Hepatocellular codistribution of c100, c33, c22 and NS5 heptitis C virus antigens detected by using immunopurified polyclonal spontaneous human antibodies. Hepatology, 1995, 21(3): 730
5 Sansonno D, Dammacco F. Hepatitis C virus c100 antigen in liver tissue from patients with acute and chronic infection. Hepatology, 1993, 18(2): 240
6 王林杰,王松山.丙型肝炎肝穿组织中丙型肝炎病毒 C33c抗原的免疫组织化学研究.中华实验和临床病毒学杂志,1996,10(2):193
7 郎振为,孟 忻,郭新会,等.乙型和丙型肝炎重叠感染患者肝组织免疫组织化学双标记研究.中华医学杂志,1996,76(5):345
8 黄爱龙,熊良仕,张定风.用聚合酶链反应技术研究重型肝炎患者乙型和丙型肝炎病毒的混合感染.中华实验和临床病毒学杂志,1995,9(1):36
9 张定风,周亚苏,贾小平,等.丙型肝炎病毒感染与重型和慢性乙型肝炎.中华传染病杂志,1992,10(2):72

(收稿:1997-12-19;修回:1998-05-15)
(编辑 汪勤俭)

Study of expression of hepatitis C virus antigens in the liver from patients with severe viral hepatitis

Yan Fuming, Hao Fei, Gu Changhai (Department of Infectious Disease, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To study the expression of hepatitis C virus antigens (HCV Ags) in the liver of cases of severe viral hepatitis and its characteristics and to explore the role of HCV infection in the development of severe viral hepatitis. Methods: Immunohistochemical assay was employed to observe the expression of HCV Ags in the various regions of the liver in 20 cases of severe viral hepatitis. Results: The positive rate of HCV Ags expression was 45% (9/20) in severe viral hepatitis, 60% (6/10) in chronic severe hepatitis, 42.9% (3/7) in subacute severe hepatitis and 0% (0/3) in acute severe hepatitis. HCV Ags were expressed only in the hepatocytes which may show cytoplasmic homogenous type, inclusion body type or submembranous type. In 9 cases of positive expression of HCV Ags, mixed HBV infection was found. Conclusion: A simple HCV infection seems not to be the important cause of severe viral hepatitis in Chongqing area.

Key words severe viral hepatitis; hepatitis C virus; expression of antigen

5例上颌窦淋巴瘤的影像诊断

Imaging diagnosis of 5 cases of lymphoma in the maxillary sinus

戚跃勇* 王文献 (第三军医大学附属新桥医院放射科)重庆,400037

上颌窦淋巴瘤较少见,现收集我院手术活检病理证实的5例,作一回顾性分析,以探讨其影像诊断价值。

1 临床资料

本组5例均为男性,年龄8~49岁,平均24.8岁,以青壮年为多,临床表现多为鼻腔阻塞,面部肿胀麻木,牙痛及流泪等。其中临床以上颌牙痛为首发症状而误行拔牙者2例。

2 影像表现

X线表现:本组4例行X线检查,副鼻窦柯、瓦氏位4例,颅底位2例。表现为单侧上颌窦密度增高者2例,双侧上颌窦密度增高者2例,疑有上颌窦内侧壁骨质破坏者2例,鼻腔及筛窦密度增高者各1例。

CT表现:5例均行CT轴位扫描,其中加行冠状位扫描1例。表现为单侧上颌窦腔内软组织肿块4例,左右各2例。双侧上颌窦腔内软组织肿块1例。表现为上颌窦腔明显扩大膨胀,侵及鼻腔者3例,突向面部者3例(其中1例为双侧),筛窦、翼腭窝、口咽腔、眼眶受累各1例。5例均可见骨质破坏,表现为上颌窦内侧壁骨质破坏者4例,前壁3例(其中1例为双侧),后壁及外壁各1例。放疗后短期内CT复查3例,病灶有缩小伴上颌窦积液1例,2例变化不明显。

(下转418页)

* 戚跃勇,男,29岁,住院医师,学士

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