论文摘要

定位血清学诊断丙型肝炎病毒感染的研究*

郝 飞 李梦东 刘为纹** (第三军医大学西南医院传染科) 630038

应用合成肽抗原检测丙型肝炎病毒(HCV)抗体是诊断 HCV 感染的重要发展趋势之一。合成肽分子结构简单,成分单一,性质稳定,在检测 HCV 感染时具有独特的应用价值。本研究用 HCV 蛋白核心(C)区 2 条肽(CP_{10}和 CP_9)和 1 条非结构(NS)区肽(SP_{42})作抗原,并进行了一系列研究。结果如下:

(1)为控制定位血清学检测质量,本研究应用长臂生物素对吸附于反应板上的合成肽作"原位"标记,首次为检测合成肽对反应板吸附性建立了一种简单可靠的方法。吸附性检测发现,不同合成肽对包被液的 pH 值和离子浓度有选择性差别,各条合成肽等电点不同可能是造成对包被液选择性差别的原因。

(2)各区段合成肽检测抗 HCV 结果提示,3 条肽均能代表 HCV 蛋白相应区段含优势抗原表位的区域,且均构成相对独立的抗原表位。C 区合成肽在抗 HCV 检测中有重要的应用价值,而联合应用多区段合成肽可使抗 HCV 检出率从 37.50%～87.50%提高到 93.75%～96.88%。合成肽检测抗 HCV 与重组免疫印迹试验(RIBA)相比,总符合率达到 94.45%,其特异性接近 RIBA 水平,而敏感性可能优于 RIBA。

(3)用 5'-非编码区(NCR)设计引物作逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)测定血清中 HCV RNA,发现3条不同区段合成肽抗体的检出与病毒血症之间均有不同程度的相关性,但相互之间无明确的规律。分别用不同株引物检测 SP_{42}抗体阳性和阴性血清 HCV RNA,提示检测 SP_{42}抗体可鉴定 HCV 不同亚型的感染。

(4)用合成肽检测抗 HCV IgM 显示良好的特异性。比较发现,检测 C 区合成肽抗 HCV IgM 更能反映肝脏病变活动,并有早期诊断和区别急、慢性感染的价值。重型肝炎患者 C 区合成肽抗体 IgM 阳性时预后较差,提示 HCV 活动性感染可能是重型肝炎发生和加重的重要因素。

(5)用 C 区合成肽与牛血清白蛋白(BSA)偶联后免疫家兔,可获得较高效价的抗血清,并用此抗血清初步建立的 ABC 法可检测肝组织中 HCV 抗原。同时在1例患者的胆囊上皮细胞和脾脏组织中见有 HCV 染色,表明 HCV 有可能也感染肝外组织,并可在这些组织细胞中复制和表达。

(6)用合成肽检测了324例供血员、1436例孕妇和87例透析患者,其抗HCV阳性率分别为2.47%、1.25%和20.69%,且检测表明合成肽检测抗 HCV 方法简便,特异性好,且检测阳性更能反映血清有传染性。应用合成肽检测484例各型肝炎患者,发现各型肝炎均可合并 HCV 感染,但以重型肝炎和肝硬化为主,提示 HCV 感染在肝炎慢性化和重型化中起重要作用。单独 HCV 感染不是本地区重型肝炎发生的主要病因。

关键词 丙型肝炎;丙型肝炎病毒;肽/化学合成;抗体反应

* 国家自然科学基金资助课题

** 本院消化内科

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net