DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.06.002

HDV阳性乙型病毒性肝炎血清和肝内HBV DNA状态的研究

李奇芬 朱纯吾* 张士敏* 吴纯清 施惠萍△ 李 平 王慧芬（西南医院传染科）

提 要 本文报告15例HDV（+）乙型肝炎患者血清和肝内 HBV DNA 的状态和血清中HBVM的检测结果，并与13例 HDV（-）者进行比较。结果发现：血清HBsAg在HDV（+）组有8例滴度≤1:4，其中5例短暂（-），1例住院2天内始终（-），HDV（-）组未见类似现象。HDV（+）和（-）组血清和肝内HBV DNA检出率分别为7/15例(46.7%)与3/12例(25.0%)和7/15（46.7%）与8/13例(61.5%)，两者无差异。但HDV（+）组肝内HBV DNA在肝细胞胞浆内分布3例呈稀疏形式，2例着色浅淡，表明HBV复制受限，HDV对HBV可能有抑制现象。本文也具有部份HDV（+）患者肝内HBV DNA复制活跃，3例肝和血清HBV DNA同时阳性，这种结果的不一致可能与HDV感染处于不同阶段有关。

关键词 乙型肝炎病毒；DNA；肝炎，病毒性，人；生物素

已知HDV感染和HBV感染的关系十分密切[1]。近年的研究认为，HDV的存在和复制，有可能抑制HBV的复制[2][3]，但亦有持不同意见者。本文报告在15例经血清和/或肝组织HDV的检测而确诊为HDV感染者中，观察血清和肝内HBV DNA的存在与状态，并与13例HDV阴性者进行比较研究，以探讨二者之间的关系。

材料与方法

一、病例来源

全部病例均系重庆西南医院传染科1984～1986年间的住院患者，按南宁会议制定的病毒性肝炎组织学诊断标准，HDV(+)组15例患者中肝硬化（HC）1例，亚急性重型肝炎（SSH）10例，慢活肝（CHA、中、轻型）4例，平均年龄38.7岁（21～68），全为男性；HDV(-)组13例中SSH 7例，CAH（重）3例，CAH（中、轻）3例，平均年龄40.3岁（21～57），男性11例，女性2例。2组病死率分别为10/15例(66.7%)和7/13例(53.9%)，CAH患者全部存活，SSH仅1存活。

每例患者生前或死后作经皮快速肝穿刺一次，肝组织经中性福尔马林固定、石蜡包埋，作肝切片进行常规病理（HE染色），HDAg（免疫组化ABC法）和HBV DNA（原位杂交）检测。

每例患者于住院期间取血清标本至少1次，作抗HD和HBVM检测。

二、HDAg

免疫组化ABC法。试剂来源及操作步骤见参考文献(4)，抗HD由M. Rizzetto教授赠送。

三、血清抗HD

采用EIA法。试剂购自Abbott公司，并按其说明书进行操作[5]。

四、肝HBV DNA原位杂交法

方法参见文献[6]，生物素标记HBV DNA探针试剂盒购自美国Enzo Biochem公司。

五、血清HBV标记检测

HBsAg（R-PHA法）、HBeAg和抗HBe（ELISA法）、抗HBc（ELISA竞争抑制法）IgM抗HBc（ELISA捕捉抗体法）、HBVDA（^{32}p标记斑点分子杂交放射自显影法）。试剂分别购自北京生物制品研究所、302医院免疫室、军事医学科学院基础所及第一军医大学流行病教研室。

结 果

一、本文28例乙型病毒性肝炎患者，经血清抗HD和肝内HDAg测定，按结果分为HDV(+)组和(-)组，HDV(+)组15例，抗HD(+)12例，肝内HDAg(+)6/14例，其中有3例患者抗HD和肝内HDAg同时阳性（含SSH 2例，CAH 1例）；HDV(-)组13例，血清抗HD全(-)，7例同时作肝HDAg测定，全(-)（表1）。

*解放军302医院 △北京医科大学附院传染科

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

表1 HDV/HBV合并感染者HDV感染指标

组别	病例数	血清抗HD(+)	肝HDAg(+)
HDV(+)	15	12	6*/14
HDV(-)	13	0	0/7

* 3例同时血清抗HD(+)

二、血清HBV标记：见表2。本文28例患者中，都有1～5项血清HBVM，证明都是HBV感染者，从IgM抗HBc在HDV(+)和(-)2组中各有12/15例及10/12例为(+)，表明绝大多数是HBV的现症或近期患者。在HDV(+)组的7例患者中HBsAg (R-PHA) 滴度≤1:4，5例一过性阴性，1例阴性（该例住院两天即死亡，连续2次HBsAg均阴性，而抗HBc和IgM、抗HBc阳性。HDV(-)组，12/13例HBsAg为1:8～1:32甲，仅1例(-)（该例仅抗HB(+)，但肝内HBV DNA(+)，仍属HBV感染者。另外，本文中共有10例患者抗HBe(+)，其中7例HBV DNA(+)。

三、血清HBV DNA和肝内HBV DNA：见表3。血清和肝内HBV-DNA的检出率在HDV(+)和(-)组中无显著差异($p>0.05$)。原位杂交技术观察HBV DNA在肝细胞浆内分布状态，HDV(+)组中3例HBV DNA(+)颗粒稀疏，2例虽密集，但着色浅淡，表明复制活跃程度较低。

表2 HDV/HBV合并感染者血清HBV标记分析

组别	例数	HBs Ag 例数 (%)				抗HBC (+)例数 (%)	IgM抗HBC (+)例数 (%)	HBeAg (+)例数 (%)	抗HBe (+)例数 (%)	e系统全 (-)例数 (%)
		(-)	短暂(-)	1:4	>1:8 未测					
HDV (+)	15	1	5	2	7 0	15 (100)	12 (80)	3 (20)	7 (46.7)	5 (33.3)
		(53.3)			(46.7)					
HDV (-)	13	1	0	0	11 1	11/12 (91.7)	10/12 (83.3)	5/12 (41.7)	4/11 (36.4)	3/12 (25.0)
		(8.3)			(91.7)					

表3 HDV/HBV合并感染者血清及肝内 HBV DNA 阳性率及分布状态

组别	例数	血清 HBV DNA (+)例数(%)		肝内 HBV DNA (+)例数(%)		肝内HBV DNA态状 (+)肝细胞分布类型* I	II	III	胞浆内(+)物质分布类型** a	b
HDV(+)	15	7	(46.7)	7	(46.7)	0	6	1	4△	6
HDV(-)	13	3/12	(25.0)	8	(61.5)	0	8	0	7	2

* I 弥漫型，II 局灶型，III 散在型；

** a型：密集，b型：稀疏

△ 其中 2例着色浅淡

讨 论

近年已有不少研究发现，HDV对于HBV不仅存在依赖关系，而且还可能对HBV的复制有抑制作用[2][3]。本文HDV(+)组有8例患者血清HBsAg滴度降低≤1:4，其中有1例住院仅2天，连续观察两次HBsAg均阴性，5例呈一过性阴性，多发生在疾病的极期，而在HDV(-)组未观察到类似现象，与Hadziyannis等所见类同。HDV影响HBV复制的最直接的指标是检测血清，以及肝内HBV DNA的存在状况，从本文所测HDV(+)和(-)两组病例的血清和肝内HBV DNA的检出率来看，未见到有何差

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

异，但用生物素标记探针原位杂交技术、观察肝切片上HBV DNA分布情况，就可见到一些不同的表现，即HDV(+)组虽有7例肝HBV DNA(+)，但在肝细胞浆内有3例阳性物质稀疏，2例着色浅淡，显示其复制程度并不活跃，与Hadziyannis等[2]在HDV(+)血清中只测到“痕迹”或“+”HBV DNA的结果相似。另外，本文6例肝内HDAg(+)者，只有1例CAH患者肝内具有HBV DNA，其余5例SSH患者均阴性，亦说明HDV对HBV有某些抑制作用。

本文结果也证实部分HDV感染者的肝内HBV DNA呈复制活跃现象，有3例患者血清和肝内HBV DNA均阳性。这种结果的不一致性，很可能与HDV感染处于不同阶段有关，正如Rizzetto[7]在其动物实验中所见，在HDV感染极期，血清HDAg(+)时，血清WHsAg↓，WHV DNA阴转，一旦血中HDAg消失，抗HD转阳后，WHV复制又复活跃。因此，HBV在HDV感染的不同阶段，表现为不同的复制状态的现象是可能的。本文见HDV(+)者有HBsAg—过性(-)，或HBsAg(-)，推测亦属同一原因。这一现象并不能说明二者无关或检查有误，应进一步全面检测相关指标而确定。

本文患者中有10例（35.7%）抗HBe(+)，其中7例肝内有HBV DNA，一例单项抗HBe(+)，再次表明，抗HBe(+)不能作为HBV感染和复制终止的指标。

参考文献

1. Rizzetto M, et al. The Delta Agent. Hepatology 1983; 3 (5) : 729
2. Hadziyannis SJ, et al. Liver Disease Activity and Hepatitis B virus Replication in Chronic Delta positive Hepatitis B Carriers. Hepatology 1985; 5(4): 544
3. Farci P, et al. Delta Hepatitis in Inapparent Carriers of Hepatitis B Surface Antigen. Gastroenterology 1983; 85(3): 669
4. 李奇芬，等。重庆地区重型乙型肝炎病例肺内δ抗原的免疫组织化学观察。第三军医大学学报 1988；4 (10) ：305
5. 李奇芬，等。重型乙型肝炎中δ因子感染的初步调查。第三军医大学学报 1987；1 (9) ：54
6. 张士敏，等。生物素标记HBVDNA探针在肝石蜡切片上作原位杂交技术操作和经验体会。第三军军大学学报 1988；4(10)：322
7. Rizzetto M, et al. Superimposed Hepatitis and Effect on Viral Replication in Chronic Hepatitis B. J Hepatology 1986:3 (Suppl.2) : S 35

（收稿：1988.7.18；修回：1989.6.28）

A Study of the Appearence of HBV DNA in the Serum and Liver of Patients with HDV/HBV Infection

Li Qifen, et al. (Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical College)

The appearance of HBV DNA in the serum and liver of 15 cases with hepatitis B combined with HDV is described and compared to 13 cases of HDV negative. The results show: titre of HBsAg is less than or equal to 1:4 in 8 cases of HDV positive group, among which 5 temporal negative and 1 negative

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

through 2 d; no similar result in HDV negative group. The detection rates of HBV DNA in HDV positive and negative groups are 46.7%(7/15)and 25%(3/12) in serum and 46.7%(7/15) and 61.5%(8/13) in liver. No statistical difference between them is seen. HBV DNA grains in situ hybridization with biotinylated HBV DNA probe is demonstrated in sparse type of distribution in 3 cases and slightly stained in 2. The HBV DNA replication activity may be supressed and depressed by HDV. Active HBV DNA replication is also present in some HDV positive patients and HBV DNA is positive in liver and serum in 3. It is concluded that different results of HBV DNA detection may be related to HDV infection in different stages.

Key words: Hepatitis B virus/UL; DNA/BL; Hepatitis, viral, human/DI; biotin

论文摘要

烧伤后多器官衰竭及氧自由基在其发病机制中的作用

赵琢道 杨宗城 黎 鳌（西南医院 烧伤研究所）

本文对51例TBSA>30%，其中17例发生了MOF患者进行前瞻性研究。除观察了各脏器损伤酶谱、病理、病理生理及脏器含水量的变化外，还检测了全血及组织SOD活力、血浆及组织中次黄嘌呤、黄嘌呤、尿酸及MDA含量、血浆及尿中MDA含量、血浆自发化学发光（SCL）值及呼出气中乙烷（C_2H6）和乙烯（C_2H4）的变化，以评价脏器损伤程度、氧自由基变化情况、抗氧化能力和脂质过氧化程度。对氧自由基损害在烧伤后MOF发病机制中的作用进行了探讨。此外，本研究中各指标系与20名健康成人和10名创伤后“立即死亡”的青壮年所检测的相应指标进行对照。

实验主要发现如下：

1. 烧伤后MOF大都发生于TBSA>70%的严重烧伤病人；其病死率与累及脏器多少有关。肺功能衰竭发生率最高；肾功能衰竭病死率最高。早发型MOF与体克关系密切，迟发型则主要因感染所致。内源性（肠源性及肺源性）感染参与了烧伤后MOF的发生与发展。

2. 氧自由基介导的损害参与了烧伤后MOF的发生和发展。烧伤后抗氧化能力下降，氧自由基增加及脂质过氧化增强，不仅与TBSA严重程度，而且与体克、严重感染、吸入性损伤密切相关。氧自由基介导的损伤程度。在有功能衰竭的脏器比无衰竭的脏器重。死亡者临终前发生了抗氧化能力的衰竭

3. 次黄嘌呤、黄嘌呤及酸含量的测定，对判断氧自由基的来源及病情程度、能量代谢具有重要的实际意义。呼出气中C_2H6及C_2H4能较敏感地反映体内脂质过氧化程度，对判断病情及预后具有实际意义。丙二醛尿提示体内脂质过氧化亢进、病情严重、预后多不良。

4. 烧伤及烧伤后MOF发病的过程中，HX-XO系统及活化白细胞等都是氧自由基的重要来源。

5. 衰竭脏器均有程度不同的细胞结构破坏、变性、坏死；细胞器损伤，如线粒体肿胀、空化、内质网扩张；毛细血管内皮细胞裂隙形成；脏器的血管外器官水量（EVOWV）增加；除肾脏外，主要脏器均充血和/或淤血。研究认为，氧自由基介导的损害是病变的主要原因。病变的程度与氧自由基改变程度平行，与脏器损伤酶谱变化密切相关。血管外器官水量与衰竭脏器组织SOD活性呈显著负相关；与MDA和尿酸含量则呈显著正相关。说明氧自由基介导的细胞结构损伤和脏器水肿是脏器功能衰竭的重要病理学基础。

6. 心肌酶谱、PaO_2、RI、IB/DB及DB的变化与相应脏器病理形态学变化平行，能基本反映相应脏器损伤及功能衰竭程度。尿NAG变化对肾功能衰竭早期诊断有重要意义。

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