DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.04.007

重庆地区重型乙型肝炎病例肝内δ抗原的免疫组织化学观察

李奇芬 朱纯吾[1] 施惠萍[2] (第一附属医院 传染科)

提 要 报告重庆地区27例重型乙型肝炎(SHB)用ABC法检测肝组织内δ抗原的结果。肝组织δ抗原阳性6例(22.22%),进一步证实重庆地区SHB病例有较高的δ因子感染率,免疫组化检测可提高δ因子感染的检出率。6例肝细胞δ抗原阳性者均有胞核和胞浆的阳性。

关键词 乙型肝炎,重型—血液;乙型肝炎抗原;乙型肝炎—免疫学

1977年Rizzetto发现了δ因子,以后发现δ因子感染可导致乙型肝炎病情加重,甚至可发展为重型肝炎。我国从1983年以来,陆续有些关于δ因子感染率的调查报告,但大多限于临床症状较轻的慢性肝炎和携带者,阳性率均较低。本文作者在重庆地区检测了40例乙型肝炎患者血清δ抗体,总阳性率达35%,其中重型乙型肝炎35例,阳性12例,阳性率达34.28%[1]。这一结果表明我国重型乙型肝炎与δ因子感染有密切关系为进一步探讨重型乙型肝炎时δ因子感染情况,对其中部份病例用Hsu氏ABC法检测了肝组织内δ抗原,并观察其定位及形态表现。

材料与方法

一、病例来源

本文病例均系本科1984～1985年间住院患者,共27例,临床表现均符合1984年南宁会议制定的诊断标准。全部作了病理组织学检查,包括肝活组织检查9例、死后肝穿刺及尸体解剖肝组织18例。27例重型肝炎中,病理诊断为亚急性肝坏死14例,慢性活动型肝炎(重型)11例,坏死后肝硬化2例。

全部病例均检查了血清HBsAg、抗HBs、抗HBc、抗HBc-IgM、HBeAg及抗HBe等HBV标志,并确诊有HBV感染。27例中26例作了血清δ抗体的检测。

二、主要试剂来源

1. 抗δ检测药盒:美国Abbott公司产品。

2. ABC检测药盒:美国Vector Lab Inc产品。

3. 人抗δ荧光抗体:M. Rizzetto教授赠。

三、实验方法

1. δ抗原的免疫组化检测:肝组织福尔马林固定、石蜡切片、常规脱蜡→酸甲醇30′—(胰酶消化)→人抗δ荧光抗体1:320,4℃过夜→兔抗人IgG1:200,室温30′→生物素化羊抗兔IgG,室温30′→ABC复合物,室温60′→DAB呈色→苏木素复染→脱水、透明,封固。

2. 血清抗δ检测:EIA法。

3. 对照实验:用以下对照实验,以确保δ抗原染色之特异性:

(1)已知阳性标本对照:每次实验均设阳性标本作对照(阳性标本由Haus Popper赠予)。

(2)空白试验:用PBS代替第一抗体,结果阴性。

(3)替代试验:用正常人血清(AB血型、所有乙型肝炎病毒标志物均阴性)代替第一抗体,结果阴性。

(4)用已知HBcAg强阳性标本,作δ抗原检测,结果阴性。

结 果

一、本文重型乙型肝炎(SHB)中肝组织δ抗原阳性者共6例,阳性率为22.22%。27例中26例作了血清δ抗体的检测,其阳性率与免疫组化检测的肝δ抗原阳性率之比较见表1。结果表明,肝组织内δ抗原阳性率与血清δ抗体阳性率无明显差异。

[1]解放军302医院病理科 [2]北京医科大学附属一院传染科研究生

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

表1　肝组织内δ抗原与血清δ抗体的阳性率

检测内容	阳性数（%）	阴性数（%）	总计
血清δ抗体	11(42.31)	15(57.69)	26
肝组织δ抗原	6(22.22)	21(77.78)	27

$X^2 = 1.23$　　$P>0.05$

肝组织内δ抗原阳性与血清δ抗体阳性的相关性如表2所示，结果表明二者无明显相关性，在15例血清检测δ抗体为阴性的病例中，有8例在肝组织内检出了δ抗原，故免疫组化检测有助于提高δ因子感染患者的检出率。本文27例病人有血清δ抗体或肝组织内δ抗原阳性者共15例，即δ因子感染率为55.56%。

表2　肝组织δ抗原与血清δ抗体阳性的相关性

血清δ抗体	病例数	肝组织δ抗原	
		阳性数(%)	阴性数（%）
阳　性	11	2 (18.18)	9(81.82)
阴　性	15	3 (20.00)	12(80.00)
未　作	1	1	

$P>0.05$

二、肝组织中δ抗原的形态学表现　本文6例δ抗原阳性病例中，无一例外均有胞浆和胞核的阳性。胞核和胞浆的阳性可单独存在，亦可同时存在于同一细胞内（图1）。

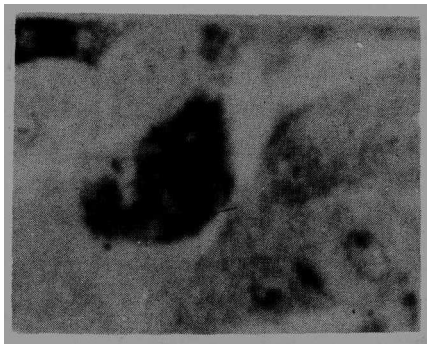


图1　肝细胞胞核与胞浆δ抗原阳性

胞核δ抗原阳性者，可整个胞核呈阳性，亦可核膜与核仁为阴性，其余部位呈阳性。胞浆内δ抗原多呈均质或颗粒状，分布不均匀，在细胞核周围部份较明显，亦可集中于细胞之一侧。

δ抗原阳性的细胞在肝组织内略有成簇集中之倾向。在本组亚急性肝坏死时，δ抗原更易见于新生的肝细胞和新生小胆管样细胞中。δ抗原阳性物质多见于有气球样变等退行性变，甚至已发生坏死的肝细胞中。有时还可见淋巴细胞侵入（图3）。

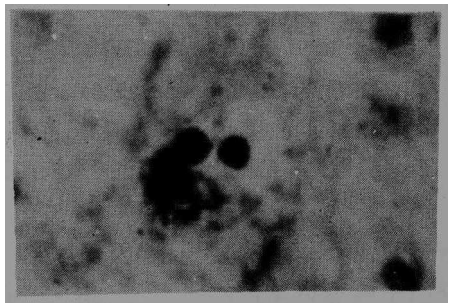


图3　一个胞浆及胞核阳性之肝细胞呈气球样变，且有淋巴细胞侵入

讨　论

δ因子感染率　国内外不同地区差异较大。国内许健音报告北方一些地区慢活肝病人δ因子感染率为2%[2]，台湾地区报告为5～7.5%[3]，免疫组织化学检测肝组织内δ抗原，许健音报告27例肝组织中无一例阳性，郝连杰等报告126例各型肝炎中有10例阳性[4]；晚近天津杜宗尧等40例中有7例阳性[5]。

本文选用之27例重型乙型肝炎病例，血清δ抗体阳性率达42.31%，免疫组织化学检测肝组织δ抗原阳性率亦达22.22%。这一结果与许健音、郝连杰等主要取材于慢性肝炎患者的报告相差甚远，而杜宗尧等报告40例中，亚急性重型肝炎21例，4例肝组织内δ抗原阳性，占19.05%，与本文结果相似。（图2）

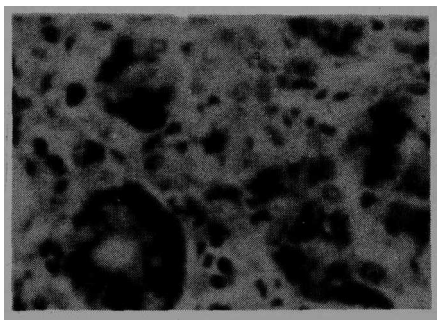


图2　亚急性重型肝炎时新生的胆小管上皮细胞核阳性

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

本文结果还表明，血清δ抗体阳性与肝组织δ抗原阳性间无明显相关性，因此，加用免疫组化方法检测肝组织内δ抗原，有助于提高δ因子感染的检出率。

用免疫组化方法检测肝组织内δ抗原进一步证实了SHB病例有较高的δ因子感染率。如果加上血清中δ抗体阳性病例数，则δ因子感染率达55.56%。因此，可以认为，δ因子是重庆地区SHB的重要原因之一。

参考文献

1. 李奇芬，等。重型乙型肝炎中δ因子感染的初步观察。第三军医大学学报 1987；1：54
2. 许健音。我国北方地区δ抗原及其抗体的检测。中华微生物和免疫学杂志 1984；4：127
3. Chen DS, et al. Delta agent infection in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma—an infrequent finding in Taiwan. Hepatology 1984; 4:502
4. 郝连杰、张永源。慢性乙型肝炎肝组织内δ因子的初步研究。中华内科杂志 1985；24（增刊）：28
5. 杜宗尧，等。δ因子性肝炎形态学及免疫细胞化学特点。临床肝胆病杂志 1987；3：20

（收稿日期：1987年6月5日，修回日期：1988年5月20日）

Immunohistochemical Observation of δ Antigen in Liver Sections from the Patients with Severe Hepatitis B in Chongqing Area

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

The immunohistochemical observation of δ antigen in liver sections from 27 cases of severe hepatitis B (SHB) was performed with ABC method and the result was compared with that of δ antibody in the sera. 6 cases of SHB were δ antigen positive in liver sections (6/27, 22.22%). It showed a high attack rate of δ agent in SHB cases in Chongqing area. The detective rate for δ agent infection could be increased by the immunohistochemical measurement. There was positive staining in both nuclei and cytoplasm in all the 6 cases.

Key words: Hepatitis B, severe/blood; Hepatitis B antigens; Hepatitis B/immunology

---

（上接300页）

concentrations of headache type epilepsy, manic depressive psychosis were reduced significantly ($P<0.001$). The CSF monoamine metabolites (HVA and 5-HIAA) of cerebral infarction, uremic coma, multiple sclerosis, hepatolenticular degeneration, facial neuritis, myopathy and functional headache were also determined. Particular interest is that the decrease of HVA concentration in AIPN and the lowering of 5-HIAA in AIS have not been reported in the literature.

Key words: Parkinson's disease/cerebrospinal fluid; Amyotrophic lateral sclerosis/cerebrospinal fluid; Bipolar/cerebrospinal fluid; Homovanilic acid/analysis; Hydroxyindoleacetic acid/analysis

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