

丙型肝炎患者肝组织免疫组织化学研究

陈宪锐 玄梅香 尹燕明 李莉 魏佑农 赵新平

【摘要】 目的 研究丙型肝炎(丙肝)病毒(HCV)抗原在丙肝患者肝组织中的分布状况及其相互关系。方法 采取免疫组织化学方法,用多克隆抗-HCV和单克隆抗-HCV-NS3、抗-HCV-NS5,对107例丙肝患者肝组织中HCV抗原进行检测。结果 应用3种抗体均从丙肝患者肝组织中检出相应抗原,检出率分别为38.3%、28.0%和52.3%;阳性颗粒定位于肝细胞浆;阳性细胞分布呈散在、弥漫状和簇状;HCV-NS3的表达与炎症反应无明显解剖学关系,HCV-NS5阳性细胞较常见位于炎症灶旁或灶中。结论 HCV各成分在肝组织中的表达水平存在差别,HCV-NS5的表达可能与丙型肝炎的发病机理有关。

【关键词】 丙型肝炎病毒;丙型肝炎病毒-NS3;丙型肝炎病毒-NS5;免疫组织化学

Immunohistochemical findings on liver tissue in patients with hepatitis C CHEN Xianrui*, XUAN Meixiang, YIN Yanming, et al. *Taishan Medical College, Taian 271000, China

【Abstract】 Objective To investigate the distributions and infer relations of HCV antigens in the liver tissues. **Methods** Immunohistochemical techniques as polyclonal antibody to HCV, monoclonal antibody to HCV-NS3 and monoclonal antibody to HCV-NS5 were used to detect HCV antigens in 107 patients with hepatitis C. **Results** HCV antigens in liver tissues were identified on these three kinds of antibodies. The positive rates were 38.3%, 28.0% and 52.3% respectively. The positive granules were located in the cytoplasm of liver cells. The distributions of positive cells were scattered, diffusive and clustered. No obvious anatomic association was observed between the expression of HCV-NS3 and inflammatory reaction. HCV-NS5 positive cells were more commonly seen around or in the inflammatory foci. **Conclusion** The expressions of various components of HCV were demonstrated in different concentrations. The expressions of HCV-NS5 might be related to the pathogenesis of hepatitis C.

【Key words】 HCV; HCV-NS3; HCV-NS5; Immunohistochemistry

丙型肝炎病毒(HCV)是输血后肝炎的重要病原,为单股正链RNA,长约9 400 bp。HCV的急性感染易慢性化,大约50%发展为慢性肝炎,至少20%发展为肝硬化。到目前为止,对HCV的致病机制了解较少,为了解HCV抗原在患者肝组织中的分布及其相互关系,本研究应用免疫组织化学技术,用针对HCV抗原的多种抗体,对107例丙型肝炎患者肝组织进行了HCV抗原检测,现报告如下。

对象与方法

一、研究对象

107例丙型肝炎患者均为住院治疗者,其中男84例,女23例,平均年龄46.6岁,全部病例均有组

织学诊断依据,按照1995年(北京)第五次全国传染病寄生虫病学术会议修订的病毒性肝炎诊断标准进行诊断和分型,其中急性肝炎19例,慢性肝炎64例,肝硬化24例。HCV感染的诊断以血清抗-HCV或HCV RNA阳性为依据,其中抗-HCV阳性34例,HCV RNA阳性29例,抗-HCV和HCV RNA两者均阳性44例。所有病例均经肝穿刺获取肝组织,经福尔马林固定,石蜡包埋后制成切片备检。

二、检测方法

HCV-NS3和HCV-NS5均采用双重过氧化物酶抗过氧化物酶复合物法(PAP)检测。抗体均购自北京邦定公司。用直接酶标法检测肝组织中HCV(HCAg),酶标抗-HCV购自北京华美公司,按照使用说明书进行操作。

作者单位 271000 山东省泰安 泰山医学院传染病教研室(陈宪锐、尹燕明);泰安市卫生防疫站(玄梅香);济南市传染病医院(李莉);新汶矿业集团中心医院(魏佑农);枣庄市人民医院(赵新平)

结 果

一、肝组织中 HCV 抗原检出情况

采用酶标抗-HCV、鼠抗-HCV-NS3 和 HCV-NS5 抗体均从丙肝患者肝组织中检出了相应抗原,检出率存在较大差别,HCV-NS5 检出率较高,HCV-NS3 和 HCAg 检出率较低。各项检测指标的检出率在不同临床类型之间无明显差异(表 1)。

表1 107 例丙肝患者肝组织 HCV 抗原检出情况

| 组 别 | 检测 例数 | HCAg(+) | | HCV-NS3(+) | | HCV-NS5(+) | |
|------|----------|---------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 例数 | 阳性率 (%) | 例数 | 阳性率 (%) | 例数 | 阳性率 (%) |
| 急性肝炎 | 19 | 4 | 21.1 | 3 | 15.8 | 5 | 26.3 |
| 慢性肝炎 | 64 | 24 | 37.5 | 19 | 29.7 | 34 | 53.1 |
| 肝硬化 | 24 | 13 | 54.2 | 8 | 33.3 | 17 | 70.8 |
| 合 计 | 107 | 41 | 38.3 | 30 | 28.0 | 56 | 52.3 |

二、HCV 抗原在肝组织中的定位与分布

所检出的各种抗原均位于肝细胞浆中,多呈均质细颗粒型,未见到细胞核着色。阳性程度(阳性细胞多少及着色强度)以 HCV-NS5 最强,HCAg 显色次之,HCV-NS3 较弱。阳性细胞多呈散在分布,少数表现为较多阳性细胞呈弥漫性分布于肝小叶中或阳性细胞呈簇状分布。HCV-NS5 以弥漫性分布为主。大多数 HCV 抗原阳性肝组织显示两种抗原阳性,部分肝组织切片表现为单一抗原阳性(HCV-NS5 为多)。41 例的 HCAg 阳性组织,再用两种单克隆抗体检测,多表现为 1 种或 2 种抗原阳性,HCV-NS3 的表达与炎症灶之间无明显解剖学关系,但常可见 HCV-NS5 阳性细胞位于坏死灶内或坏死灶旁,并且在坏死灶周围有淋巴细胞浸润。

讨 论

关于肝炎组织中 HCV 抗原的检测,以往文献报道多采用多克隆抗-HCV 进行 HCV 感染的免疫组织化学研究^[1,2],该方法简便,特异性也强,但检出率低,而且还不能区分所检测抗原的成分,意义较小。我们采用多克隆抗-HCV、单克隆抗-HCV-NS3 和单克隆抗-HCV-NS5 从丙肝患者肝组织中成功地检出相应抗原,检出率分别为 38.3%、28.0% 和 52.3%。抗原定位于肝细胞浆内,未见细

胞核着色。阳性细胞呈散在、簇状或弥漫性分布。

本研究中采用酶标抗-HCV 检测呈阳性的 41 份肝组织中,再应用单克隆抗-HCV-NS3 和抗-HCV-NS5 检测,均表现为 1 种或 2 种抗原阳性。从 HCV-NS3 和 HCV-NS5 的平行检测结果看出,HCV 在肝细胞中各抗原表达水平不一致,HCV-NS5 表达较多,而 HCV-NS3 表达则较少。这与 Naoki^[3]、赵西平等^[4]和 Domenico 等^[5]的研究结果一致。

丙型肝炎患者肝组织中病毒抗原表达与肝组织损伤的关系,文献报道的结果不一致。Tsutsumi^[6]和 Naoki^[3]发现肝组织 HCV 抗原呈阳性的丙型肝炎患者的肝小叶内坏死和纤维化的 HAI(组织活动指数)及 ALT 水平较 HCV 抗原阴性的丙肝患者高,反映肝组织中病毒抗原阳性者肝组织损伤程度较重。Adrian^[1]则发现肝组织病毒抗原表达多少与肝组织病理变化无明显关系。本研究结果显示,HCV-NS3 的表达与肝细胞坏死及炎性细胞浸润无明显解剖学关系,而 HCV-NS5 阳性的肝细胞周围常可看到较显著的炎症反应,提示 HCV-NS5 的表达在 HCV 致病机制中起重要的作用。

采用免疫组织化学技术检测组织细胞内 HCV 抗原表达和分布状况,不仅为 HCV 感染的诊断提供手段,而且有助于认识 HCV 的致病机制,对丙型肝炎的治疗也具有指导作用。

参 考 文 献

- 1 Adrian M, Di Bisceglie J, Jay HH, et al. Change in hepatitis C virus antigen in liver with antiviral therapy. *Gastroenterology*, 1993, 105: 858-860.
- 2 Krawczynski K, Michael J, Beach, et al. Hepatitis C virus antigen in hepatocytes: immunomorphologic detection and identification. *Gastroenterology*, 1992, 103: 622-624.
- 3 Naoki H, Hayashi N, Haruna Y, et al. Immunohistochemical detection of hepatitis C virus infected hepatocytes in chronic liver disease with monoclonal antibodies to core, envelope and NS3 regions of the hepatitis C virus genome. *Hepatology*, 1992, 16: 306-309.
- 4 赵西平, 杨东亮, 程玉芳, 等. 丙型肝炎病毒感染肝组织中病毒相关抗原的表达. *中华传染病杂志*, 1996, 14: 81-84.
- 5 Domenico S, Franco D. Hepatitis C virus C₁₀₀ antigen in liver tissue from acute and chronic infection. *Hepatology*, 1993, 18: 240-241.
- 6 Tsutsumi M, Urashima S, Tokada A, et al. Detection of antigens related to hepatitis C virus RNA encoding the NS5 region in the liver of patients with chronic type C hepatitis. *Hepatology*, 1994, 19: 265-267.