

。 技术方法 。

# 沈阳地区重型肝炎血清中庚型肝炎病毒核酸的检测

舒 波 窦晓光 李 颖 王兆荃

**摘要** 为调查重型肝炎的庚型肝炎病毒(HGV)的感染状况,我们应用逆转录-巢式聚合酶链反应(Rt-nested PCR)检测了49例重型肝炎患者血清中的庚型肝炎病毒核酸(HGV RNA)。结果显示:8例HGV RNA阳性(16.3%),其中6例死亡(75%);8例HGV感染的重型肝炎患者中7例重叠感染乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV),1例为单纯HGV感染。提示:HGV与其它肝炎病毒重叠感染及单纯HGV感染均可引起重型肝炎;而且其临床表现较重,病死率高。

**关键词** 庚型肝炎病毒 庚型肝炎病毒核酸

**Detection of HGV RNA in Sera from Patients with Fulminant Hepatitis in Shenyang** Shu Bo, Dou Xiaoguang, Li Ying, et al. Department of Infectious Diseases, Second Clinical College, China Medical University, Shenyang 110003

**Abstract** HGV RNA was detected by Rt-nested PCR in sera from 49 patients with fulminant hepatitis. The results showed a) HGV RNA positive rate was 16.3% (8/49) in patients with fulminant hepatitis including 4 subjects with HBV coinfection, 1 subject with HCV coinfection, 2 subjects with HBV and HCV coinfection and 1 subject with HGV infection alone. b) mortality in patients with fulminant hepatitis with HGV infection was 75% (6/8), suggesting that a) both infection with HGV alone and super infections of other types of hepatitis virus can result in fulminant hepatitis. b) clinical manifestations of fulminant hepatitis with HGV infection may appear to be more severe and with higher mortality.

**Key words** HGV HGV RNA Fulminant hepatitis

自 Simons<sup>[1]</sup> 1995年克隆出一种新型肝炎病毒-庚型肝炎病毒(HGV)以来,许多学者进行了广泛的研究。同年 Yoshida<sup>[2]</sup>等首次报告HGV感染可以引起重型肝炎,日本学者井上<sup>[3]</sup>和为田<sup>[4]</sup>等报告HGV重叠感染其它肝炎病毒也可引起重型肝炎。1996年我国学者相继报道国内存在HGV感染并建立了庚型肝炎病毒核酸(HGV RNA)的检测技术。我们应用逆转录-巢式聚合酶链反应(Rt-nested PCR)检测了1994~1997年本院收治的49例重型肝炎患者血清中的HGV

RNA,以明确我国重型肝炎的HGV感染状况,现将结果报告如下。

## 材料和方法

一、研究对象:病例选自1994~1997年中国医科大学二院传染科收治的重型肝炎49例,其中男40例,女9例,年龄18~62岁,平均年龄42±7.8岁。全部病例均符合1995年北京第五次全国传染病寄生虫病学术会议讨论修订的诊断标准<sup>[5]</sup>。

二、主要试剂: Taq酶, dNTP, 异硫氰酸胍均购自美国 Promega公司。

三、庚型肝炎病毒核酸(HGV RNA)的

检测: 采用异硫氰酸胍法提取 HGV RNA 后, 加入逆转录液 10 $\mu$ l, 42 $^{\circ}$ C 30min 逆转录成 cDNA 后扩增: 第一轮反应: 取 cDNA 5' 1 做模板, 应用引物 P (5'-CGCTCAAGCCAGCCTAAGCA-3') 和 P<sub>2</sub> (5'-CAATACC TCTCACCGACGGG-3'), 94 $^{\circ}$ C 3min 预变性后, 94 $^{\circ}$ C 50'', 52 $^{\circ}$ C 50'', 72 $^{\circ}$ C 60'', 25 个循环。第二轮反应: 取第一轮反应产物 3 $\mu$ l 做模板, 应用引物 P (5'-GGACTTCCGGATAGCTGAAAGCT-3'), 和 P<sub>2</sub> (5'-GCGTCCACACAGATGCGCA-3'), 94 $^{\circ}$ C 3min 预变性后, 94 $^{\circ}$ C 50'', 55 $^{\circ}$ C 50'', 72 $^{\circ}$ C 60'', 30 个循环。取第二轮 PCR 反应产物 10 $\mu$ l 用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳观察结果, 扩增片段约 170bp

## 结 果

49 例重型肝炎患者血清中 8 例 HGV RNA 阳性 (16.3%), 其中 7 例重叠感染 HBV 或 HCV, 仅 1 例为单纯 HGV 感染

在 49 例重型肝炎患者中有 8 例是 HGV 所致的重型肝炎: 乙型肝炎与 HGV 混合感染 4 例, 乙肝、丙肝与 HGV 混合感染 2 例, 丙肝与 HGV 混合感染 1 例, 单纯 HGV 感染 1 例。这 8 例 HGV (单纯或混合感染) 感染所致的重型肝炎患者中有 6 例死亡, 其病死率为 75%。

## 讨 论

一般认为庚型肝炎临床表现较轻, 黄疸出现较少, ALT 水平较低, 预后较好, 最初认为, HGV 感染不能引起重型肝炎<sup>[6]</sup>。自 Yoshiba<sup>[2]</sup>选择 6 例非甲~戊型重型肝炎做为研究对象, 发现其中 3 例血清中 HGV RNA 阳性以来, Riffelman<sup>[7]</sup>和北本<sup>[8]</sup>也报告在非甲~戊型重型肝炎血清中检出 HGV RNA, 临床表现呈现亚急性重症经过

由于 HGV 与 HBV 和 HCV 有相同的感染途径, 可相互重叠感染 日本学者井上<sup>[3]</sup>对 63 例重型肝炎进行了研究, 发现 6 例血清中

HGV RNA 阳性, 其中 5 例重叠感染其它肝炎病毒。为田<sup>[4]</sup>也报告 44 例重型肝炎患者血清中 6 例 HGV RNA 阳性, 其中 2 例重叠感染 HBV, 4 例过去诊断为非甲非乙型肝炎

我们的调查发现 49 例重型肝炎患者血清中 8 例 HGV RNA 阳性, 其中 7 例重叠感染 HBV 或 HCV, 1 例为单纯 HGV 感染 这表明, HGV 与其它肝炎病毒重叠感染及单纯 HGV 感染均可引起重型肝炎

有关 HGV 感染致重型肝炎的预后情况的报道较少。日本学者 Yoshiba<sup>[2]</sup>、为田<sup>[4]</sup>和北本<sup>[8]</sup>调查的 10 例 HGV 感染所致的重型肝炎全部死亡。我们调查的 8 例 HGV 感染所致的重型肝炎 6 例死亡 这表明, HGV 感染所致的重型肝炎其临床表现可能较重 预后差, 病死率也较高

## 参 考 文 献

- 1 Simons JN, Pilot-Matia TJ, Leary TP, et al. Identification of two flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 3401.
- 2 Yoshiba M, Okamoto H, Mishiro S, et al. Detection of the GBV-C hepatitis virus genome in serum from patients with fulminant hepatitis of unknown aetiology. Lancet, 1995, 346: 1131-1132.
- 3 井上和明, 与芝真. GBV による肝炎. 医学のあゆみ, 1996, 177: 914.
- 4 为田勲彦, 小坂義和, 高瀬幸次郎. 劇症肝炎における GBV-C の関与について. 肝臓, 1996, 37 Suppl(1): 109.
- 5 病毒性肝炎防治方案 (试行). 中华传染病杂志, 1995, 13: 241.
- 6 彭宜红. 庚型肝炎研究进展. 《国外医学》流行病学传染病学分册, 1996, 23: 72.
- 7 Riffelman N, et al. Proceeding of IX international Symposium on viral hepatitis and liver disease. Room. 1996. 250.
- 8 北本幹也, 中盐了, 中西敏夫ほか. HGBV-C RNA が検出された非 A 非 B 非 C 型肝細胞癌および非 A 非 B 非 C 型劇症肝炎例の検討. 肝臓, 1996, 37 Suppl(1): 115.

(收稿: 1997-11-10 修回: 1998-02-10)