

厦门地区临床肝炎患者中 TT 病毒感染的初步检测

吴晓鹭¹ 郑全胜¹ 罗文新² 陈国良¹ 康俊杰¹ 张 军² 夏宁邵²

TT 病毒 (TTV) 是日本 Nishizawa 等^[1,2]于最近报告发现的一种可经输血传播且可能与血清 ALT 升高相关的单链 DNA 病毒, 在不同的临床和病原型肝炎、血液病、静脉药瘾和献血员血清中 TTV-DNA 检出率为 10% ~ 68%。张军等^[3]根据日本株 TTV 序列, 在 ORF2 区域设计 2 对特异性引物, 建立了检测血清 TTV-DNA 的巢式 PCR 方法, 在泉州市 1 例非甲—戊型肝炎病人血清中克隆并测序一条 199bp 的基因片段, 与日本株 TTV 比较同源率为 87%。为初步了解厦门地区各临床肝炎病人及健康人群 TTV 的感染状况, 我们通过巢式 PCR 方法对 98 例临床肝炎病人和 59 例健康人群血清进行检测, 结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 1998 年 5 月底至 1998 年 6 月初在厦门市中医院传染科和肝病科住院的全部临床肝炎患者血清 98 份, 健康人来自于同期的厦门市健康体检血清 59 份, 病毒性肝炎的诊断符合 1995 年 (北京) 第 5 次全国传染病寄生虫病会议修订的病毒性肝炎诊断标准。

1.2 方法

1.2.1 甲—戊型肝炎血清标志物的检测 抗 HAV IgM、HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb、抗 HBc IgM、抗 HCV IgG、抗 HEV IgG ELISA 试剂盒由厦门新创科技有限公司提供; HBV-DNA 和 HCV-RNA 检测 PCR 试剂盒购自于华美生物工程公司; 具体操作按试剂盒说明书进行。

1.2.2 TTV-DNA 的提取及巢式 PCR 的检测: 采用厦门大学肿瘤细胞工程国家专业实验室与厦门泰伦生物工程有限公司联合研制的 TTV-DNA 巢式 PCR 检测试剂盒, 具体操作按试剂盒说明书进行。引物的序列位置见表 1。

表 1 引物的名称、位置和序列

名称	位置	序列 (5'—3')
TTV F1	5-22	TGC TAC GTC ACT AAC CAC
TTV R1	733-713	CTC CTC TGC GGC GTC TCC TTA
TTV F2	95-111	GTG CAC TTC CGA ATG GC
TTV R2	283-265	GTA ATG CCT GCC AAT AAA C

2 结果

2.1 厦门地区临床肝炎病人和健康人群血清 TTV-DNA 检测结果 98 份临床肝炎病人血清检出 21 份 TTV-DNA 阳性, 阳性率为 21.43%, 59 份健康人群血清检出 14 份 TTV-DNA 阳性, 阳性率为 23.73%。TTV 在临床肝炎病人与健康人群的感染率未见明显的差别 ($\chi^2 = 0.11$, $P = 0.739$), 在急性肝炎和慢性肝炎患者中也未见 TTV-DNA 阳性率的明显差别 ($\chi^2 = 0.78$, $P = 0.376$)。

表 2 不同临床型肝炎患者及健康人群中 TTV-DNA 的检出情况

临床类型	TTV-DNA		
	例数	阳性数	阳性率 (%)
临床肝炎	98	21	21.43
急性肝炎	43	11	25.58
慢性肝炎	55	10	18.18
健康人群	59	14	23.73

2.2 不同病原型肝炎病人血清中 TTV-DNA 检测结果 在非甲—戊型肝炎中 TTV 的阳性率为 8.33%, 在甲—戊型肝炎中的总阳性率为 23.26%, 其中单独乙型肝炎中的阳性率为 23.07%, 单独戊型肝炎中的阳性率为 28.57% (表 3), 在不同病原类型肝炎患者中, 均未见到 TTV-DNA 检出率的明显差别。

表 3 TTV-DNA 在各种病原型肝炎患者中的检出情况

病原类型	TTV-DNA		
	例数	阳性数	阳性率 (%)
Non A-E	12	1	8.33
HAV-HEV	86	20	23.26
HAV	3	1	—
HBV	52	12	23.07
HCV	1	0	—
HEV	14	4	28.57
HAV + HBV	1	0	—
HBV + HCV	1	0	—
HBV + HEV	11	2	18.18
HCV + HEV	2	0	—
HBV + HCV + HEV	1	1	—
合计	98	21	21.43

3 讨论

日本 Nishizawa 研究小组^[1,2]通过代表性差异分析, 从一个不明原因的输血后肝炎病人的血清中分离到一个 500 个核苷酸的病毒克隆 (N22)。N22 克隆与现有任何已报道的序列的同源性都很低。根据 N22 序列合成了寡核苷酸引物以进行 PCR 检测。血清中 N22 序列在蔗糖密度梯度离心中位于 1.26g/cm³ 区带中, 提示其与某种病毒颗粒密切相关, 依据该病人的姓名, 将这种病毒颗粒命名为 TT 病毒 (TTV)。从 5 例输血后 ALT 升高的病人血清中 3 例检测到 TTV-DNA, 并且发现病人血清 ALT 的水平与 TTV-DNA 含量有正相关的趋势, 另外在非甲—戊型急、慢性肝炎病人血清中的检出率均明显高于献血员中的检出率, 因而认为 TTV 可能是导致原因不明的急性慢性肝炎、(下转第 28 页)

作者单位: 1. 厦门市中医院 (厦门, 361003)

2. 厦门大学肿瘤细胞工程国家专业实验室

- 191.
4. Laemmli U K, et al. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4 [J]. Nature. 1970, 227: 680.
 5. Towbin H, et al. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 4350
 6. 杨树森, 等. 120 种中药对弓形虫 RH 株速殖体的体外效应 (初报) [J]. 天津医学院学报, 1983, (2): 12.
 7. Sunderman C A, et al. Immunohistochemical diagnosis of *Toxoplasma gondii*: Potential for cross-reactivity with *Neospora caninum* [J]. J Parasitol. 1997, 83 (3): 440
 8. Sibley L D, et al. Ultrastructural localization of an intracellular *Toxoplasma* protein that induces protection in mice [J]. Inf Immun, 1987, 55: 2137.
 9. Verhofstede C, et al. The infection-stage-related IgG response to *Toxoplasma gondii* studied by immunoblotting [J]. Parasitol Res 1988, 74: 516.
 10. Ehrlich H A, et al. Identification of an antigen-specific immunoglobulin M antibody associated with acute *Toxoplasma* infection [J]. Inf Immun. 1983, 41: 683.
 11. Sharma S D, et al. Western blot analysis of the antigens of *Toxoplasma gondii* recognized by human IgM and IgG antibodies [J]. J Immunol, 1983, 131: 977.
 12. Potasman I, et al. Analysis of *Toxoplasma gondii* antigens recognized by human sera obtained before and after acute infection [J]. J Inf Dis, 1986, 154: 650.
 13. Araujo F G, et al. Antigenemia in recently acquired acute toxoplasmosis [J]. J Inf Dis, 1980, 141 (2): 144.
 14. Brooks R G, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* antigens by a dot-immunobinding technique [J]. J Clin Microbiol, 1985, 21 (1): 113.
 15. 刘佩梅, 等. Dot-ELISA 检测小鼠弓形虫病循环抗原的初步试验 [J]. 天津医科大学学报, 1990, 14 (4): 4.
 16. 佟小莺, 等. 急性弓形虫病兔循环抗原动态的实验观察 [J]. 中国人兽共患病杂志, 1992, 8 (4): 19.
 17. 傅翠娥, 等. 双抗体 ELISA 法检测弓形虫循环抗原的研究 [J]. 中华医学杂志, 1991, 71 (3): 173.
 18. Turunen H J, et al. Detection of soluble antigens of *Toxoplasma gondii* by a fourlayer modification of an enzyme immunoassay [J]. J Clin Microbiol, 1983, 17: 768.

(上接第 116 页) 输血后肝炎的一种新的肝炎病毒。而我们的研究表明, 厦门地区各型肝炎病人血清 TTV 的检出率为 21.43%, 并不高于健康人群 23.73% 的检出率, 在非甲—戊型肝炎病人中, 检出率 (8.33%) 也不高于健康人群和其它病原型肝炎。无论在不同临床类型肝炎患者中还是在不同病原类型肝炎患者中, 均未见到 TTV-DNA 检出率的明显差别。根据这些资料, 至少目前在厦门地区还看不出 TTV 的感染与临床肝炎或者非甲—戊型肝炎间的明显的相关性, 对此我们正在继续扩大病例数并检测更多、更具代表性的健康人群作进一步研究。

最近, “Lancet” 杂志报道了英国两个研究小组的研究结果并进行了编辑述评^[4-6], 其中 Naoumov 等^[8]在 72 例慢性肝炎患者中检出了 18 例 TTV 阳性 (25%), 与正常人群没有明显差别, 而且在多种肝脏疾病中 TTV-DNA 的阳性率也是相似的, 另外, 在绝大多数 TTV 阳性肝炎病例中都没有明显的肝损伤的生化或组织学证据, 因而认为 TTV 可能与肝炎没有明显关系。我们的结果与 Naoumov 等的结果是一致的。Naoumov 等同时还发现两种不同基因型的 TTV 在无症状的献血员中、血透病人中及各种肝炎中都存在, 因

而没有证据表明 TTV 的型别会与致病有关。

4 参考文献

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 241: 92.
2. Okamoto, H, Nishizawa, T, Kato, N, et al. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology [J]. Hepatol Res. 1998; 10: 1.
3. 张军, 杨海杰, 苏智军, 等. 从中国非甲—戊型肝炎病人中克隆到 TT 病毒样 DNA 序列 [J]. 厦门大学学报 (自然科学版) 1998; 37: 315.
4. Naoumov, N, Petrova, E, Thomas, M, et al. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease [J]. 1998, 352: 195.
5. Simmonds, P, Davidson, F, Lycett, C, et al. Detection of a novel DNA virus (TT virus) in blood donors and blood products [J]. Lancet, 1998, 352: 191.
6. Cossart Y, TTV a common virus, but pathogenic [J]. Lancet, 1998, 352: 190.