

中国旱獭类动物肝炎病毒感染调查*

马丽丽 金志宏 寇平原 买凯 叶梅君

(河南省医学科学研究所)

(华西医科大学)

凌竞熙 刘寿鹏

(新疆医学院)

(青海省卫生防疫站)

旱獭类肝炎病毒 (*Woodchuck hepatitis virus*, WHV) 与人乙型肝炎病毒 (*Hepatitis B virus*, HBV) 同属嗜肝 DNA 病毒科 (Hepadnaviridae)。1977 年 Summers 等在美国一种美洲旱獭 (*Marmota monax*) 中首先发现了 WHV^[4], 形态学和免疫学研究表明, WHV 与 HBV 有密切关系^[6]。感染 WHV 的旱獭, 可发生急性肝炎, 也可长期携带病毒并伴慢性肝炎, 有些可发生肝细胞肝癌。因此, 旱獭是研究人

类乙型肝炎及原发性肝癌较为理想的一种动物模型。

我国的旱獭与美国旱獭系同属动物。国内常见种有长尾旱獭 (*M. caudata*), 主要分布于新疆; 蒙古旱獭 (*M. sibirica*), 主要分布于东北和内蒙; 喜马拉雅旱獭 (*M. himalayana*), 主要分布于青藏高原。为了解中国旱獭类 WHV

* 参加本项研究工作的还有张振生、买小玲、王滨、陈洪涛等同志, 特此致谢。

感染情况,建立我国乙型肝炎动物模型,1984—1986年,我们对上述三种旱獭群落进行了类WHV感染调查

(一) 材料和方法

1. 标本来源 1984—1986年采集新疆长尾旱獭血清标本 268份,内蒙的蒙古旱獭血清标本 51份,四川喜马拉雅旱獭血清标本 250份,青海喜马拉雅旱獭血清标本 250份,肝组织标本 51份。

2. 从旱獭肝组织中提取DNA 按 Maniatis. T^[3]法提取肝组织DNA。

3. 土拨鼠肝炎病毒表面抗原(WHsAg)测定 采用固相放射免疫测定法(RIA, Abbott Kit)。

4. WHV-DNA测定 采用斑点杂交试验^[4](探针采用缺口翻译法标记,克隆WHV-DNA由 Summers 惠赠)。显影后,底片上出现均匀,较致密的圆形斑点,为阳性;无斑点者,为阴性(见图1)。

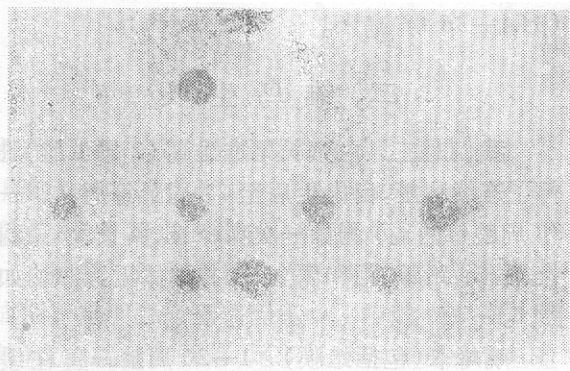


图1 WHV-DNA 斑点杂交试验:放射自显影结果,显影的斑点为WHV-DNA

(二) 结果 应用RIA和斑点杂交法共检测了819份旱獭血清标本和51份旱獭肝组织标本。测定结果,268份新疆长尾旱獭血清均未检出WHsAg及WHV-DNA;51份内蒙的蒙古旱獭血清WHsAg均为阴性,WHV-DNA阳性6份(11.8%);250份四川喜马拉雅旱獭血清WHsAg均为阴性,WHV-DNA阳性19份(7.6%),250份青海喜马拉雅旱獭血清WHsAg阳性5份(2%),其中38份血清检测

了WHV-DNA,阳性10份(26.3%);51份青海喜马拉雅旱獭肝组织标本中WHV-DNA阳性12份(23.5%)。根据WHsAg和WHV-DNA测定,发现不同地区,不同种类的旱獭类WHV感染率不同,分别为0—26.3%(见表1),其中以青海喜马拉雅旱獭类WHV感染率较高。

表1 三种旱獭血清WHsAg及WHV-DNA检出率

旱獭种类	WHsAg		WHV-DNA	
	阳性数/总数	阳性率(%)	阳性数/总数	阳性率(%)
新疆长尾旱獭	0/268	0	0/268	0
内蒙的蒙古旱獭	0/51	0	6/51	11.8
四川喜马拉雅旱獭	0/250	0	19/250	7.6
青海喜马拉雅旱獭	5/250	2	10/38	26.3

(三) 讨论 为了解中国旱獭类WHV感染情况,建立我国乙型肝炎动物模型,我们应用RIA法和斑点杂交试验检测旱獭血清WHsAg和WHV-DNA,以及肝组织中WHV-DNA。发现内蒙、青海、四川旱獭均有类WHV感染,但新疆长尾旱獭未发现类WHV感染。由此可见,中国旱獭类WHV感染具有区域性。

我们采用RIA法检测旱獭血清WHsAg,其阳性率为0—2%,而用斑点杂交法检测旱獭血清及肝组织中WHV-DNA,其阳性率为0—26.3%。显然WHV-DNA测定优于WHsAg测定。这可能是由于在已发现的嗜肝DNA(Hepadna)病毒科成员之间抗原性交叉不高所致。人乙型肝炎表面抗原(HBsAg)和旱獭表面抗原(WHsAg)之间的交叉仅0.1—1%^[5]。可见用HBsAg测定试剂盒检测WHsAg是很不敏感的。然而,Hepadna病毒科成员之间DNA的同源性比其抗原性之间的交叉要高得多。HBV-DNA与WHV-DNA之间的同源性达62—70%^[2]。我们用WHV-DNA作探针检测旱獭类WHV,检出率明显增高。斑点杂交试验在有标记探针的条件下,方法简便,同时能检测大量标本,而且方法敏感,特异性强,可提高类WHV感染的检出率。

本调查提示中国旱獭有类WHV感染存在,但不同地区,不同种类旱獭之间类WHV感

染率不同。

参 考 文 献

- [1] 寇平原等1986 HBV-DNA分子杂交技术的建立及其临床应用 河南医科大学学报 21(2): 110--114.
- [2] Galibert F, et al. 1982 Nucleotide sequence of a cloned woodchuck hepatitis virus genome: comparison with the hepatitis B virus sequence. *Journal of Virology* 41: 51—65.
- [3] Maniatis T, et al. 1982 Molecular Cloning: a Laboratory Manual. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 86.
- [4] Summers J, et al. 1978 A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatoma in woodchucks. proceedings of the National Academy for Sciences, USA 75: 4533—4537.
- [5] Summers J, et al. 1980 properties and distribution of woodchuck hepatitis virus. In Bianchi L, Gerok W, Sickinger K, Stalder GA (eds): "Virus and the Liver". Lancaster: MTP Press Limited, 223—233.
- [6] Tyler GV, et al. 1981 Woodchuck hepatitis virus in natural woodchuck populations. *Journal of Wildlife Diseases* 17: 297—301.