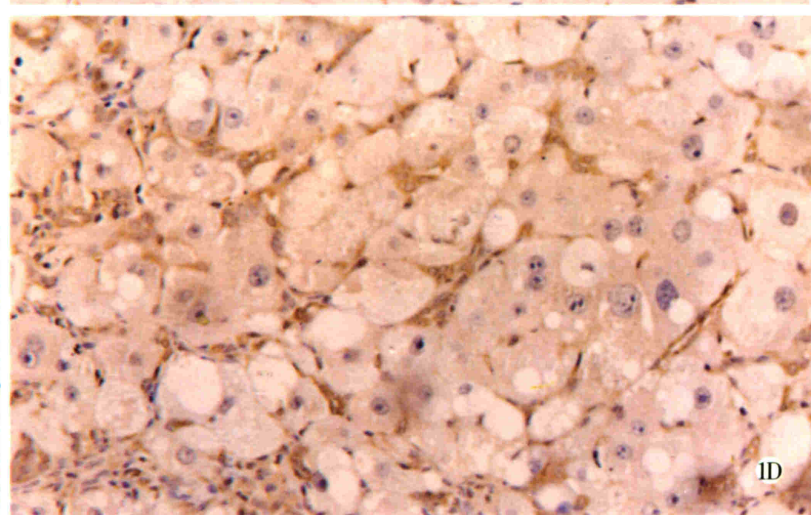
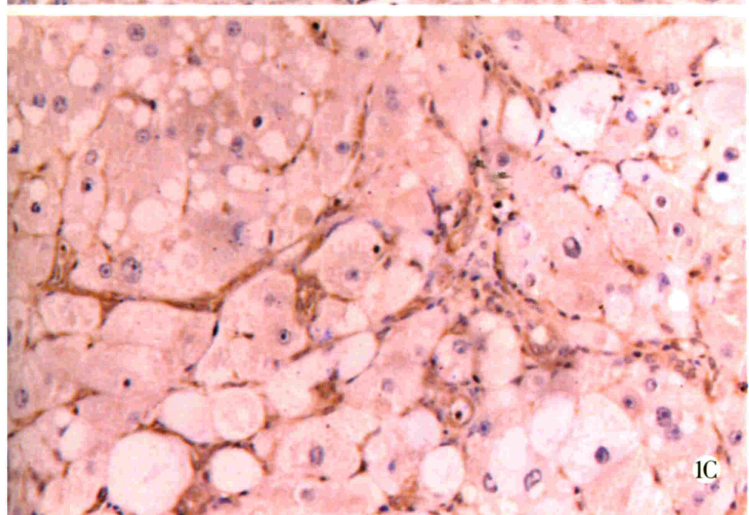
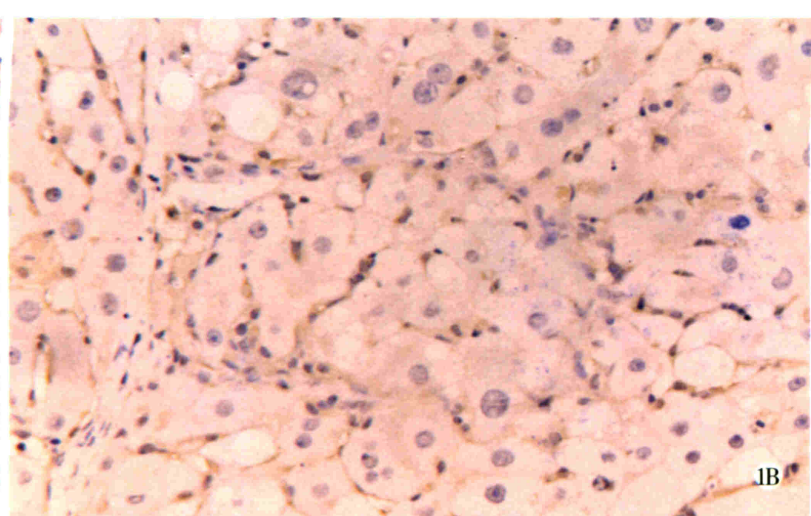
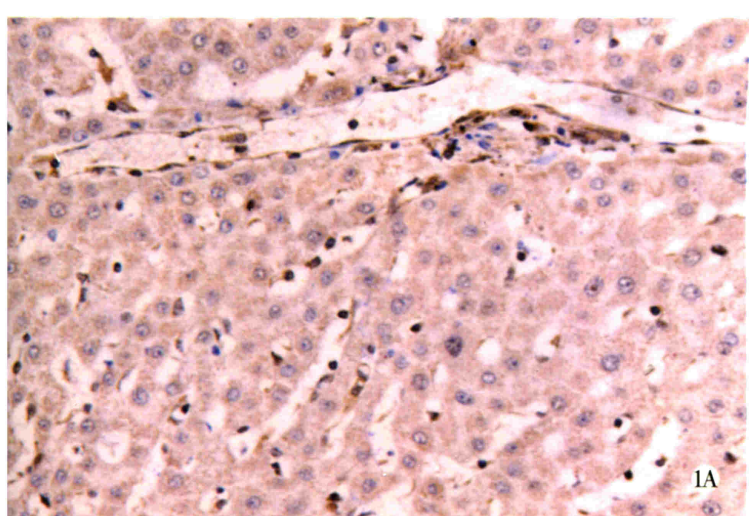


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 6 月 15 日 第 11 卷 第 6 期 (Volume 11 Number 6)



6/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®,
Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®
Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/
Excerpta Medica 收录. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子
1.445. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/
Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告:
世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 6 月 15 日 第 11 卷 第 6 期 (总第 110 期)

述 评	689 肝脏胶原蛋白检测进展与评析 刘成海
病毒性肝炎	693 甲型肝炎减毒活疫苗(LA-1 株)大规模免疫长期效果观察 龚健,李荣成,徐志一,江世平,罗东,杨进业,李艳萍,陈修荣,黄贵彪,凌文武,韦光武,汪莹怡 697 HCV-Fc 融合基因疫苗真核表达载体的构建及表达 冯志华,王全楚,周永兴,郝春秋,聂青和 701 胸腺肽 $\alpha 1$ 对慢性乙型肝炎患者免疫系统的影响 段国荣,聂青和,周永兴,王全楚,田长印,刘拉羊,薛红安 705 蛋白激酶 C 对肾小球前小动脉平滑肌细胞 I 型 IP_3 受体表达影响 王静艳,刘沛,韩峰
肝 癌	708 抗肝癌单链免疫毒素基因修饰的 PBMCs 在动物体内的抑瘤作用 程虹,刘彦仿,张惠中,沈万安,张菊,张静 712 经皮穿刺氩氦刀冷冻治疗肝癌 31 例 钱国军,陈汉,吴孟超 716 大鼠肝细胞癌形成过程中 MMP-2mRNA 的表达及应用 BB-94 的影响 张志,方石岗,高毅,蒋泽生,孙尔维
基础 研究	719 西安酒精性肝病流行病学 鲁晓岚,陶明,罗金燕,耿燕,赵平,赵红莉 723 蛋白激酶 C 在肝细胞缺氧预处理中的作用 单毓强,高毅,王瑜,潘明新 726 肝硬化不同病期 ET-1,NO 对离体肝脏血流动力学的调节作用 姚冬梅,姚希贤,杨川杰,冯志杰,房红梅,高军萍 730 大鼠肝纤维化中细胞外信号调节激酶的作用 梁增文,张国,王天才 733 环氧合酶-2 反义核酸对人胆管癌细胞增生的影响 吴高松,武小勇,邹声泉,裘法祖 737 ONO-3403 对胆囊收缩素刺激的大鼠胰腺外分泌的影响 陈少夫,刘维新,山本光胜,大槻真 741 内皮抑素-可溶性血管内皮细胞生长抑制因子融合基因重组腺病毒的包装与鉴定 李喆,潘欣,潘卫,曹贵松,闻兆章,方国恩,戚中田,毕建成,华积德 745 激活素 A 对肝星状细胞细胞外基质合成的影响 刘清华,李定国,黄新,尤汉宁,潘勤,徐雷鸣,徐芹芳,陆汉明 749 脾静脉结扎诱导继发性脾功能亢进犬动物模型的评价 刘全达,马宽生,何振平,丁钧,董家鸿 753 IL-6 与整合素家族细胞黏附分子在大鼠急性坏死性胰腺炎合并多器官损伤模型中的表达 孙威,张俊东,赵滢,赵宇,王强
临床 研究	756 老年消化道多原发癌的早期诊断及综合治疗 蔡昌豪,吴本伊,吴道宏,邵勇,王孟薇
焦 点 论 坛	760 进一步深化慢性乙型肝炎诊断治疗的实用性研究 李梦东,聂青和 762 慢性乙型肝炎临床分度、诊断的一些问题 周永兴 766 慢性乙型肝炎的鉴别诊断及常见并发症 聂青和 768 特殊人群乙型肝炎的临床特点及处理 罗新栋,聂青和 772 病理学检测在慢性乙型肝炎诊断治疗中的价值 郎振为 775 经皮肝脏活体穿刺活检技巧及研究进展 滕光菊,聂青和 776 乙型肝炎的实验检查及其临床意义 郝春秋,聂青和 780 慢性乙型肝炎的抗病毒治疗 程明亮,吴亚云 783 慢性乙型肝炎的免疫治疗 施光峰 785 慢性乙型肝炎的中医药治疗 申德林,王全楚,焦栓林 787 乙型肝炎病毒携带者的诊断与治疗 江家骥,朱琪 789 慢性乙型肝炎肝纤维化的诊断与治疗 蔡卫民,张彬彬 791 乙型肝炎病毒慢性感染和肝癌发生 苏勤 795 治疗性疫苗-慢性乙型肝炎患者的希望 王全楚,聂青和
文 献 综 述	799 抗乙型肝炎病毒肝靶向药物制剂的研究进展 王九平,白雪帆 803 腺病毒载体的特点及其在 HCV 研究中的应用 郝春秋,冯志华,聂青和 806 HCVC 区 DNA 疫苗的研究现状 孙利,周永兴 810 病毒性肝炎基因治疗的研究和面临的挑战 贾战生,冯志华,周永兴

文献综述	815 抗 HCV 树突状细胞疫苗的制备及功能研究 王全楚,冯志华,周永兴 819 疫苗新概念及新型疫苗的研制 冯志华,王全楚 823 特殊状态下的逆行胰胆管造影检查术 智发朝 824 胃肠道出血的内镜诊治 陈村龙,宋于刚,周殿元 827 介入内镜学在胆胰疾病中的应用 刘思德 829 老年期消化性溃疡与恶性肿瘤溃疡、应激性溃疡的鉴别 吴保平,肖冰 831 老年人消化道急症 黄纯炽
研究快报	834 肠癌细胞 BAI1 基因表达的检测及其抗肿瘤作用 王志华,康熙雄,张智清,申宝忠,李莹 836 三氧化二砷对鸡胚移植胆管癌生长的抑制作用 喻智勇,王曙光,郑秀海,李昆 838 小鼠实验性肝损伤中 NO 的动态检测及意义 陈会松,柳利明,黄华,杨晋辉
临床经验	841 结肠黑变病 25 例 孙军,李岩 842 保留胰腺的脾动脉干及脾切除术在胃癌根治术中的意义 陈志新,胡建昆,张波,陈佳平,周总光 844 萎缩性胃炎临床证型分类研究 朱方石,姒健敏,王良静 846 叶酸对胃癌前细胞凋亡的影响 曹大中,刘顺英,赵建学 848 短肠综合征的远期并发症 4 例 周伟,江志伟,姜军,朱维铭,张佃良,李宁,黎介寿 851 幽门螺杆菌感染与慢性肝病的临床关系 焦建中,聂青和,赵春林,吴永胜,文绍先,吴群 853 内支架术与腔内近距离放射治疗联合应用治疗晚期食管癌 8 例 申宝忠,于友涛 855 组织黏合剂 Histoacryl 治疗胃静脉曲张活动性出血的疗效 曾黎明,陈村龙,智发朝 856 肝病患者血清肿瘤坏死因子 α 水平变化 徐学刚,张美稀,董惠芳,杨协珍,金树根,陈建杰,王灵台 859 尼美舒利引起肝脏损害 14 例 关英,徐峰,胡莲,周甘平 861 脾脏体积、脾静脉血流及血细胞计数在门静脉高压症分期中的意义 王秀艳,游晓功,施宝民,穆庆岭,吴泰璜 863 大连地区糖尿病患者与健康成年人肠内菌群的比较 孙艳,刘波,赵静玫,王海岩,徐和利,李雪松 865 影像学检查对肝门部胆管癌进展范围评价的临床价值 张国梁,韦斌,朱春兰,任旭 867 分离培养在 Hp 感染诊断中的重要地位 史济经,闵海阳,王青,杨慧芳,王洪涛,张振华 870 HBV 感染者 HBV DNA 与抗原抗体标志物的关系 陈雪娟,李刚,刘淑芳,陈文思,李桂侠 871 乙型肝炎肝组织中细胞间黏附分子-1 及 Fas 的表达及意义 张闯峰,郑瑞丹,孟家榕,郭以河,林福地 873 轮状病毒全身感染对肝胆胰的影响 姚英氏,李宁,欧巧群 877 良性肝病患者血清 AFP 升高的临床意义 程天霞 875 胆源性胰腺炎手术治疗 58 例 黄建勇,马清涌,马建新 879 经皮肝穿刺胆道引流治疗外伤后胆瘘 汪邵平,霍枫,张玉新,裴世强
病例报告	840 以肠梗阻为首表现的原发性小肠肿瘤 4 例 赵永玲,魏芳
编委来信	707 711 江学良
投稿细则	附 1-4 世界华人消化杂志投稿细则
封面故事	730 大鼠肝纤维化中细胞外信号调节激酶的作用 梁增文,张国,王天才

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名

创 刊 1993-01-15
改 刊 1998-01-25
出 版 2003-06-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀
黄象谦
黄志强
黎介寿
刘耕陶
裘法祖
汤钊猷
王宝恩
危北海
吴孟超
吴咸中

张金哲
张学庸
赵东海
周殿元
社长总编辑 马连生
中文编辑 潘伯荣
王瑾晖
英文编辑 张建中
排 版 李少华
校 对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail:wcjd@wjgnet.com
出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话 (010)85381892
传真 (010)85381893
印刷 北京科信印刷厂
发行 国内 北京报刊发行局
国外 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)
订购 全国各地邮电局
邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话:(010)85381892
传真:(010)85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外 检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(PJ)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目录数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点,除非特别声明.本刊如有印装质量问题,请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262
国外代号 M 4481

国内定价 每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证
1401004000050

- gene and hepatocarcinogenesis in transgenic mice. *Hepatology* 1994;19:810-819
- 14 Chisari FV, Filippi P, Buras J, McLachlan A, Popper H, Pinkert CA, Palmiter RD, Brinster RL. Structural and pathological effects of synthesis of hepatitis B virus large envelope polypeptide in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6909-6913
- 15 Toshkov I, Chisari FV, Bannasch P. Hepatic preneoplasia in hepatitis B virus transgenic mice. *Hepatology* 1994;20:1162-1172
- 16 Su Q, Zerban H, Otto G, Bannasch P. Cytokeratin expression is reduced in glycogenotic clear hepatocytes but increased in ground-glass cells in chronic human and woodchuck hepadnaviral infection. *Hepatology* 1998;28:347-359
- 17 Schaefer S, Gerlich WH. In vitro transformation by hepatitis B virus DNA. *Intervirology* 1995;38:143-154
- 18 Dandri M, Chirmacher P, Rogler CE. Woodchuck hepatitis X protein is present in chronically infected woodchuck liver and woodchuck hepatocellular carcinomas, which are permissive for viral replication. *J Virol* 1996;70:5246-5254
- 19 Feitelson MA, Duan LX. Hepatitis B virus X antigen in the pathogenesis of chronic infections and the development of hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol* 1997;150:1141-1157
- 20 Su Q, Liu YF, Zhang JF, Zhang SX, Li DF, Yang JJ. Expression of insulin-like growth factor II in hepatitis B, cirrhosis and hepatocellular carcinoma: its relationship with hepatitis B virus antigen expression. *Hepatology* 1994;20:788-799
- 21 Su Q, Benner A, Hofmann WJ, Otto G, Pichlmayr R, Bannasch P. Human hepatic preneoplasia: phenotypes and proliferation kinetics of foci and nodules of altered hepatocytes and their relationship to liver cell dysplasia. *Virchows Archiv* 1997;431:391-406
- 22 Feitelson MA, Zhu M, Duan LX, London WT. Hepatitis Bx antigen and p53 are associated in vitro and in liver tissues from patients with primary hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 1993;8:1109-1117
- 23 Henkler F, Waseem N, Golding MH, Alison MR, Koshy R. Mutant p53 but not hepatitis B virus X protein is present in hepatitis B virus-related human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1995;55:6084-6091
- 24 Su Q, Schröder CH, Hofmann WJ, Otto G, Pichlmayr R, Bannasch P. Expression of hepatitis B virus X protein HBV-infected human livers and hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 1998;27:1109-1120
- 25 Su Q, Schröder CH, Otto G, Bannasch P. Overexpression of p53 protein is not directly related to hepatitis B x protein expression and is associated with neoplastic progression in hepatocellular carcinomas rather than hepatic preneoplasia. *Mutation Res* 2000;462:365-380
- 26 Chang MH, Chen CJ, Lai MC, Hsu HM, Wu TC, Kong MS, Liang DC, Shau WY, Chen DS. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in Children. *N Eng J Med* 1997;336:1855-1859
- 27 Lee MS, Kim DH, Kim H, Lee HS, Kim CY, Park TS, Yoo KY, Park BJ, Ahn YO. Hepatitis B vaccination and reduced risk of primary liver cancer among male adults: a cohort study in Korea. *Int J Epidemiol* 1998;27:316-319
- 28 Anthony PP, Vogel CL, Barker LF. Liver cell dysplasia: a premalignant condition. *J Clin Pathol* 1973;26:217-223
- 29 Santoni-Rugiu E, Nagy P, Jensen MR, Factor VM, Thorgerisson SS. Evolution of neoplastic development in the liver of transgenic mice co-expressing *c-myc* and transforming growth factor- α . *Am J Pathol* 1996;149:407-426
- 30 Watanabe S, Okita K, Harada T, Kodama T, Numa Y, Takemoto T, Takahashi T. Morphologic studies of the liver cell dysplasia. *Cancer* 1983;51:2197-2205
- 31 International Working Party. Terminology of nodular hepatocellular lesions. *Hepatology* 1995;22:983-993
- 32 Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, Terada M, Hasegawa H. Clonal origin of atypical adenomatous hyperplasia of the liver and clonal identity with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1988;95:1664-1666
- 33 Piao Z, Park YN, Kim H, Park C. Clonality of large regenerative nodules in liver cirrhosis. *Liver* 1997;17:251-256
- 34 Bannasch P. Pathogenesis of hepatocellular carcinoma: sequential cellular, molecular, and metabolic changes. *Prog Liver Dis* 1996;14:161-197
- 35 Bannasch P. Preneoplastic lesions as end points in carcinogenicity testing. I. Hepatic preneoplasia. *Carcinogenesis* 1986;7:689-695
- 36 Theise ND. Cirrhosis and hepatocellular neoplasia: more like cousins than like parent and child. *Gastroenterology* 1996;111:526-528

治疗性疫苗 - 慢性乙型肝炎患者的希望

王全楚,聂青和

王全楚,聂青和,中国人民解放军第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心 陕西省西安市 710038
项目负责人:王全楚,710038,陕西省西安市新寺路1号,中国人民解放军第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心. quanchuwang998@hotmail.com
电话:029-3377595 传真:029-3537377
收稿日期:2002-12-10 接受日期:2002-12-20

王全楚,聂青和. 治疗性疫苗 - 慢性乙型肝炎患者的希望. 世界华人消化杂志 2003;11(6):795-798

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/795.asp>

0 引言

疫苗的概念是在 200 a 前 Jenner 发现事先接种牛痘能够阻止天花的发生之后首先提出的. 近 100 a 来, 疫苗的开发和应用已成为医学科学的重大成就之一, 且已广泛用于传染病的预防和治疗. 这些疫苗成功的原因在于他能够有效地诱导机体产生保护性抗体. 然而, 对某些细胞内病原菌如结核杆菌、利什曼原虫以及寄生虫等这些抗体几乎不起作用, 因为对这些病原体的防御更多地依赖于细胞免疫, 而不是抗体介导的体液免疫. 对如乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、疟原虫等感染, 则可能需要细胞免疫和体液免疫的双重介导.

1995 年前医学界普遍认为, 疫苗只作预防疾病用. 随着免疫学研究的发展, 人们发现了疫苗的新用途, 即可以治疗一些难治性疾病. 从此, 疫苗兼有了预防与治疗双重作用, 治疗性疫苗属于特异性主动免疫疗法. 现在准获使用的疫苗来自杀死或灭活的完整细胞、重组蛋白或减毒的活病原体, 都能刺激机体产生抗体. 然而除了减毒活疫苗如水痘 - 带状疱疹病毒疫苗外, 其他疫苗并不能特异的诱导细胞免疫, 此外, 如果用减毒活疫苗来预防诸如 HIV 之类的病毒感染, 可能给疫苗制备和接种疫苗的人群带来危险. 因此, 积极寻找既能同时诱导体液和细胞免疫应答又具安全性的疫苗, 实乃当务

之急. 最近出现的新型疫苗如核酸疫苗、T 细胞疫苗、树突状细胞疫苗等彻底改变了疫苗多为蛋白、只能预防的经典概念, 引进了治疗性疫苗和核酸及细胞疫苗的新内容, 大大拓展了人们对疫苗组成和功能的认识, 被称为是疫苗学的第三次革命. 因他们不但具有传统疫苗的一般功能, 且能激发机体特异性细胞和体液免疫应答, 用于临床现症患者的治疗. 故称之为新概念疫苗.

新概念疫苗与传统疫苗的区别表现在: (1)成分不同: 传统疫苗多为死疫苗 / 减毒活疫苗或重组亚单位疫苗; 新型疫苗则为编码无毒力抗原蛋白的病毒核酸或能激发特异性机体免疫应答的细胞疫苗; (2)机制不同: 传统疫苗主要靠病毒的抗原蛋白刺激机体产生中和性保护抗体; 新型疫苗不仅能刺激机体产生保护性抗体, 而且能激发特异性细胞免疫应答; (3)作用不同: 传统疫苗只能起到一定的预防作用, 新型疫苗不仅能预防疾病, 而且更能起到特异的治疗作用, 治疗性疫苗具有更广泛的应用前景. 现就治疗性疫苗的新概念以及目前在慢性乙型肝炎中的研究现状作一简要的概述.

1 核酸疫苗

所谓核酸疫苗(nucleic acid vaccine), 是将含编码外源蛋白基因的质粒 DNA, 直接导入动物组织, 外源基因于体细胞中表达后, 表达产物被提呈, 与主要组织相容性复合物(MHC)结合, 刺激机体产生相应的抗体和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTLs), 分别介导体液免疫和细胞免疫应答. 这种外源基因是抗原的来源, 具有疫苗的功能, 又称为 DNA 疫苗, 由于不需任何化学载体, 故又称裸 DNA 疫苗^[1,2].

1990 年 Wolff et al 在做小鼠基因治疗试验时偶然发现, 将编码基因的质粒 DNA 直接注射入动物肌肉细胞内, 能在动物体内表达抗原并诱导机体产生免疫应答. 这一发现打开了通往新的免疫途径的大门. 由于不加任何佐剂或载体, 故又称裸 DNA 免疫. 1994 年在日内瓦召开的专题会议上将这种疫苗定名为核酸疫苗. 核酸疫苗的出现或许将是疫苗发展史上的一次革命. 现已做了大量的 DNA 疫苗的动物试验. 主要包括流行性感冒病毒、乙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒、狂犬病毒、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒、疟原虫和支原体及肿瘤的预防和治疗研究等^[3-9].

迄今, 国外已有至少 4 种 DNA 疫苗被批准进入 I 期临床试验. 1996 年美国 FDA 批准对健康志愿者进行艾滋病 DNA 疫苗人体实验. 1998 年 MacGregor et al 首次报道了 DNA 疫苗治疗艾滋病病毒 HIV-1 感染者的人体实验结果. 据最新消息, 英国已经批准在今年 8 月开始进行一种专门针对非洲人的 HIV DNA 疫苗的 I 期临床试验. 1998 年, 美国海军宣布他们已经成功地在健康人体上检测了针对疟疾的 DNA 疫苗, 他们认为这种疫苗最早得到广泛应用将可能在 2005 年. 目前, DNA 免疫接种的领域正在迅速发展, 已经发展的现行疫苗不仅使用 DNA, 而且还包括附加物, 他有助于 DNA 进入靶细胞, 或者起到

佐剂的作用, 刺激或诱导免疫应答^[10-13].

1.2 乙肝病毒核酸疫苗 乙型肝炎核酸疫苗就是将乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)一种或几种抗原的编码基因直接注入宿主体内, 该基因能在宿主细胞内转录和表达, 并继而诱生特异的体液和细胞免疫应答. 这类疫苗不含蛋白质或多肽, 仅含核酸, 在体内表达后具有疫苗功能, 被称作乙型肝炎核酸疫苗, 包括 DNA 疫苗和 RNA 疫苗, 主要是指 DNA 疫苗. 近年来兴起的核酸疫苗的研究已在乙肝的防治中显示出诱人的应用前景, 引起了国内外学者们的关注. 与传统的血源疫苗和基因工程相比, 乙肝 DNA 疫苗有很多优点, 如: 比乙肝血源疫苗相对安全; 比基因工程多肽疫苗的制备简单、快捷; 性质更稳定, 便于保存和运输; 乙肝 DNA 疫苗还可通过对目的基因的构建, 选择所需的抗原决定簇, 可以对同种异株的病毒产生免疫应答, 发挥交叉保护作用. 更为重要的是, 乙肝 DNA 疫苗可在机体的真核细胞中表达糖基化抗原蛋白, 并可按照病毒抗原的天然构象进行折叠, 模拟了病毒的自然感染过程, 不仅可以诱导针对 HBsAg 的保护性抗 - HBs 产生, 而且可以同时诱发特异的细胞免疫, 所以兼有预防和治疗作用, 不久的将来乙肝病毒核酸疫苗将应用于临床^[14,15].

2 T 细胞疫苗

T 细胞疫苗原是指将 T 细胞或体外 T 细胞表位多肽刺激产生的 T 细胞作为疫苗接种, 用于治疗某些自身免疫疾病. 但将依据 MHC-I 类分子特异的多肽结合基序(MHC binding motif)合成的多肽, 在体外诱导产生的抗原特异性细胞毒 T 淋巴细胞(CTL), 用于治疗病毒性疾病, 则是近几年的新思维, 新设想^[16], 将 T 细胞从过去应用为靶细胞转变成效应细胞, 为 T 细胞疫苗的概念增添了新的内涵.

2.1 T 细胞疫苗与 CTL 反应 自从 Doherty 和 Zinkernagel 发现 CTL 能够杀伤外源微生物感染细胞, 而且这种杀伤作用依赖于 CTL 对外源多肽和自身分子(MHC)的双重识别之后, 越来越多的研究表明: 病毒特异性的 CTL 介导的细胞免疫具有清除病毒的功能, 是宿主防御病毒感染的主要机制之一. 正因为此, CTL 表位及 CTL 介导的细胞免疫应答的研究受到越来越多的关注. 传统的病毒疫苗(减毒或灭活), 含有完整的病毒蛋白质, 以刺激机体产生抗体为主, 难以有效诱导产生 MHC-I 类限制性的 CTL 和清除细胞内病毒颗粒. 目前临床应用的过继免疫治疗如 LAK 细胞、CD3-AK 细胞均为非特异杀伤细胞, 靶向性差. 因此, 有学者已直接用单个或多个 CTL 多肽导入体内(多肽疫苗), 诱导机体产生特异性 CTL 应答^[17-19], 虽然能够观察到 CTL 应答, 但有时滴度不高, 可能是由于较短的 CTL 多肽更易被血清蛋白酶降解, 从较短的(通常为几个-十几个氨基酸)多肽中去除一个或两个氨基酸将改变其结合 HLA 的能力; 若将几个多肽交联, 既可能形成新的 CTL 表位, 诱导特异性 CTL 失败, 又可能产

生针对多肽的抗体;另外,低剂量抗原皮下注射可以产生免疫应答,而高剂量静脉注射则可能引起免疫耐受。

2.2 治疗病毒性肝炎 T细胞疫苗是用多肽在体外诱导产生特异性CTL,后者被克隆、扩增、筛选和鉴定后,仅将MHC-I类限制的CD8⁺ T细胞输入机体,诱导细胞免疫应答产生,从而解决了多肽疫苗存在的上述问题,而且直接回输CTL,可以人为地控制CTL的强度,避免其过度,导致大量受染肝细胞死亡,也可避免其过低,无清除病毒作用。

治疗性疫苗被认为是抗病毒治疗的一个重要方向,已有研究者进行了探索。其中DNA疫苗和HLA限制的识别HBc表位的细胞毒T淋巴细胞疫苗能够活化细胞和体液免疫应答。在转基因鼠中,这种治疗性疫苗能够打破免疫耐受,但人体研究尚待开展。因此,我们在国家自然科学基金的资助下,利用转染了HBV基因(S+S1)或(S+S1+S2)的小鼠骨髓瘤SP2/0细胞皮下注射,形成的皮下移植瘤HBV小鼠模型和HBV基因转染细胞系,发现MHC-I限制的CTL表位多肽体外诱导的特异性CTL,在体内外对HBV感染细胞均具有杀伤作用,可能成为病毒性疾病或肿瘤免疫较好的疫苗后选之一^[20,21]。

3 树突状细胞疫苗

树突状细胞(dendritic cell, DC)是专职抗原呈递细胞,能有效地将抗原呈递给T淋巴细胞,从而诱导CTL活化。荷载抗原的DC具有疫苗的功能,故称树突状细胞疫苗。荷载的抗原既可以是病毒抗原、HLA限制的CTL表位(8-10个氨基酸的短肽)基因,也可以是肿瘤细胞,还可以是编码肿瘤抗原的基因。由于DC细胞疫苗可以不依赖于CTL靶细胞,又有较高的抗原呈递效率,正成为新一代疫苗的代表^[22]。

3.1 研究意义及现状 核酸疫苗诱导特异性免疫应答产生已被大量的实验室证实,但普遍存在着抗体滴度不高,CTL杀伤率不强等问题。其原因可能与病原体感染后,抗原呈递细胞(APC),尤其是树突状细胞数量减少、功能降低有关^[23-26]。如何绕过或提高DC免疫功能低下,诱导出更强有力的、更具广泛性的免疫应答,应当成为基因疫苗和免疫治疗亟待解决的突出问题之一。业已证实,DC是目前发现的功能最强的抗原呈递细胞,也是唯一能激活初始T细胞的抗原呈递细胞^[27]。因此,应用抗原或抗原多肽体外冲击致敏DC,然后将之回输或免疫接种荷瘤宿主或带病毒特异性抗原的宿主,进行免疫治疗;利用DC与肿瘤细胞融合成为新型带有DC功能及肿瘤特异抗原的融合细胞瘤苗的报道^[28];以及利用病毒载体将带有肿瘤或病毒抗原的编码基因转染DC,使之在DC内持续表达相应特异性抗原,诱导产生特异性抗肿瘤或抗病毒免疫反应等方法应运而生。

3.2 DC在HBV发病机制中的作用 近年来,越来越多的证据表明,由DC激活的细胞免疫特别是CTL介导的免疫反应,在HBV发病机制中发挥着十分重要的作用。

一般认为,细胞免疫功能低下是HBV感染慢性化的主要原因。作为主要的抗原呈递细胞,DC的功能缺陷将直接影响T细胞的免疫反应。已有实验证实DC可诱导肿瘤细胞免疫耐受,但婴幼儿免疫耐受是否与此有关尚需进一步研究。Oka et al^[29]使用HBV转基因鼠(HBVTg)模型研究PBMC来源的DC与免疫接种后应答的关系,发现疫苗接种后应答者DC功能明显强于无应答者。在另一些实验中有潜在DC功能的HBV Tg经免疫接种治疗后无HBsAg和HBeAg的表达,HBV DNA滴度也较低。DC功能较差者治疗前毫无反应,两组治疗前HBsAg、HBeAg和HBV DNA浓度无差异。提示DC活化程度可作为判断免疫治疗预后的指标。研究发现,DC免疫可以打破HBVTg对CTL的免疫耐受,而且转基因鼠不能产生抗HBs只与DC功能缺陷有关,与T、B细胞功能无关。经IFN处理后DC可上调表达MHC和T细胞抗原(KLM)。国内外学者已有报道慢性乙型肝炎患者外周血DC功能明显低下,抗原呈递不足可能是导致HBV感染慢性化的原因之一^[30]。

近年来,科学家在几种动物模型中进行了乙肝DNA病毒感染的“感染与免疫”机制研究,取得明显进展。应用四聚体和细胞质内细胞因子染色在慢性乙型肝炎患者进行的细胞免疫应答的研究,阐明了慢性乙型肝炎的基础免疫缺陷。这些基础实验研究对评价各种疫苗和候选疫苗的治疗作用是极其重要的。1998年国外开始用乙肝病毒基因转移鼠为动物模型研究乙肝病毒治疗性疫苗的抗病毒作用。同年在法国、日本也开始用乙肝病毒某些基因片段表达的多肽加上各种不同佐剂配制的治疗性疫苗作临床研究,观察这种多肽疫苗对慢性乙肝病毒携带者的治疗作用。其结果揭示,这种疫苗对乙肝病毒基因转移鼠有抗病毒作用,单一应用特别是与抗乙肝病毒药联合应用,对慢性乙肝病毒携带者有一定的疗效。1999年美国研制了新的多肽治疗性疫苗,并对这种治疗性疫苗的免疫学作用进行了深入研究。美国这一研究具有很大意义,因为这一研究中,作者提出了一些免疫学检测方法,这些检测方法不仅可以预测治疗效果,而且还初步证明,治疗性疫苗可以打破慢性乙肝病毒感染患者最主要的免疫学反应紊乱,即对乙肝病毒及其抗原不产生免疫应答-免疫耐受状态。我国学者闻玉梅 et al 报告,现在有多种治疗性乙肝疫苗正在进行临床前期或临床研究,由复旦大学与北京生研所合作开发的重组治疗性乙肝疫苗(YIC)已通过了国家药品监督管理局认证。

免疫耐受是造成慢性乙肝病毒携带者呈持续病毒感染状态的主要原因之一,也是治疗上最难解决的问题。现有治疗慢性乙肝的抗病毒药对慢性乙肝病毒携带者疗效不佳,其主要原因是这些抗病毒药可以抑制乙肝病毒复制,但不能清除乙肝病毒;对机体的免疫耐受状态的逆转没有肯定的作用。从发展趋势来看,乙肝病毒治疗性疫苗将成为本世纪对慢性乙肝病毒感染特别是慢性乙肝病毒携带者治疗研究领域的热点,他与现有抗乙肝病

毒药物的联合应用,将成为一种新的治疗方法.

4 参考文献

- Smith HA, Klinman DM. The regulation of DNA vaccines. *Curr Opin Biotechnol* 2001;12:299-303
- Evans TG, Bonnez W, Rose RC, Koenig S, Demeter L, Suzich JA, O'Brien D, Campbell M, White WI, Balsley J, Reichman RC. A Phase 1 study of a recombinant viruslike particle vaccine against human papillomavirus type 11 in healthy adult volunteers. *J Infect Dis* 2001;183:1485-1493
- Zeytin HE, Tripathi PK, Bhattacharya-Chatterjee M, Foon KA, Chatterjee SK. Construction and characterization of DNA vaccines encoding the single-chain variable fragment of the anti-idiotypic antibody 1A7 mimicking the tumor-associated antigen disialoganglioside GD2. *Cancer Gene Ther* 2000;7:1426-1436
- Ferry G. First DNA malaria vaccine on trial in Africa. *Curr Biol* 2000;10:R810-811
- Hanke T, McMichael AJ. Design and construction of an experimental HIV-1 vaccine for a year-2000 clinical trial in Kenya. *Nat Med* 2000;6:951-955
- Bendandi M. Anti-idiotypic vaccines for human follicular lymphoma. *Leukemia* 2000;14:1333-1339
- Mincheff M, Tchakarov S, Zoubak S, Loukinov D, Botev C, Altankova I, Georgiev G, Petrov S, Meryman HT. Naked DNA and adenoviral immunizations for immunotherapy of prostate cancer: a phase I/II clinical trial. *Eur Urol* 2000;38:208-217
- Lee SW, Li H, Strong TV, Moore SE, Conry RM. Development of a polynucleotide vaccine from melanoma antigen recognized by T cells-1 and recombinant protein from melanoma antigen recognized by T cells-1 for melanoma vaccine clinical trials. *J Immunother* 2000;23:379-386
- Talwar GP, Diwan M, Razvi F, Malhotra R. The impact of new technologies on vaccines. *Natl Med J India* 1999;12:274-280
- Lawrence G, Cheng QQ, Reed C, Taylor D, Stowers A, Cloonan N, Rzepczyk C, Smillie A, Anderson K, Pombo D, Allworth A, Eisen D, Anders R, Saul A. Effect of vaccination with 3 recombinant asexual-stage malaria antigens on initial growth rates of *Plasmodium falciparum* in non-immune volunteers. *Vaccine* 2000;18:1925-1931
- Boyer JD, Cohen AD, Vogt S, Schumann K, Nath B, Ahn L, Lacy K, Bagarazzi ML, Higgins TJ, Baine Y, Ciccarelli RB, Ginsberg RS, MacGregor RR, Weiner DB. Vaccination of seronegative volunteers with a human immunodeficiency virus type 1 env/rev DNA vaccine induces antigen-specific proliferation and lymphocyte production of beta-chemokines. *J Infect Dis* 2000;181:476-483
- Stevenson FK. DNA vaccines against cancer: from genes to therapy. *Ann Oncol* 1999;10:1413-1418
- Orme IM. Beyond BCG: the potential for a more effective TB vaccine. *Mol Med Today* 1999;5:487-492
- Yuen MF, Lim WL, Cheng CC, Lam SK, Lai CL. Twelve-year follow-up of a prospective randomized trial of hepatitis B recombinant DNA yeast vaccine versus plasma-derived vaccine without booster doses in children. *Hepatology* 1999;29:924-927
- Lau GK, Carman WF, Locarnini SA, Okuda K, Lu ZM, Williams R, Lam SK. Treatment of chronic hepatitis B virus infection: an Asia-Pacific perspective. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:3-12
- Steinman RM. Dendritic cells and immune-based therapies. *Exp Hematol* 1996;24:859-862
- 王全楚,周永兴,姚志强,冯志华. 不同载体及靶基因对乙型肝炎病毒DNA疫苗免疫效果的影响. *世界华人消化杂志* 2000;8:289-291
- 吴超,邹全明. 幽门螺杆菌黏膜疫苗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2000;8:203-205
- 宋志强,郝飞,王永刚,闵峰,王宇明. 丙型肝炎病毒HVR1抗血清体外阻断HCV的感染. *世界华人消化杂志* 2000;8:171-174
- 杜德伟,周永兴,冯志华,姚志强,李光玉. IL-12及HBV基因疫苗共同免疫小鼠的效果. *世界华人消化杂志* 2000;8:128-130
- 李文波,姚志强,周永兴,冯志华. HBV基因疫苗联合抗原蛋白免疫小鼠的研究. *世界华人消化杂志* 1999;7:188-190
- 李明松,袁爱力,张万岱,刘思德,吕爱民,周殿元. 树突状细胞体外诱导抗肝癌免疫. *世界华人消化杂志* 1999;7:161-163
- Ohr HF, Pingel S, Bocher WO, Bernhard H, Herzog-Hauff S, Rose-John S, Galle PR. Reduced virus specific T helper cell induction by autologous dendritic cells in patients with chronic hepatitis B-restoration by exogenous interleukin-12. *Clin Exp Immunol* 2002;130:107-114
- Beckebaum S, Cicinnati VR, Dworacki G, Muller-Berghaus J, Stolz D, Harnaha J, Whiteside TL, Thomson AW, Lu L, Fung JJ, Bonham CA. Reduction in the circulating pDC1/pDC2 ratio and impaired function of ex vivo-generated DC1 in chronic hepatitis B infection. *Clin Immunol* 2002;104:138-150
- Lin CM, Wang FH. Selective modification of antigen-specific CD4(+) T cells by retroviral-mediated gene transfer and in vitro sensitization with dendritic cells. *Clin Immunol* 2002;104:58-66
- Wang FS, Xing LH, Liu MX, Zhu CL, Liu HG, Wang HF, Lei ZY. Dysfunction of peripheral blood dendritic cells from patients with chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2001;7:537-541
- Akbar SM, Horiike N, Onji M, Hino O. Dendritic cells and chronic hepatitis virus carriers. *Intervirology* 2001;44:199-208
- Bocher WO, Dekel B, Schwerin W, Geissler M, Hoffmann S, Rohwer A, Arditti F, Cooper A, Bernhard H, Berrebi A, Rose-John S, Shaul Y, Galle PR, Lohr HF, Reisner Y. Induction of strong hepatitis B virus (HBV) specific T helper cell and cytotoxic T lymphocyte responses by therapeutic vaccination in the trimera mouse model of chronic HBV infection. *Eur J Immunol* 2001;31:2071-2079
- Oka Y, Akbar SM, Horiike N, Joko K, Onji M. Mechanism and therapeutic potential of DNA-based immunization against the envelope proteins of hepatitis B virus in normal and transgenic mice. *Immunology* 2001;103:90-97
- You Z, Huang X, Hester J, Toh HC, Chen SY. Targeting dendritic cells to enhance DNA vaccine potency. *Cancer Res* 2001;61:3704-3711



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

