

前倾向认为, HCV 对 Uro-D 的活性没有影响, 不直接引起卟啉代谢紊乱^[21]. PCT 患者本身可能存在潜在的 Uro-D 活性的缺陷, HCV 感染单独或与其他因素, 如嗜酒、雌激素、铁负荷过度等一起触发了 PCT 的临床表现. 目前尚没有发表 α 干扰素治疗 HCV 感染合并 PCT 的临床试验报道. 一些病例报告显示, 在用 α 干扰素治疗后, PCT 患者的症状得到改善. 目前的观点是, 无论 PCT 患者有无症状、有无肝功能损害, 抗病毒治疗是必要的. 3.5 扁平苔藓 HCV 感染者扁平苔藓的发病率可达 35%, 临床流行病学调查也支持 HCV 感染可增加扁平苔藓的发病率. 少数病例报告提示, 在用 α 干扰素治疗后扁平苔藓可消失, 但也有加重的报告. 因此这类病例在用 α 干扰素治疗时应特别注意副作用.

总之, HCV 通常影响除肝脏以外的多个器官, 慢性 HCV 感染可引起许多肝外症状, 其中 HCV 感染与 MPGN、扁平苔藓、白癜风、PCT、MC、NHL 之间的因果关系已较为明确, 但 HCV 感染与大多数肝外表现之间的因果的关系尚有待证实. α 干扰素治疗对 HCV 相关的肝外表现有较确切的疗效.

4 参考文献

- Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, Cohen P, Louri I, Loustaud-Ratti V, Yamamoto AM, Camproux AC, Hausfater P, Musset L, Veyssier P, Raguin G, Piette JC. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection: a prospective multi-center study of 321 patients. *Medicine (Baltimore)* 2000;79:47-56
- Mayo MJ. Extrahepatic manifestations of hepatitis C infection. *American J Medical Sci* 2002;325:135-148
- Agnello V, De Rosa FG. Extrahepatic disease manifestations of HCV infection: Some current issues. *J Hepatol* 2004;40:341-352
- Zoulim F, Chevallier M, Maynard M, Trepo C. Clinical consequences of hepatitis C virus infection. *Rev Med Virol* 2003;13:57-68
- El-Serag HB, Hampel H, Yeh C, Rabeneck L. Extrahepatic manifestations of hepatitis C among United States male veterans. *Hepatology* 2002;36:1439-1445
- De Vita S, De Re V, Sansonno D, Sorrentino D, Corte RL, Pivetta B, Gasparotto D, Racanelli V, Marzotto A, Labombarda A, Gloghini A, Ferraccioli G, Monteverde A, Carbone A, Dammacco F, Boiocchi M. Gastric mucosa as an additional extrahepatic localization of hepatitis C virus: viral detection in gastric low-grade lymphoma associated with autoimmune disease and in chronic gastritis. *Hepatology* 2000;31:182-189
- Zhu Q, Guo JT, Seeger C. Replication of hepatitis C virus subgenomes in nonhepatic epithelial and mouse hepatoma cells. *J Virol* 2003;77:9204-9210
- Goutagny N, Fatmi A, De Ledinghen V, Penin F, Couzigou P, Inchauspe G, Bain C. Evidence of viral replication in circulating dendritic cells during hepatitis C virus infection. *J Infectious Diseases* 2003;187:1951-1958
- Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, Weiner AJ, Houghton M, Rosa D, Grandi G, Abrignani S. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 1998;282:938-941
- Inoue Y, Miyazaki M, Ohashi R, Tsuji T, Fukaya K, Kouchi H, Uemura T, Mihara K, Namba M. Ubiquitous presence of cellular proteins that specifically bind to the 3' terminal region of hepatitis C virus. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;245:198-203
- Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, Klein M, Seligmann M. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. *Am J Med* 1974;57:775-788
- Meltzer M, Franklin EC, Elias K, McCluskey RT, Cooper N. Cryoglobulinemia—a clinical and laboratory study. II Cryoglobulins with rheumatoid factor activity. *Am J Med* 1966;40:837-856
- Kayali Z, Buckwold VE, Zimmerman B, Schmidt WN. Hepatitis C, cryoglobulinemia, and cirrhosis: A Meta-analysis. *Hepatology* 2002;36:978-985
- Monti G, Galli M, Invernizzi F, Pioltelli P, Saccardo F, Monteverde A, Pietrogrande M, Renoldi P, Bombardieri S, Bordin G. Cryoglobulinaemias: a multi-centre study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. GISC. Italian group for the study of cryoglobulinaemias. *QJM* 1995;88:115-126
- Cresta P, Musset L, Cacoub P, Frangeul L, Vitour D, Poynard T, Opolon P, Nguyen DT, Golliot F, Piette JC, Huraux JM, Lunel F. Response to interferon alpha therapy and disappearance of cryoglobulinemia in patients infected by hepatitis C virus. *Gut* 1999;45:122-128
- Misiani R, Bellavita P, Baio P, Caldara R, Ferruzzi S, Rossi P, Tengattini F. Successful treatment of HCV associated cryoglobulinaemic glomerulonephritis with a combination of interferon alpha and ribavirin. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1558-1560
- Zuckerman E, Keren D, Slobodin G, Rosner I, Rozenbaum M, Toubi E, Sabo E, Tsykounov I, Naschitz JE, Yeshurun D. Treatment of refractory, symptomatic hepatitis C virus related mixed cryoglobulinemia with ribavirin and interferon- α . *J Rheumatol* 2000;27:2172-2178
- Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H, Hart J, Bacchi CE, Hartwell P, Couser WG, Corey L, Wener MH, Alpers CE. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1993;328:465-470
- Yamabe H, Johnson RJ, Gretch DR, Fukushi K, Osawa H, Miyata M, Inuma H, Sasaki T, Kaizuka M, Tamura N. Hepatitis C virus infection and membranoproliferative glomerulonephritis in Japan. *J Am Soc Nephrol* 1995;6:220-223
- Rasul I, Shepherd FA, Kamel-Reid S, Krajden M, Pantalony D, Heathcote EJ. Detection of occult low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma in patients with chronic hepatitis C virus infection and mixed cryoglobulinemia. *Hepatology* 1999;29:543-5547
- Moran MJ, Fontanellas A, Brudieus E, Hombrados I, de Ledinghen V, Couzigou P, de Verneuil H, De Salamanca RE. Hepatic uroporphyrinogen decarboxylase activity in porphyria cutanea tarda patients: the influence of virus C infection. *Hepatology* 1998;27:584-589

丙型肝炎疫苗研究及面临的挑战

聂青和 罗新栋

聂青和, 罗新栋, 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: 聂青和, 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. nieqinghe@hotmail.com
电话: 029-83377742 传真: 029-83537377

收稿日期: 2004-09-20 接受日期: 2004-10-08

聂青和, 罗新栋. 丙型肝炎疫苗研究及面临的挑战. 世界华人消化杂志 2004; 12(10):2405-2409

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2405.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)是引起人类慢性肝炎的主要病原体

之一,呈世界流行,感染率为1-3%,约60%的急性丙型肝炎(HC)患者转化为慢性,而慢性患者中分别有8-46%和11-19%发展成肝硬化和肝细胞癌^[1].到目前为止,以干扰素为主的抗病毒治疗只能使30%左右的患者得到根治,尚未发现令人满意的治疗药物. α 干扰素和病毒唑对治疗丙肝有一定的效果,但是副作用很大.因此,HCV感染的防治工作更应以预防为主.HCV疫苗的研究对预防HCV感染和阻止病程进展十分重要,HCV疫苗的研究就成为当务之急的前沿课题.

1 HCV 基因结构与疫苗研制

HCV是一种单股正链的RNA病毒,基因组长度为9500个核苷酸(Nucleotide, nt),其5'端有一个319-341 nt结构较为保守的非翻译区(untranslated region, 5' -NTR).后面为一个连续的开放阅读框架(open reading frame, ORF),几乎占据HCV整个基因组,编码长度大约为3 008到3 037aa的多聚蛋白前体,其在宿主和病毒编码蛋白酶的联合作用下,生成3种结构蛋白C、E1、E2,以及6种非结构蛋白NS2、NS3、NS4a、NS4b、NS5a、NS5b.结构蛋白参与病毒颗粒装配,非结构蛋白参与基因的复制.HCV的3'端为27-55nt的3' -NTR,3' -NTR末端由一结构可变的poly(U-C)尾及一段极为保守的含98nt的序列(称为X区)组成.5'末端和3'末端的高度保守提示其可能在病毒复制或翻译水平上起重要调节作用.研究表明,3' -NTR末端的X区形成的茎环结构可与多聚结合蛋白(PTB)结合,后者通过5' -NTR基因组中的内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)增强对病毒RNA的翻译作用.

HCV的一个主要特点及发展疫苗的一个首先要考虑的因素就是他的基因组的异源性.目前认为,造成HCV变异性是由于HCV RNA病毒复制所依赖的RNA指导的RNA聚合酶(RNA-directed RNA polymerase, RDRP)缺乏“校读”(proof heading)功能,加上病毒为适应环境和逃脱宿主的免疫清除而易发变异,逐渐形成新的HCV变异株,并各自独立演化,从而形成一定的型、亚型和准种.

对来自全球的多株HCV序列同源性比较分析,HCV基因组遗传变异性并不一致,最保守的区域为5' -NTR和3' -NTR ORF区中,最保守的区域为核心区(C区),编码病毒膜蛋白的基因区(E1、E2)变异较大,其中又以E2 N端的变异最大,有两个高变部位(high variable region, HVR),即HRV1、HRV2.其意义在于所有的HCV分离株在此部位上均不相同.HRV1 C末端表位可有病毒株依赖性和非依赖性抗体同时存在,随病程变化亦出现抗原表位的变化,一般为N端向C末端的漂移.进一步研究提示,早期针对于HVR1 N末端抗体的出现伴随着HCV急性自限性感染,主要针对于HCV1 C末端的病毒株非依赖性抗体存在于HCV感染慢性化的患者,他们并不能有效清除病毒.

由于依赖RNA的RNA聚合酶链反应的校对功能不完善,易出现基因突变,以及宿主免疫压力的存在,所以宿主体内的HCV会聚集成一个复杂的称之为准种(quasispecies)的病毒群体.准种的存在可能是一个用来逃避宿主免疫的机制.这些准种的性质及复杂性也影响预防和治疗的成功率.深入的系统进化分析可将HCV分成至少6个主要的基因型和至少70个不同的亚型.其中基因型1、2、3型在我国分布最广.

大多数HCV感染者都有抗HCV核心蛋白、NS3和NS4的抗体,但是这些抗体的中和作用不明显,并且感染了HCV后抗-HCV阳性的黑猩猩受到同源或异源HCV株攻击后,仍可再次发病.临床也发现丙型肝炎可以多次复发.感染HCV后缺乏足够免疫力的原因可能是:(1)体内HCV病毒量很低,可能没有足够的免疫原刺激产生稳定的免疫保护力;(2)HCV RNA和病毒蛋白变异性很大,至少存在6个基因型和3个血清型,彼此间可能没有交叉保护力;(3)可能与免疫选择和进化有关的HCV E区基因变异较大,很容易形成免疫逃逸突变株.世界各地分离的部分HCV株E基因的变异率高达20-40%,甚至抗HCV-E抗体之间也没有交叉免疫反应,这是疫苗研制的一个重要障碍.另外HCV体外复制能力差,缺乏较敏感的组织培养方法,理想的动物模型亦难寻找,这些因素使HCV疫苗研制更面临巨大挑战.目前研究的方向有蛋白疫苗和核酸疫苗^[2-3].

2 蛋白疫苗

2.1 肽疫苗 诱导出针对多个HCV表位的特异性的细胞免疫反应对开发有效的HCV疫苗是很重要的.在抗原设计与表达不同的HLA I类或者II类分子的转基因小鼠模型的研究中取得的重要进展使合成肽疫苗的发展成为可能.联合运用单个或者多个HCV抗原及不同的HLA分子的抗原表位的不同多肽是令人鼓舞的.但是对此感兴趣的人不多.现今绝大部分工作都在确定具有免疫原性的肽而不是测试最有希望的肽疫苗.

在肽疫苗研究中,一个经典的方法是用HCV感染患者的血清来筛选噬菌体表达的肽文库,然后选择出与患者血清特异反应的肽段.用HCV感染的患者血清来筛选在噬菌体文库中表达的数目巨大的HVR 1的所有肽段,可以选择出既有抗原性又有免疫原性的肽段作为那些HVR 1发生变异的数目巨大的变异体的类似物^[4].现在知道如果肽序列包含CD8及CD4表位,那么经他免疫诱导的特异性CTL将十分理想.最近有研究确定了一个序列,包含E1糖蛋白的121-135位氨基酸残基,他能在被注射的小鼠中诱导出CD4+Th1细胞及CD8+CTL.

2.2 包膜蛋白疫苗 黄病毒和瘟病毒包膜糖蛋白能诱导机体产生中和性抗体.在疫苗研制初期,研究者把注意力投向HCV包膜糖蛋白,Choo *et al*对此进行了深入研究.从感染重组痘苗病毒表达载体的HeLa细胞中得到HCV包膜蛋白E1和E2,并将E1和E2复合物注入黑

猩猩体内. 结果证实7只黑猩猩中5只能抵抗10个半数黑猩猩感染量HCV的攻击. 而对照组则出现急、慢性感染, 证明抗HCV-E抗体有保护作用. 但值得注意的是这种疫苗为“单特异性”, 对不同基因型和血清型的HCV不一定适用. 而且是在加强免疫后抗体达到最高滴度时才能抵抗HCV的攻击. 因此如何使抗体维持在较高水平, 如何克服HCV高度变异性这些HCV疫苗研究的难点仍然没有得以解决^[1, 5].

Farci *et al*用HCV H 77株E2区合成肽免疫兔, 产生了抗同源性合成肽的高活性抗体. 将抗体与等体积含有64个CID 50的H 77株中和后再分别注射2只黑猩猩. 研究表明, H 77株至少有19种不同来源病毒株同时存在, E2中的HVR 1具有关键的抗体中和表位, 从该区产生的合成肽能激发中和抗体产生并能保护黑猩猩对同源性HCV的攻击, 但对HCV基因有变异的突变体没有中和作用. 一些研究显示, E2中抗HVR1与中和HCV感染有关, 有人从急性肝炎患者分离的H 77株, 用其HVR1区合成的21个多肽免疫家兔, 用ELISA法证实该免疫血清能防止H 77株感染HPBMA细胞, 但不能阻断对H 77株的突变株H 90株的感染, 该结果表明, 抗HVR1抗体的中和作用具有高度特异性. Rosa *et al*用多种E1和E2重组蛋白与人T细胞淋巴瘤细胞孵育, 结果只有哺乳细胞表达的E2重组蛋白能与T细胞淋巴瘤细胞结合, 并发现E2免疫的兔血清能中和E2对靶细胞的结合作用, 此种抗体叫作中和结合抗体, 对HCV感染有一定的防护作用^[6].

2.3 问题与展望 HCV E1、E2蛋白疫苗免疫黑猩猩后, 在抗体达到高峰时, 可预防同源性HCV感染, 但能否预防异源性HCV感染以及当抗体滴度下降时是否还能预防同源性感染, 这些问题尚待研究^[7]. 抗E2抗体, 特别是抗HVR1抗体(NOBI)具有中和HCV对靶细胞的结合作用, 预示着有中和同源性HCV感染作用, 但这一中和抗体具有高度特异性, 对突变的HCV及HCV准种株没有中和作用, 而且蛋白类疫苗诱导产生的抗体浓度随时间而下降.

尽管目前取得了一些进展, 但是HCV蛋白疫苗的发展还是处于一个早期阶段. 许多策略也证实对小鼠能诱导出强烈的长时间的T细胞介导的免疫反应, 对灵长类也取得了一些进展. 对于这些候选疫苗解决诸如诱导反应的记忆以及对他们的交叉反应能力这些问题是十分重要的. 认真选择合适的佐剂或者使用细胞因子、化学因子及协同刺激分子可能也很重要. 目前使用的所有疫苗都是防止急性感染. 急性HCV感染通常是轻微的不显著的, HCV带来的问题主要是持续性感染, 并通常导致临床上显著的慢性肝脏疾病. 另外, 慢性感染患者通常又是HCV的主要传播者.

由于HCV具有多个基因型及血清型, 膜蛋白区同源性小, 加之基因突变率高, 容易形成没有逃逸病毒株, 缺乏具有交叉免疫保护效应的中和抗体, 这些诸

多因素给HCV免疫研究带来了极大困难, 我们必须突破常规研究策略, 探索新的疫苗技术, 才能推动和促进HCV疫苗的研制^[4, 8].

3 核酸疫苗

HCV基因疫苗是将HCV上某一片段目的基因克隆入适当的表达载体中再接种到体内, 以使目的基因得以表达, 来诱导机体产生特异的体液免疫和细胞免疫达到清除HCV病毒感染的目的. 由于HCV结构的变异, 目前尚未确定特异性的抗原决定簇, 为此国内外学者对HCV结构区的不同基因片段构建的疫苗进行大规模动物试验^[9-11].

1990年Wolff *et al*发现质粒DNA直接肌肉注射可诱发特异性免疫应答, 拉开了疫苗研究“第3次革命”的序幕. DNA疫苗又称基因疫苗, 核酸疫苗、基因免疫等, 是一种新型的亚单位疫苗, 可直接将重组质粒注射到动物细胞中, 通过T小管和细胞膜“穴样凹陷”摄入质粒, 利用宿主的复制、转录与表达系统, 在肌纤维细胞等表达出接近天然构像的抗原, 经抗原提呈细胞的处理, 多肽与MHC分子形成复合物被提呈到细胞表面, 诱发特异性CTL效应及体液免疫应答. 与传统蛋白质疫苗相比, 这种DNA疫苗明显优于传统疫苗. DNA疫苗克服了传统病毒减毒疫苗、灭活疫苗或多肽疫苗所造成的抗原决定簇的改变, 保持了完整的免疫原性; DNA疫苗既可诱导体液免疫又可诱导细胞免疫, 而以后者为主要特征; DNA疫苗可在体内长期、稳定表达外源蛋白, 这为研制和开发利用多基因型与基因突变率高的病毒性疫苗提供了理论依据.

3.1 C区DNA疫苗 在整个基因组中, C区基因型相对保守. 1995年Lagging *et al*构建了C基因(第1-191aa)重组质粒pCDNA3 HCV corE, 0.2 mg质粒肌肉注射免疫BALB/c小鼠2-3次后, 于第6 wk处死小鼠, 可检测到较高水平的抗C抗体, 免疫2次或3次的抗体滴度相似. 免疫小鼠中还可检测到针对C蛋白一个保守10肽LMGYIPLVGA(第133-142 aa, C7 A10)的淋巴细胞增生反应, 增生刺激指数为7.5-10.5. 用痘苗病毒表达载体vv/HCV1-967感染pCDNA3 HCV corE重组质粒免疫小鼠的脾细胞后, 37 °C培养7 d, 制备效应细胞. 靶细胞选用BALB/c3T3细胞, 同样用vv/HCV1-967刺激, 当效应细胞: 靶细胞=100:1时, 靶细胞的溶解率为22-26%, 而对照载体组只约为4%, 证实免疫小鼠脾细胞中存在特异性CTL前体, C蛋白免疫后可诱发特异性CTL效应. 用表达C蛋白的载体pHCV2 2(C基因)及pHCV4 2(5' UTR+C基因)分别转染人肝癌细胞株HuH7、人横纹肌肉瘤细胞株RDj及鼠成肌细胞株G8后, 在胞内表达了M_r 100的C蛋白, pHCV2 2表达效率高于pHCV4 2. 0.1 mg质粒DNA免疫BALB/c小鼠后, 只有40%诱发了低水平的抗C抗体, 这与Lagging *et al*报道的C蛋白可诱发较高水平抗体反应有所不同, 可能与他

们各自使用的抗原检测系统的敏感性不同有关。

1997年 *saito et al* 构建了多种 pRC/CNN 真核表达载体, 分别编码 HCV 核心-(pC)、E1(pE1)、E2(pE2)、C 与 E1 和 E2 的复合体(pCE1E2)、E1 和 E2 的嵌合体(pE1E2)、以及除去 N 端的 HVR 的 E2 载体(pE1-HVR)。这些载体在大肠杆菌内扩增, 纯化后转染 293 细胞, 然后将质粒 DNA 注射到 BALB/c 小鼠骨骼肌内, 结果这些重组质粒能够激发抗 HCVC、E1 和 E2 的特异性抗体应答。pE2-HVR 也可激发抗 E2 抗体应答, 而且注射编码 C 区及其他结构区组的质粒还可检出特异 CTL 应答。这些结果提示 HCV C 区将有助于 HCV 疫苗的研制。有国内学者在 HCV DNA 疫苗方面做了不少实验, 也得到了类似的结果。以上实验说明, HCVC 区构建的重组质粒均能在真核细胞中表达, 且能诱导出特异性体液免疫和细胞免疫, 加上 C 区相对保守, 是研制 HCV DNA 疫苗的主要靶抗原之一。

3.2 E 区 DNA 疫苗的构建及免疫反应 由于 E 抗体具有中和作用, 故 E 蛋白在 DNA 疫苗中的作用受到重视。Tedeschi *et al* 构建了重组 E2DNA 表达载体, 免疫 12 只 Balb/c 小鼠, 通过免疫荧光法检测到 E2 蛋白的表达, 于免疫后第 2 wk 开始可检测到抗-E2 抗体, 并且确定 E2 至少有两个线性抗原表位。Lee *et al* 构建了不同的含有 HCV/E 基因的表达式质粒, 其中有 HCV/E 和 GM-CSF 融合基因质粒, 结果显示 GM-CSF 基因也得到表达, 并可加强 HCV/E 的体液免疫和细胞免疫反应, 提示 GM-CSF 可增强 HCV/E 的免疫效果。现已证明, HCV E 区 E2 上至少有 2 个中和位点, 与病毒的清除有关。由以上结果可以推断, HCV E 可能是今后 HCV DNA 疫苗的重要研究方向, 但 E 区的高度变异给疫苗的研制带来了一定的难度。

Fournillier *et al* 以 HCV 1a 基因型 E2 区不同基因片段构建了 3 种不同重组体, 用 im 或 im 加 iE 等不同途径免疫小鼠, 抗体阳性率在 60-100% 之间, 其中以 im 加 iE 方法效果最好, iE 方法其次, 主要是 IgG2a、IgG2b, 没有检出 IgG1, 显示出 Th1 样抗体反应。免疫鼠脾细胞还可分泌 IFN γ , 但未检出 IL4。可见 HCV DNA 免疫, im 加 iE 是最有效的方法。

3.3 HCV C+E 区 DNA 疫苗的构建 1997 年 Saito *et al* 将编码结构区(C+E1+E2)基因片段(341-2449nt)克隆入含 CMV 启动子的 PRC 载体中, 构建 HCV 结构区 DNA 疫苗, 通过哺乳细胞体外表达和免疫小鼠研究证实, 其不仅能在 Human293、BALB/3T3、cos1 中表达 C、E1、E2 蛋白, 而且还能诱导 BALB/c 小鼠产生抗体和特异性 CTL 的活性。另有人用 HCV C+E2 序列构建的质粒 DNA 疫苗免疫小鼠能诱导特异性的 CTL 活性、抗 C 和抗 E2 抗体应答, 和 Th1 为主的增生有关。

3.4 NS 区 DNA 疫苗的构建 1996 年 Kurokohchi *et al* 证实 HCV NS3 区存在一个 CTL 表位, 其最小单位由 10 肽组成, 推测其可作为 HCV DNA 疫苗构建的有效。但近来对 HCV NS 区疫苗构建的报道研究较少, 可能与 NS

区编码的非结构蛋白抗原性及诱导宿主产生特异性免疫应答反应较弱有关。

3.5 HBV/HCV 嵌合核酸疫苗 有学者在先前研究基础上用 HCV C 区和 HBV 前 S1、前 S2、S 构建了 9 种不同重组体, 转染不同细胞系, 然后再免疫小鼠。结果显示, HCV C 区蛋白及不同嵌合蛋白均可在转染细胞中表达, 并可激发和增强小鼠 CD4+ T 和 CD8+CTL 对 HBV 和 HCV 融合蛋白反应, 免疫强度与 CD4+ T 淋巴细胞产生的 Th1 样细胞因子水平有关。这种 HBV/HCV 联合核酸疫苗正在研究中, 推广及应用也符合今后疫苗发展的方向。对于一些低免疫原性的多肽, 插入到其他蛋白质中则可能诱发理想的免疫应答。因此, 嵌合表达的 HBV/HCV 融合蛋白质的免疫原性可能更好。

3.6 存在问题及展望 与传统的蛋白质疫苗相比, DNA 疫苗有诸多优点: (1)可激发机体全面的免疫应答; (2)可表达接近天然构象的抗原, 抗原性强; (3)能联合免疫, 既可将编码不同抗原的基因构建在同一个质粒中, 又可将不同抗原基因的多种质粒联合应用制成多价疫苗; (4)制备简单, 成本低, 易运输; (5)既有预防又有治疗作用^[11]。

但是仍有许多实际问题阻碍了 HCV 疫苗的发展^[11-12]。主要体现在: (1)HCV 属 RNA 病毒, 具有高度的变异性; (2)难以体外培养; (3)只对人及黑猩猩易感; (4)缺乏有效的体外复制系统; (5)此外 HCV DNA 疫苗的安全性仍有许多方面值得探索, 比如外源 DNA 与染色体整合、免疫耐受、自身免疫及激活癌基因、抑癌基因失活以及产生抗-DNA 抗体等。虽然目前在动物实验中未出现此类现象, 但仍需进一步观察。

目前, 从国内外学者在 HCV DNA 疫苗的构建、免疫效应及安全性方面做的大量研究来看, 虽未发现因使用 DNA 疫苗而引发肿瘤和自身免疫功能紊乱的报道, 但也有若干问题值得关注: (1)HCV DNA 疫苗引起的机体免疫应答能否起到预防和清除 HCV 感染作用; (2)鉴于细胞免疫应答可介导组织病理学损伤, HCV DNA 疫苗诱发的 CTL 反应能否引起肝脏的病理学变化; (3)由于免疫对抗作用的限制, 尚不能构建来自多个不同 HCV 基因型的融合 DNA 疫苗; (4)HCV DNA 疫苗能否引起机体产生免疫耐受; (5)由于目前的研究大多仅局限于小鼠, 其作用机制和灵长类动物之间还有很大的差异等等。所以, 在 HCV DNA 疫苗研制方面还有大量的理论和实验工作要做^[11, 13]。

总之, 丙型肝炎疫苗虽然还未有突破性进展, 但随着对 HCV 免疫机制的进一步了解, 通过对体外复制模型的进一步完善及增强免疫效果的研究, 相信在不远的将来, HCV 疫苗的研制会有一定的突破。

4 参考文献

- 1 罗新栋, 聂青和, 何云, 罗红, 程勇前. 检测抗-HCV IgG κ/λ 轻链比值及其临床意义. 中国医师杂志 2004;6:178-180
- 2 Torresi J, Bharadwaj M, Jackson DC, Gowans EJ. Neutralising antibody, CTL and dendritic cell responses to hepatitis C virus: a preventative vaccine strategy. *Curr Drug Targets* 2004; 5:41-56

- 3 Inchauspe G, Feinstone S. Development of a hepatitis C virus vaccine. *Clin Liver Dis* 2003;7:243-259
- 4 聂青和, 李梦东. 丙型肝炎疫苗研究现状及策略. 中华流行病学杂志 1998;19:47-49
- 5 Forns X, Bukh J, Purcell RH. The challenge of developing a vaccine against hepatitis C virus. *J Hepatol* 2002;37:684-695
- 6 Leroux-Roels G, Depla E, Hulstaert F, Tobback L, Dincq S, Desmet J, Desombere I, Maertens G. A candidate vaccine based on the hepatitis C E1 protein: tolerability and immunogenicity in healthy volunteers. *Vaccine* 2004;22:3080-3086
- 7 刘荷中. 基于E2糖蛋白的丙型肝炎疫苗的研究进展与展望. 军事医学科学院院刊 2002;26:143-147
- 8 聂青和. 基因疫苗的研究进展. 见: 李梦东, 王宇明. 实用传染病学. 第三版, 北京: 人民卫生出版社, 2004:282-291
- 9 Puig M, Major ME, Mihalik K, Feinstone SM. Immunization of chimpanzees with an envelope protein-based vaccine enhances specific humoral and cellular immune responses that delay hepatitis C virus infection. *Vaccine* 2004;22:991-1000
- 10 Duenas-Carrera S, Vina A, Martinez R, Alvarez-Lajonchere L, Alvarez-Obregon JC, Marante J, Perez A, Mosqueda O, Martinez G, Morales J. Immunization with a DNA vaccine encoding the hepatitis-C-virus structural antigens elicits a specific immune response against the capsid and envelope proteins in rabbits and Macaca irus (crab-eating macaque monkeys). *Biotechnol Appl Biochem* 2004;39:249-255
- 11 聂青和. 基因疫苗的基础研究及应用现状. 世界华人消化杂志 2003;11:125-129
- 12 聂青和, 李梦东, 胡大荣, 陈国致. HCV感染后机体保护性免疫缺陷原因探讨. 世界华人消化杂志 2000;8:28-30
- 13 Rollier C, Depla E, Drexhage JA, Verschoor EJ, Verstrepen BE, Fatmi A, Brinster C, Fournillier A, Whelan JA, Whelan M, Jacobs D, Maertens G, Inchauspe G, Heeney JL. Control of heterologous hepatitis C virus infection in chimpanzees is associated with the quality of vaccine-induced peripheral T-helper immune response. *J Virol* 2004;78:187-196

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

WJG 和世界华人消化杂志全文网站免费开通

本刊讯 World Journal of Gastroenterology (WJG) 和世界华人消化杂志出版的电子版全文已上传, 于2003-04-15 开通. WJG 包括: 1995-2004 年 1-12 期及特刊. 世界华人消化杂志包括: 1993-2004 年第 1-5 期及特刊.

1 本系统的功能

电子杂志: 关键词搜索, 高级搜索(期刊全名、ISSN、年度、单位、题名、摘要、作者). 高影响力论文排序: 点击次数, 下载次数, 引用次数. 高影响力论文即特别受同行关注, 影响范围广, 被点击次数、下载次数、引用次数多的论文. 一篇论文如果能进入高影响力论文行列, 其研究成果一般多有创新性, 学术水平较高, 学术价值较大, 因而影响力大. 投稿须知包括: 投稿细则, 述评, 研究原著, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告等要求及书写格式.

2 网址

WJG (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.asp>) 世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.asp>)

3 论文摘要格式

岳茂兴, 邹德威, 闵庆旺, 牛恩喜, 杨善芝, 张坚, 刘志国, 崔少杰, 方伟武, 周雪峰, 高铁山, 化楠. 中国首次载人航天航天员主着陆场区医疗保障及救护. 世界华人消化杂志 2004年 5月;12(5):1009-1014

中国首次载人航天航天员主着陆场区医疗保障及救护

岳茂兴, 邹德威, 闵庆旺, 牛恩喜, 杨善芝, 张坚, 刘志国, 崔少杰, 方伟武, 周雪峰, 高铁山, 化楠.

100101, 北京市, 中国人民解放军第306医院载人航天主着陆场医疗救护队. yuemx@ns.cetin.net.cn

目的: 探讨中国首次载人航天主着陆场区航天员医疗保障及救护的经验体会. 方法: 结合我们参加中国首次载人航天航天员医疗保障及救护的体会, 8次在直升机上的医疗救护演练经验, 2次突发意外事故乘直升机远距离实施医疗救护的体会, 多次在载人航天医疗救护车上的医疗救护演练体会. 并参考国内外相关资料, 对载人航天航天员意外伤害提出有效的防治预案. 结果: 主要针对首飞载人航天航天员可能发生意外伤害的原因, 创新地把一个高质量的ICU全天候前移至草原上、沙漠里, 载体是载人航天医疗救护直升机及医疗救护车, 可以确保意外情况下航天员的安全. 创造了反应速度第一; 技术装备第一. 使救治规则、卫勤保障原则更趋于合理, 抢救成功率更高. 载人航天医疗保障系统在装备、方案、试验等方面能满足安全性的要求. 航天员主着陆场的医疗卫勤保障工作能够体现急救医学“快速反应, 立体救护”的理念. 载人航天医疗救护直升机在航天员的医疗保障及救护中起着十分重要的作用, 他有机动性强、速度快、飞行高度较低的优点, 在草原及沙漠地区都可着落实施救护. 结论: 返回着陆场区的航天员实施快速医疗救护, 能保障航天员安全, 圆满完成载人航天任务.

论文目次

目次网页包括: 岳茂兴, 邹德威, 闵庆旺, 牛恩喜, 杨善芝, 张坚, 刘志国, 崔少杰, 方伟武, 周雪峰, 高铁山, 化楠. 中国首次载人航天航天员主着陆场区医疗保障及救护. 世界华人消化杂志 2004年 5月;12(5):1009-1014. 功能目次包括: 点击率: 71, 下载率: 9, 引用率: 0, 摘要, 相关文章, 被引用次数, HTML, PDF.

4 全文

全文网页包括: 投稿, 摘要, PDF, 被引用, 点击率: 72, 下载率: 9, 相关文章, 相关评论, 图片及参考文献外链接.

5 投稿查询

投稿查询网页包括: 编号, 刊名, 题目, 作者, E-mail, 收稿, 送审, 审回, 退稿, 接受, 审稿费, 出版费, 彩色图制作费, 黑白图制作费, 英文摘要加工费, 英文全文加工费, 加急费, 其他, 发票编号, 送修, 修回, 重修, 编辑, 入库, 卷号, 期号, 起止页. (世界胃肠病学杂志 2004-06-15)