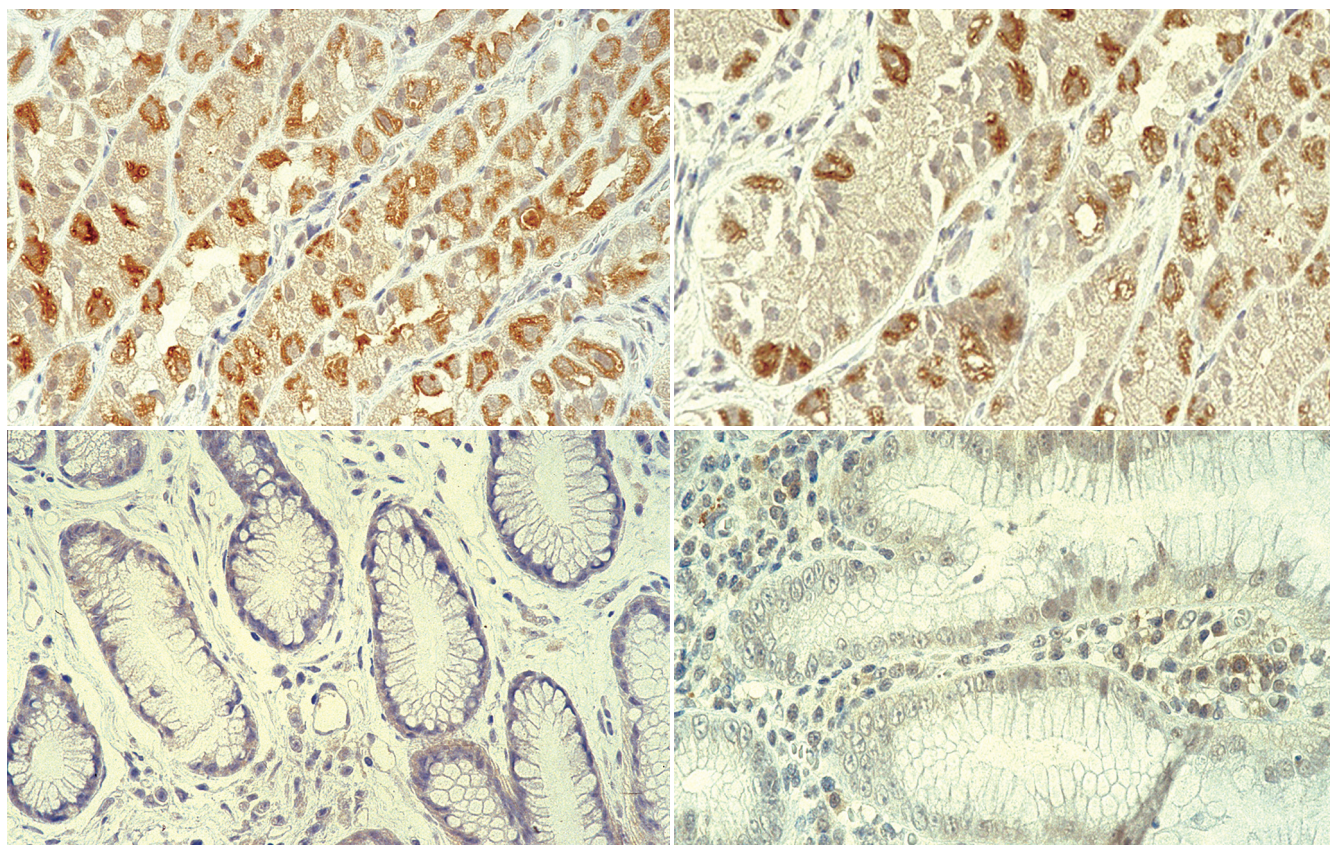


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2006年9月28日 第14卷 第27期 (Volume 14 Number 27)



27 / 2006

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《世界华人消化杂志》对所有来稿均进行同行评议，是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》，俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2006-01-01/2008-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授	北京
黄象谦教授	天津
黄志强教授	北京
裘法祖教授	武汉
王宝恩教授	北京
危北海研究员	北京
吴孟超教授	上海
杨春波教授	福州
周殿元教授	广州

名誉总编辑

潘伯荣教授	西安
-------	----

社长/总编辑

马连生教授	北京
-------	----

副总编辑

陈士葆教授	上海
房殿春教授	重庆
姜洪池教授	哈尔滨
王苑本教授	天津
吴云林教授	上海
徐克成教授	广州
杨思凤教授	吉林
姚希贤教授	石家庄
岳茂兴教授	北京
张万岱教授	广州
周学文教授	沈阳

常务编委

程英升副教授	上海
高毅主任医师	广州
江学良主任医师	上海
李岩教授	沈阳
刘连新教授	哈尔滨
吕宾教授	杭州
罗和生教授	武汉
聂青和副教授	西安
王小众教授	福州

编委

白爱平主治医师	广州
别平教授	重庆
白文元教授	石家庄
白玉贤教授	哈尔滨
蔡淦教授	上海
蔡开琳副教授	武汉
曹浩副教授	上海
曹志成院士	香港
陈海龙教授	大连

陈红松副研究员	北京
陈积圣教授	广州
陈建荣副教授	南通
陈立波副教授	武汉
陈凇教授	北京
陈其奎教授	广州
陈强谱教授	滨州
陈仕珠主任医师	西安
陈卫昌教授	苏州
陈耀凯副教授	重庆
陈贻胜教授	福州
陈知水教授	武汉
陈治水主任医师	哈尔滨
陈祖林副教授	重庆
程爱国教授	唐山
程红岩教授	上海
程树群副教授	上海
迟宝荣教授	长春
崔云甫教授	哈尔滨
代文杰教授	哈尔滨
戴冬秋教授	沈阳
党双锁副教授	西安
邓长生教授	武汉
董蕾教授	西安
杜群副研究员	广州
樊红副教授	南京
范建高教授	上海
范志宁主任医师	南京
房静远教授	上海
傅春彬主任医师	吉林
高成新教授	上海
高春芳研究员	上海
高峰教授	西安
高润平教授	长春
戈之铮教授	上海
龚国忠教授	长沙
龚建平教授	重庆
巩鹏副教授	大连
谷俊朝主任医师	北京
关玉盘教授	北京
管冬元副教授	上海
郭克建教授	沈阳
郭晓钟教授	沈阳
郭新宁教授	银川
韩天权教授	上海
郝春秋副教授	西安
郝俊鸣副主任医师	北京
何超教授	杭州
何裕隆教授	广州
何振平教授	重庆
洪天配教授	北京

侯晓华教授	武汉
黄恒青主任医师	福州
黄金华副教授	广州
黄晓东副主任医师	武汉
黄颖秋教授	本溪
黄裕新教授	西安
黄志勇副教授	武汉
季国忠副教授	南京
季加孚教授	北京
姜慧卿教授	石家庄
蒋龙元副教授	广州
金瑞教授	北京
匡安仁教授	成都
兰平教授	广州
蓝宇教授	北京
劳绍贤教授	广州
李定国教授	上海
李东辉教授	厦门
李方儒教授	天津
李国威教授	西安
李继强教授	上海
李靖副教授	重庆
李军祥教授	北京
李奇林教授	广州
李胜研究员	济南
李涛主治医师	北京
李晓宇主任医师	北京
李旭副教授	广州
李延青教授	济南
李永哲副研究员	北京
李瑗教授	南宁
李玉民教授	兰州
李增山副教授	西安
李兆申教授	上海
李志霞教授	北京
李宗芳教授	西安
梁力建教授	广州
林胜璋副教授	温州
林勇讲师	上海
刘宝瑞教授	南京
刘彬彬副研究员	上海
刘冰熔教授	哈尔滨
刘成海研究员	上海
刘平教授	上海
刘纪教授	重庆
刘铁夫教授	哈尔滨
刘颖斌副教授	杭州
刘占举教授	郑州
刘正稳教授	西安
刘作金副教授	重庆
龙致贤教授	北京

世界华人消化杂志®

编辑委员会

鲁华玉研究员	北京	唐采白副教授	徐州	严律南教授	成都
陆才德教授	宁波	唐芙爱教授	郑州	阎晓初副教授	重庆
陆伦根教授	上海	唐霓副研究员	重庆	杨冬华教授	广州
陆云飞教授	南宁	唐文富主治医师	成都	杨广顺教授	上海
禄韶英主治医师	西安	唐文皓副主任医师	上海	杨建勇教授	广州
吕明德教授	广州	唐旭东主任医师	北京	杨林副研究员	广州
吕宁主任医师	北京	汤展宏副教授	南宁	杨维良教授	哈尔滨
吕云福教授	海口	唐志鹏副研究员	上海	杨希山教授	广州
马大烈教授	上海	田素礼教授	哈尔滨	杨永生教授	北京
茅爱武主任医师	上海	屠红副研究员	上海	姚登福教授	南通
梅林教授	北京	万军教授	北京	姚树坤教授	石家庄
孟庆华教授	北京	汪波副主任医师	北京	伊力亚尔·夏合丁教授	乌鲁木齐
宁琴教授	武汉	汪思应教授	合肥	阴赅宏研究员	北京
牛建昭教授	北京	王承党副教授	福州	于红刚副教授	武汉
欧希龙副教授	南京	王春友教授	武汉	余宏宇教授	上海
潘林娜教授	哈尔滨	王广义教授	长春	于健春教授	北京
潘兴华副主任医师	昆明	王吉耀教授	上海	于颖彦教授	上海
潘秀珍教授	福州	王健生副教授	西安	郁宝铭教授	上海
彭波副教授	西安	王鲁副教授	上海	喻荣彬副教授	南京
彭吉润主任医师	北京	王效民教授	厦门	展玉涛副主任医师	北京
彭曦副研究员	重庆	王晓艳副教授	长沙	张柏和教授	上海
彭心宇教授	石河子	王新月教授	北京	张方信主任医师	兰州
彭志海教授	上海	王学美研究员	北京	张吉翔教授	南昌
秦波教授	重庆	王正康教授	北京	张锦生教授	上海
秦成勇教授	济南	王志刚副主任医师	上海	张军教授	西安
秦环龙教授	上海	王忠裕教授	大连	张青云研究员	北京
钱建民教授	上海	卫洪波教授	广州	张群华教授	上海
秦仁义教授	武汉	魏经国教授	西安	张水军教授	郑州
卿三华教授	广州	魏来教授	北京	张绪清副教授	重庆
邱双健副教授	上海	闻勤生教授	西安	张学教授	北京
邱伟华副主任医师	上海	吴德全教授	哈尔滨	张宗明教授	北京
任超世研究员	天津	吴建国教授	武汉	赵桂珍教授	沈阳
任建安教授	南京	吴君主任医师	贵阳	赵景民教授	北京
任建林教授	厦门	吴萍主任医师	徐州	赵连三教授	成都
邵成浩讲师	上海	吴志勇教授	上海	赵平副教授	上海
邵先玉教授	泰安	席启主任医师	大同	郑民华教授	上海
邵永孚教授	北京	夏建川研究员	广州	郑鹏远教授	郑州
沈洪教授	南京	向德兵讲师	重庆	智发朝教授	广州
沈琳副教授	北京	肖恩华教授	长沙	周伯平教授	深圳
沈薇教授	重庆	谢晓华副教授	广州	周丁华主任医师	北京
施诚仁教授	上海	徐爱民副教授	上海	周国雄主任医师	南通
施瑞华教授	南京	徐迎新研究员	北京	周士胜教授	大连
石统东副教授	重庆	许春舫主任医师	苏州	周霞秋教授	上海
宋世兵主任医师	北京	徐存拴教授	新乡	周晓东研究员	广州
宋振顺教授	西安	徐大华副主任医师	北京	庄林主任医师	昆明
孙诚谊教授	贵阳	徐德忠教授	西安	朱传武副主任医师	苏州
孙殿兴主任医师	石家庄	徐列明教授	上海	朱春兰主任医师	哈尔滨
孙家邦教授	北京	徐小元教授	北京	朱立元教授	深圳
孙秀发教授	武汉	许玲副教授	上海	朱人敏教授	南京
孙学英教授	哈尔滨	许文燮教授	上海	邹小明教授	哈尔滨
邵升副教授	哈尔滨	许亚平副教授	镇江	左国营副主任药师	昆明
谭学瑞教授	汕头	闫惠平研究员	北京		

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2006 年 9 月 28 日 第 14 卷 第 27 期 (总第179期)

述 评

2661 乙型肝炎病毒疫苗免疫现状及存在的问题

陈仕珠

基 础 研 究

2668 Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位反义核酸逆转胃癌细胞多药耐药

韩全利, 张希东, 丁杰, 金晓维, 杨玲, 王新, 张学庸, 樊代明

2673 受体血预先经门静脉输入供体延长肝移植大鼠生存时间

王凤山, 山口康雄, 古桥隆, 张佳林, 程颖, 刘永锋

2679 亚细胞毒性剂量As₂O₃增加胃癌细胞对rhTRAIL的敏感性及其机制

仲飞, 朱兆华, 张世能

2684 蛙皮素和生长抑素对人胃癌BGC-823细胞生长的影响及受体后信息传递

徐秀英, 赵金满, 姜若兰, 宗志宏

2691 三氧化二砷逆转肝癌细胞株HepG2/ADM多药耐药的作用

李贺, 熊茂明, 孟翔凌, 耿小平

焦 点 论 坛

2695 乙型肝炎病毒疫苗和乙肝免疫

陈仕珠

2696 乙肝病毒疫苗的类型及其免疫原性和安全性

陈仕珠, 高建宏

2701 影响乙肝疫苗免疫效果的因素

陈仕珠, 韩永战

2708 新生儿和儿童乙肝免疫

陈仕珠

2713 重点、高危和特殊人群之乙肝免疫

陈仕珠

2718 乙肝免疫过程中要注意的几个问题

陈仕珠

2722 乙型肝炎病毒疫苗免疫接种策略及卫生经济学评价

韩永战, 陈仕珠

临 床 经 验

2729 Tc-99m-RBC显像定位诊断胃肠道出血的价值

唐恭顺, 张松林, 孔荷花, 郭长吉, 徐艳, 张燕燕, 张卫方, 毛远, 陈曼

2733 乙肝表面抗原大蛋白与HBV DNA的比较及其与ALT的关系

杨延敏, 王洪笑, 王桂利, 崔亚利, 梁萍

会议纪要	2736 第六届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会暨《消化道恶性梗阻的动脉内灌药联合内支架治疗应用技术》国家级继续医学教育学习班会议纪要
附录	2737 世界华人消化杂志投稿须知
致谢	2742 致谢世界华人消化杂志编委
消息	<p>2667 2007中华肝胆胰脾外科(国际)学术论坛征文通知</p> <p>2672 国际肝胆胰协会中国分会第二届全国学术研讨会暨第三届全国普通外科主任论坛通知</p> <p>2678 专家门诊</p> <p>2683 第六届西太平洋幽门螺旋杆菌会议通知</p> <p>2700 全国消化系疾病的诊疗进展学习班通知、世界华人消化杂志关于作者署名的声明</p> <p>2707 中国中西医结合学会第九次全国中西医结合影像学术交流大会</p> <p>2721 2006中国结直肠肛门外科学术会议通知</p> <p>2728 欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》</p>
封面故事	<p>K Kawauchi, A Yagihashi, N Tsuji, N Uehara, D Furuya, D Kobayashi, N Watanabe.</p> <p>Human β-defensin-3 induction in <i>H pylori</i>-infected gastric mucosal tissues.</p> <p><i>World J Gastroenterol</i> 2006; 12(36): 5793-5797</p> <p>http://www.wjgnet.com/1007-9327/12/5793.asp</p>
国际会议	<p>71st ACG Annual Scientific Meeting and Postgraduate Course October 20-25, 2006</p> <p>14th United European Gastroenterology Week 21-25 October 2006 Berlin United European Gastroenterology Federation www.uegw2006.de</p> <p>XXX pan-american congress of digestive diseases XXX congreso panamericano de enfermedades digestivas November 25-December 1, 2006 amg@gastro.org.mx www.gastro.org.mx</p>

<p>世界华人消化杂志</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创刊 1993-01-15 改刊 1998-01-25 出版 2006-09-28 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生 编辑部主任 张海宁 英文编辑 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁 张焕兰 王晓瑜 电子编辑 张敏 李琪 本期审读 张焕兰</p>		<p>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 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: 010-85381901 传真: 010-85381893</p> <p>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, 北京市399信箱)</p> <p>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: 010-85381901 传真: 010-85381893</p>	<p>《世界华人消化杂志》对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录。</p> <p>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。</p> <p>2006年版权归世界胃肠病学杂志社所有</p>
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864.00元	广告经营许可证 1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

September 2006 Contents in Brief Volume 14 Number 27

EDITORIAL	2661 Current status and problem of hepatitis B immunization <i>Chen SZ</i>
BASIC RESEARCH	2668 Reversal of multidrug resistance in gastric cancer cell line by Ss-A/Ro ribonucleoprotein 60-ku subunit antisense nucleic acid <i>Han QL, Zhang XD, Ding J, Jin XW, Yang L, Wang X, Zhang XY, Fan DM</i> 2673 Prolonged survival of rat hepatic allograft after pretransplant intraportal infusion of recipient blood to the donor <i>Wang FS, Yamaguchi Y, Furuhashi T, Zhang JL, Cheng Y, Liu YF</i> 2679 Subcytotoxic concentration of arsenic trioxide enhances the sensitivity of SGC7901 cells to rhTRAIL and its mechanism <i>Zhong F, Zhu ZH, Zhang SN</i> 2684 Effects of bombesin and somatostatin on proliferation of human gastric cancer cell line BGC-823 and their postreceptor signal transduction <i>Xu XY, Zhao JM, Jiang RL, Zong ZH</i> 2691 Reversing effect of arsenic trioxide on multidrug resistance of human hepatocellular carcinoma HepG2/ADM cells <i>Li H, Xiong MM, Meng XL, Geng XP</i>
HIGHLIGHT TOPIC	2695 Advance in hepatitis B vaccine and immunization <i>Chen SZ</i> 2696 Classification, immunogenicity and safety of hepatitis B vaccine <i>Chen SZ, Gao JH</i> 2701 Factors influencing immune effect of hepatitis B vaccine <i>Chen SZ, Han YZ</i> 2708 Hepatitis B immunization in neonates and children <i>Chen SZ</i> 2713 Hepatitis B immunization among emphasized, high-risk and special groups <i>Chen SZ</i> 2718 Several problems during hepatitis B immunization <i>Chen SZ</i> 2722 Strategies and economic evaluation of hepatitis B vaccination <i>Han YZ, Chen SZ</i>

CLINICAL PRACTICE	<p>2729 Value of Tc-99m-labeled red blood cells scintigraphy in diagnosis of gastrointestinal bleeding <i>Tang GS, Zhang SL, Kong HH, Guo CJ, Xu Y, Zhang YY, Zhang WF, Mao Y, Chen M</i></p> <p>2733 Comparison between hepatitis B virus large protein and DNA and its association with alanine aminotransferase level <i>Yang YM, Wang HX, Wang GL, Cui YL, Liang P</i></p>
MEETING MINUTES	2736 Meeting minutes for the 6 th Countrywide Conference of Interventional Diagnosis and Treatment for Digestive malignant lesions
APPENDIX	2737 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology
ACKNOWLEDGMENT	2742 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
COVER	<p><i>Kawauchi K, Yagihashi A, Tsuji N, Uehara N, Furuya D, Kobayashi D, Watanabe N.</i></p> <p>Human β-defensin-3 induction in <i>H pylori</i>-infected gastric mucosal tissues.</p> <p><i>World J Gastroenterol</i> 2006; 12(36): 5793-5797</p> <p>http://www.wjgnet.com/1007-9327/12/5793.asp</p>
INTERNATIONAL MEETINGS	<p>71st ACG Annual Scientific Meeting and Postgraduate Course October 20-25, 2006</p> <p>14th United European Gastroenterology Week 21-25 October 2006 Berlin United European Gastroenterology Federation www.uegw2006.de</p> <p>XXX pan-american congress of digestive diseases XXX congreso panamericano de enfermedades digestivas November 25-December 1, 2006 amg@gastro.org.mx www.gastro.org.mx</p>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date September 28, 2006

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation

PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

Copyright © 2006 by The WJG Press

乙型肝炎病毒疫苗免疫现状及存在的问题

陈仕珠

陈仕珠, 解放军第451医院感染病科 陕西省西安市 710054
通讯作者: 陈仕珠, 710054, 陕西省西安市友谊东路269号, 解放军第451医院感染病科. chenshizhu34419@126.com
电话: 029-84734222
收稿日期: 2006-06-23 接受日期: 2006-07-18

摘要

自实行乙型肝炎病毒(HBV)疫苗免疫以来, 世界范围内的新生儿和此间出生的儿童乙型肝炎(HB)患病率、HBV携带率平均下降约80%, 部分地区下降90%以上. HBV疫苗联合HB免疫球蛋白对阻断母婴传播亦收到较好效果. 目前, 一些国家HBV疫苗接种范围已扩大到新生儿以外人群. 一些新疫苗已经或正在研制并用于HB免疫. 但不同国家、地区HB免疫进展并不平衡, 国内一些地区对新生儿尚未做到及时全程免疫. 现用的HBV疫苗、标准接种方案有其局限性, 对含有高危人群的流动人口、囚犯、性乱等人群的HB免疫从管理到系统接种尚未系统实施; 对所发现的新老HB患者及HBsAg携带者除疫苗报告和数据统计外, 对其本人、家族成员及密切接触者未作系统卫情调查和免疫等处理. HB免疫的任务依然艰巨.

关键词: 乙型肝炎; 乙型肝炎病毒疫苗; 乙肝免疫; 免疫接种; 免疫原性

陈仕珠. 乙型肝炎病毒疫苗免疫现状及存在的问题. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2661-2667
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2661.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)是目前感染率和致病率最高的慢性传染性病原体. 慢性乙型肝炎(HB)则是迄今为止治疗最棘手的慢性传染性疾病之一. 自HBV疫苗问世以来, HBV垂直传播已得到有效遏制, 使数亿儿童免遭HBV感染, 减少了上亿HB患者或HBV携带者. 目前全世界有约180个国家实行了HBV疫苗计划免疫, 有些国家已将HBV疫苗计划免疫扩大到所有人群. 世界卫生组织(WHO)计划到上世纪末所有国家把婴儿和儿童纳入免疫计划^[1]的设想基本实现. 但不同国

家及不同地区HB免疫进度并不均衡. HBV疫苗接种覆盖率、首针及时接种率、全程接种完成率差异较大, 尤其像我国这样高HB流行区且有13亿人口的发展中国家更是如此. 在实施HB免疫过程中从政府到民众均存在一些需要解决或完善的问题.

1 HB免疫状况

1.1 新生儿及儿童 由于新生儿感染HBV后约90%将成为慢性HBV携带者, 并在成年后易发展为肝硬化和肝细胞癌^[2]. 所以, 新生儿为HBV疫苗接种的主要对象, 也是目前所有人群中HB免疫最成功、效果最显著的群体^[3]. 在WHO的推动下, 绝大多数国家已将HBV疫苗纳入新生儿等计划免疫, 使新生儿HB大幅减少. 在欧洲大城市, 新生儿接种覆盖率平均在95%以上, 婴儿HBV疫苗接种覆盖率为85%-99%^[4]. 非洲部分国家婴幼儿HBV疫苗接种率近90%, 接种后出现血清抗-HBs保护性阳转率达80%-83.5%. 赞比亚的一份调查显示, 婴幼儿接种HB疫苗后14 a HBV携带率减少了89%-97%, HBV感染率减少80%, 年长儿减少56%-73%^[5]. 南北美洲国家几均实行了新生儿、婴幼儿HBV疫苗计划免疫. 美国实行HBV疫苗接种后头3 a(1981-1984)新生儿HBV感染率即下降67%^[6]. 美国原有120万慢性HB患者, 1980年以来稳定下降, 1990-2002年急性HB下降65%以上, 儿童下降尤为显著^[6]. 1990-2002儿童和年长儿急性HB流行率下降89%, 新发病例大多为外来人口^[3]. 亚洲国家中实行WHO推荐的方案在时间和覆盖率上都有差异. 印度婴幼儿对rHBV疫苗的反应率达100%(成人为96.4%). 而太平洋岛国HB免疫效果欠理想, 目前HBV感染率和慢性携带率仍为全球最高^[7]. 近年来一些发达国家新生儿首针及时接种率有所下降. 美国7-12月龄儿童的首针及时接种率从47%下降到11%, 2000年全国接种HBV疫苗的新生儿比1998年少75万^[8]. 法国等欧洲国家婴儿(19.8%)、儿童(23.3%)和年

■背景资料

自实行乙型肝炎病毒(HBV)疫苗免疫以来, 新生儿、婴幼儿和儿童HBV携带率、患病率显著下降; HBV垂直传播已得到有效控制. 目前, HB免疫对象已扩大到新生儿以外人群. 但在农村, 尤其是边远贫困地区, HB免疫形势不容乐观. 对流动人口、囚犯等人群的HB免疫较为滞后, 对HB及其免疫的管理尚存在不少有待解决的问题.

■创新盘点

本文较全面的概述了国内外HB免疫进展情况及存在的问题, 强调了推广快程序接种的优点, 推荐有效的接种剂量和接种方法。

长儿(46.2%)HBV疫苗接种率亦有下降^[9]。我国在1985-1990对部分省、市、自治区新生儿作观察性HBV疫苗接种的结果表明, 14岁以下儿童HBsAg携带率从免疫前的15.2%下降到1.64%。总保护率达89.2%^[10]。21世纪以来各地区HBV疫苗接种率进一步增加, 而HBsAg阳性率则明显下降。北京地区3-12岁儿童HBsAg阳性率仅为0.52%, 而疫苗保护率达88.5%^[11]。浙江、江苏、云南、陕西、广西、湖北^[12]等部分地区新生儿HBV疫苗接种率平均达90%以上。上海市自1986年以来HBV疫苗接种率、及时接种率持续稳定在95%上下^[13]。部分城市的儿童、青年接种率达80%以上, 有的(如上海)达99.5%, 而HBsAg携带率从1992年的9.09%降至1.29%, 有些地区下降到0.2%以下^[14]。广东为我国高HBV感染流行区之一, 全省HBV标化流行率达68.94%。2002年的调查结果显示, 中小學生HBsAg携带率平均为10.19%, 农村达16.34%。近年来HBsAg携带率已下降到1.78%。虽然我国多数地区新生儿HB免疫覆盖率在85%以上, 但地区间差异较大。新疆一些地区幼儿HBsAg携带率2001年仍达3.2%, 黑龙江部分地区则高达5.4%。在较大年龄儿童及其他人群中HB免疫则处于个人自由状态。不同地区新生儿免疫覆盖率、全程接种率和首针及时接种率差异较大。有资料显示, 东部、中部和西部地区在医院出生者HBV疫苗接种率分别为94.9%, 93.2%和82.0%; 在家出生者分别为78.1%, 81.8%和38.3%; 首针及时接种率在医院出生者分别为84.3%, 75.7%和64.8%; 而在家出生者仅分别为29.4%, 40.0%和17.6%。边远省份HBV疫苗接种率则低于上述地区。云南地区1-3岁儿童HBV疫苗接种率为70.34%, 全程接种率为68.45%, 首针及时接种率仅22.5%, 全程及时接种率仅22.34%。该“三率”城市高于农村, 而HBV感染率则农村高于城市。农村在家出生的新生儿绝大多数未及时接种。概而言之, 我国自实施新生儿HBV疫苗计划免疫及扩大对其他人群HB免疫以来, 所取的成绩巨大而卓著, 地区、城乡差异深刻而显著, 面临的任务繁重而艰巨; 要早日控制HB需扩大对所有高危、重点人群乃至所有国民实施计划免疫。

WHO推荐在高HB流行区对胎儿在宫内及出生时系统接种, 在低流行区, 在妊娠期间系统免疫; 对HBsAg阳性母亲子女生后12 h内接种, 并长期免疫检测^[15]。国内外对阻断HBV母婴传

播的免疫方法大体为: (1)于妊娠20 wk^[16]开始注射HB免疫球蛋白(HBIG)200-400 IU及HBV疫苗, 1次/mo; 于新生儿出生后3-6 h及2 wk时再分别注射HBIG 1次。其平均保护率(>80%)高于单独接种HBV疫苗及未作任何处理者。对HBsAg阳性母亲所生的高危婴儿单独接种HBV疫苗效果不佳^[17], 抗-HBs阳转仅49.5%。(2)于妊娠26 wk起注射HBIG 200 IU, 1次/mo。新生儿出生后3-6 h内及2 wk时再分别注射1针, 1 mo后按程序接种HBV疫苗3-4针, 其保护率70%-96%(平均>80%)^[18-19]。每种免疫方法不同研究者在注射HBIG剂量(100-400 IU)及接种HBV疫苗的程序有异, 但均有较好的保护率。(3)对阻断父婴传播主要为于孕前接种HBV疫苗, 妊娠20 wk起注射HBIG 200 IU/mo, 阻断率>85%^[20]。有少数研究者认为, 出生时注射HBIG可能干扰对其后接种HBV疫苗的免疫记忆, 造成弱或无应答^[21], 但持此看法者甚少, 且未得到进一步研究证实。据国内外的经验, HBIG和HBV疫苗联合应用对阻断宫内和出生后感染HBV有确切效果, 应予肯定。

2 重点及高危人群

2.1 HB免疫的人群化分 HB免疫的对象视其对HBV的接触的密切性和易感性、感染后的危害性和应予免疫接种的紧迫性大体分普通人群、重点人群、高危人群和特殊人群。普通人群指该人群本身感染和传播HBV机会相对较少且便于接种的人群。重点人群指2-13岁未接种或未全程接种过HBV疫苗的儿童、托幼机构和饮食行业的工作人员^[2]、成人中未接种和未感染过HBV的集体生活中的人群, 如新入伍的军人、武警、教师、运动员等^[22]。此外, 还应包括社会上的流动人口, 如此前未接种过HBV疫苗(其间部分人为HBV携带者)进城打工者及其他闲杂人等人群。高危人群主要指(1)有职业危险的医务人员, 如传染科、口腔科、妇产科、手术室、检验科和血液透析(血透)室的工作人员、疾病预防控制人员、新就业或将进入临床的医护人员等; (2)HB患者和HBsAg阳性者配偶及家庭成员、未婚性伴侣和同家庭密切接触者; (3)血液透析患者、器官移植前的患者、大量受血者及其他患有可使免疫功能下降和对疫苗反应性下降的疾病患者(如感染丙型肝炎病毒等); (4)经常使用血液和血制品者; (5)iv毒品者、男性同性恋和多性伴者; (6)免疫障碍或免疫抑制剂接受

者、发育障碍收容所中的患者、精神病患者及其工作人员; (7) 母亲为HBV携带或HB患者及某些旅游者^[23-25]。特殊人群人数相对较少, 主要指囚犯、孤儿及执行特殊任务或特殊工作等既易感染HBV又需特殊关注或照顾的群体。重点人群、高危人群和特殊人群除自身更易感染HBV外, 还包括当他们感染HBV后更易造成HBV传播, 感染其他健康人群。其中一些人对HBV疫苗无或弱反应, 他们是乙肝免疫的重点对象或是需要尽快或立即接种乙肝疫苗以避免或减少HBV感染的特殊对象。上述人群划分是相对的, 不同人群是相互联系和交叉变动的, 故不能绝对化。目前对这些人群乙肝免疫管理相对松散, 督促检查少, 接受全程免疫率低^[26]。

2.2 医护人员HB免疫 即便是对HB知识了解, 相对较多的医护人员, 特别是临床科室医护人员其自我防护意识并不强。有调查显示, 基层医院医护人员中有预防观念者为9.97%, 抽血操作经常戴手套者为5.7%, 接触患者后洗手者为37.9%, 被针刺后采取正确防护措施者为36.6%。护理人员接种过HBV疫苗者<50%^[27]。即便是在大医院亦存在对职业防护知识了解的深度和广度不足的问题。美国18-29岁高危人群中虽然其中80%的人看过医生, 但仅30%人接种过HBV疫苗^[28]。我国自1992年将HBV疫苗纳入计划免疫管理以来, 各地区重点人群逐渐、不同程度地接受了乙肝免疫, 但该人群的免疫覆盖率较低, 基本上处于个体自愿及部分团体组织的自由接种状态, 远未达到2002年以来对新生儿实行计划免疫后新生儿HB免疫的管理和覆盖水平。

2.3 食品行业人群 国内从事食品、餐饮、公共场所等工作人员的HB免疫形势严峻, 据调查这些人群对HBV传播途径的知晓率仅43.9%。成都一所烹饪专业1924名大学生中41.7%感染过HBV或已经是HBV携带者^[29]。接种过HBV疫苗者仅占20%^[30]。经济条件差的地区、小单位、部分个体经营食品等行业人员接种率更低。广州等地服务行业员工就业前体检HBsAg阳性率高达9%左右^[31-32]。比较负责任的地区有关部门采取将HBV标志阳性者调离职业禁忌岗位, 同时对无HBV感染者接种HBV疫苗等措施, 这对减少HB传播起积极作用。但此事涉及就业等复杂问题, 具体如何执行尚无明确规定(如抗-HBe阳性, DNA阴或阳性等处理安排问题), 致有些单位未能实行。

2.4 免疫功能低下人群 慢性肾病血液透析患者

机体免疫功能紊乱, 易继发病原体感染^[33], 又因长期血透, 尤易感染HBV等。而该人群对HB疫苗的反应率仅40%-50%^[34]。对该群患者有效透析及/或应用左旋咪唑治疗后予大剂量(40 μg)乙肝疫苗可提高免疫成功率。人类免疫缺陷病毒(HIV)及慢性丙型肝炎病毒(HCV)、血吸虫等感染者和风湿性关节炎患者对HBV疫苗的反应低下。这些患(感染)者接种HBV疫苗后抗-HBs滴度低而衰减速度快, 故宜接种大剂量(40 μg)HBV疫苗。对HIV感染者(患者)接种HBV疫苗目前最合适的策略为: 在病毒载量低和CD4>3.5×10¹⁴/L时于双倍剂量HBV疫苗接种, 对HIV I 抗-HBs阳转率可达91.9%(HIV II 较差)。

2.5 特殊人群 对于经常变动驻地的流动人群和经常执行特殊任务需要应急或快速免疫的人群(如军人等)按标准方案接种不能达到及时保护的目的。快速HB免疫接种方案^[35]如d 0, 7, 21和d 0, 7, 14方案更适合这些人群HB免疫接种, 其抗-HBs阳性率高, 达峰值时间早, 且可使常规免疫不产生抗体者产生抗体。应为重点和高危人群及其他需应急(last minute immunisation)HB免疫人群最理想的免疫方案。流动人群为相对不固定的群体。该人群中接种或全程HBV疫苗者较少, 而HBV感染率和HBsAg携带率则高(11.6%)于当地固定居住的人群。该人群亦以快速接种方案免疫为好。

2.6 囚犯和性传播者 性传播HBV仍然是成人慢性HBV感染的重要潜在来源和重要因素, 如男性同性恋、妓女、囚犯等是性传播HBV的主要危险人群。他们属于需要重点免疫的人群, 其中很大部分年轻囚犯属于与性传播有关的高危人群。囚犯总体接种率不高, 美国疾病控制和预防中心的1份调查表明, 成人囚犯HBV感染率达13%-47%, 慢性HBV感染率为普通人群2-6倍^[36]。该中心报告2001年美国有2.2万收监者患急性HB; 新感染HBV的7.8万人中, 29%此前被收监过^[37]。目前, 对世界范围性传播HBV的预防并不成功。性传播HBV者HBV疫苗免疫率很低与对有关预防知识缺乏有关, 其接种与否医师起主要作用^[38]。扩大对这些人群的HB免疫是预防成人慢性HBV感染主要措施。该人群对常规接种程序前两针接种基本能完成, 但第三针则多不能完成^[39]。对该人群可采用快速接种方案。为防止他们将来成为新的传染源, 应安排有专门负责接种管理的保健人员予其系统接种^[40]。总之, 重点、高危和某些特殊人群有其易感HBV的职业

■应用要点

本文为读者提供了系统了解国内外不同人群HB免疫状况的参考资料, 内容涉及从政府管控到具体接种方案的选择, 对进一步搞好HB免疫具有促进作用。

或生活特点和接种难点,对HBV疫苗反应有其异点。HB免疫要做到免疫方便、覆盖率高、抗-HBs阳转率和GMT水平高应根据具体人群采用适合该群体特点的接种方案和接种剂量,做到免疫接种群体化甚至个体化。就目前的接种方案而言,快速接种方案适用群体范围更大,应予提倡。

2.7 普通人群 普通人群包括广大城乡居民,他们当中除部分已接种HBV疫苗的年长儿和青年人外,大部分成人均在此范围,他们构成社会成员之很大部分,亦是HB免疫的薄弱群体,他们当中的部分人因职业、环境或生活变动和社会活动将成为高危人群。在进入本世纪前,HBV疫苗接种对象主要为新生儿和婴幼儿。随着儿童HB发病率和HBV携带率稳定下降,成人HB发病率和HBV携带率比例增加。美国慢性HBV感染者中主要为成人^[6]。成人感染HBV者中有的HBV被清除,但又有因静脉毒瘾及性传播感染HBV的新HBV携带者。然而目前除少数国家政府将HB免疫对象扩大到18岁外,大部分国家仍局限在新生儿及婴幼儿^[3]。普通人群HB免疫基本处于非政府或组织行为的自由状态。其中接种HBV疫苗者不同地区亦因对HB的知晓情况和经济条件等状况不同而有异。欧洲部分国家(如法国等)整个人口HB接种覆盖率超过21.7%,年长儿为52%-98%。我国尚无具体统计资料,但从不少学者的研究报道中,涉及普通人群接种HBV疫苗的人数在逐渐增加。由于成人对HBV疫苗的反应率较幼儿为低,故接种后宜追踪观察。

3 影响HB免疫因素和免疫的价值

3.1 影响HB免疫因素 接种HBV疫苗后能否如期的出现血清抗-HBs阳转受多种因素影响,如接种者年龄、HB家族史、疫苗种类、疫苗剂量、佐剂的应用、接种方案、接种方法、接种者机体免疫状况、个体差异及对HB和HB免疫的认识和态度等。概而论之,接种者年龄(除早产、低体重儿外)越小,对HBV疫苗反应相对越强,GMT亦高。有HB家族史者对HBV疫苗无或弱反应率高,抗-HBs消失快、再感染可能性大。新一代HBV疫苗免疫原性更好,其中CHO疫苗及汉逊酵母疫苗免疫原性优于普通酵母疫苗。疫苗剂量大,抗-HBs GMT高,保护时间长,一般免疫成人不小于20 μg /针,儿童(<10岁) ≥ 10 μg /针;母亲为HBV携带或HB患者的新生儿或婴幼儿剂量 ≥ 20 μg /针,必要时加用佐剂或

免疫调节剂。接种方案以短程序者(d 0, 7, 21及d 0, 7, 14)为好,及时接种率、全程接种完成率高,抗-HBs出现早,GMT达峰值早;对HBsAg阳性母亲之子可接种4针。接种方法肌肉接种较皮下为好,GMT高,副反应少。对有免疫功能下降的人群(如慢性肾衰血透者, HIV感染者等)宜用快程序、大剂量(40 μg /针)4针方案接种,或辅以佐剂。当然,除大部分计划免疫内的人群外,其他人群HB免疫及免疫成功与否还取决于免疫对象对HB及HB免疫的认识水平等。因此,要克服影响HB免疫的不利因素,达到最佳免疫效果,应尽可能做到HBV疫苗接种的群体化或个体化。

3.2 免疫的价值 HB免疫的直接经济价值不言而喻。上海一份统计调查证实,上海市2002年用于对新生儿接种HBV疫苗费用仅占因患HB及其相关的肝硬化、肝癌所花费用的1/172-1/119^[41]。即便按较大剂量HBV疫苗及治疗HB及其相关疾病花费较少的地区,其效益成本比值亦均 >12.15 ^[42-43]。甚至在低HBV流行率、HB免疫成本高的欧洲(患病少,接种者多),接种HBV疫苗的费用亦为因HB治疗所花费用的1/2.58^[44]。而间接经济及社会价值等则无法估量。包括接种HBV疫苗后避免了患HB及其相关的肝硬化、肝癌等疾病使受益者免除了因患病造成的精神痛苦、家庭负担、生活质量下降;避免了因患病影响工作及丧失劳动力后所未能创造的价值损失。还应包括由此避免了由他们传播给下一代和其他人及其造成的经济损失及其他伤害。因此,接种HBV疫苗对一个民族的素质,一个国家乃至整个人类的生存繁衍,进步、兴旺均具重大意义。

4 存在问题

4.1 HBV疫苗免疫原的局限性 表现在部分人接种后无或弱反应,有反应者保护时间亦短,除上述原因外,疫苗的原因之一与HBV S基因"a"决定簇的氨基酸变异有关^[45],尽管HBV变异可能不是主要原因^[46]。目前接种的HBV疫苗尚不能确保HBV变异株不传染给胎儿。其二为现用HBV疫苗尚难完全避免人类白细胞抗原(HLA)某些基因型对其应答的影响。

4.2 标准接种方案适用人群的局限性 WHO推荐的mo 0, 1, 6程序,每针20 μg 经典方案为早期确定的主要是用于新生儿HB免疫接种的方案,目前无论是卫生防疫人员还是临床医护人员绝大多数仅知道该方案。应用该方案以来使世界范围

85%以上的新生儿及部分儿童免受HBV感染^[4]。但该方案间隔时间太长,对一些需快速或紧急免疫的高危人群、执行特殊任务(作战、维和等)且集体生活的团体如军人(武警)等,该方案在时间上显然不适用。按该方案接种HBV疫苗者中,未完成全程接种率为d 0, 7, 14程序的5-10倍,尤以非集体组织的个体接种者为著,其中因间隔时间太长忘记接种时间者占65%以上。而快速免疫程序时间短,便于记忆,易于接种者掌握。该程序无论对普通、重点人群还是高危、住所不定的流动人群和需紧急接种的特殊人群均表明为方便快捷、保护性抗-HBs出现早、有效保护时间不短甚至稍长于标准方案、总体效果好、安全而实用的免疫方案。对此前按标准方案接种后无反应者该方案亦获得超过70%的血清抗-HBs阳转率,明显优于重复标准方案接种后11%的阳转率。故可推荐作为大范围各类人群的常规免疫方案。疫苗剂量与抗-HBs阳转率和GMT相关,剂量小不足以诱导高GMT反应。

4.3 对流动人口免疫管理和接种不到位 目前我国相对不固定人口近亿万之多,对某个城市固定人口而言,他们是暂居或外来或流动人口,其HBV疫苗接种率显著低于固定人口^[47],由于这些流动人口大部分来自高HBV流行区的农村甚或来自经济落后出生后多未接种过HBV疫苗的边远乡村或山区,HBV感染率及慢性携带率均较高,其中部分人既是HBV携带者又是HBV传染源/者。该人群中除少部分人接受有关部门或单位的免疫监管外,大部分接种情况取决于其对HB及其免疫的认识水平或工作需要。他们的生活条件相对较差,既是经济上的弱势群体,又是HBV传播的重要人群,他们也是接种的重点对象之一。

4.4 HB免疫地区等差异大 由于不同地区经济及医疗卫生等发展不平衡,造成HB免疫覆盖率、首针及时接种率、全程接种完成率差别较大,该“三”率城市高于农村,富裕地区高于贫困地区,平原高于山区,在医院分娩高于在家分娩者。贫困地区因贫困未接种者众多^[48],其感染或携带HBV亦多,因HB治疗致生活质量下降者相应增加。如此循环,成为我国及部分发展中国家部分国民素质提高慢、脱贫慢的原因之一。然而用于HB免疫的财政支出明显不足,即便是经济条件较好的地区督察管理亦不到位,甚至国家免费提供给新生儿接种的HBV疫苗亦收费,远不及解放后前20 a对疟疾、天花、血吸虫、

性病等传染病免疫管理的力度和财政支持强度以及各级工作人员认真和敬业精神。欲缩小这些差别需政府和相关部门下大力从预防HB宣传到财力支持及有成效的管理和免疫计划的系统实施等各个环节层层把关,人人尽责,步步到位。

4.5 新生儿、婴幼儿免疫接种率下降 在实行HBV疫苗免疫的头10 a,美欧等一些国家新生儿、婴幼儿HB发病率、HBV携带率稳步而快速下降,但进入本世纪以来,婴儿、儿童接种率不到1/4^[47]。我国目前尚未达到覆盖所有新生儿的免疫水平,暂未出现接种松懈现象,但上海、北京等地接种覆盖率及持续时间已与美欧等相当,故需戒之。

4.6 HB免疫与HBV感染发病统计问题 我国各省、市、县等对HB免疫情况尚无系统而准确的统计资料,除某些特定的观察研究资料外基本上是各有关防疫部门、部分医疗机构采集的哨点数据。免疫人群多无具体登记或登记不全,不能反应全国或某一区域的详细免疫情况,这对我国HB免疫及其效果评价及进一步预防措施的采取极为不利。此外,HBV标志阳性者疫卡报告统计数远低于实际阳性数,其原因主要是有关人员有意或无意漏报及HB患者(携带者)不配合(不愿告诉有关信息)而无法上报等。即便是如实报告,亦仅起作为数字统计作用而已。对HB患者或携带者未采取任何措施,更未追踪调查其家族或周边人员免疫情况。理论上这些人的家庭成员及其密切接触者均为高危人群而应立即予接种,而实际上除医师提醒、动员外,几乎无人过问,他们接种与否取决于他们自己。这些问题不解决,疫卡上报的价值将大打折扣,我国人民摆脱HBV的侵袭的日子将很长。

5 参考文献

- 1 Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 395-403
- 2 庄辉. 加强对新生儿以外人群乙型肝炎疫苗免疫. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 376
- 3 Acute hepatitis B among children and adolescents--United States, 1990-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53: 1015-1018
- 4 Skifte TB. Childcare immunization programme--to what extent are children covered by vaccinations in Greenland? *Int J Circumpolar Health* 2004; 63 Suppl 2: 252-255
- 5 Whittle H, Jaffar S, Wansbrough M, Mendy M, Dumpis U, Collinson A, Hall A. Observational study of vaccine efficacy 14 years after trial of hepatitis B vaccination in Gambian children. *BMJ* 2002; 325: 569
- 6 Incidence of acute hepatitis B--United States,

- 1990-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 52: 1252-1254
- 7 Joshi N, Kumar A, Raghu MB, Bhav S, Arulprakash R, Bhusari P, Rao R. Immunogenicity and safety of hepatitis B vaccine (Shanvac-B) using a novel pre-filled single use injection device Uniject in Indian subjects. *Indian J Med Sci* 2004; 58: 472-477
- 8 Luman ET, Fiore AE, Strine TW, Barker LE. Impact of thimerosal-related changes in hepatitis B vaccine birth-dose recommendations on childhood vaccination coverage. *JAMA* 2004; 291: 2351-2358
- 9 Denis F. Hepatitis B vaccination in France: vaccination coverage in 2002. *Bull Acad Natl Med* 2004; 188: 115-123
- 10 刘崇柏, 苏崇鳌. 中国乙型肝炎疫苗免疫及存在的问题. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 377-377
- 11 龚晓江, 王富珍, 李辉, 刘立荣, 李阳桦, 王宝兰, 李立琴, 张震, 韩庆英, 唐耀武. 北京市儿童乙型肝炎疫苗接种12年后免疫效果观察. *中华预防医学杂志* 2005; 39: 265-268
- 12 余滨, 王夏, 韩荣华, 陈载超, 陈再芳. 武汉市近10年1-3岁儿童乙型肝炎疫苗接种率和乙型肝炎病毒表面抗原携带率调查及发病率分析. *中国计划免疫* 2005; 11: 117-119
- 13 吴为寿, 孙超美, 姜民波, 张国华, 周宁, 欧阳佩英, 王萱怡, 徐志一. 乙型肝炎免疫预防持续效果探讨(18 a随访结果). *中国计划免疫* 2005; 11: 204-207
- 14 张海艳, 崔玲玲, 马立宪. 北京市东城区423名儿童乙型肝炎疫苗后血清学调查. *疾病监测* 2005; 20: 65-67
- 15 Ranger-Rogez S, Denis F. Hepatitis B mother-to-child transmission. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004; 2: 133-145
- 16 段文斌, 王伯良, 周小平, 仲月霞. 乙肝免疫球蛋白和乙肝疫苗联合阻断宫内感染的疗效观察. *第四军医大学学报* 2005; 26: 191-192
- 17 Adibi P, Ghassemian R, Alavian SM, Ranjbar M, Mohammadalizadeh AH, Nematizadeh F, Mamani M, Rezazadeh M, Keramat F, Ardalan A, Esmaili A, Zali MR. Effectiveness of hepatitis B vaccination in children of chronic hepatitis B mothers. *Saudi Med J* 2004; 25: 1414-1418
- 18 李艳萍, 李荣成, 杨进业, 李琼池, 农艺, 李坚龙, 徐桂生, 梁争论, 吴晓英, 李河民. 重组(酵母)乙型肝炎疫苗阻断乙型肝炎病毒母婴传播和加强免疫效果-9 a随访观察. *中国计划免疫* 2005; 11: 83-85
- 19 Lu CY, Chiang BL, Chi WK, Chang MH, Ni YH, Hsu HM, Twu SJ, Su IJ, Huang LM, Lee CY. Waning immunity to plasma-derived hepatitis B vaccine and the need for boosters 15 years after neonatal vaccination. *Hepatology* 2004; 40: 1415-1420
- 20 林静聆, 许岸高, 袁建寰, 刘集鸿, 李浩生. 预防免疫对乙型肝炎父婴传播的初步研究. *中国实用妇科与产科杂志* 2004; 20: 91-92
- 21 Boxall EH, A Sira J, El-Shuhkri N, Kelly DA. Long-term persistence of immunity to hepatitis B after vaccination during infancy in a country where endemicity is low. *J Infect Dis* 2004; 190: 1264-1269
- 22 都玉兰, 龚晓红. 北京市非新生儿乙型肝炎的疫苗预防. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 381-384
- 23 中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华传染病杂志* 2005; 23: 421-431
- 24 李河民, 梁争论, 张华远. 关于乙型肝炎疫苗免疫原性的评价. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 378-381
- 25 Fisman DN, Agrawal D, Leder K. The effect of age on immunologic response to recombinant hepatitis B vaccine: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 1368-1375
- 26 Rich JD, Ching CG, Lally MA, Gaitanis MM, Schwartzapfel B, Charuvastra A, Beckwith CG, Flanagan TP. A review of the case for hepatitis B vaccination of high-risk adults. *Am J Med* 2003; 114: 316-318
- 27 朱胜春. 护士职业防护现状调查分析与对策. *天津护理* 2005; 13: 36-37
- 28 Jain N, Yusuf H, Wortley PM, Euler GL, Walton S, Stokley S. Factors associated with receiving hepatitis B vaccination among high-risk adults in the United States: an analysis of the National Health Interview Survey, 2000. *Fam Med* 2004; 36: 480-486
- 29 张智淦, 陈静. 烹饪专业大学生HBVM阳性率调查. *预防医学情报杂志* 2004; 20: 119-121
- 30 熊文辉, 翁倍兰. 深圳市龙岗区食品公共场所从业人员病毒性肝炎相关知识及行为分析. *职业与健康* 2005; 21: 556-557
- 31 黄榕卿. 13319名食品及公共场所从业人员HBsAg、HBeAg携带情况分析. *中国初级卫生保健* 2004; 18: 70
- 32 许宏建, 岑永珍, 刘芳兰, 孟瑞琳, 何由成, 刘少梅. 广州市服务行业从业人员健康调查. *热带医学杂志* 2004; 4: 430-431
- 33 Verkade MA, van de Wetering J, Klepper M, Vaessen LM, Weimar W, Betjes MG. Peripheral blood dendritic cells and GM-CSF as an adjuvant for hepatitis B vaccination in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2004; 66: 614-621
- 34 Kayatas M. Levamisole treatment enhances protective antibody response to hepatitis B vaccination in hemodialysis patients. *Artif Organs* 2002; 26: 492-496
- 35 Nothdurft HD, Dietrich M, Zuckerman JN, Knobloch J, Kern P, Vollmar J, Sanger R. A new accelerated vaccination schedule for rapid protection against hepatitis A and B. *Vaccine* 2002; 20: 1157-1162
- 36 Transmission of hepatitis B virus in correctional facilities-Georgia, January 1999-June 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53: 678-681
- 37 Hepatitis B vaccination of inmates in correctional facilities-Texas, 2000-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53: 681-683
- 38 Samoff E, Dunn A, VanDevanter N, Blank S, Weisfuse IB. Predictors of acceptance of hepatitis B vaccination in an urban sexually transmitted diseases clinic. *Sex Transm Dis* 2004; 31: 415-420
- 39 Sansom S, Rudy E, Strine T, Douglas W. Hepatitis A and B vaccination in a sexually transmitted disease clinic for men who have sex with men. *Sex Transm Dis* 2003; 30: 685-688
- 40 Gilbert RL, Costella A, Piper M, Gill ON. Increasing hepatitis B vaccine coverage in prisons in England and Wales. *Commun Dis Public Health* 2004; 7: 306-311
- 41 Wu GY, Gong YL, Yu SL, Shao RT, Qin HJ. Study on the cost-effectiveness, benefit and utility analysis on the infant inoculation hepatitis B vaccine in Shanghai. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2004; 25: 474-478
- 42 齐亚莉, 王富珍, 龚晓红, 潘利, 曾宪嘉, 李辉. 北京市乙肝疫苗不同加强免疫和产前筛查方案的卫生经济学评价. *疾病控制杂志* 2004; 8: 393-395
- 43 蒋联, 殷向明. 江苏油田成人乙肝疫苗接种9 a成本效益分析. *职业与健康* 2005; 21: 649-650
- 44 Navas E, Salleras L, Gisbert R, Dominguez A, Bruguera M, Rodriguez G, Gali N, Prat A. Efficiency

- of the incorporation of the hepatitis A vaccine as a combined A+B vaccine to the hepatitis B vaccination programme of preadolescents in schools. *Vaccine* 2005; 23: 2185-2189
- 45 徐陈槐, 黄晓燕, 刘克洲, 陈智, 李筠, 王培鑫, 章明太. 乙型肝炎疫苗母婴阻断失败与乙型肝炎病毒S基因变异. *中华传染病杂志* 2002; 20: 33-36
- 46 Basuni AA, Butterworth L, Cooksley G, Locarnini S, Carman WF. Prevalence of HBsAg mutants and impact of hepatitis B infant immunisation in four Pacific Island countries. *Vaccine* 2004; 22: 2791-2799
- 47 Wright NM, Campbell TL, Tompkins CN. Comparison of conventional and accelerated hepatitis B immunisation schedules for homeless drug users. *Commun Dis Public Health* 2002; 5: 324-326
- 48 Middleman AB. Race/ethnicity and gender disparities in the utilization of a school-based hepatitis B immunization initiative. *J Adolesc Health* 2004; 34: 414-419

电编 李琪 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2007 中华肝胆胰脾外科(国际)学术论坛征文通知

本刊讯 “2007中华肝胆胰脾外科(国际)论坛”应澳门特区外科学会的盛情邀请于2007-04-13/16在澳门举办, 现将征文通知公布如下:

1 征文内容

(1)肝癌诊断及外科与综合治疗: 新诊断技术-可切除与否的界定-综合治疗与序贯化思路-对复发转移的研究进展-微创技术实际应用的可能性; (2)医源性胆管损伤的预防-胆管下端功能状态对修复及重建的影响-肝胆管结石外科治疗的新经验-肝门胆管癌根治性切除的实施与效果; (3)胰腺炎-重症急性、出血坏死性、“凶险性”-治疗中早期复苏的策略与实施-相关并发症的预防和处理; (4)胰腺癌-早期诊断的思路与进展-根治术在当前的含义和尺度-术前减黄与并发症的处理; (5)脾功能研究进展-保脾和切脾含义和抉择-PH时单纯切脾的指征与价值; (6)肝移植-应用指征的决策-供肝切取与保存-技术性与非技术性并发症-再移植-远期存活的努力.

2 投稿要求及截稿日期

来稿请寄未曾公开发表过4000字以内全文及800字论文摘要各1份(无摘要不入汇编)并在信封上注明“会议征文”. 截稿日期: 2007-01-31. 正式代表发论文证书并授一级继续教育学分. 来稿请寄: 《中华肝胆外科杂志》编辑部.

3 联系方式

地址: 北京市复兴路28号; 邮编: 100853; 电话: 010-66936223; 电传: 010-68177009; E-mail: zhgdwkzz@vip.163.com; 详情请登陆网站: www.zhgdwkzz.net.

Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位反义核酸逆转胃癌细胞多药耐药

韩全利, 张希东, 丁杰, 金晓维, 杨玲, 王新, 张学庸, 樊代明

■背景资料

肿瘤细胞的多药耐药(MDR)严重影响了肿瘤化疗的效果,是导致化疗失败的主要原因。因此,如何逆转MDR已是肿瘤研究的热点。应用反义RNA, RNAi等技术在基因水平阻断MDR相关分子的表达,从而逆转肿瘤细胞的MDR,是当前逆转肿瘤MDR的一个方向。

韩全利, 张希东, 金晓维, 杨玲, 空军总医院干部病房三区 北京市 100036

丁杰, 王新, 张学庸, 樊代明, 第四军医大学西京医院全军消化病研究所 陕西省西安市 710032

韩全利, 2003年第四军医大学博士毕业, 主要从事胃癌多药耐药的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30371623

通讯作者: 丁杰, 710032, 陕西省西安市长乐西路15号, 第四军医大学西京医院全军消化病研究所。 hanquanli@21cn.com

电话: 029-84775230 传真: 029-82539041

收稿日期: 2006-07-04 接受日期: 2006-08-10

Reversal of multidrug resistance in gastric cancer cell line by Ss-A/Ro ribonucleoprotein 60-ku subunit antisense nucleic acid

Quan-Li Han, Xi-Dong Zhang, Jie Ding, Xiao-Wei Jin, Ling Yang, Xin Wang, Xue-Yong Zhang, Dai-Ming Fan

Quan-Li Han, Xi-Dong Zhang, Xiao-Wei Jin, Ling Yang, Department of Geratology, General Hospital of Chinese PLA Air Force, Beijing 100036, China

Jie Ding, Xin Wang, Xue-Yong Zhang, Dai-Ming Fan, Department of Gastroenterology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30371623

Correspondence to: Dr. Jie Ding, Department of Gastroenterology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. hanquanli@21cn.com

Received: 2006-07-04 Accepted: 2006-08-10

Abstract

AIM: To investigate the possible function of Ro 60 antisense nucleic acid in multidrug resistant cell line of gastric cancer.

METHODS: Ro 60 antisense eukaryotic expression vector was constructed using DNA recombination technique, then transfected into SGC7901-VCR by LipofectamineTM2000. Drug sensitivity assay was performed using MTT assay, and IC₅₀ values of gastric cancer cells to chemotherapy drugs were calculated. The intracellular accumulation of adriamycin in gastric cancer cells was measured using fluorescence-

activated cell sorting.

RESULTS: The expression level of Ro 60 in SGC7901-VCR cells was decreased after transfection with antisense genes. *In vitro* drug sensitivity assay show that SGC7901-VCR cells transfected with Ro 60 antisense genes showed significantly increased sensitivity to vincristine (IC₅₀: 7.66 ± 0.45 mg/L vs 19.56 ± 0.38, 17.48 ± 0.85 mg/L, *P* < 0.01), mitomycin (IC₅₀: 0.84 ± 0.03 mg/L vs 1.62 ± 0.06, 1.80 ± 0.03 mg/L, *P* < 0.01), cisplatin (IC₅₀: 0.51 ± 0.03 mg/L vs 0.87 ± 0.03, 0.88 ± 0.03 mg/L, *P* < 0.01) and adriamycin (IC₅₀: 0.22 ± 0.01 mg/L vs 0.52 ± 0.02, 0.43 ± 0.03 mg/L, *P* < 0.01), as compared with SGC7901-VCR and SGC7901-VCR-pcDNA3.1 cells. As showed by flow cytometry, the intracellular accumulation of adriamycin in the cells transfected with Ro 60 antisense gene was markedly increased in comparison with that in SGC7901-VCR or SGC7901-VCR-pcDNA3.1 cells (51.94 ± 1.26 mg/L vs 36.27 ± 0.98, 37.01 ± 0.91 mg/L, *P* < 0.01).

CONCLUSION: After transfected into multidrug resistant cell line of gastric cancer, Ro 60 antisense nucleic acid can inhibit the multidrug resistant phenotype of gastric cancer.

Key Words: Gastric cancer; Ss-A/Ro 60-ku subunit; Multidrug resistance; Antisense nucleic acid

Han QL, Zhang XD, Ding J, Jin XW, Yang L, Wang X, Zhang XY, Fan DM. Reversal of multidrug resistance in gastric cancer cell line by Ss-A/Ro ribonucleoprotein 60 ku subunit antisense nucleic acid. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(27):2668-2672

摘要

目的: 对Ro 60反义核酸在逆转胃癌细胞多药耐药中作用进行研究。

方法: 克隆Ro 60编码基因, 构建Ro 60编码基因的反义真核表达载体, 将其转入SGC7901细胞, 应用半定量RT-PCR技术, 对基因转染细胞进行鉴定, 通过MTT法进行体外药物敏感性分析, 借助流式细胞仪检测细胞内蓄积的阿霉素。

结果: 成功构建了Ro 60反义真核表达载体, 应用脂质体介导法将其转导入SGC7901-VCR, Ro 60反义真核表达载体转染SGC7901-VCR细胞后, Ro 60的表达量明显下降, 体外药物敏感性实验提示其对长春新碱、丝裂霉素、顺铂、阿霉素的敏感性增加, 转染反义表达载体的SGC7901-VCR细胞与未转染和转染空载体的细胞相比, IC_{50} 值(mg/L)有显著的下降(7.66 ± 0.45 vs 19.56 ± 0.38 , 17.48 ± 0.85 ; 0.84 ± 0.03 vs 1.62 ± 0.06 , 1.80 ± 0.03 ; 0.51 ± 0.03 vs 0.87 ± 0.03 , 0.88 ± 0.03 ; 0.22 ± 0.01 vs 0.52 ± 0.02 , 0.43 ± 0.03 , 均 $P < 0.01$), 细胞内阿霉素蓄积有显著的增加(51.94 ± 1.26 mg/L vs 36.27 ± 0.98 , 37.01 ± 0.91 mg/L, $P < 0.01$).

结论: Ro 60反义真核表达载体转染 SGC7901后能够抑制胃癌细胞的多药耐药表型.

关键词: 胃癌; Ss-A/Ro 60 ku亚单位; 多药耐药; 反义核酸

韩全利, 张希东, 丁杰, 金晓维, 杨玲, 王新, 张学庸, 樊代明. Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位反义核酸逆转胃癌细胞多药耐药. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2668-2672
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2668.asp>

0 引言

肿瘤细胞的多药耐药(multidrug resistance, MDR)^[1-4]是导致肿瘤化疗失败的主要原因, 逆转肿瘤细胞的耐药性是提高肿瘤化疗疗效的关键. Ss-A/Ro ribonucleoprotein 60 ku subunit(Ro 60)是在耐长春新碱的胃癌细胞系SGC7901/VCR与SGC7901的差示比较中发现在SGC7901/VCR中高表达的基因^[5], 初步研究表明, Ro 60对胃癌的MDR起到促进的作用^[6-7]. 为了深入探讨Ro 60与MDR的关系, 同时也探讨在基因水平逆转MDR的方法, 我们以SGC7901/VCR耐药细胞株为靶细胞模型, 设计针对Ro 60 mRNA的反义核酸, 进行MDR逆转实验.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞耐药亚系SGC7901/VCR由第四军医大学消化病研究所保存; RPMI 1640及胰蛋白酶购自Hyclone公司; 胎牛血清购自浙江金华公司; T4 DNA连接酶、IPTG、X-gal及dNTP购自上海生工公司; DNA胶回收试剂盒购自华舜公司; Taq酶及各种限制性DNA内切酶购自TaKaRa公司; 质粒DNA提取试剂盒购自Omega公司; Lipofectamine™2000购自Gibco 公司.

1.2 方法

1.2.1 Ss-A/Ro 60的克隆 利用RNA提取试剂盒提取SGC7901/VCR的总RNA, 逆转录制备cDNA, 以RT-PCR克隆Ro 60编码基因, 上游引物: 5' ATA ACG AGG GAG AGG AGA AAG G 3'; 下游引物: 5'GTG TCC ACC TGC ACT CCA TGT C 3', 按Taq酶说明书中反应体系行PCR反应, PCR产物行10 g/L琼脂糖凝胶电泳分离, 并以DNA胶回收试剂盒回收纯化该片段.

1.2.2 Ro 60反义表达载体的构建及转染 本研究选取了Ro 60 cDNA中1011位-1733位, 长度为723 bp的片段作为反义RNA的靶序列, 应用EcoRV, BamH I 双酶切技术克隆此片段, 然后将此片段克隆重组至真核表达载体pcDNA3.1/V5-His中, 使该片段反向连接在pcDNA3.1/V5-His载体CMV启动子的下游. 按照脂质体说明书的操作步骤, 将Ro 60反义表达载体和pcDNA3.1/V5-His空载体分别转导入对数生长中期的耐药胃癌细胞SGC7901/VCR中, 并用300 mg/L G418对转染细胞进行筛选.

1.2.3 转染细胞Ro 60基因表达的检测 应用半定量RT-PCR技术, 检测Ro 60在反义基因转染细胞及对照细胞中的表达.

1.2.4 体外药物敏感性实验 收获对数生长中期的基因转染细胞及其对照细胞, 按照每孔 10^3 接种入96孔板, 置于细胞培养箱中按常规培养; 将阿霉素(ADM)、顺铂(CDDP)、丝裂霉素(MMC)、长春新碱(VCR)按不同的浓度加入细胞中, 每个浓度设4个复孔, 继续培养72 h后, 按常规方法加入MTT及DMSO, 于490 nm处测A值, 计算细胞的存活率: 细胞存活率 = (实验组A值-空白对照组A值)/(阴性对照组A值-空白对照A值) × 100%; 同时计算细胞对每种药物的 IC_{50} 值.

1.2.5 细胞内ADM蓄积的检测 收获对数生长中期的细胞, 按照每孔 8×10^3 个细胞接种入6孔板中; 培养过夜后, 每孔加入ADM至终浓度为5 mg/L, 继续培养1 h, 收获细胞, 以PBS洗涤细胞后, 上流式细胞仪检测细胞内的ADM荧光强度^[8].

统计学处理 应用SPSS 11.0统计软件包, 对各组均数进行t检验.

2 结果

2.1 Ro 60编码基因的克隆及Ro 60反义表达载体的构建 通过对SGC7901/VCR细胞的cDNA进行PCR扩增(图1), PCR产物经与pUCm-T载体连接、转化感受态细菌, 获得了有阳性cDNA片段

■应用要点

本研究的结果表明, Ro 60可以作为逆转胃癌细胞耐药的候选分子, 具有一定的临床应用前景.

■名词解释

反义RNA技术: 根据碱基互补配对规律设计出能与靶基因特定区域结合的RNA或DNA片段, 从而阻抑从DNA到mRNA的转录或从mRNA到蛋白质的翻译过程。

表 1 Ro 60反义表达载体转染细胞及对照细胞对化疗药物的IC₅₀及细胞蓄积的ADM的平均荧光强度(mean ± SD, n = 4, mg/L)

分组	VCR	MMC	CCDP	ADM	荧光强度
SGC7901/VCR	19.56 ± 0.38	1.62 ± 0.06	0.87 ± 0.03	0.52 ± 0.02	36.27 ± 0.98
VCR-pc	17.48 ± 0.85	1.80 ± 0.03	0.88 ± 0.03	0.43 ± 0.03	37.01 ± 0.91
VCR-anti	7.66 ± 0.45 ^b	0.84 ± 0.03 ^b	0.51 ± 0.03 ^b	0.22 ± 0.01 ^b	51.94 ± 1.26 ^b

^bP<0.01 vs SGC7901/VCR, VCR-pc细胞。

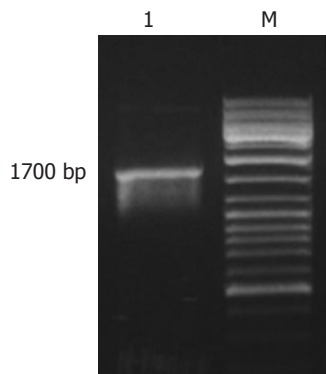


图 1 PCR产物琼脂糖凝胶电泳结果. 1: PCR产物; M: 100 bp DNA标记物。

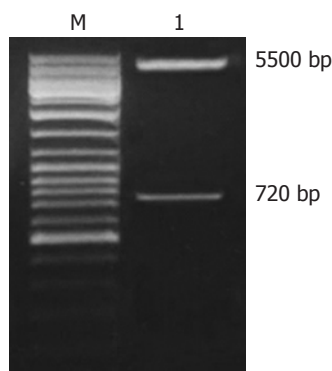


图 2 Ro 60反义表达载体的酶切鉴定结果. M: 100 bp DNA标记物; 1: pcDNA3.1-Ro 60经EcoRV, BamHI双酶切。

的重组T载体; 应用EcoRV, BamHI双酶切技术克隆Ro 60 cDNA中1011位-1733位的片段, 然后将此片段克隆重组至真核表达载体pcDNA3.1/V5-His中, 使该片段反向连接在pcDNA3.1/V5-His载体CMV启动子的下游, 并通过限制酶切技术对构建的反义表达载体进行了鉴定(图2)。

2.2 Ro 60反义表达载体的转染 将构建成功的Ro 60的反义表达载体和pcDNA3.1/V5-His空载体通过脂质体介导法分别转导入对数生长中期的耐药胃癌细胞SGC7901/VCR, 经过3 mo的G418筛选, 获得了稳定转染的抗性细胞, 分别将其命名为VCR-anti, VCR-pc。

2.3 转染细胞Ro 60表达的检测 应用半定量RT-PCR技术, 检测了Ro 60在反义基因转染细胞及

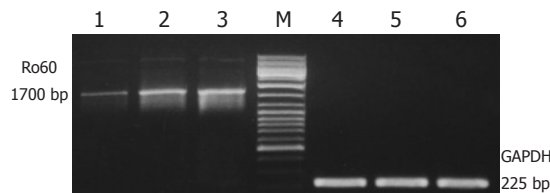


图 3 转染细胞Ro 60表达的半定量RT-PCR检测结果. 1: VCR-anti(Ro 60); 2: VCR-pc(Ro 60); 3: SGC7901/VCR(Ro 60); M: 100 bp DNA标记物; 4: VCR-anti(GAPDH); 5: VCR-pc(GAPDH); 6: SGC7901/VCR(GAPDH)。

对照细胞中的表达情况, 结果表明, 与SGC7901/VCR细胞和转染有空载体的SGC7901/VCR细胞相比, 转染有反义基因的SGC7901/VCR细胞中的Ro 60的表达量明显降低(图3)。

2.4 体外药物敏感性实验 下调Ro 60在耐药细胞SGC7901/VCR的表达, 可增加耐药细胞对VCR, MMC, CDDP和ADM的敏感性, 与SGC7901/VCR和VCR-pc细胞相比, P<0.01(表1)。

2.5 细胞内ADM蓄积的检测 流式细胞仪检测结果显示, 在反义转染细胞中, 与SGC7901/VCR细胞和SGC7901-pcDNA3.1细胞相比, SGC7901-Ro细胞内蓄积的ADM明显减低, 与SGC7901/VCR和SGC7901-pc DNA3.1细胞相比, P<0.01(表1)。

3 讨论

MDR是指肿瘤细胞对一种化疗药物产生耐药的同时, 对其他结构和作用机制不同的化疗药物也产生交叉耐药的现象, 是导致化疗失败的主要原因。因此, 如何逆转MDR已是肿瘤研究的热点。近年来, 反义RNA技术逆转MDR已有较广泛和深入的实验研究^[9-11]。其基本原理是, 根据碱基互补配对规律设计出能与靶基因特定区域结合的RNA或DNA片段, 从而阻抑从DNA到mRNA的转录或从mRNA到蛋白质的翻译过程^[12-13]。以前的研究发现, 在胃癌细胞的MDR中, 除了有P-gp, MRP, GST等经典的耐药分子参与外^[14-18], 凋亡基因的改变、蛋白激酶C以及某些离子通

道也参与了胃癌细胞MDR性的形成^[19-25]。为了深入研究胃癌细胞MDR的发生机制, 我们应用改良差示PCR技术比较了胃癌长春新碱耐药细胞SGC7901/VCR与药敏细胞SGC7901基因表达的差异, 结果表明, 与药敏细胞SGC7901相比, Ro 60在耐药细胞SGC7901/VCR中的表达明显上调。人Ro 60基因定位于1号染色体1q31, cDNA全长为1890 bp, 编码525个氨基酸残基, 分子量为60 kDa^[26-27]。Ro 60是多种自身免疫性疾病^[28], 如系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合症等疾病的自身抗原。Ro 60是一种RNA结合蛋白, 目前Ro 60的功能一直不是很清楚^[29-30], 初步研究表明, Ro 60对胃癌的MDR起到促进的作用。因此, 我们以SGC7901/VCR耐药细胞株为靶细胞模型, 设计针对Ro 60 mRNA的反义核酸, 进行MDR逆转实验, 探讨在基因水平逆转MDR的方法。

通过基因克隆、基因重组和转染, 我们获得了Ro 60反义基因转染的细胞, 应用半定量RT-PCR技术, 检测了Ro 60在反义基因转染细胞及对照细胞中的表达, 结果表明, SGC7901/VCR细胞转染Ro 60反义表达载体后其Ro 60表达下降, 表明我们成功构建了Ro 60表达下调的SGC7901/VCR细胞。体外药敏实验结果表明, 下调Ro 60在耐药细胞SGC7901/VCR的表达后, 细胞对VCR, MMC, CDDP及ADM的敏感性明显增加, 表明Ro 60在SGC7901/VCR细胞表达下调后SGC7901/VCR对多种化疗药物的耐药性减低。流式细胞仪检测结果表明, Ro 60反义基因转染的细胞后, 其细胞内蓄积的ADM明显增加, 这提示Ro 60反义核酸可以提高细胞内的药物蓄积, 使ADM累积增加, 细胞对ADM敏感性升高, 可能通过恢复MDR细胞的药物蓄积能力而恢复化疗药物对肿瘤的杀伤能力, 不同程度地使已产生耐药肿瘤细胞的MDR表型发生逆转。

本研究的结果进一步支持了Ro 60基因促进胃癌细胞的MDR表型这一观点, 同时也表明了反义核酸是一种对逆转肿瘤细胞MDR有效的特异性方法, Ro 60可以作为逆转胃癌细胞耐药的候选分子, 具有一定的临床应用前景。

4 参考文献

- 1 Roepe PD. The role of the MDR protein in altered drug translocation across tumor cell membranes. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1241: 385-405
- 2 Deng L, Tatebe S, Lin-Lee YC, Ishikawa T, Kuo MT. MDR and MRP gene families as cellular determinant factors for resistance to clinical

- 3 anticancer agents. *Cancer Treat Res* 2002; 112: 49-66
- 4 Luqmani YA. Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Med Princ Pract* 2005; 14 Suppl 1: 35-48
- 5 Sawicka M, Kalinowska M, Skierski J, Lewandowski W. A review of selected anti-tumour therapeutic agents and reasons for multidrug resistance occurrence. *J Pharm Pharmacol* 2004; 56: 1067-1081
- 6 Wang X, Lan M, Shi YQ, Lu J, Zhong YX, Wu HP, Zai HH, Ding J, Wu KC, Pan BR, Jin JP, Fan DM. Differential display of vincristine-resistance-related genes in gastric cancer SGC7901 cell. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 54-59
- 7 韩全利, 丁杰, 郭长存, 王新, 乔泰东, 张学庸, 樊代明. Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位及其变异体在耐药胃癌细胞中的表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2278-2790
- 8 韩全利, 丁杰, 张龙方, 郭长存, 王新, 乔泰东, 张学庸, 樊代明. Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位在胃癌MDR中的作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 256-260
- 9 郑国强, 韩复生, 刘叙仪, 徐光伟. 流式细胞分析在阿霉素耐药性研究中的重要作用. *中华医学检验杂志* 1997; 20: 16-19
- 10 Chan JY, Chu AC, Fung KP. Inhibition of P-glycoprotein expression and reversal of drug resistance of human hepatoma HepG2 cells by multidrug resistance gene (mdr1) antisense RNA. *Life Sci* 2000; 67: 2117-2124
- 11 Haga S, Hinoshita E, Ikezaki K, Fukui M, Scheffer GL, Uchiumi T, Kuwano M. Involvement of the multidrug resistance protein 3 in drug sensitivity and its expression in human glioma. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 211-219
- 12 Kornmann M, Danenberg KD, Arber N, Beger HG, Danenberg PV, Korc M. Inhibition of cyclin D1 expression in human pancreatic cancer cells is associated with increased chemosensitivity and decreased expression of multiple chemoresistance genes. *Cancer Res* 1999; 59: 3505-3511
- 13 Agrawal S, Zhao Q. Antisense therapeutics. *Curr Opin Chem Biol* 1998; 2: 519-528
- 14 Pierce EA, Liu Q, Igoucheva O, Omarrudin R, Ma H, Diamond SL, Yoon K. Oligonucleotide-directed single-base DNA alterations in mouse embryonic stem cells. *Gene Ther* 2003; 10: 24-33
- 15 Ferte J. Analysis of the tangled relationships between P-glycoprotein-mediated multidrug resistance and the lipid phase of the cell membrane. *Eur J Biochem* 2000; 267: 277-294
- 16 Boumendjel A, Baubichon-Cortay H, Trompier D, Perrotton T, Di Pietro A. Anticancer multidrug resistance mediated by MRP1: recent advances in the discovery of reversal agents. *Med Res Rev* 2005; 25: 453-472
- 17 Mealey KL. Therapeutic implications of the MDR-1 gene. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27: 257-264
- 18 Mizutani T, Hattori A. New horizon of MDR1 (P-glycoprotein) study. *Drug Metab Rev* 2005; 37: 489-510
- 19 Asakura T, Ohkawa K. Chemotherapeutic agents that induce mitochondrial apoptosis. *Curr Cancer Drug Targets* 2004; 4: 577-590
- 20 Zhao Y, You H, Liu F, An H, Shi Y, Yu Q, Fan D. Differentially expressed gene profiles between multidrug resistant gastric adenocarcinoma cells and their parental cells. *Cancer Lett* 2002; 185: 211-218

- 20 Zhao Y, Xiao B, Chen B, Qiao T, Fan D.

■同行评价

该研究通过克隆编码基因、构建其反义真核表达载体、半定量RT-PCR及基因转染细胞等多项先进的分子生物学技术, 探讨了Ro 60在基因水平逆转肿瘤细胞多药耐药的可行性, 对于揭示Ro 60基因逆转肿瘤细胞耐药性的机制具有重要的理论价值, 同时对提高肿瘤化疗疗效也有一定的临床指导意义。课题设计新颖, 科学性较强, 研究方法先进, 结论客观可信, 具有较高的学术价值。

- Upregulation of drug sensitivity of multidrug-resistant SGC7901/VCR human gastric cancer cells by bax gene transduction. *Chin Med J (Engl)* 2000; 113: 977-980
- 21 韩英, 时永全, 曹云新, 樊代明. 蛋白激酶C的激活剂及抑制剂对P-糖蛋白表达及功能的影响. *中华消化杂志* 2001; 21: 349-352
- 22 Xiao B, Shi YQ, Zhao YQ, You H, Wang ZY, Liu XL, Yin F, Qiao TD, Fan DM. Transduction of Fas gene or Bcl-2 antisense RNA sensitizes cultured drug resistant gastric cancer cells to chemotherapeutic drugs. *World J Gastroenterol* 1998; 4: 421-425
- 23 时永全, 肖冰, 苗继延, 赵燕秋, 尤涵, 樊代明. 构建fas基因真核表达载体逆转胃癌耐药细胞MDR表型. *世界华人消化杂志* 1999; 7: 309-312
- 24 韩英, 时永全, 李玲, 樊代明. 蛋白激酶C同工酶PKC- α 及PKC- β I在胃癌及其耐药细胞中的表达和功能. *中华肿瘤杂志* 2001; 23: 103-106
- 25 韩英, 时永全, 张宏博, 张森利, 王春梅, 樊代明. 肿胀激活状态下蛋白激酶C同工酶亚型在胃癌耐药细胞系的亚细胞分布变化及其意义. *中华医学杂志* 2001; 81: 328-331
- 26 Ben-Chetrit E, Gandy BJ, Tan EM, Sullivan KF. Isolation and characterization of a cDNA clone encoding the 60-kD component of the human SS-A/Ro ribonucleoprotein autoantigen. *J Clin Invest* 1989; 83: 1284-1292
- 27 Chan EK, Tan EM, Ward DC, Matera AG. Human 60-kDa SS-A/Ro ribonucleoprotein autoantigen gene (SSA2) localized to 1q31 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 1994; 23: 298-300
- 28 von Muhlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24: 323-358
- 29 O'Brien CA, Wolin SL. A possible role for the 60-kD Ro autoantigen in a discard pathway for defective 5S rRNA precursors. *Genes Dev* 1994; 8: 2891-2903
- 30 Shi H, O'Brien CA, Van Horn DJ, Wolin SL. A misfolded form of 5S rRNA is complexed with the Ro and La autoantigens. *RNA* 1996; 2: 769-784

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

国际肝胆胰协会中国分会第二届全国学术研讨会 暨第三届全国普通外科主任论坛通知

本刊讯 第二届国际肝胆胰协会中国分会学术会议将于2006-10在武汉举行。

在各方面的大力支持下, 国际肝胆胰协会中国分会第一届学术研讨会已于2004-12在武汉成功举办, 与会代表一千余人, 中国人大副委员长吴阶平院士、国际肝胆胰前主席刘允怡教授、Jim Tooli教授, 国际肝胆胰协会候任主席Büechler教授和欧洲肝胆胰协会主席Broelsch教授等亲自到会。会议受到国内外专家及到会代表的一致赞赏, 并受到国际肝胆胰协会的通报好评, 会议取得巨大成功。

第二届会议将邀请国内外著名专家做专题讲座, 针对国际国内肝胆胰外科进展及近年来的热点、难点问题进行讨论; 并交流诊治经验, 推广新理论、新技术、新方法, 了解国内外肝胆胰疾病诊断、治疗发展趋势; 同时放映手术录像。大会热烈欢迎全国各地肝胆胰领域的内科、外科、影像科各级医师以及科研人员积极投稿和报名参加。

会议同时召开第三届全国普外科主任论坛, 因此也欢迎从事医疗卫生管理的各级医院正、副院长及正、副主任积极投稿和报名参加。

本次会议已列入2006年国家继续医学教育项目, 参会代表均授予国家级继续医学教育学分10分。

来稿要求: 寄全文及500-800字论文摘要, 同时寄论文的软盘一份或发电子邮件。以附件的形式发送至 chenxp@medmail.com.cn, 也可将稿件打印后寄至: 武汉市解放大道1095号, 武汉华中科技大学附属同济医院肝胆胰外科研究所张志伟、黄志勇副教授(收), 邮编: 430030; 联系电话: 027-83662599。

受体血预先经门静脉输入供体延长肝移植大鼠生存时间

王凤山, 山口康雄, 古桥隆, 张佳林, 程颖, 刘永锋

王凤山, 张佳林, 程颖, 刘永锋, 中国医科大学附属第一医院器官移植研究所 辽宁省沈阳市 110001

山口康雄, 古桥隆, 日本熊本大学医学部消化器外科

王凤山, 1996年获中国医科大学外科博士学位, 主要从事外科及器官移植的基础和临床研究.

辽宁省教育厅高等学校科学研究项目, No. 05L496

教育部留学回国人员科研启动基金资助项目, 教外司留[2005]383号

通讯作者: 王凤山, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院器官移植研究所.

wangfs2006@yahoo.com.cn

电话: 024-83283308

收稿日期: 2006-07-21 接受日期: 2006-08-10

Prolonged survival of rat hepatic allograft after pretransplant intraportal infusion of recipient blood to the donor

Feng-Shan Wang, Yasuo Yamaguchi, Takashi Furuhashi, Jia-Lin Zhang, Ying Cheng, Yong-Feng Liu

Feng-Shan Wang, Jia-Lin Zhang, Ying Cheng, Yong-Feng Liu, Organ Transplant Unit, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Yasuo Yamaguchi, Takashi Furuhashi, Department of Digestive Surgery, Kumamoto University Medical School, Kumamoto 860 Japan

Supported by the Science Research Programs of Education Department of Liaoning Province, No. 05L496, and the Returned Oversea Student Research Program Foundation from Ministry of Education of China, No. [2005]383

Correspondence to: Dr. Feng-Shan Wang, Organ Transplant Unit, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. wangfs2006@yahoo.com.cn

Received: 2006-07-21 Accepted: 2006-08-10

Abstract

AIM: To investigate the effect of pretransplant intraportal administration of recipient blood into the donor on the survival of rat hepatic allograft.

METHODS: Male LEW (RT1) and ACI (RT1^a) rats were used as liver transplant recipients and donors, respectively. In experimental group, 7 d prior to transplantation, ACI donors were anesthetized with ether and transfused with freshly heparinized LEW recipient blood (1 mL) via the portal vein. In control group, the rats only re-

ceived 1 mL normal saline 7 d before transplantation. The serum levels of interferon- γ (IFN- γ) were determined after transplantation. Immuno-competent cells from the donors were identified with anti-donor class II MHC (RT1B^a) (OX-76) antibodies. The number of donor-derived CD4⁺ and CD8⁺ T cells in hepatic allograft or recipient spleen was examined. Reverse transcription-polymerase chain reaction was used to detect the mRNA expression of cytokines in the allograft.

RESULTS: LEW rats transplanted with hepatic allograft from ACI rats survived a mean of 11.1 ± 2.1 days. Intraportal preadministration of recipient LEW blood significantly increased the survival of LEW recipients with ACI livers to 31.7 ± 7.6 days ($P < 0.05$). The serum level of IFN- γ was significantly increased in the experimental group as compared with that in the control group. Cellular infiltration of the hepatic allograft in experimental group was significantly lower than that in the control group. The ratio of OX76⁺CD4⁺ or OX76⁺CD8⁺ T cells to CD4⁺ or CD8⁺ cells was significantly greater in hepatic allograft pretreated with LEW recipient blood than that in the controls (OX76⁺CD4⁺ cells: 25.6% vs 6.2%, $P < 0.05$; OX76⁺CD8⁺ cells: 26.6% vs 7.4%, $P < 0.05$), but not in recipient spleen. OX76⁺CD8⁺ T cells from hepatic allograft in the experimental group expressed IFN- γ and interleukin-10 mRNA, but not interleukin-2 mRNA.

CONCLUSION: Pretransplant intraportal infusion of recipient blood to the donor rats prolonged the survival of hepatic allograft, which may be associated with the regional graft-versus-host reaction.

Key Words: Hepatic allograft; Tolerance; Rats; Rejection

Wang FS, Yamaguchi Y, Furuhashi T, Zhang JL, Cheng Y, Liu YF. Prolonged survival of rat hepatic allograft after pretransplant intraportal administration of recipient blood to the donor. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(27):2673-2678

摘要

目的: 探讨受体全血预先经门静脉输入供体

■背景资料

肝移植已经成为治疗各种终末期肝病公认的有效手段. 尽管有效免疫抑制剂的广泛应用大大改善了临床肝移植的预后, 但免疫排斥反应依然是影响移植患者长期存活及生存质量的关键问题. 如果能实现供者特异性免疫抑制, 而同时保留受者免疫系统的全部功能, 即移植耐受, 一直是研究者不断追求的目标.

■创新亮点

本文报道了受体全血预先经门静脉输入供体对大鼠肝移植排斥反应的作用,探讨新的肝移植免疫耐受诱导方法。研究表明,受体血预先经门静脉输入供体,可以延长异系大鼠肝移植生存时间,诱导供体来源的活化T淋巴细胞增殖,抑制了受体T淋巴细胞的排斥作用。

对大鼠肝移植排斥反应的作用。

方法: 采用异系大鼠肝移植模型,供体为ACI大鼠,受体为LEW大鼠。将实验组受体大鼠全血1 mL经门静脉输入供体肝内,7 d后将处理后的供体肝脏移植于受体。经门静脉将生理盐水1 mL输入对照组供体肝内,7 d后将此供体肝脏移植于受体。观察大鼠生存时间,分期分批处死大鼠,从移植肝及受体脾分离T淋巴细胞,测定移植肝及受体脾内中供体来源活化T淋巴细胞的比例,检测细胞因子mRNA的表达。

结果: 肝移植大鼠生存时间: 实验组 31.7 ± 7.6 d, 对照组 11.1 ± 2.1 d。两组差异显著($P < 0.05$)。移植后7 d从移植肝分离的浸润T淋巴细胞分析结果: 实验组OX76⁺CD4⁺细胞25.6%, OX76⁺CD8⁺细胞26.6%; 对照组OX76⁺CD4⁺细胞6.2%, OX76⁺CD8⁺细胞7.4%。实验组移植肝内有大量供体来源的活化T淋巴细胞。实验组肝内OX76⁺CD8⁺细胞可见IL-10 mRNA及IFN- γ mRNA的表达。

结论: 受体血预先经门静脉输入供体,可以延长异系大鼠肝移植生存时间。有限的移植物抗宿主反应,可能是这种肝移植排斥反应抑制的机制。

关键词: 肝移植; 免疫耐受; 大鼠; 排斥反应

王凤山, 山口康雄, 古桥隆, 张佳林, 程颖, 刘永锋。受体血预先经门静脉输入供体延长肝移植大鼠生存时间。世界华人消化杂志 2006;14(27):2673-2678

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2673.asp>

0 引言

肝移植已经成为治疗各种终末期肝病公认的有效手段,全球已累计实施肝移植近十万例,5 a人/移植肝生存率为74.2%/66.1%。尽管有效免疫抑制剂的广泛应用大大改善了临床肝移植的预后,但免疫排斥反应依然是影响移植患者长期存活及生存质量的关键问题。长期应用非特异性的免疫抑制剂造成显著的并发症发生率和较高的死亡率,特别是引起严重感染和恶性肿瘤。如果能实现供者特异性免疫抑制,而同时保留受者免疫系统的全部功能,即移植耐受,可以避免因长期应用非特异性的免疫抑制剂带来的诸多问题。纯系啮齿类动物实验研究提示,肝移植比较容易诱导免疫耐受,但免疫耐受机制尚不十分明确^[1-4]。移植后供体与受体微嵌合的形成、Th2型辅助T淋巴细胞的优势以及供体树突细胞向

受体淋巴器官的迁移等可能是产生免疫耐受的部分机制^[5-11]。本研究将受体全血预先经门静脉输入供体,然后进行异系大鼠肝移植,探讨该方法对大鼠肝移植排斥反应的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 采用异系大鼠原位肝移植模型^[12]。供体为 δ ACI大鼠(RT1^a),体质量220-250 g。受体为 δ LEW大鼠(RT1),体质量220-250 g。麻醉为持续乙醚吸入麻醉。分实验组($n=8$)和对照组($n=8$)。

1.2 方法 先采取实验组受体大鼠肝素化全血,将受体大鼠全血1 mL开腹经门静脉输入供体肝内。1 wk后将此供体肝脏移植于受体大鼠,采用改良的两袖套法进行原位肝移植^[12]。将对照组供体大鼠开腹,经门静脉注入生理盐水1 mL。1 wk后将此供体肝脏移植于受体大鼠。检测项目: (1)移植前检测供体肝脏的CD4⁺及CD8⁺细胞: 受体大鼠全血1 mL经门静脉输入供体肝内1 wk后,切取此肝脏,使用小鼠抗大鼠CD4及CD8抗体进行免疫组织化学染色,观察此时大鼠肝脏CD4⁺及CD8⁺细胞,并与正常大鼠肝脏对照; (2)观察肝移植大鼠生存时间,测定肝移植术后肝功能变化; (3)检测血清细胞因子: 移植后分期分批对移植大鼠采血,分离血清,使用酶联免疫试剂盒(Rat Immunoassay Kit, BioSource International, Camarillo, CA),采用ELISA法测定血清中IL-2, IFN- γ 的水平; (4)分期观测移植肝组织学变化; (5)进行移植肝内浸润T细胞分析: 移植后分期分批处死大鼠,将移植肝粉碎,提取移植肝的浸润细胞,去除红细胞,采用mAb免疫沉降法,使用小鼠抗大鼠CD4及CD8抗体,分离CD4⁺及CD8⁺细胞。用供体大鼠(ACI)MHC II类抗原特异性抗体OX-76(Serotec, Oxford, England)与CD4⁺以及CD8⁺细胞反应,再用荧光标记OX-76抗体,然后应用流式细胞仪(Becton Dickinson, Mountain View, CA)检测移植肝的CD4⁺以及CD8⁺细胞中OX-76阳性细胞的比例,即来源于供体的CD4⁺及CD8⁺细胞的比例; (6)进行移植后受体脾内T细胞分析: 移植后分期分批将受体脾脏粉碎,提取脾淋巴细胞,用同样方法分离CD4⁺及CD8⁺细胞,用供体大鼠(ACI)OX-76与CD4⁺以及CD8⁺细胞反应,再用荧光标记OX-76抗体,然后应用流式细胞仪检测脾的CD4⁺以及CD8⁺细胞中OX-76阳性细胞的比例,即检测受体脾中来源于供体的CD4⁺及CD8⁺细胞的比例; (7)检测移植肝内浸润T细胞的细胞因子mRNA表达: 分离OX76⁺CD8⁺细胞后,从

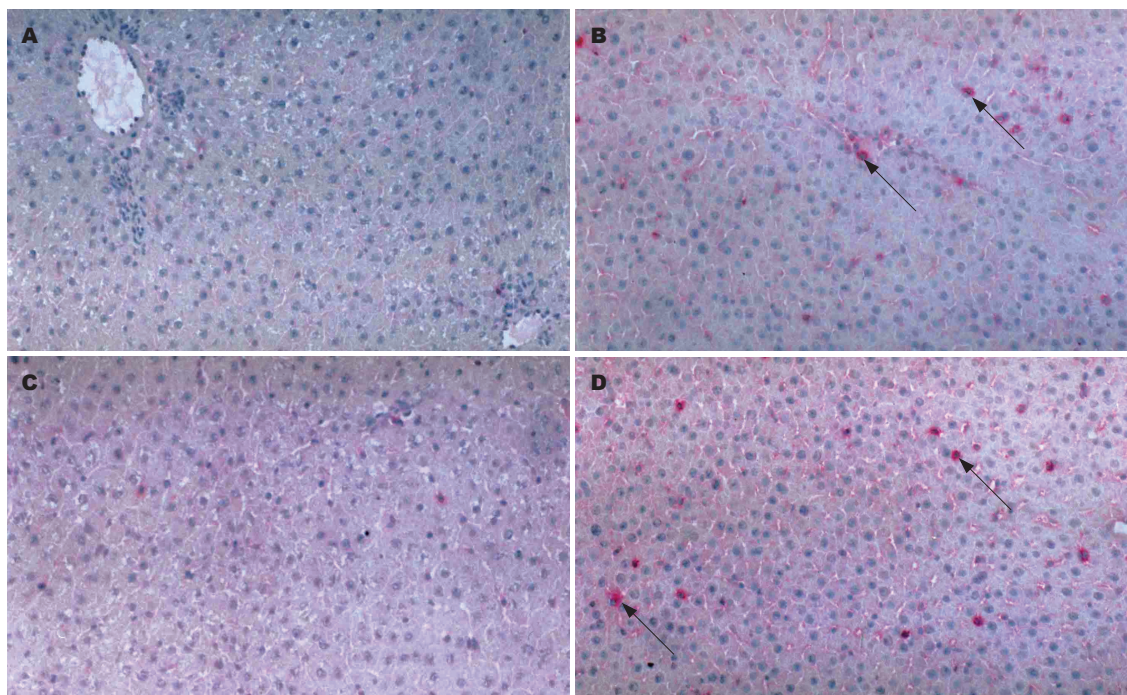


图 1 移植前供体肝脏的CD4⁺及CD8⁺细胞表达(免疫组织化学染色×200). A: CD4正常对照; B: CD4⁺细胞表达; C: CD8正常对照; D: CD8⁺细胞表达.

同行评价

作者采用异系大鼠肝移植模型, 将受体大鼠血经门静脉输入供体肝内后的行肝脏移植, 观察到接受受体鼠血输注的供体肝的大鼠生存时间明显长于对照组, 结论认为移植物抗宿主反应可能是延长这种肝移植生存时间的机制. 该研究有一定创新性和科学价值.

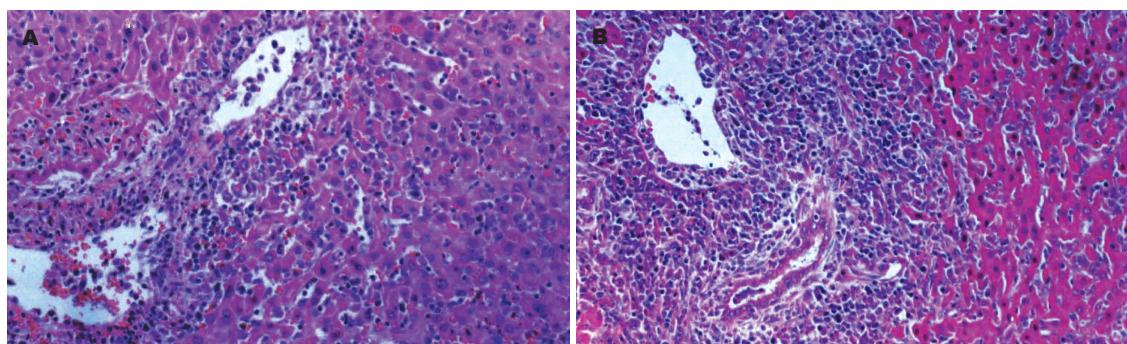


图 2 移植后7 d肝的组织学变化(H&E染色×200). A: 实验组; B: 对照组.

OX76⁺CD8⁺细胞提取总RNA, 逆转录后, 进行PCR扩增^[13], 参数为: 变性95℃ 60 s, 退火55℃ 60 s, 延伸72℃ 40 s, 共25个循环. 扩增产物于15 g/L琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙啶显色观察. 细胞因子IL-2, IL-10, IFN- γ 的引物序列参见文献[14].

统计学处理 使用SPSS统计软件对实验数据进行统计分析, 计量资料比较采用非配对 t 检验, 计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认为组间差异显著.

2 结果

2.1 移植前供体肝脏的CD4⁺及CD8⁺细胞表达 受体大鼠全血1 mL经门静脉输入供体肝内1 wk后, 与正常大鼠相比, 在供体肝脏可见大量CD4⁺及CD8⁺细胞(图1).

2.2 肝移植后的大鼠生存时间、肝功能、血清IFN- γ 及IL-2和肝组织学的变化 实验组生存时间 31.7 ± 7.6 d, 对照组 11.1 ± 2.1 d, 实验组大鼠的生存时间明显延长, 两组差异显著($P < 0.05$). 移植后4 d及7 d血清总胆红素及谷丙转氨酶测定两组无显著差异. 肝移植后4 d, 实验组血清IFN- γ 显著高于对照组(276.2 ± 157.3 ng/L vs 112.0 ± 63.7 ng/L)($P = 0.03$), 肝移植后7 d, 两组血清IFN- γ 无显著差异(11.6 ± 1.6 ng/L vs 18.5 ± 10.7 ng/L). 肝移植后4, 7 d两组血清IL-2水平无显著差异(527.3 ± 186.4 ng/L vs 469.0 ± 170.7 ng/L)、(241.5 ± 90.9 ng/L vs 210.2 ± 113.8 ng/L). 移植后7 d, 移植肝HE染色切片观察, 实验组移植肝汇管区内的淋巴细胞浸润明显少于对照组(图2). 移植后14 d, 实验组移植肝小

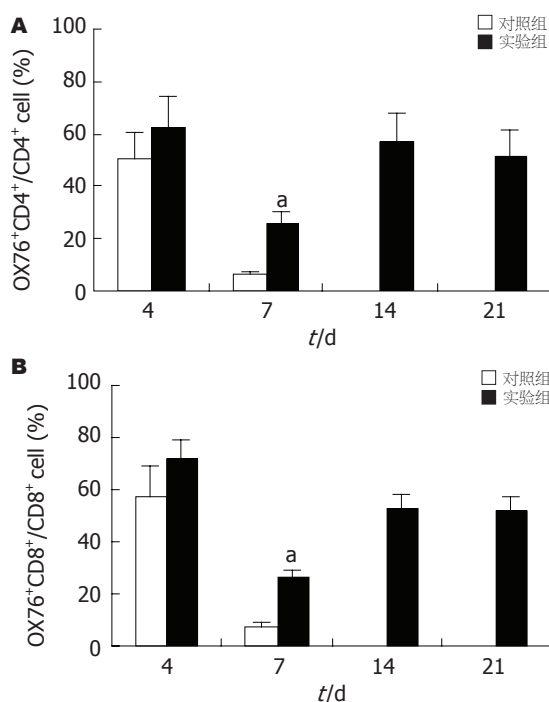


图3 移植肝内浸润淋巴细胞中供体源性CD4⁺及CD8⁺细胞的比例(* $P < 0.05$ vs 对照组). A: CD4⁺细胞; B: CD8⁺细胞.

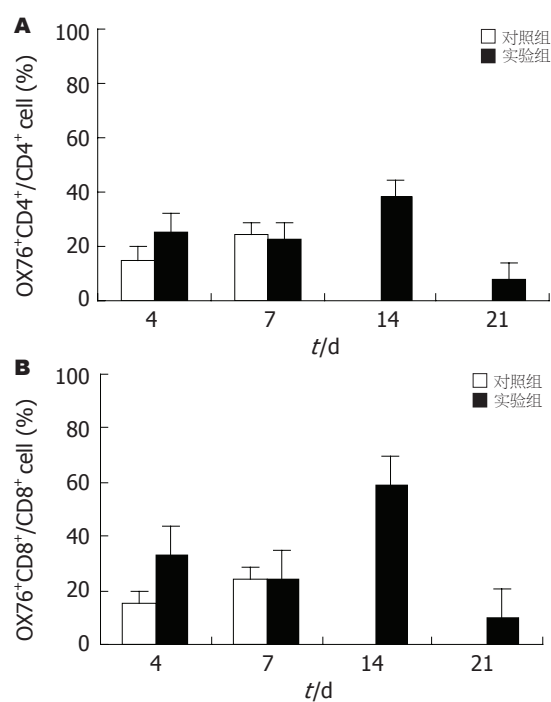


图4 受体脾内淋巴细胞中供体来源的CD4⁺及CD8⁺细胞的比例. A: CD4⁺细胞; B: CD8⁺细胞.

叶结构不规整, 汇管区可见淋巴细胞浸润. 移植后21 d, 实验组移植肝小叶结构紊乱, 汇管区可见淋巴细胞浸润, 并可见肝纤维化.

2.3 移植后受体肝、脾内浸润T淋巴细胞分析 移植后4 d, 实验组与对照组移植肝内浸润T淋巴细胞中供体来源的CD4⁺及CD8⁺细胞的比例无显著差异. 移植后7 d, 实验组OX76⁺CD4⁺细胞: 25.6%, OX76⁺CD8⁺细胞: 26.6%. 对照组OX76⁺CD4⁺细胞: 6.2%, OX76⁺CD8⁺细胞: 7.4%. 实验组发现多量供体来源的T淋巴细胞. 移植后14, 21 d实验组移植肝内仍有多量供体来源的T淋巴细胞(图3). 移植后4 d, 实验组与对照组受体脾内T淋巴细胞中供体来源的CD4⁺及CD8⁺细胞的比例无显著差异. 移植后7 d, 实验组OX76⁺CD4⁺细胞: 22.5%, OX76⁺CD8⁺细胞: 24.1%. 对照组OX76⁺CD4⁺细胞: 24.0%, OX76⁺CD8⁺细胞: 43.3%. 受体脾内T淋巴细胞中供体来源的CD4⁺及CD8⁺细胞的比例实验组与对照组也无显著差异(图4).

2.4 移植肝内浸润T细胞的细胞因子mRNA表达 移植后7 d, 实验组肝内OX76⁺CD8⁺细胞可见IL-10 mRNA及IFN- γ mRNA的表达, 对照组肝内OX76⁺CD8⁺细胞可见IL-2 mRNA的表达(图5).

3 讨论

诱导移植免疫耐受一直是研究者不断追求的目的

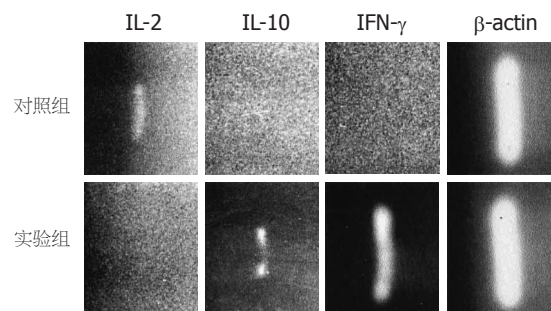


图5 移植肝内OX76⁺CD8⁺细胞的细胞因子mRNA表达情况.

标, 肝脏作为免疫特惠器官, 其免疫耐受诱导的研究比较多. 肝脏是一个富含MHC抗原的重要器官, 含有大量的非实质过客细胞, 这些来自骨髓的细胞, 包括淋巴细胞, 树突状细胞, 枯否氏细胞等, 在免疫应答过程中起着相当重要的作用^[15]. 成功诱导耐受的实验都是针对受者T细胞的, 有4种机制可能导致T细胞在移植中对供体的耐受^[16-17]: (1)清除, 通过细胞凋亡去除特异性的T细胞或T细胞克隆; (2)无能, T细胞的功能性无反应或失活而不伴有细胞死亡; (3)调节或抑制, 抗原特异性T细胞仍然保留在外周血循环中, 但其免疫反应性被其他细胞抑制或改变了, 这种调节是抗原特异性模式; (4)忽略, T细胞忽略一种抗原, 尽管这一抗原在体内表达, T细胞却保持无反应性. 诱导移植耐受的方法大多依

赖于灭活抗供者MHC/抗原肽复合物的T细胞, 这种情况下, 当病毒抗原肽被供者MHC分子提呈时, 患者将不能对抗同种异体移植物的病毒, 同种异体移植物的细胞内感染的影响可能是破坏性的. 这也是移植耐受诱导成功应用临床所面临的挑战. 有研究证明, 在成功诱导免疫耐受的移植肝内, 存在有大量来自供体的活化淋巴细胞, 供体的淋巴细胞与受体的淋巴细胞共存于移植肝内, 并相互作用, 有可能抑制了受体对移植肝的排斥作用^[18].

本研究将受体血液预先输入供体肝内, 延长了大鼠肝移植生存时间. 受体血细胞进入供体肝内, 一部分将被供肝枯否氏细胞捕捉, 由于受体血细胞在肝内的刺激, 可使供体肝内产生大量树突状细胞及活化的T淋巴细胞. 将此肝脏移植后, 供体肝内的T淋巴细胞再次接受受体抗原的刺激, 供肝来源的活化T淋巴细胞进一步增殖, 从而对抗受体T淋巴细胞的排斥作用, 即移植抗宿主反应(GVHR). 本实验显示实验组血液中IFN- γ 的增高, 提示移植后早期供受体间免疫反应强烈. RT-PCR结果显示, 实验组肝内OX76⁺CD8⁺细胞有IFN- γ mRNA的表达, 提示供体源性CD8⁺细胞具有较强免疫活性. 对照组肝内OX76⁺CD8⁺细胞虽然可见IL-2 mRNA的表达, 但OX76⁺CD8⁺细胞比例显著少于实验组, 未能形成有效的作用. 另外实验组肝内OX76⁺CD8⁺细胞也有IL-10 mRNA的弱表达, 说明OX76⁺CD8⁺细胞可能具有双重性, 也可能有抑制排斥反应的作用, 使GVHR不至于过于强烈.

微嵌合是在受体体内供者造血干细胞的低水平存在, 这些造血干细胞分化形成的供者白细胞谱系可引起有限的移植抗宿主反应, 这可以部分抵消受体的排斥反应^[19]. 双向移植排斥理论即器官移植复流后, 发生细胞移动, 移植中的过客细胞进入受体体内分布于全身组织, 受者的白细胞也进入移植, 在免疫抑制剂的作用下, 双方均无法消灭对方而共存. 本研究也证明了免疫耐受时微嵌合的存在. 移植肝对受者的免疫系统也会产生反作用, 包括抑制受者细胞毒T淋巴细胞(CTL)及清除CTL. 正是这种受者与供者之间的攻击与反攻击达到平衡状态, 才是出现免疫耐受的一个重要原因. 本研究预先增强供肝对受体的免疫活性, 即增强供体T细胞的活性, 确实抑制了肝移植免疫排斥反应. 有关机理有待进一步研究, 供体肝免疫活性

增强, 实验组肝内发现大量供体来源的CD4⁺及CD8⁺T淋巴细胞, 而受体脾内T淋巴细胞中供体来源的CD4⁺及CD8⁺细胞的比例实验组与对照组无显著差, 诱导了有限的GVHR, 可能是这种肝移植免疫排斥反应抑制的机制. 我们也在实验中增加门静脉输血次数, 即移植前2 wk及1 wk分别给供体经门静脉输受体血1 mL, 没能再显著延长异系大鼠肝移植生存时间. 另外, 在移植到受体的细胞中, 树突状细胞是主要的, 树突状细胞起源于骨髓, 其作用是捕捉抗原并将其信息表达给T细胞或B细胞, 使之产生免疫效应^[20-21]. Thomson *et al*研究证明肝脏源性的树突状细胞的重要特性就是在活体内能迁移至外周淋巴组织的T细胞依赖区^[22-23]. 有关树突状细胞在这种肝移植免疫排斥反应抑制中的作用有待于进一步研究.

4 参考文献

- 1 贾长库, 郑树森, 施邵华, 徐世国, 章爱斌, 王慧萍. 胸腺接种肝特异性抗原对同种肝移植排斥反应的作用. 中华器官移植杂志 2004; 25: 103-105
- 2 赵振林, 郭永章. T细胞疫苗免疫诱导大鼠肝移植免疫耐受的作用探讨. 山西医科大学学报 2004; 35: 324-326
- 3 肖文斌, 刘玉兰, 陈国栋, 尤鹏, 孙君泓. 肝移植自发免疫耐受大鼠CD8⁺CD28⁻T抑制细胞的生物学特性. 中华微生物和免疫学杂志 2004; 24: 639-643
- 4 李国强, 王学浩, 孙倍成, 钱建民, 李相成, 张峰, 俞悦. 转Fas配体基因的树突状细胞在诱导大鼠肝移植免疫耐受中的作用. 中华器官移植杂志 2003; 24: 7-10
- 5 Furuhashi T, Yamaguchi Y, Wang FS, Uchino S, Okabe K, Ohshiro H, Kihara S, Yamada S, Mori K, Ogawa M. Hepatic CCR7lowCD62LlowCD45RClow allograft dendritic cells migrate to the splenic red pulp in immunologically unresponsive rats. *J Surg Res* 2005; 124: 29-37
- 6 Asakura H, Ku G, Kataoka M, Flye MW. Regulatory cells develop after the spontaneous acceptance of rat liver allografts. *Surgery* 2004; 136: 532-536
- 7 Sun Z, Wada T, Maemura K, Uchikura K, Hoshino S, Diehl AM, Klein AS. Hepatic allograft-derived Kupffer cells regulate T cell response in rats. *Liver Transpl* 2003; 9: 489-497
- 8 Gassel HJ, Otto C, Klein I, Steger U, Meyer D, Gassel AM, Timmermann W, Ulrichs K, Thiede A. Persistence of stable intra-graft cell chimerism in rat liver allografts after drug-induced tolerance. *Transplantation* 2001; 71: 1848-1852
- 9 Meyer D, Löffler S, Otto C, Czub S, Gassel HJ, Timmermann W, Thiede A, Ulrichs K. Donor-derived alloantigen-presenting cells persist in the liver allograft during tolerance induction. *Transpl Int* 2000; 13: 12-20
- 10 Demetris AJ, Murase N, Fujisaki S, Fung JJ, Rao AS, Starzl TE. Hematolymphoid cell trafficking, microchimerism, and GVH reactions after liver, bone marrow, and heart transplantation. *Transplant Proc* 1993; 25: 3337-3344
- 11 Qian S, Lu L, Fu F, Li Y, Li W, Starzl TE, Fung JJ,

- Thomson AW. Apoptosis within spontaneously accepted mouse liver allografts: evidence for deletion of cytotoxic T cells and implications for tolerance induction. *J Immunol* 1997; 158: 4654-4661
- 12 Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation* 1979; 28: 47-50
- 13 Frohman MA, Dush MK, Martin GR. Rapid production of full-length cDNAs from rare transcripts: amplification using a single gene-specific oligonucleotide primer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8998-9002
- 14 Nomura M, Yamashita K, Murakami M, Takehara M, Echizenya H, Sunahara M, Kitagawa N, Fujita M, Furukawa H, Uede T, Todo S. Induction of donor-specific tolerance by adenovirus-mediated CD40Ig gene therapy in rat liver transplantation. *Transplantation* 2002; 73: 1403-1410
- 15 丁小明, 薛武军, 纪宗正, 天普训, 潘晓鸣. 白细胞介素4在输注供体肝脏非实质细胞诱导免疫耐受中的作用. *中华器官移植杂志* 2002; 23: 90-92
- 16 杨少奇, 郭新宇. 肝移植免疫耐受研究进展. *宁夏医学杂志* 2004; 26: 382-383
- 17 刘静, 汪爽, 高毅, 孙尔维. 细胞凋亡与肝移植免疫耐受. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 446-449
- 18 韩德恩, 张新晨. 肝移植免疫耐受与细胞迁移学说及研究进展. *哈尔滨医科大学学报* 2001; 35: 69-71
- 19 Starzl TE, Rao AS, Murase N, Demetris AJ, Thomson A, Fung JJ. Chimerism and xenotransplantation. New concepts. *Surg Clin North Am* 1999; 79: 191-205
- 20 Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 1991; 9: 271-296
- 21 Steinman RM, Inaba K, Turley S, Pierre P, Mellman I. Antigen capture, processing, and presentation by dendritic cells: recent cell biological studies. *Hum Immunol* 1999; 60: 562-567
- 22 Lu L, Woo J, Rao AS, Li Y, Watkins SC, Qian S, Starzl TE, Demetris AJ, Thomson AW. Propagation of dendritic cell progenitors from normal mouse liver using granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and their maturational development in the presence of type-1 collagen. *J Exp Med* 1994; 179: 1823-1834
- 23 Lu L, Qian S, Hershberger PA, Rudert WA, Lynch DH, Thomson AW. Fas ligand (CD95L) and B7 expression on dendritic cells provide counter-regulatory signals for T cell survival and proliferation. *J Immunol* 1997; 158: 5676-5684

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

专家门诊

本刊讯 《世界华人消化杂志》特设“专家门诊”固定专栏为广大消化病患者搭建一个信息平台, 欢迎副主任医师以上的消化内科、普通外科专家为专栏撰稿(附单位介绍信), 免收出版费, 写作格式如下:

胃溃疡诊断和治疗

个人简介(附3.5 cm × 5 cm照片一张)

通信作者(包括邮政编码、工作单位、部门、科室、机构全称、地址、所在省市、E-mail)

0 引言

1 诊断

2 治疗

3 特色

4 门诊时间

亚细胞毒性剂量As₂O₃增加胃癌细胞对rhTRAIL的敏感性及其机制

仲飞, 朱兆华, 张世能

仲飞, 朱兆华, 张世能, 中山大学附属第二医院消化科 广东省广州市 510120

仲飞, 中山大学2004级在读博士, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究.

通讯作者: 朱兆华, 510120, 广东省广州市沿江西路107号, 中山大学附属第二医院消化科. zhuzhaohua@163.com

电话: 020-81332490

收稿日期: 2006-06-28 接受日期: 2006-08-10

Subcytotoxic concentration of arsenic trioxide enhances the sensitivity of SGC7901 cells to rhTRAIL and its mechanism

Fei Zhong, Zhao-Hua Zhu, Shi-Neng Zhang

Fei Zhong, Zhao-Hua Zhu, Shi-Neng Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China

Correspondence to: Zhao-Hua Zhu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China. zhuzhaohua@163.com

Received: 2006-06-28 Accepted: 2006-08-10

Abstract

AIM: To investigate the effects of subcytotoxic concentration of arsenic trioxide (As₂O₃) on the rhTRAIL-induced apoptosis in SGC7901 cells and its related mechanism.

METHODS: The human gastric cancer cell line SGC7901 was treated with As₂O₃ (1 μmol/L), rhTRAIL (500 μg/L), respectively, or in combination. The cell apoptosis was detected by flow cytometry (AnnexinV-FITC-PI assay); the expression of TRAIL R₁/DR₄ and TRAIL R₂/DR₅ on the cell surface were determined by indirect fluorescence staining and flow cytometry; the expression of TRAIL R₁/DR₄ and TRAIL R₂/DR₅ mRNA was determined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: Used alone or in combination with As₂O₃, rhTRAIL induced apoptosis of SGC7901 cells in a time-dependent manner (12-72 h). After

being exposed to rhTRAIL in combination with As₂O₃ for 24, 48 and 72 h, the apoptosis rates of SGC7901 cells were significantly higher than those of cells treated with the same concentration of rhTRAIL alone (36.49% ± 7.12%, 47.13% ± 3.44%, 55.63% ± 7.16% vs 29.78% ± 3.18%, 38.56% ± 1.89%, 43.12% ± 6.23%, respectively, $P < 0.05$). As₂O₃, used alone or in combination with rhTRAIL (500 μg/L) for 24 h, increased the expression of TRAIL R₁/DR₄ and TRAIL R₂/DR₅ on the cell surface significantly (R₁/DR₄: 29.44 ± 4.29, 26.14 ± 3.40 vs 13.45 ± 3.81, $P < 0.05$; R₂/DR₅: 28.04 ± 0.79, 31.47 ± 4.56 vs 16.45 ± 5.07, $P < 0.05$), and at the same time, increased the mRNA levels of the two receptors.

CONCLUSION: Subcytotoxic concentration of As₂O₃ can sensitize SGC7901 cells to rhTRAIL through up-regulation of TRAIL R₁/DR₄ and TRAIL R₂/DR₅ on cell surface and their mRNA levels. Combination of rhTRAIL and As₂O₃ can be used in the therapy of gastric cancer.

Key Words: Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand; Arsenic trioxide; Gastric carcinoma; Apoptosis

Zhong F, Zhu ZH, Zhang SN. Subcytotoxic concentration of arsenic trioxide enhances the sensitivity of SGC7901 cells to rhTRAIL and its mechanism. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2006;14(27):2679-2683

摘要

目的: 研究亚细胞毒性剂量As₂O₃对rhTRAIL诱导胃癌细胞凋亡的影响及其机制.

方法: 人胃腺癌细胞株SGC7901以As₂O₃(1 μmol/L), rhTRAIL(500 μg/L)及两者联用处理; 采用AnnexinV-FITC和PI双染色流式细胞仪检测细胞凋亡; 用间接免疫荧光染色结合流式细胞技术检测细胞表面TRAIL R₁/DR₄和TRAIL R₂/DR₅分子表达; RT-PCR方法检测TRAIL R₁/DR₄和TRAIL R₂/DR₅ mRNA表达.

■背景资料

TRAIL作为肿瘤坏死因子家族新成员, 对多种肿瘤细胞有一定的凋亡诱导效应和生长抑制效应, 被认为是有望应用于临床的细胞因子药物. 但TRAIL仍然面临着抗肿瘤药物普遍存在的耐药性难题和非特异性细胞毒作用带来的副作用. 越来越多的报道显示, 低于常规剂量的化疗药物可以增加肿瘤细胞对TRAIL的敏感性, 在不增加毒性作用的前提下提高疗效. 因而, 细胞因子生物治疗联合化疗成为近年国内外肿瘤研究的一个重要方向.

■相关报道

Yair Gazitt *et al* 研究发现, As_2O_3 可以上调部分多发性骨髓瘤细胞表面 TRAIL 死亡受体表达, 从而和 TRAIL 在诱导细胞凋亡方面形成协同效应。

结果: rhTRAIL 在单用或与 As_2O_3 联用时均可以诱导胃癌 SGC7901 细胞凋亡, 并且随着作用时间延长(12-72 h), 细胞凋亡率逐渐增高。 As_2O_3 与 rhTRAIL 联用 24, 48, 72 h 后, SGC7901 细胞凋亡率分别显著高于单用 rhTRAIL 处理相同时间细胞 ($36.49\% \pm 7.12\%$, $47.13\% \pm 3.44\%$, $55.63\% \pm 7.16\%$ *vs* $29.78\% \pm 3.18\%$, $38.56\% \pm 1.89\%$, $43.12\% \pm 6.23\%$, $P < 0.05$); As_2O_3 单用或联用 rhTRAIL 处理 SGC7901 细胞 24 h 后, 细胞表面 TRAIL R_1/DR_4 和 TRAIL R_2/DR_5 分子的平均荧光密度(MFI)较对照组细胞显著增加(R_1/DR_4 : 29.44 ± 4.29 , 26.14 ± 3.40 *vs* 13.45 ± 3.81 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$; R_2/DR_5 : 28.04 ± 0.79 , 31.47 ± 4.56 *vs* 16.45 ± 5.07 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与此同时, TRAIL R_1/DR_4 和 TRAIL R_2/DR_5 mRNA 表达水平增高。

结论: 亚细胞毒性剂量 As_2O_3 可能通过增加 TRAIL R_1/DR_4 和 TRAIL R_2/DR_5 基因表达、上调细胞表面 TRAIL 死亡受体从而增加胃癌细胞 SGC7901 对 rhTRAIL 的敏感性, 两药可能联合用于治疗胃癌。

关键词: 肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体; 三氧化二砷; 胃癌; 凋亡

仲飞, 朱兆华, 张世能. 亚细胞毒性剂量 As_2O_3 增加胃癌细胞对 rhTRAIL 的敏感性及其机制. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2679-2683

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2679.asp>

0 引言

胃癌是常规化疗效果较差的恶性肿瘤, 探索新的药物治疗方案非常重要. 肿瘤坏死因子相关细胞凋亡诱导配体(TRAIL)是近年发现的肿瘤坏死因子家族新成员, 对包括胃癌细胞在内的多种肿瘤细胞有一定的凋亡诱导效应, 而对大多数正常细胞无影响, 有希望用于肿瘤治疗. 本实验研究了亚细胞毒性剂量 As_2O_3 对 TRAIL 诱导胃癌细胞凋亡的影响及其机制, 旨在探索低毒高效的胃癌治疗新方案.

1 材料和方法

1.1 材料 SGC7901 人胃腺癌细胞系购自中山大学医学院动物实验中心细胞库, 在 37°C 、饱和湿度下于 5 mL/L CO_2 培养箱中培养, 培养基为含 100 mL/L 胎牛血清(杭州四季青公司)的 RPMI1640(Gibco BRL 公司)培养液, 待其贴壁生长至 70%-80% 融合时, 用 2.5 g/L 胰酶(Amresco 公司)消化传代培养. 人重组可溶性 TRAIL 蛋白

(rhTRAIL)购自 R&D 公司(375-TL); As_2O_3 注射液购自 Sigma 公司; 兔抗人 TRAIL R_1/DR_4 和 TRAIL R_2/DR_5 单克隆抗体分别购自 Santa Cruz 公司(sc-7863)和 Imgenex 公司(IMG-120A); FITC 标记的羊抗兔 IgG 均为 Chemicon 公司产品(API32F); AnnexinV-FITC/PI 凋亡检测试剂盒(Boehringer Mannheim 公司); 流式细胞仪(美国 BD 公司); PCR 引物由上海生工合成; RNA 提取试剂盒 TRIzol 和 AMV 反转录酶试剂盒购自 Invitrogen 公司; 酶标仪(Bio RAD550 型).

1.2 方法

1.2.1 流式细胞仪检测细胞凋亡 实验设对照组(未加任何处理因素); As_2O_3 ($1 \mu\text{mol/L}$, 预试验确定)组、rhTRAIL ($500 \mu\text{g/L}$) 组与同浓度 rhTRAIL 加 $1 \mu\text{mol/L}$ As_2O_3 的联合用药组, 细胞在加药 12, 24, 48 及 72 h 后, 每份收集 1×10^6 个细胞. 含 20 g/L 牛血清白蛋白的 PBS 溶液洗涤 2 次, 分别加入 FITC 标记的 AnnexinV 和 PI(操作按说明书进行), 避光放置 1 h, 流式细胞仪检测, 每次读取 10 000 个细胞, Cell Quest 软件进行数据分析. AnnexinV 阳性的细胞认为是凋亡细胞, 而 PI 阳性且 AnnexinV 阴性的细胞认为是坏死细胞, 计算细胞凋亡率. 凋亡率(%) = (AnnexinV⁺PI⁺细胞数 + AnnexinV⁺PI⁻细胞数) / 10 000 \times 100%.

1.2.2 流式细胞仪检测细胞表面 TRAIL 死亡受体 取对照组、 As_2O_3 组、rhTRAIL 组与联合用药组(分组同上)在药物作用 12, 24, 48, 72 h 后, 每组取 1×10^6 细胞, 以兔抗人抗 DR_4 或 DR_5 的 mAb 为一抗, 以 FITC 标记羊抗兔 IgG 为二抗, 进行间接免疫荧光染色. 同样方法以非特异性兔 IgG 为一抗制备标本, 做为阴性对照. 用流式细胞仪分析 DR_4 和 DR_5 分子的表达, 结果用平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI)表示.

1.2.3 RT-PCR 检测 TRAIL 死亡受体的基因表达 取对照组、 As_2O_3 组和联合用药组, 在加药 24 h 后收集细胞. 用 RNA 提取试剂盒 TRIzol 提取总 RNA, 用 AMV 反转录酶试剂盒合成 cDNA. PCR 扩增所用引物根据 GenBank 数据库中 DR_4 和 DR_5 的 cDNA 序列设计. DR_4 基因的上游引物为 5'-agcatgtcagtgcaaccag, 下游引物为 5'-tcctcctctgagacccttca, 扩增产物为 490 bp; DR_5 基因的上游引物为 5'-gagctaagtcctgcaccac, 下游引物为 5'-tcctggacttcatttctg, 扩增产物为 420 bp. β -actin 为内参照物, 扩增产物为 200 bp. PCR 反应条件为 94°C 1 min, 57°C 30 s, 72°C 1 min, 循环 30 次. 产物在 10 g/L 琼脂糖凝胶上电泳, 所产生的

表 1 各处理组SGC7901细胞的生长凋亡率 (mean ± SD, %)

分组	处理时间 (h)			
	12	24	48	72
对照	3.02 ± 1.22	2.23 ± 0.09	3.84 ± 0.93	4.56 ± 1.05
As ₂ O ₃	3.12 ± 0.89	3.34 ± 0.97	2.03 ± 0.11	4.73 ± 1.95
TRAIL	21.88 ± 2.28 ^b	29.78 ± 3.18 ^b	38.56 ± 1.89 ^b	43.12 ± 6.23 ^b
As ₂ O ₃ +TRAIL	23.78 ± 4.21 ^b	36.49 ± 7.12 ^{ab}	47.13 ± 3.44 ^{ab}	55.63 ± 7.16 ^{ab}

^aP<0.05 vs 处理时间相同时单用TRAIL组; ^bP<0.01 vs 处理时间相同时对照组。

表 2 各处理组SGC7901细胞表面TRAIL R₁/DR₄表达(mean ± SD, MFI)

分组	处理时间 (h)			
	12	24	48	72
对照	11.12 ± 2.76	13.45 ± 3.81	13.93 ± 1.80	15.23 ± 4.08
As ₂ O ₃	14.44 ± 0.29	29.44 ± 4.29 ^a	35.11 ± 6.34 ^b	37.65 ± 6.08 ^b
TRAIL	10.89 ± 0.06	9.60 ± 2.88	14.71 ± 0.92	12.48 ± 0.97
As ₂ O ₃ +TRAIL	13.02 ± 0.76	26.14 ± 3.40 ^a	36.06 ± 7.22 ^b	39.09 ± 5.16 ^b

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 处理时间相同时对照组。

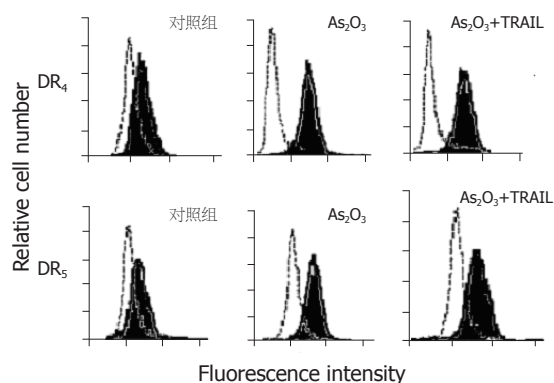


图 1 各组细胞处理24 h时流式细胞仪检测细胞表面TRAIL死亡受体表达。图中阴影部分为特异性荧光, 虚线下空白区为阴性对照荧光。

条带经扫描成像后进行分析。

统计学处理 所有实验至少重复3次, 结果以mean ± SD表示。采用t检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 SGC7901细胞凋亡 各处理组细胞不同时间凋亡率见表1。1 μmol/L As₂O₃不能明显诱导SGC7901细胞凋亡; 而单用500 μg/L rhTRAIL以及上述浓度rhTRAIL联合1 μmol/L As₂O₃时可以明显诱导SGC7901细胞凋亡, 与对照组有显著统计学差异; 而且, 单用rhTRAIL或其与As₂O₃联用时, SGC7901细胞凋亡率随作用时间延长逐渐增高; 另外, 1 μmol/L As₂O₃虽然不能诱导SGC7901细胞凋亡, 但在作用24 h后却明显增强rhTRAIL诱导SGC7901细胞凋亡的能力, 值得指出的是两药联用12 h时细胞的凋亡率虽比单用

■创新盘点

本研究首次证实亚细胞毒性剂量As₂O₃增强TRAIL诱导胃癌细胞SGC7901凋亡的效应, 并从TRAIL死亡受体表达的角度阐述了其中的机制。

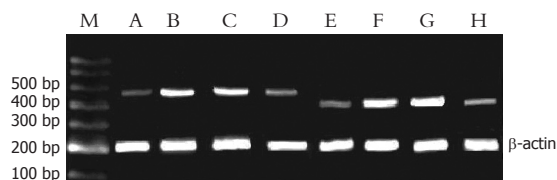


图 2 各组细胞处理24 h后RT-PCR检测TRAIL死亡受体mRNA表达。A, E: 对照; B, F: As₂O₃; C, G: As₂O₃+TRAIL; D, H: TRAIL; A-D: R₁/DR₄; E-H: R₂/DR₅。

同等浓度TRAIL高, 但统计学分析差异并无显著性。

2.2 SGC7901细胞表面TRAIL死亡受体表达 各组细胞表面死亡受体TRAIL R₁/DR₄和TRAIL R₂/DR₅表达的流式细胞仪检测结果见表2-3及图1。结果显示SGC7901细胞表面存在TRAIL R₁/DR₄和TRAIL R₂/DR₅的表达, 并且在As₂O₃单独或联合rhTRAIL作用24 h后, 两种受体在细胞表面的表达均明显上调; 而两药联用组与单用As₂O₃组相比, 死亡受体的表达无显著差异, 说明rhTRAIL并不影响As₂O₃上调SGC7901细胞表面死亡受体表达的效应。

2.3 SGC7901细胞TRAIL死亡受体基因的表达 SGC7901细胞存在TRAIL R₁/DR₄和TRAIL R₂/DR₅ mRNA的表达, 并且在As₂O₃单独或联合rhTRAIL作用24 h后, 两种受体mRNA水平表达均明显上调。而单用rhTRAIL作用24 h后, 上述两种死亡受体的mRNA水平未明显上调(图2)。

3 讨论

到目前为止, 已经发现了5种TRAIL受体, 分别是死亡受体(TRAIL R₁/DR₄和TRAIL R₂/DR₅)、诱

■应用要点

作为两种低毒的新型治疗药物, TRAIL和As₂O₃具有良好的临床应用前景, 本研究为两药联用于胃癌治疗提供了一定的实验基础。

表 3 各处理组SGC7901细胞表面和TRAIL R₂/DR₅表达(mean ± SD, MFI)

分组	处理时间 (h)			
	12	24	48	72
对照	15.48 ± 1.88	16.45 ± 5.07	13.24 ± 5.08	15.23 ± 2.25
As ₂ O ₃	14.72 ± 4.29	28.04 ± 0.79 ^a	32.11 ± 3.32 ^b	30.75 ± 0.12 ^a
TRAIL	12.25 ± 3.06	14.60 ± 4.48	16.07 ± 1.22	18.98 ± 0.77
As ₂ O ₃ +TRAIL	19.29 ± 7.97	31.47 ± 4.56 ^a	33.60 ± 4.34 ^b	36.89 ± 7.26 ^b

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 处理时间相同时对照组。

骗受体(TRAIL R₃/DcR₁和TRAIL R₄/DcR₂)和可溶性受体OPG。死亡受体多表达于肿瘤细胞表面, TRAIL与之结合后能诱导细胞凋亡; 而诱骗受体主要表达于正常细胞表面, 由于缺乏胞质段, 不能传递凋亡信号, TRAIL与之结合不能诱导细胞凋亡。因此, TRAIL对肿瘤细胞的杀伤作用具有一定的选择性, 这意味着其用于临床的可能性远高于FasL, TNF等其他细胞因子类药物, 后者由于非选择性细胞毒作用而未能广泛用于临床^[1]。但目前TRAIL进入临床实验的障碍主要有两个: 一方面, TRAIL仍然面临着化疗药物普遍存在的耐药性难题^[2]; 另一方面, 当TRAIL超过一定浓度后, 将丧失对肿瘤细胞的选择性杀伤作用, 诱导正常细胞凋亡而带来副作用^[3]。与此同时, 越来越多的报道显示, 低于常规剂量的化疗药物可以增加肿瘤细胞对TRAIL的敏感性, 在不增加毒性作用的前提下提高疗效。因此, 探索低毒高效的TRAIL配伍使用方案具有重要的意义^[4]。

As₂O₃有广泛而独特的抗癌机制, 对包括胃癌细胞在内的多种肿瘤细胞有诱导凋亡和抑制生长的作用^[5]。但在治疗实体肿瘤的临床实验中却并未取得满意的结果, 原因之一是实体瘤内部血供不均匀, As₂O₃对于部分肿瘤细胞未能达到有效浓度^[6]。因此, 研究低浓度As₂O₃对实体瘤细胞的生物学效应有重要意义。国内邢茂^{et al}^[7]的研究表明, 浓度为1 μmol/L的As₂O₃不影响SGC7901细胞活力, 也不诱导其凋亡, 因而是亚细胞毒性剂量。本实验将该浓度As₂O₃和rhTRAIL配伍使用, 观察As₂O₃在亚细胞毒性剂量下对rhTRAIL诱导肿瘤细胞凋亡作用的影响并探讨了其中的机制。结果显示1 μmol/L As₂O₃虽然对SGC7901细胞不具备明显的凋亡诱导作用, 但和500 μg/L rhTRAIL联合使用24 h后SGC7901细胞凋亡率明显高于单用同浓度的rhTRAIL, 显示亚细胞毒性剂量As₂O₃对SGC7901细胞有增敏作用, 提示两药可能配伍使

用治疗胃癌。

肿瘤细胞对TRAIL是否敏感是多种机制决定的, 其中的一个重要的因素是细胞表面死亡受体表达的强度^[8]。本研究采用间接免疫荧光染色方法标记细胞表面的死亡受体, 流式细胞仪检测荧光量直接反映死亡受体在细胞表面的表达情况。结果发现, As₂O₃单独或联合rhTRAIL时均可以上调SGC7901细胞表面死亡受体(TRAIL R₁/DR₄和TRAIL R₂/DR₅)。我们认为, 这至少部分的解释了As₂O₃对SGC7901细胞增敏作用的机制。值得指出的是: 药物作用12 h时的检测并未发现As₂O₃明显上调SGC7901细胞表面死亡受体以及对SGC7901细胞有增敏作用, 两者都是发生在药物作用24 h后。这提示两者的作用是同步的, 前者可能是后者的原因。

为进一步研究As₂O₃上调SGC7901细胞表面死亡受体的机制, 我们用RT-PCR方法检测了两种死亡受体mRNA在处理前后的表达水平。结果显示药物处理24 h后死亡受体mRNA表达增强, 与细胞表面死亡受体上调同步。这与部分增敏剂在不增加死亡受体基因转录和翻译的前提下, 加强死亡受体蛋白向细胞表面转运是不同的^[9]。

As₂O₃和TRAIL与传统化疗药相比, 毒性较小, 是未来很有希望的抗肿瘤药物。本研究证实低浓度As₂O₃可以增加TRAIL死亡受体(TRAIL R₁/DR₄和TRAIL R₂/DR₅)的基因转录、上调细胞表面TRAIL死亡受体表达, 从而使胃癌细胞SGC7901增加对TRAIL敏感性, 提示两药伍用可能成为治疗胃癌低毒高效的新方案。

4 参考文献

- 1 Bouralexis S, Findlay DM, Evdokiou A. Death to the bad guys: targeting cancer via Apo2L/TRAIL. *Apoptosis* 2005; 10: 35-51
- 2 Hopkins-Donaldson S, Ziegler A, Kurtz S, Bigosch C, Kandioler D, Ludwig C, Zangemeister-Wittke U, Stahl R. Silencing of death receptor and caspase-8 expression in small cell lung carcinoma cell lines and tumors by DNA methylation. *Cell Death Differ*

- 2003; 10: 356-364
- 3 Nitsch R, Bechmann I, Deisz RA, Haas D, Lehmann TN, Wendling U, Zipp F. Human brain-cell death induced by tumour-necrosis-factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *Lancet* 2000; 356: 827-828
- 4 Shankar S, Srivastava RK. Enhancement of therapeutic potential of TRAIL by cancer chemotherapy and irradiation: mechanisms and clinical implications. *Drug Resist Updat* 2004; 7: 139-156
- 5 Zhang TC, Cao EH, Qin JF. Opposite biological effects of arsenic trioxide and arsanetin involve a different regulation of signaling in human gastric cancer MGC-803 cells. *Pharmacology* 2002; 64: 160-168
- 6 Douer D, Tallman MS. Arsenic trioxide: new clinical experience with an old medication in hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2396-2410
- 7 邢茂, 张恩娟. 三氧化二砷诱导人胃腺癌细胞SGC7901凋亡机制的研究. *中国药房* 2001; 12: 333-334
- 8 Drosopoulos KG, Roberts ML, Cermak L, Sasazuki T, Shirasawa S, Andera L, Pintzas A. Transformation by oncogenic RAS sensitizes human colon cells to TRAIL-induced apoptosis by up-regulating death receptor 4 and death receptor 5 through a MEK-dependent pathway. *J Biol Chem* 2005; 280: 22856-22867
- 9 Jin Z, McDonald ER 3rd, Dicker DT, El-Deiry WS. Deficient tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) death receptor transport to the cell surface in human colon cancer cells selected for resistance to TRAIL-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279: 35829-35839

■同行评价

本课题旨在分析As₂O₃对rhTRAIL诱导胃癌细胞凋亡的影响及其机制, 探索两者联用于胃癌治疗的可行性。立题较好, 也有一定新意。研究方法虽相对较单一, 但也可说明一定的问题。

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

● 消息 ●

第六届西太平洋幽门螺旋杆菌会议通知

本刊讯 由泰国Chulalongkorn医院承办的第六届西太平洋幽门螺旋杆菌会议将于2006-11-12/14在泰国曼谷举行, 欢迎各国研究幽门螺旋杆菌的学者报名参加。

1 地址

General Secretariat, GI Unit, Department of Medicine, 1873 Prompun Building 1st Floor. Chulalongkorn Hospital, Rama 4 Road, Patumwan, Bangkok 10330 Thailand

2 联系方式

电话: +662-256-4265; 传真: +662-253-8272, +662-652-4219; Email: wphc_2006@mail.com; 网址: www.6wphc2006.com; 联系人: Dr. Duangporn Thong-Ngam

蛙皮素和生长抑素对人胃癌BGC-823细胞生长的影响及受体后信息传递

徐秀英, 赵金满, 姜若兰, 宗志宏

■背景资料

近年来的研究表明,某些胃肠激素与胃癌的生长转移密切相关,如蛙皮素(bombesin, BBS)、生长抑素、胃泌素等,但作用机制尚不清楚,对其进行进一步的深入研究将有助于胃癌的早期诊断和更有效的治疗。

徐秀英, 赵金满, 姜若兰, 中国医科大学第一临床医院消化科 辽宁省沈阳市 110001

宗志宏, 中国医科大学基础医学院生化教研室 辽宁省沈阳市 110001

徐秀英, 2000年北京医科大学医学博士, 副教授, 副主任医师, 主要从事消化疾病、尤其是胃肠道激素和胃癌的临床研究。

通讯作者: 徐秀英, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学第一临床医院消化科. xxying0828@sina.com

收稿日期: 2006-07-20 接受日期: 2006-08-10

Effects of bombesin and somatostatin on proliferation of human gastric cancer cell line BGC-823 and their postreceptor signal transduction

Xiu-Ying Xu, Jin-Man Zhao, Ruo-Lan Jiang, Zhi-Hong Zong

Xiu-Ying Xu, Jin-Man Zhao, Ruo-Lan Jiang, Department of Gastroenterology, the First Clinical College of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Zhi-Hong Zong, Department of Biochemistry, Basic Medical College of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xiu-Ying Xu, Department of Gastroenterology, the First Clinical College of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. xxying0828@sina.com

Received: 2006-07-20 Accepted: 2006-08-10

Abstract

AIM: To observe the effects of bombesin and somatostatin on the proliferation of human lowly-differentiated gastric cancer cell line BGC-823, and to determine the intracellular concentration of cyclic adenosine monophosphate (cAMP), the activity of protein kinase C (PKC) and the expression of PKC isoforms α , β_1 , β_2 and ϵ .

METHODS: BGC-823 cells were cultured in RPMI 1640 medium containing 100 mL/L FCS in the atmosphere of 50 mL/L carbon dioxide at 37°C, and then bombesin or/and somatostatin with different concentrations was added. The viability and proliferation were determined by

Mosmann's method (MTT assay); the intracellular cAMP concentrations were detected by radioimmunoassay (RIA); the activity of PKC was determined by incorporation of [γ - 32 P]-ATP with exogenous substrate; and the expression of PKC isoforms was analyzed by Western blot.

RESULTS: Bombesin promoted the growth of BGC-823 cells in a dose-dependent manner ($r = 0.878$, $P < 0.05$), which was inhibited significantly by its antagonist; it also increased the level of intracellular cAMP ($r = 0.68$, $P < 0.01$) and the activity of PKC in a dose-dependent manner. Western blot showed overexpression of PKC α , while the expression of PKC β_1 , β_2 and ϵ were not detected. However, somatostatin inhibited the growth of BGC-823 cells in a dose-dependent manner ($r = -0.831$, $P < 0.01$), and it also inhibited the growth-promoting effect of bombesin without obvious dose-dependent ways and the activity of PKC in a dose-dependent way ($r = -0.74$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Bombesin can promote the growth of BGC-823 cells by the mediation of specific receptor, it can increase the intracellular cAMP level and PKC activity, illuminating that cAMP-PKA and DG-PKC system may be involved in the signal transduction and PKC α may play an important role. Somatostatin can significantly inhibit the growth of BGC-823 cells and the growth-promoting effects of bombesin through down-regulating the activity of PKC.

Key Words: Bombesin; Somatostatin; Cyclic adenosine monophosphate; Protein kinase C; Protein kinase C isoforms

Xu XY, Zhao JM, Jiang RL, Zong ZH. Effects of bombesin and somatostatin on proliferation of human gastric cancer cell line BGC-823 and their postreceptor signal transduction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(27):2684-2690

摘要

目的: 观察蛙皮素(BBS)和生长抑素(SS)对人

低分化胃癌细胞株BGC-823的生长调控作用, 测定细胞内环磷酸腺苷(cAMP)含量、蛋白激酶C(PKC)活性及PKC亚型的表达, 探讨受体后信息传导途径。

方法: BGC-823细胞在含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养液中, 于37℃, 50 mL/L CO₂条件下培养, 分别加入不同浓度的BBS或SS, 应用MTT法观察细胞的增殖程度。应用放射免疫分析方法测定细胞内cAMP含量, 应用[γ-³²P]ATP掺入外源性底物的方法测定PKC活性, 应用Western blot方法分析PKC亚型α, β₁, β₂及ε的表达。

结果: BBS能促进BGC-823细胞的生长, 且与剂量呈正相关($r = 0.878, P < 0.05$), 这种促生长作用可被其受体拮抗剂所拮抗; BBS能促进细胞内cAMP的产生($r = 0.68, P < 0.01$)及增加PKC活性, PKCα表达明显增加, 而β₁, β₂及ε则无明显表达; SS能显著抑制BGC-823细胞的生长, 呈剂量依赖关系($r = -0.831, P < 0.01$); SS能显著抑制BBS的促细胞生长作用, 但无明显的剂量依赖关系; SS可使细胞PKC活性明显下降, 呈剂量依赖关系($r = -0.74, P < 0.01$)。

结论: 经特异性受体介导, BBS能促进胃癌细胞BGC-823的生长; 其受体后信息传递途径可能涉及cAMP-PKA系统及DG-PKC系统, PKCα在BBS的受体后信息传递中可能起重要作用; SS可能通过降低PKC活性抑制BGC-823细胞的生长, 同时可抑制BBS的促胃癌细胞生长作用。

关键词: 蛙皮素; 生长抑素; 胃癌; 环磷酸腺苷; 蛋白激酶C

徐秀英, 赵金满, 姜若兰, 宗志宏. 蛙皮素和生长抑素对人胃癌BGC-823细胞生长的影响及受体后信息传递. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2684-2690
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2684.asp>

0 引言

蛙皮素(bombesin, BBS)是由14个氨基酸组成的多肽, 于1970年首先从两种蛙类的皮肤提取物中分离出来。1978年, 从猪胃的非窦黏膜分离出胃泌素释放肽(gastrin releasing peptide, GRP), 其C末端与BBS相同, 目前认为GRP是BBS在哺乳动物中的对应物。Monstein *et al*^[1]的研究结果显示, GRP和GRP受体mRNA在人的食道、胃肠道和胰腺均有广泛表达; BBS/GRP具有刺激胃泌素释放和胃酸分泌等生理作用, 同时, 对很多组

织都有营养作用。近年来的研究表明, GRP及其受体mRNA和蛋白在肺癌、前列腺癌、乳腺癌及结肠癌等多种肿瘤组织中均有过度表达, GRP在体内外对多种起源的肿瘤组织均有促分裂作用^[2]; 人胃癌细胞株AGS上有高亲和力的受体亚型-1的表达, 细胞毒BBS类似物AN-215可抑制AGS裸鼠移植瘤的生长^[3], 但这种调节作用的机制尚不清楚。环磷酸腺苷-蛋白激酶A (cAMP-PKA)与二酰基甘油-蛋白激酶C (DG-PKC)两套信号系统是多个跨膜信号系统中最具代表性的信号传导通路。近年来, PKC在肿瘤发生、发展中的作用引起人们广泛兴趣, 但BBS对人胃癌细胞PKC活性及PKC亚型表达影响的研究报告极少。生长抑素(somatostatin, SS)是由14个氨基酸残基组成的多肽, 近年来研究发现, SS能影响细胞的增殖能力, SS及其类似物对实体瘤及正常组织均有抗增殖能力^[3-4], 但作用机制尚不清楚。我们旨在观察BBS、其受体拮抗剂[Leu¹³-ψ(CH₂NH)-Leu¹⁴]-bombesin及SS对人胃癌细胞BGC-823生长的影响, 并通过测定细胞内cAMP含量, PKC活性及PKC亚型α, β₁, β₂及ε的表达, 进一步观察BBS及SS对cAMP-PKA及DG-PKC两套信号通路的调控作用。

1 材料和方法

1.1 材料 CO₂培养箱为美国Fisher, Scientific 1168751H型; 倒置相差显微镜为日本产Nikon TMS; 美国产Beckman J6-HC型低温离心机、DU-640型紫外可见分光光度计、LS-6500型液体内闪烁计数仪、LE-80型低温超速离心机; 美国产超声粉碎仪、硝酸纤维素膜; 北京核仪器厂产FT-613型¹²⁵I-γ自动计数仪; 英国UVP公司DGS8000凝胶成像及分析系统; Bio-Rad450型酶标仪。BBS及其拮抗剂[Leu¹³-ψ(CH₂NH)-Leu¹⁴], SS-14, Triton X-100, 异丁基甲基黄嘌呤(IBMx)及EGTA均购自Sigma公司, ¹²⁵I-cAMP放免试剂盒为美国DiaSorin Inc产品, 塞唑蓝(MTT)为瑞士Fluka公司产品; 抗PKCα, β₁, β₂及ε抗体均为Santa Cruz公司产品; [γ-³²P]ATP为北京福瑞公司产品; RPMI 1640粉为美国Gibco产品; 胰蛋白酶(Trypsin)为Sigma公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人胃癌细胞株BGC-823细胞由中国医科大学肿瘤研究所陆平惠赠。细胞在含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养液中, 于37℃, 50 mL/L CO₂条件下培养, 细胞贴壁生长

■应用要点

本实验结果为研究开发特异性的蛙皮素受体拮抗剂或生长抑素类似物以及蛋白激酶C抑制剂提供了一定的理论依据, 为胃癌的诊断和治疗开辟了新的思路 and 前景。

良好, 每3 d传代一次。

1.2.2 细胞生长的检测 采用MTT法将对数生长长期的人胃癌细胞, 经2.5 g/L胰蛋白酶消化脱壁; 用含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养液配成细胞悬液, 接种于96孔培养板, 每孔 10^3 细胞/0.1 mL, 三孔重复; 培养12 h, 使细胞贴壁生长; 弃去培养液, 换以无血清RPMI 1640 0.1 mL/孔培养24 h, 使细胞处于静止状态; 弃去原培养液, 实验组加入不同浓度的BBS或BBS拮抗剂或SS或SS加BBS, 对照组加入等量的培养液, 空白组不含细胞; 培养48 h后, 加MTT 20 μ L (5 g/L), 培养4 h; 弃上清, 加入二甲基亚砜100 μ L, 待其沉淀产物完全溶解; 于Bio-Rad 450型酶标仪上, 用570 nm波长, 测定各孔吸光度(A)值。

1.2.3 cAMP的检测 cAMP的提取: 取对数生长长期细胞, 于细胞悬液1.44 mL中(含细胞 1.2×10^7)加入10 mmol/L IBMX 0.18 mL, 在37℃水浴中培育10 min, 将此悬液分为两等分, 实验组加入终浓度为 10^{-6} mol/L蛙皮素90 μ L, 对照组加入90 μ L, 50 g/L RPMI 1640, 37℃培育, 于培育后1, 3, 5, 8 min分别取出0.15 mL悬液(含细胞 10^6)加入70.6 mL/L三氯醋酸0.85 mL, 充分震荡、混匀, 于4℃, 2000 g离心10 min, 取上清0.5 mL, 用水饱和乙醚1 mL, 将上清洗涤3次后, 弃上清乙醚相, 将水相移入玻璃瓶内, 75℃水浴蒸干, -20℃水箱贮存待测。取对数生长长期细胞0.9 mL(含细胞 8×10^6), 加入0.1 mL IBMX, 37℃水浴培育10 min, 于4℃, 760 g离心5 min, 沉淀加入3.6 mL 50 g/L RPMI 1640混匀, 分别取出0.45 mL(含细胞 10^6)加入 10^{-5} - 10^{-9} mol/L不同浓度BBS 50 mL或BBS拮抗或SS, 37℃水浴5 min, 4℃, 760 g离心, 沉淀加0.15 mL, 50 g/L RPMI 1640及70.6 mL/L三氯醋酸0.85 mL, 充分混匀, 取上清0.5 mL, 用水饱和乙醚洗涤上清3次后, 将水相于75℃水浴蒸干, -20℃冰箱保存待测。cAMP测定: (1)样品乙酰化, 将上述样品加入250 μ L醋酸钠缓冲液重新溶解, 再加入12.5 μ L乙酰化试剂立即混匀; (2)加样; (3)轻轻振荡, 20-25℃孵育3 h; (4)用力混合Precipitating复合物(GAR-PPT)除总放管外, 向所有试管加入500 μ L; (5)轻轻振荡, 20-25℃孵育15-25 min; (6)于20-25℃, 760 g离心20 min; (7)除TC管外, 所有试管弃上清, 并将试管倒置在滤纸上2 min, 以除去可能残留的上清; (8)用 125 I- γ 自动计数器, 计数每管的cpm数, 每管计数60 s。cAMP的计算: 以各标准品为横坐标, B/B₀为纵坐标, 绘标准曲线, 然后根据标准曲线, 算出各样品的

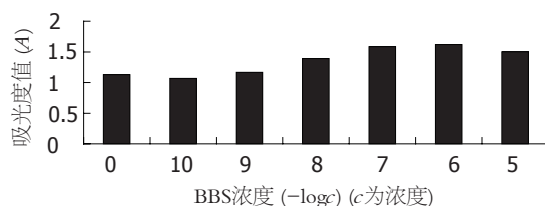


图1 不同浓度BBS对人胃癌细胞生长的影响。

cAMP含量。PKC活性的测定: (1)PKC的提取: 取对数生长长期细胞, 调整细胞数达 10^{10} /L以上, 加入 10^{-6} mol/L BBS作用不同时间, 或加入不同浓度的BBS及其拮抗剂或加入SS, 37℃水浴后用预冷的PBS洗2次, 加入Buffer A 1 mL (20 mmol/L Tris/HCl, pH 7.5, 0.25 mol/L sucrose, 10 mmol/L EGTA, 20 mmol/L EDTA), 用超声粉碎仪粉碎, 每管粉碎5次, 每次20 s, 然后100 000 g 4℃离心1 h, 上清为胞质部分, 其沉淀加Buffer B 0.6 mL(含Triton X-100的Buffer A)。用超声粉碎仪打碎混匀, 每次20 s, 共2次, 4℃过夜, 然后于100 000 g 4℃离心1 h, 上清为细胞膜成分; (2)PKC活性的测定: 参考Takai法, 以鱼精蛋白为底物, 反应体积250 μ L, 含有10 g/L protamine, 0.5 mol/L Tris/HCl pH 7.5, 2.5×10^{-4} mol/L ATP, 0.25 mmol/L醋酸镁, 0.75 mmol/L 2-巯基乙醇, 0.5 Ci[γ - 32 P] ATP, 样品设立蛋白浓度梯度(10, 20, 40, 80 μ L)反应以加入[γ - 32 P] ATP开始, 30℃水浴反应30 min, 以3 mL预冷10 g/L三氯醋酸中止反应, 微孔滤膜抽滤, 将滤膜放入有10 mL蒸馏水的液闪瓶中, 于Beckman液闪仪中测定放射性活性。酶活性表示为30℃时每克蛋白每分钟催化多少nmol γ - 32 P掺入底物蛋白。蛋白定量采用Lowry法, 牛血清白蛋白为标准蛋白; PKC亚型的测定: 采用Western blot分析PKC亚型 α , β_1 , β_2 及 ϵ 的表达。用凝胶成像及分析系统对实验结果进行照相及分析。

统计学处理 实验结果用均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, 组间差异比较用t检验, 采用直线相关回归分析判断线性关系。

2 结果

2.1 BBS及BBS受体拮抗剂对胃癌细胞生长的影响 不同浓度的BBS (10^{-8} - 10^{-5} mol/L)能显著促进人胃癌细胞的生长, 这一促生长作用与BBS浓度呈正相关($r = 0.878$, $P < 0.05$, 图1)。BBS受体拮抗剂能抑制BBS对胃癌细胞的促生长作用, 其抑制作用随着拮抗剂浓度的加大而更为明显, 提示BBS的促生长作用是通过特异性受体所介导

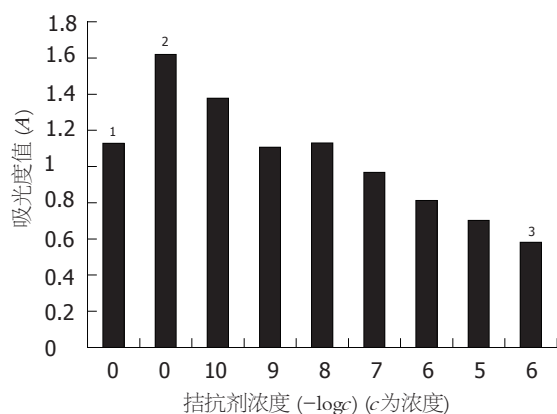


图 2 BBS受体拮抗剂对人胃癌细胞生长的影响 (BBS浓度为 10^{-6} mol/L; ¹: BBS浓度为0, 拮抗剂浓度为0; ²: BBS浓度为 10^{-6} mol/L, 拮抗剂浓度为0; ³: BBS浓度为 10^{-6} mol/L, 拮抗剂浓度为 10^{-6} mol/L).

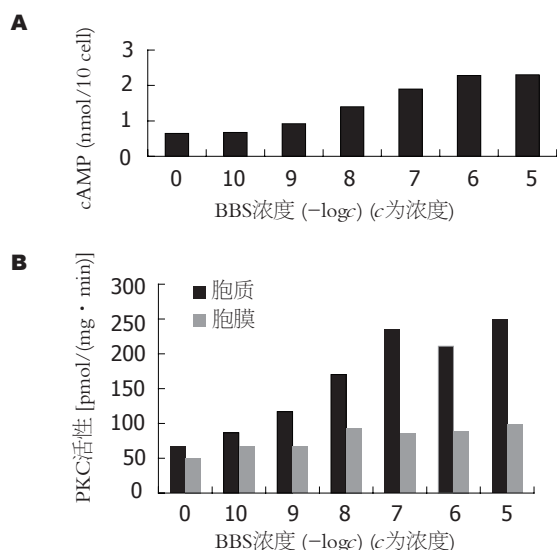


图 3 不同浓度BBS对BGC-823细胞cAMP生成及PKC活性的影响. A: cAMP生成量; B: PKC活性.

(图2).

2.2 BBS和其拮抗剂对人胃癌细胞cAMP及PKC的影响 不同浓度的BBS 10^{-5} - 10^{-8} mol/L能显著促进细胞内cAMP的生成, cAMP生成量与BBS浓度的对数呈正相关($r = 0.68$, $P < 0.01$, 图3A, 图4A);不同浓度的BBS能增加BGC-823细胞的PKC活性, 呈剂量依赖关系(图3B); 10^{-6} mol/L BBS可使BGC-823细胞PKC活性增加, 1 min时即出现PKC活性增加, 5 min时作用最明显, 尤以膜活性增加明显(图4B); 不同浓度的BBS受体拮抗剂可以拮抗BBS的促cAMP生成作用, 随着拮抗剂浓度增加, 其拮抗作用也更明显, 呈剂量依赖关系(图5A); BBS受体拮抗剂可抑制BBS对BGC-823细胞PKC活性的激活作用, 10^{-5} - 10^{-7} mol/L拮抗剂能明显降低胞质及胞膜

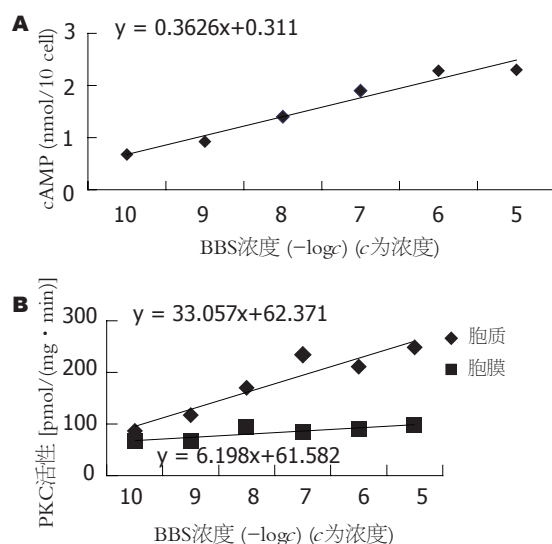


图 4 cAMP生成及PKC活性与BBS浓度的相关性. A: cAMP生成量; B: PKC活性.

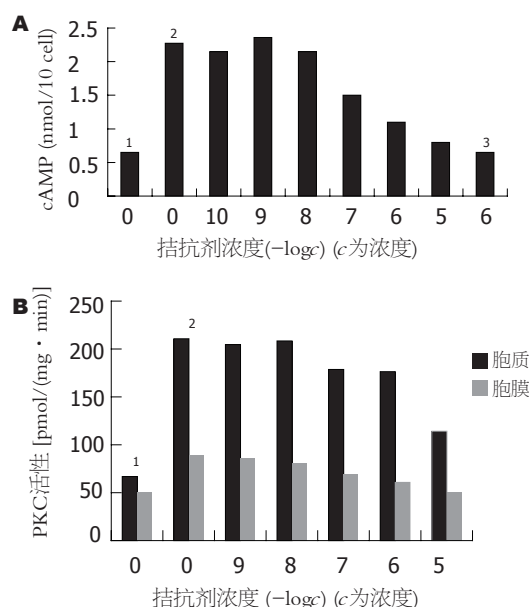


图 5 BBS及其拮抗剂对BGC-823细胞cAMP生成及PKC活性的影响 (BBS浓度为 10^{-6} mol/L). A: cAMP生成量; B: PKC活性. ¹: BBS浓度为0, 拮抗剂浓度为0; ²: BBS浓度为 10^{-6} mol/L, 拮抗剂浓度为0; ³: BBS浓度为0, 拮抗剂浓度为 10^{-6} mol/L.

PKC活性(图5B); 不同浓度(10^{-8} - 10^{-5} mol/L)的BBS可使PKC α 表达明显增强, β_1 , β_2 及PKC ϵ 在各种BBS浓度时均无表达(图6).

2.3 SS对人胃癌细胞的影响 10^{-8} - 10^{-5} mol/L的SS均能显著抑制人低分化胃癌细胞株BGC-823细胞的生长, 而且随着SS浓度的增加, 抑制作用也更明显, 呈剂量依赖关系(图7A, 8A). 10^{-5} - 10^{-7} mol/L的SS能显著抑制BBS的促细胞生长作用, 但无明显的剂量依赖关系(图7B, 图8B). 10^{-10} - 10^{-5} mol/L的SS对BGC-823细胞内cAMP的

同行评价

本研究为实验研究, 方案设计细致, 有一定科学性、创新性和可读性.

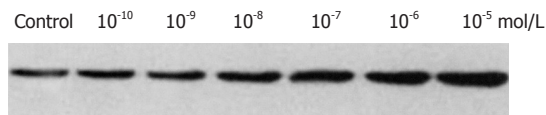
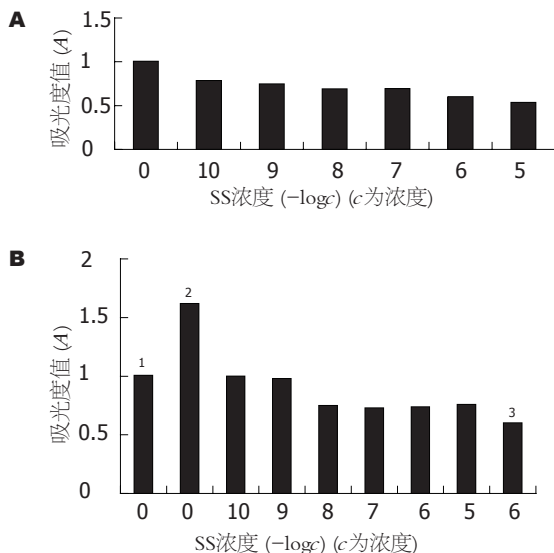


图6 Western blot检测PKCα的表达。

图7 不同浓度SS对BGC-823细胞生长及BBS促BGC-823细胞生长的影响。A: BGC-823细胞生长; B: BBS促BGC-823细胞生长 (BBS浓度为 10^{-6} mol/L)。¹: BBS的浓度为0, SS的浓度为0; ²: BBS的浓度为 10^{-6} mol/L, SS的浓度为0; ³: BBS的浓度为0, SS的浓度为 10^{-6} mol/L。

生成无明显影响(图9A)。 10^{-7} - 10^{-5} mol/L的SS可使细胞PKC活性明显下降, 尤以胞膜下降显著。随着SS浓度加大, 抑制作用也更加明显, 呈剂量依赖关系(图9B, 图8C)。

3 讨论

BBS/GRP是具有广泛生物学作用的重要胃肠肽, 近年来的研究表明, GRP在体内外对多种起源的肿瘤组织均有促生长作用^[2,5-6], 人胃癌细胞株AGS上有高亲和力的BBS受体亚型-1的表达, 细胞毒BBS类似物AN-215可抑制AGS裸鼠移植瘤的生长^[3], Lu *et al*^[7]报道, 在60例胃癌组织中, 11.7%表达GRP, 黏液腺癌和印戒细胞癌GRP的表达率显著高于其他类型的胃癌, 且与淋巴结转移相关, 提示GRP与胃癌的发生、发展及转移有重要的关系。我们的实验结果表明, BBS能显著促进人胃癌细胞株BGC-823细胞的生长, 而且呈剂量依赖关系, 这种促生长作用可被特异的BBS受体拮抗剂所抑制, 证明这一促生长作用是通过特异性受体所介导。关于BBS促肿瘤细胞生长的细胞内机制, 国内外研究很少, 而且结果不一致。Kanashiro *et al*^[8]认为, BBS/GRP拮抗

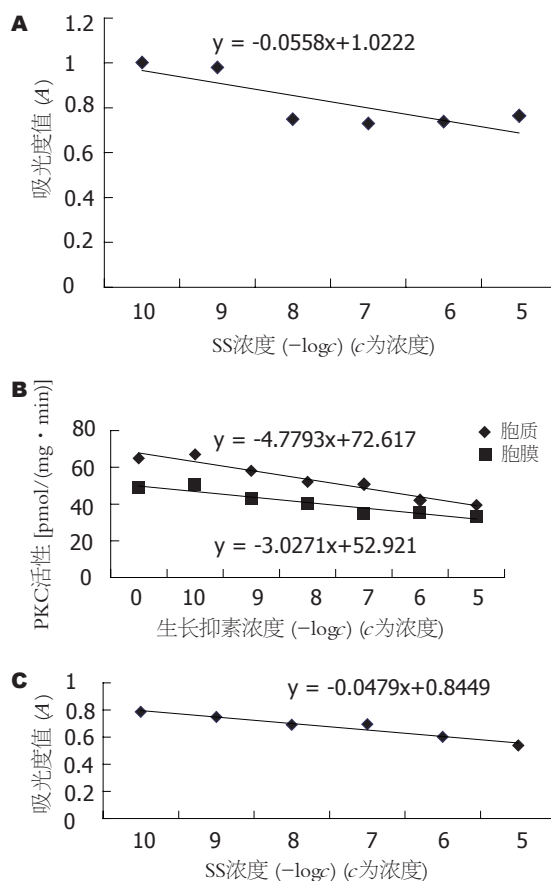
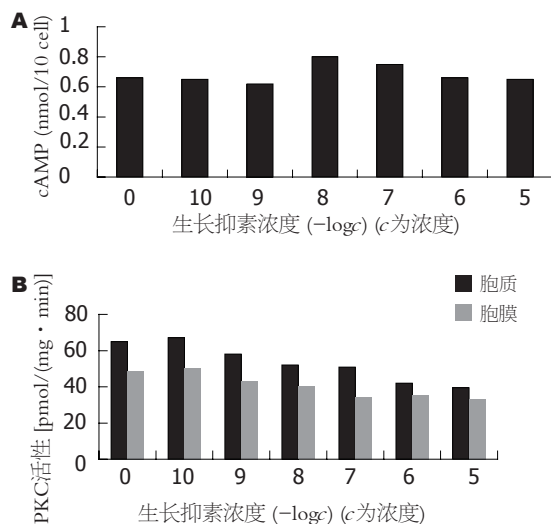
图8 BGC-823细胞生长、BBS促BGC-823细胞生长及BGC-823细胞PKC活性和SS浓度的相关性。A: BGC-823细胞生长; B: BBS促BGC-823细胞生长(BBS浓度为 10^{-6} mol/L时); C: BGC-823细胞PKC活性。

图9 不同浓度SS对胃癌细胞cAMP生成及BGC-823细胞PKC活性的影响。A: BGC-823细胞cAMP生成; B: BGC-823细胞PKC活性。

剂可抑制胶质细胞瘤U-118MG裸鼠移植瘤的生长, 其受体后机制涉及抑制PKCα表达及抗凋亡蛋白bcl-2的表达; 而GRP促进DLD-1人结肠癌

细胞生长, 其受体后信息传递系通过磷脂酰肌醇-3激酶^[6]. 细胞增生可通过多个信号传导通路刺激, 他们以协同或结合方式传递环境信号, 各信号途径相互影响、相互制约、相互联系, 共同协调地发挥调控作用. 其中cAMP-PKA及DG-PKC系统在细胞生长调控中起着十分重要的作用. PKC是磷脂酰肌醇通路中的重要激酶, PKC通常以无活性形式存在于胞质中. 在胞外信号与受体结合后, 通过G蛋白活性磷脂酶C(PLC)使膜上肌醇磷脂转换, 产生三磷酸肌醇(IP₃)和二酯酰甘油(DG), IP₃使胞内Ca²⁺增加, DG则使PKC移位到膜上. 在膜磷脂和一定浓度的Ca²⁺存在时, PKC即被激活, PKC被激活后, 可促进一系列与DNA蛋白质合成有关的环节而使细胞增殖. 近年来, PKC在肿瘤发生、发展中的作用日益受到重视, 已发现多种肿瘤组织中PKC含量高于正常, 人胃癌组织中PKC活性显著高于周围正常组织. Uchida *et al*^[9]测定了胃癌组织和邻近正常胃黏膜组织的PKC活性, 结果表明, 当肿瘤小无淋巴结转移, 浸润浅, 分化较好时, PKC活性降低, 提示在胃癌早期, PKC活性呈降下调节. 在肠化生、不典型增生及胃癌的发生过程中, 存在PKC表达水平的增高^[10], 提示PKC作为信号传导者, 在胃癌生长中可能起重要作用. PKC目前已发现多个亚类同工酶, 这些亚型分布具有一定的组织或细胞特异性, 在同一细胞的不同生长状态, 亚型的表达也各不相同, 某一信号传导途径可能仅涉及一个PKC亚型. Kanashiro *et al*^[11]研究发现, 胃泌素拮抗剂RC-3940-II可抑制H-69人小细胞肺癌移植瘤的生长, 其受体后信息传递通过PKC β 和PKC δ 而非PKC α , PKC β 抑制剂317615.2 HCl能抑制Hep肝细胞癌和胃癌移植瘤血管的形成, 并能加强5-氟尿嘧啶和吉西他宾的作用^[12]. 我们采用 $[\gamma\text{-}^{32}\text{p}]$ ATP掺入外源性底物的方法测定PKC的总活性, 结果发现, BBS能增加胃癌细胞胞质及胞膜的PKC活性, 采用Western blot方法, 进一步分析PKC亚型的表达, 发现BBS作用后, PKC α 表达明显增加, 提示PKC α 在BGC-823胃癌细胞的生长调控中起重要作用, 我们对46例人胃癌细胞的免疫组化研究表明, 胃癌组织PKC α 及PKC ϵ 表达均明显增加, 而对BGC-823细胞的Western blot分析, 则未见PKC ϵ 表达, 这可能因不同生长状态的细胞PKC亚型的表达亦不同. cAMP是腺苷环化酶信号系统中重要的信号分子, 关于cAMP在细胞生长调控中的作用, 有不同报道, 有人认为cAMP对细胞增

殖具有正调节作用, 在体外培养的Swiss 3T3细胞中, cAMP对细胞增殖起促进作用, 也有人认为, cAMP-PKA系统对肿瘤细胞增殖起负调节作用, 促进其分化, 本实验观察到, 不同浓度的BBS (10^{-7} - 10^{-5} mol/L)能促进cAMP合成, 呈剂量依赖关系. 提示cAMP是BBS促BGC-823细胞生长的重要胞内信号. cAMP和PKC代表两个不同的信号传导途径. 有研究表明, 这两个主要的透膜信号系统之间存在相互作用, 特别是佛波酯或DG对PKC的激活, 能促进cAMP的集聚. 而PKC的下降调节会部分地抑制BBS引起的cAMP的集聚, 提示BBS通过两种机制促进cAMP在细胞内的集聚. SS是由D细胞分泌的一种多肽, 其生物学作用主要是抑制内分泌及外分泌功能, 并能影响细胞的增殖能力. 胃癌细胞上存在SS受体, SS类似物可抑制胃癌细胞的生长^[4]. 我们的实验结果表明, 不同浓度的SS (10^{-5} - 10^{-8} mol/L)能显著抑制人低分化胃腺癌细胞株BGC-823的生长, 而且呈剂量依赖关系, 与文献报道一致. SS对胃癌细胞生长抑制作用的机制目前尚不清楚, Gao *et al*^[13]报道, 奥曲肽显著抑制SGC7901胃癌细胞的生长, 这种作用可能通过抑制Akt/PKB和端粒酶活性介导, Wang *et al*^[14]认为, 奥曲肽通过MAPK途径抑制SGC7901胃癌细胞生长, 我们的实验结果表明, 不同浓度的SS (10^{-5} - 10^{-10} mol/L), 对cAMP的产生均无明显的抑制作用, 提示SS对BGC-823细胞的生长抑制作用并非通过cAMP-PKA系统. 我们采用 $[\gamma\text{-}^{32}\text{p}]$ ATP掺入外源性底物的方法, 发现不同浓度的SS能明显抑制胞质及胞膜的PKC活性, 尤以胞膜PKC活性下降显著, 提示SS抑制BGC-823细胞生长可能与降低PKC活性有关. BBS对BGC-823细胞生长有明显促进作用, 而SS-14能明显抑制BBS的促生长作用, 这种作用可能是直接通过SS受体, 抑制PKC活性, 另一方面可能是通过抑制BBS的自分泌作用. 而有研究表明, PKC活性的下降会减少细胞内cAMP的集聚, 这也可能是SS抑制BBS对BGC-823细胞促生长作用的机制之一. SS对细胞生长抑制作用的机制, 目前尚不清楚. 我们的实验结果表明, 使PKC活性下降可能是SS抑制细胞生长的重要机制之一, 另一方面也可能与干扰调节细胞生长的细胞内信号的传导以及肿瘤合成自分泌生长因子有关. 奥曲肽可通过抑制COX2及抑制VEGF和bFGF表达而抑制胃癌细胞的生长^[15-16], SS也可通过诱发肿瘤细胞凋亡来抑制细胞生长^[4].

总之, BBS能促进BGC-823胃癌细胞的生长, 这种促生长作用是通过细胞膜上的蛙皮素受体介导, 其受体后信息传递途径, 可能涉及OG-PKC和cAMP-PKA系统, 一方面激活PKC α 促进细胞增殖, 另一方面可能通过激活腺苷环化酶, 使cAMP增加, 进一步激活PKA, 而促进细胞增殖. 而PKC的激活会进一步增加cAMP在细胞内的集聚, 两套信息传导系统在BBS促BGC-823胃癌细胞增殖的作用中, 起协同作用. PKC α 和cAMP可能是BBS促进BGC-823细胞生长的细胞内早期信号, BBS促胃癌细胞生长的晚期信号是什么, 以及cAMP, PKC与核内信息的代谢通路及相互关系, 尚有待进一步研究. SS-14能抑制人BGC-823胃癌细胞的生长, 这种作用可能是直接通过特异性受体介导使细胞内PKC活性下降, 抑制蛋白质磷酸化而抑制细胞生长. 此外, SS-14能抑制BBS的促胃癌细胞生长作用, 其作用机制可能是直接通过SS受体介导, 另一方面也可能是通过干扰BBS的受体后信息传导而抑制细胞增殖.

4 参考文献

- 1 Monstein HJ, Grahn N, Truedsson M, Ohlsson B. Progastrin-releasing peptide and gastrin-releasing peptide receptor mRNA expression in non-tumor tissues of the human gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2574-2578
- 2 Patel O, Shulkes A, Baldwin GS. Gastrin-releasing peptide and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1766: 23-41
- 3 Szepeshazi K, Schally AV, Nagy A, Wagner BW, Bajo AM, Halmos G. Preclinical evaluation of therapeutic effects of targeted cytotoxic analogs of somatostatin and bombesin on human gastric carcinomas. *Cancer* 2003; 98: 1401-1410
- 4 Hu C, Yi C, Hao Z, Cao S, Li H, Shao X, Zhang J, Qiao T, Fan D. The effect of somatostatin and SS1R3 on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 726-730
- 5 Stangelberger A, Schally AV, Letsch M, Szepeshazi K, Nagy A, Halmos G, Kanashiro CA, Corey E, Vessella R. Targeted chemotherapy with cytotoxic bombesin analogue AN-215 inhibits growth of experimental human prostate cancers. *Int J Cancer* 2006; 118: 222-229
- 6 Patel O, Dumesny C, Giraud AS, Baldwin GS, Shulkes A. Stimulation of proliferation and migration of a colorectal cancer cell line by amidated and glycine-extended gastrin-releasing peptide via the same receptor. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 2129-2142
- 7 Lu MZ, Liu Y, Dai YZ, Yuan C, Deng Y. Expression of gastrin and gastrin releasing peptide in patient's with gastric cancer by using tissue chip technique. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2005; 8: 159-161
- 8 Kanashiro CA, Schally AV, Cai RZ, Halmos G. Antagonists of bombesin/gastrin-releasing peptide decrease the expression of angiogenic and anti-apoptotic factors in human glioblastoma. *Anticancer Drugs* 2005; 16: 159-165
- 9 Uchida N, Okamura S, Kuwano H. Protein kinase C activity in human gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2000; 7: 793-796
- 10 陈世耀, 王吉耀, 纪元, 张希德, 朱畴文. 幽门螺杆菌与蛋白激酶C在胃癌及癌前病变基因突变中的作用. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 302-307
- 11 Kanashiro CA, Schally AV, Zarandi M, Hamann BD, Varga JL. Suppression of growth of H-69 small cell lung carcinoma by antagonists of growth hormone releasing hormone and bombesin is associated with an inhibition of protein kinase C signaling. *Int J Cancer* 2004; 112: 570-576
- 12 Teicher BA, Menon K, Alvarez E, Liu P, Shih C, Faul MM. Antiangiogenic and antitumor effects of a protein kinase C beta inhibitor in human hepatocellular and gastric cancer xenografts. *In Vivo* 2001; 15: 185-193
- 13 Gao S, Yu BP, Li Y, Dong WG, Luo HS. Antiproliferative effect of octreotide on gastric cancer cells mediated by inhibition of Akt/PKB and telomerase. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2362-2365
- 14 Wang CH, Tang CW, Liu CL, Tang LP. Inhibitory effect of octreotide on gastric cancer growth via MAPK pathway. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1904-1908
- 15 Tang C, Wang C, Tang L. Effects of combined octreotide and aspirin on the growth of gastric cancer. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116: 373-377
- 16 Li HH, Wang XC, Lu JR, He KJ, Yang Z. Effects of short-term treatment of somatostatin on angiogenesis of gastric carcinoma. *Aizheng* 2003; 22: 990-993

电编 张敏 编辑 王晓瑜

三氧化二砷逆转肝癌细胞株HepG2/ADM多药耐药的作用

李贺, 熊茂明, 孟翔凌, 耿小平

李贺, 熊茂明, 孟翔凌, 耿小平, 安徽医科大学第一附属医院
普外科 安徽省合肥市 230022

李贺, 住院医师, 在读研究生, 主要从事肝胆疾病研究.

通讯作者: 熊茂明, 230022, 安徽省合肥市, 安徽医科大学第一
附属医院普外科三病区. xiongmd@yahoo.com.cn

电话: 0551-2322035 传真: 0551-3633742

收稿日期: 2006-07-17 接受日期: 2006-08-10

Reversing effect of arsenic trioxide on multidrug resistance of human hepatocellular carcinoma HepG2/ADM cells

He Li, Mao-Ming Xiong, Xiang-Ling Meng,
Xiao-Ping Geng

He Li, Mao-Ming Xiong, Xiang-Ling Meng, Xiao-Ping
Geng, Department of General Surgery, the First Affiliated
Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui
Province, China

Correspondence to: Mao-Ming Xiong, Department of
General Surgery, the First Affiliated Hospital of Anhui
Medical University, Hefei 230022, Anhui Province,
China. xiongmd@yahoo.com.cn

Received: 2006-07-17 Accepted: 2006-08-10

Abstract

AIM: To explore the reversing effect of arsenic trioxide (As_2O_3) on the multidrug resistance (MDR) of human hepatocellular carcinoma HepG2/ADM cells *in vitro* and its potential mechanism.

METHODS: MTT assay was used to test the toxicity of As_2O_3 and the chemosensitivity to chemotherapeutics in As_2O_3 -treated HepG2 and HepG2/ADM cells. Flow cytometry was used to determine the concentration of intracellular adriamycin (ADM). The expression of MDR1 was measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: The inhibitory rates of HepG2 and HepG2/ADM cells caused by As_2O_3 were lower than 15% under the dose of 0.25 mg/L, and the IC_{50} were 1.02 and 1.34 mg/L, respectively. As_2O_3 at 0.2 mg/L partly overcame the MDR of HepG2/ADM cells. The reverse efficiencies

(multiples) to ADM, cisplatin (CDDP), mytomy-
cin (MMC), 5-fluororacil (5-FU) were 2.92, 3.09,
2.13 and 2.60, respectively. Furthermore, after
exposure to 0.2 mg/L As_2O_3 , the concentration
of ADM was significantly increased while MDR1
expression was partially decreased in HepG2/
ADM cells.

CONCLUSION: As_2O_3 can reverse the multidrug
resistance of human hepatocellular carcinoma
cells *in vitro*, and the possible mechanism is re-
lated to the down-regulated expression of MDR1
and raised concentration of drug inside the cells.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Multidrug
resistance; Arsenic trioxide

Li H, Xiong MM, Meng XL, Geng XP. Reversing effect
of arsenic trioxide on multidrug resistance of human
hepatocellular carcinoma HepG2/ADM cells. *Shijie
Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(27):2691-2694

摘要

目的: 探讨三氧化二砷(As_2O_3)体外逆转人肝
癌细胞多药耐药性的作用及机制.

方法: MTT法检测 As_2O_3 的细胞毒作用和处理
前后耐药细胞对化疗药物的敏感性, 用流式细
胞仪检测细胞内阿霉素浓度, 通过RT-PCR检
测MDR1基因的表达.

结果: As_2O_3 在0.25 mg/L剂量以下时对HepG2
和HepG2/ADM耐药细胞株的抑制率均小于
15%, 半数抑制率(IC_{50})分别为1.02和1.34 mg/
L, 无细胞毒剂量0.2 mg/L的 As_2O_3 能部分逆转
HepG2/ADM细胞对阿霉素、顺铂(CDDP)、
丝裂霉素(MMC)、5-氟尿嘧啶(5-FU)的耐药
性, 逆转倍数分别为2.92, 3.09, 2.13, 2.60倍. 同
时无细胞毒剂量0.2 mg/L的 As_2O_3 能使HepG2/
ADM细胞内阿霉素浓度明显增加, MDR1表
达下降.

结论: As_2O_3 具有体外逆转人肝癌细胞多药耐
药性的作用, 可能与下调MDR1表达、增加细
胞内药物积累有关.

■背景资料

多药耐药是肿瘤
细胞免受化疗药
物攻击的最重要
的细胞防御机制,
因此如何逆转多
药耐药成为目前
对肿瘤化疗最常
解决的问题, 而寻
找多药耐药逆转
剂成为解决问题
的关键. MDR1基
因被认为是使肿
瘤细胞产生多药
耐药性的最主要
基因, Pgp是其表
达产物, 而Pgp能
够降低化疗药物
在肿瘤细胞内的
蓄积.

■应用要点

本文证实三氧化二砷体外能够有效逆转肝癌耐药细胞株HepG2/ADM的耐药性,为肝癌的临床治疗开辟了一条新的途径,临床应用前景广阔。

关键词: 肝癌; 多药耐药; 三氧化二砷

李贺, 熊茂明, 孟翔凌, 耿小平. 三氧化二砷逆转肝癌细胞株HepG2/ADM多药耐药的作用. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2691-2694

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2691.asp>

0 引言

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一,虽然近年来治疗技术有了很大提高,但手术切除率及5 a生存率都较低,在各种综合性治疗中化疗仍是很重要的手段,然而肝癌细胞多药耐药(multidrug resistance, MDR)的存在常使化疗失败. 因此寻找多药耐药逆转剂成为解决肝癌MDR的有效途径之一. 我们选用中药砒霜的有效成分-三氧化二砷(As_2O_3)体外逆转肝癌耐药细胞株HepG2/ADM的耐药性,以期寻求一种具有临床应用价值的逆转新药,从而优化化疗方案,提高临床疗效.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株HepG2、人肝癌细胞耐药株HepG2/ADM由华中科技大学附属同济医院肝脏外科中心陈孝平教授建立并惠赠. As_2O_3 (哈尔滨伊达药业有限公司产品), 阿霉素(ADM, 法玛西亚公司), 顺铂(CDDP, 山东齐鲁制药), 丝裂霉素(MMC, 浙江海正药业), 5-氟尿嘧啶(5-FU, 旭东海普公司), 维拉帕米(VER, 上海天禾制药), TRIzol Resgeant试剂盒(Gibco公司), P170-PE鼠抗人mAb(Coulter公司), RT-PCR试剂盒(TaKaRa产品).

1.2 方法

1.2.1 As_2O_3 细胞毒性实验^[1] 将对数生长期HepG2, HepG2/ADM细胞制成 $1 \times 10^6/\text{L}$ 单细胞悬液, 分别接种于96孔板, 每孔加细胞悬液100 μL , 培养24 h, 按分组情况分别加入4.0, 2.0, 1.0, 0.5, 0.25 mg/L的 As_2O_3 , 每个浓度设5个复孔, 每孔终体积200 μL , 培养48 h后, 每孔加入MTT (5 g/L) 20 μL , 继续培养4 h, 吸弃培养液, 每孔加入DMSO 150 μL , 充分振荡10 min, 于酶标仪上检测490 nm处吸光度值(A值), 计算细胞抑制率, 细胞抑制率 = $[1 - (A_x - A)/(A_0 - A)] \times 100\%$, A_x 为加药孔吸光度值, A 为只加培养液不加细胞悬液对照组吸光度值, A_0 为只加细胞悬液不加药孔的吸光度值.

1.2.2 MTT实验 将细胞分成HepG2, HepG2+ As_2O_3 , HepG2/ADM, HepG2/ADM+ As_2O_3 和HepG2/ADM+VER五组(以VER

作逆转效能阳性对照, As_2O_3 浓度根据 As_2O_3 细胞毒性实验结果, 选取无细胞毒剂量0.2 mg/L), 按上述方法接种于96孔板, 培养24 h, 分别加入ADM, CDDP, MMC, 5-FU, 每种药物设6组浓度, 每组浓度5个复孔; 继续培养48 h, 进行MTT测定, 计算半数抑制率(IC_{50}). 耐药倍数(RI) = 耐药株 IC_{50} /亲本株 IC_{50} ; 逆转倍数 = 耐药株 IC_{50} /加 As_2O_3 后 IC_{50} ; 相对逆转效率 = (逆转前 IC_{50} -逆转后 IC_{50})/(逆转前 IC_{50} -亲本株 IC_{50}) $\times 100\%$. 实验在不同日重复3次.

1.2.3 流式细胞仪检测细胞内药物浓度和细胞膜转运蛋白(Pgp)的表达 取对数生长期的HepG2, HepG2/ADM制备成单细胞悬液($5 \times 10^5/\text{L}$), 实验组以无细胞毒剂量的 As_2O_3 , 即0.2 mg/L As_2O_3 分别联合1.2, 2.4, 4.8 mg/L的ADM共培养4 h, 对照组仅含1.2, 2.4, 4.8 mg/L的ADM, 冷PBS (4 $^{\circ}\text{C}$, 0.01 mol/L, pH 7.4)洗涤2次, 再重悬于冷PBS中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存至上样行流式细胞仪(Beckman Coulter, EPICS-XL-4)检测($\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 575 \text{ nm}$)细胞内阿霉素荧光强度. 将细胞分成HepG2/ADM和HepG2/ADM+ As_2O_3 (0.2 mg/L)组, 作用48 h后, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^6/\text{L}$, 取1 mL离心, 弃上清, 加P170-PE鼠抗人mAb 5 μL , 室温下20 min, 加PBS 1 mL离心, 除去未结合的荧光抗体, 最后加入PBS 0.5 mL待测, $\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 575 \text{ nm}$, Pgp含量以Pgp荧光强度表示.

1.2.4 RT-PCR检测MDR1表达 取对数生长期细胞 1×10^7 用TRIzol一步法提取总RNA, 紫外分光光度计检测总RNA含量. 取0.5 μg 细胞总RNA, 0.5 μL 的逆转录酶AMV, 在Oligo dT-Adaptor Primer存在下建立10 μL 反应体系, 操作步骤严格按照试剂盒说明进行. PCR扩增MDR1上游引物: 5'CCC ATC ATT GCA ATA GCA GG, 下游引物: 5'GTT CAA ACT TCT GCT CCT GA; β_2 -mg上游引物: 5'ACC CCC ACT GAA AAA GAT GA, 下游引物: 5'ATC TTC AAA CCT CCA TGA TG. 按试剂盒说明建立反应体系, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s, 52 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸4 min, 共35个循环, 得到157 bp的MDR1和121 bp的 β_2 -mg扩增产物. 扩增产物于25 g/L琼脂糖凝胶电泳进行检测, EB染色, 用凝胶成像系统(Tanon GIS-2010)进行分析.

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 结果用SPSS 12.0统计软件进行t检验和方差分析.

2 结果

2.1 As_2O_3 细胞毒性检测结果 As_2O_3 在0.25 mg/L

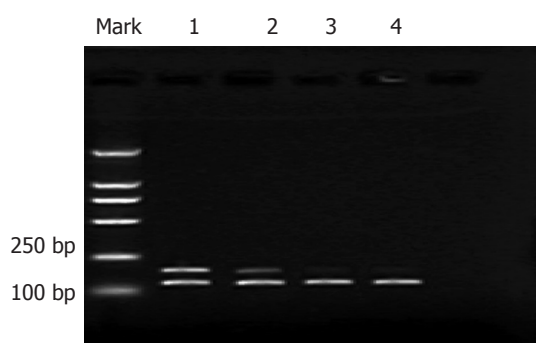


图 1 As_2O_3 对HepG2/ADM及HepG2细胞MDR1表达的影响。
1: As_2O_3 处理前HepG2/ADM; 2: As_2O_3 处理后HepG2/ADM;
3: As_2O_3 处理前HepG2; 4: As_2O_3 处理后HepG2。

表 1 As_2O_3 的细胞毒性测定 (mean \pm SD)

As_2O_3 (mg/L)	抑制率 (%)	
	HepG2	HepG2/ADM
0.25	12 \pm 0.2	7 \pm 0.4
0.5	33 \pm 0.6	22 \pm 0.3
1	49 \pm 0.4	44 \pm 0.2
2	66 \pm 0.3	57 \pm 0.6
4	87 \pm 0.4	81 \pm 0.5

■名词解释

多药耐药(multi-drug resistance, MDR): 是指肿瘤细胞接触某一种化疗药物, 不仅对此种药物产生抗药性, 而且还可对其他结构和功能不同的多种化疗药物产生交叉耐药性。MDR细胞的存在不仅大大降低了化疗效果, 而且是肿瘤复发转移的重要原因。

表 2 HepG2细胞与HepG2/ADM细胞的药物敏感性 (mean \pm SD, mg/L)

分组	IC_{50}			
	ADM	CDDP	MMC	5-FU
HepG2	0.074 \pm 0.004	0.156 \pm 0.024	0.105 \pm 0.008	0.307 \pm 0.011
HepG2+ As_2O_3	0.041 \pm 0.002 ^a	0.132 \pm 0.011	0.067 \pm 0.011	0.150 \pm 0.005 ^a
HepG2/ADM	0.913 \pm 0.055	0.895 \pm 0.074	0.260 \pm 0.012	1.169 \pm 0.028
HepG2/ADM+ As_2O_3	0.312 \pm 0.031 ^b	0.290 \pm 0.023 ^b	0.122 \pm 0.010 ^b	0.450 \pm 0.015 ^c
HepG2/ADM+VER	0.152 \pm 0.003 ^e	0.3 \pm 0.009	0.085 \pm 0.009	0.377 \pm 0.017

^a $P < 0.05$ vs HepG2; ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.05$ vs HepG2/ADM; ^d $P < 0.05$ vs HepG2/ADM+ As_2O_3 ; VER浓度为10 μ g/L, As_2O_3 浓度为0.2 mg/L。

表 3 HepG2/ADM细胞的耐药程度和 As_2O_3 的逆转作用

	ADM	CDDP	MMC	5-FU
耐药倍数	12.34	5.74	2.48	3.81
逆转倍数	2.92	3.09	2.13	2.60
相对逆转效率	71.6%	81.9%	86.8%	83.4%

时对HepG2, HepG2/ADM细胞无明显毒性, 超过此浓度呈剂量效应关系, As_2O_3 对HepG2, HepG2/ADM的 IC_{50} 分别为1.02 mg/L, 1.34 mg/L(表1)。

2.2 细胞对抗癌药的敏感性 使用0.2 mg/L浓度 As_2O_3 后ADM, CDDP, MMC和5-FU对HepG2/ADM的 IC_{50} 明显降低(表2)。 As_2O_3 对HepG2/ADM不同化疗药物耐药性的逆转倍数分别为: ADM 2.92倍、CDDP 3.09倍、MMC 2.13倍、5-FU 2.60倍(表3)。

2.3 As_2O_3 对细胞内药物浓度的影响 实验组ADM与无细胞毒性的 As_2O_3 合用, 与对照组单用ADM比较, 细胞内ADM的累积量明显提高($P < 0.01$, 表4)。

2.4 对HepG2/ADM细胞Pgp和MDR1表达的影响 HepG2/ADM细胞的Pgp表达(细胞内平均荧光强度: 7.22 ± 0.23)较HepG2细胞(3.26 ± 0.24)

表 4 HepG2细胞与HepG2/ADM细胞内平均阿霉素荧光强度 (mean \pm SD)

细胞	ADM (mg/L)	细胞内平均荧光强度	
		实验组	对照组
HepG2	1.2	11.32 \pm 0.14 ^b	7.22 \pm 0.09
HepG2	2.4	15.47 \pm 0.29 ^b	8.29 \pm 0.05
HepG2	4.8	18.25 \pm 0.22 ^b	9.60 \pm 0.01
HepG2/ADM	1.2	3.98 \pm 0.04 ^b	1.44 \pm 0.06
HepG2/ADM	2.4	5.29 \pm 0.06 ^b	1.52 \pm 0.02
HepG2/ADM	4.8	6.44 \pm 0.03 ^b	2.11 \pm 0.03

^b $P < 0.01$ vs 对照组。

高, As_2O_3 作用于HepG2/ADM细胞后, 其Pgp表达降低(5.65 ± 0.03)。RT-PCR结果显示: HepG2细胞的MDR1表达明显弱于HepG2/ADM细胞, 且 As_2O_3 作用后无显著变化; 而HepG2/ADM经0.2 mg/L As_2O_3 作用48 h后, 强度明显下降, 但仍高于HepG2细胞(图1)。

3 讨论

砒霜是中国的传统中药, 作为药物应用已有2000多年历史。1970年哈尔滨医科大学首先使用 As_2O_3 治疗急性早幼粒细胞性白血病获得显

■同行评价

逆转MDR的研究是目前的热点之一,特别是用中药作为逆转剂,本文选题具有先进性,科研方案设计严谨合理,方法先进,结果可信,文字流畅,表达简洁准确。

著的临床效果。随后的研究发现, As_2O_3 对许多实体组织肿瘤耐药细胞如人乳腺癌耐药细胞株MCF-7/ADM^[2]有逆转作用, 韩冰 *et al*^[3]研究发现, As_2O_3 能降低人肺腺癌细胞A594 MDR1基因的表达。史立军 *et al*^[4]研究发现, As_2O_3 可能通过抑制凋亡抑制因子survivin基因的表达, 促进胰腺癌PC₂细胞凋亡。何景利 *et al*^[5]研究发现, As_2O_3 与顺铂联合应用能够降低人结肠癌细胞株colon26的Bcl-2蛋白表达, 从而促进细胞凋亡。有关 As_2O_3 作用与肝癌细胞的实验研究也有报道, 刘连新 *et al*^[6]研究发现, As_2O_3 可通过诱导肝癌细胞株凋亡而抑制肝癌细胞生长, 其诱导凋亡机制可能是通过半胱氨酸蛋白酶-3起作用。但目前尚未有 As_2O_3 直接作用与肝癌多药耐药细胞株的研究报道。

肿瘤细胞在化疗过程中会产生多药耐药性, 目前对MDR的研究主要集中在MDR的发生机制和寻找有临床应用价值的MDR逆转剂两方面。我们以中药砒霜的有效成分 As_2O_3 体外逆转人肝癌耐药细胞株HepG2/ADM的耐药性。本组实验结果显示, 当 As_2O_3 剂量达到0.5 mg/L时, 对HepG2, HepG2/ADM细胞毒性明显增强。而小剂量 As_2O_3 (0.2 mg/L), 可明显增加ADM在HepG2/ADM细胞内的蓄积浓度, 同时能有效逆转HepG2/ADM细胞对ADM, cDDP, MMC, 5-FU的耐药, 逆转倍数分别为2.92倍、3.09倍、2.13倍、2.60倍。MDR产生的最大原因是肿瘤细胞

化疗后细胞内Pgp的过度表达^[7]。本组流式细胞术结果表明, As_2O_3 可部分抑制HepG2/ADM细胞Pgp的表达, RT-PCR结果显示, As_2O_3 可使HepG2/ADM细胞MDR1表达降低。以上结果表明, As_2O_3 在体外逆转肝癌耐药主要是通过抑制MDR1表达, 阻断Pgp蛋白表达, 抑制Pgp泵功能, 从而提高HepG2/ADM细胞内的化疗药物浓度, 增强对耐药细胞的杀伤力。 As_2O_3 在体外表现出较强的逆转肝癌多药耐药性作用, 为临床肝癌的化疗提供了一条新的途径。

4 参考文献

- 1 Yu DS, Ma CP, Chang SY. Establishment and characterization of renal cell carcinoma cell lines with multidrug resistance. *Urol Res* 2000; 28: 86-92
- 2 王秀丽, 孔力, 赵瑾瑶, 杨佩满. 三氧化二砷逆转人乳腺癌MCF-7/ADM细胞耐药的机制研究. *中华肿瘤杂志* 2002; 24: 339-343
- 3 韩冰, 石玉枝, 霍建民. 三氧化二砷对肺腺癌细胞凋亡及肺耐药蛋白基因多药耐药蛋白基因表达的影响. *中国实用内科杂志* 2005; 25: 243-244
- 4 史立军, 闫彬彬, 李双星, 孟艳玲, 马珊珊, 刘铁夫, 李呼伦. As_2O_3 对胰腺癌细胞株的抑制作用及其机制的初步探讨. *中国病理生理杂志* 2005; 21: 1572-1574
- 5 何景利, 王贵英, 单宝恩. 三氧化二砷联合顺铂对人结肠癌细胞株colon26抑制作用机理的研究. *中国肿瘤临床* 2005; 32: 1125-1128
- 6 刘连新, 朱安龙, 陈炜, 郭化鑫, 王秀琴, 刘芝华, 张亭栋, 姜洪池, 吴旻. 三氧化二砷对原发性肝癌的作用及其机理研究. *中华外科杂志* 2005; 43: 33-36
- 7 Huesker M, Folmer Y, Schneider M, Fulda C, Blum HE, Hafkemeyer P. Reversal of drug resistance of hepatocellular carcinoma cells by adenoviral delivery of anti-MDR1 ribozymes. *Hepatology* 2002; 36: 874-884

电编 张敏 编辑 张焕兰

乙型肝炎病毒疫苗和乙肝免疫

陈仕珠

陈仕珠, 解放军第451医院感染病科 陕西省西安市 710054

通讯作者: 陈仕珠, 710054, 陕西省西安市友谊东路269号, 解放军第451医院感染病科. chenshizhu34419@126.com

收稿日期: 2006-06-17 接受日期: 2006-07-18

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2695.asp>

编者按 乙型肝炎病毒(HBV)是我国目前慢性感染率和致病率最高的传染性病原体, 严重危害人民健康. 自HBV疫苗问世和实施HBV疫苗免疫接种以来, 乙型肝炎(HB)的自然传播和流行得到有效遏制. 然而, 在具体实施免疫接种过程中还存在不少影响免疫计划实施和免疫效果的问题. 为此, 本期论坛由多年从事HB防治研究的医师围绕HBV疫苗免疫的有关问题分别从7个方面作了专题讨论, 首次提出HBV疫苗免疫的群体化和个体化问题, 提出应根据不同人群或个体采用不同的HBV疫苗、不同的接种程序和剂量, 强调在实施免疫接种时要考虑到影响HBV疫苗免疫及其效果的因素, 如年龄、家族及个体差异、用药情况、疫苗种类、接种方案、方法和剂量、是否辅用佐剂等, 对指导HBV疫苗免疫的实施具有重要价值.

1	乙型肝炎病毒疫苗免疫现状及存在的问题·····	2661
2	乙肝病毒疫苗的类型及其免疫原性和安全性·····	2696
3	影响乙肝疫苗免疫效果的因素·····	2701
4	新生儿和儿童乙肝免疫·····	2708
5	重点高危和特殊人群之乙肝免疫·····	2713
6	乙肝免疫过程中要注意的几个问题·····	2718
7	乙型肝炎病毒疫苗免疫接种策略及卫生经济学评价·····	2722

乙肝病毒疫苗的类型及其免疫原性和安全性

陈仕珠, 高建宏

■背景资料

HBV疫苗已由血源疫苗发展到种类繁多的基因重组(rHBV)疫苗, 目前, 所应用的主要为第2代及部分第3代rHB疫苗。正在研制的主要为加有特殊佐剂使免疫原性更强的rHB疫苗及治疗用DNA等疫苗。

陈仕珠, 高建宏, 解放军第451医院感染病科 陕西省西安市 710054

通讯作者: 陈仕珠, 710054, 陕西省西安市友谊东路269号, 解放军第451医院感染病科. chenshizhu34419@126.com
电话: 029-84734116

收稿日期: 2006-06-17 接受日期: 2006-07-18

摘要

乙型肝炎(HB)病毒(HBV)疫苗主要包括血源疫苗、基因工程酵母疫苗、地鼠及仓鼠卵细胞(CHO)疫苗。血源疫苗已被基因重组HBV(rHBV)疫苗所代替, 后者现已发展到第3代及第4代, 如含Pre-S的CHO疫苗及添加佐剂如寡核苷酸、3抗原(含S, Pre-S1和Pre-S2)的Hepacare疫苗和3'-单磷酸脂A(AS04)疫苗等。近年来又研制成功了肺炎球菌多糖蛋白结合rHBV疫苗及可口服和涂抹的DNA疫苗等。目前所应用的rHBV疫苗均具有很好的免疫原性已得到世界公认和肯定, 且国内外无明显差别。不良反应普通rHBV疫苗小于2.5%, 主要为针刺部位痛、红、肿、胀、痒, 一般轻微, 日余即消。小于0.5%的人有发热、嗜睡、食欲下降等反应, 多见于HB-AS04疫苗, 无需处理。

关键词: 乙肝病毒疫苗; 乙肝免疫; 免疫接种; 免疫原性; 乙型肝炎

陈仕珠, 高建宏. 乙肝疫苗的类型及其免疫原性和安全性. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2696-2700
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2696.asp>

0 引言

1970年代, 乙型肝炎(HB)病毒(HBV)的发现和HB的肆虐, 催生了HBV疫苗。30余年来, HBV疫苗的种类已由最初单一血源HBV疫苗发展为目前的多种基因重组HBV (rHBV)疫苗。血源疫苗和rHBV疫苗用于HB免疫已20余年, 特别是1990年代中期以来, 其应用已使全世界数亿万计的新生儿、婴幼儿及其他人员免受HBV感染。但绝大多数民众甚至不少医务人员除知道接种HBV疫苗能预防HBV感染外, 对HBV疫苗的种类及其接种后的效果等具体问题则鲜有知晓。

甚至有人担心接种HBV疫苗后引起HB或有其他不良反应或出现可怕后果^[1]。因此, 我们集中对HBV疫苗的类型及其免疫原性和安全性作一讨论, 以增进人们对rHBV疫苗的了解进而更利于HB免疫计划的广泛实施。Kruman *et al*于1971年首次证明HB患者血浆中的HBsAg颗粒加热后接种黑猩猩可产生保护性抗HBsAg抗体, 后不久, 人类开始研究并生产血源HBV疫苗。美国于1981年开始接种血源HBV疫苗, 我国台湾于1984年起用, 内地于1985年正式生产血源疫苗并应用于临床, 从此人类步入征服HB时代。进入1990年代, 各种rHBV疫苗陆续研制成功并投放市场。1996年我国基因重组CHO HBV疫苗和酵母HBV疫苗研制成功并应用于临床。此后, 由于其他rHBV疫苗的研制成功和更新、效果更好的rHBV疫苗的出现对提高我国乃至全人类的HB免疫发挥了重要作用, 为最终控制HB奠定了物质基础。

1 HBV疫苗的类型

1.1 血源疫苗 从HBsAg阳性者血浆中提取抗原进而制备成的疫苗, 称为血源疫苗, 是1970和1980年代初应用的疫苗, 对此间的HB预防起过重要作用。由于存在安全急性隐患, 同时rHBV疫苗的研制成功而停止生产和使用^[2]。

1.2 基因工程疫苗 在对血源HBsAg的提取及理化性状、制备工艺、质量检测等研究过程中奠定了研发基因工程疫苗的基础, 因此, 从时间上说, 两者是同时发展起来的。基因工程疫苗以HBsAg基因构成质粒载体转入各种细胞内或与细胞基因整合, 培养基因工程细胞表达HBsAg, 经提取后制备成疫苗^[2]。基因工程疫苗具有更好的安全性, 可大量生产而成本较低。目前应用的基因工程疫苗主要有酵母疫苗、甲基营养型酵母疫苗、仓鼠卵巢细胞(CHO)疫苗及近年来研制并应用的含S, Pre-S1和Pre-S2的Hepacare等疫苗和添加佐剂如寡核苷酸、3'-单磷酸脂A(AS04)疫苗、肺炎球菌多糖蛋白结合HBV疫苗和可口服的DNA疫苗等。HBsAg或HBsAg+

Pre-S2等蛋白亚单位疫苗、多肽疫苗、树突状细胞(DC)疫苗等同时又是治疗性疫苗. 由于我国目前已不再生产和应用血源疫苗, 故我们将重点讨论免疫性rHBV疫苗. 近年来, 国内外对rHBV疫苗作了大量研究, 取得可喜进展, rHBV疫苗的免疫效果较第一代者有很大提高, 主要是通过加入能提高免疫反应的物质即佐剂来提高免疫效果的新型rHBV疫苗, 其优点表现在接种剂量减少, 抗-HBs阳转率和保护率提高, 对既往接种后无反应者亦有很好的反应^[3].

1.3 HB-AS04疫苗 Boland *et al*^[4]对1303名15岁以上健康志愿者所作的研究表明, HB-AS04疫苗组按mo 0, 6程序接种, 对照组应用普通rHBV疫苗按mo 0, 1, 6程序接种后, HB-AS04诱导血清保护率为100%, GMT比对照组高2倍. 对此前接种普通疫苗无反应(4针后抗体小于10 IU/L)的20-60岁成人接种HB-AS04疫苗, 首针后1 mo血清保护率HB-AS04疫苗组和接种普通疫苗的对照组分别为66%和44%; 第二针后1 mo分别为81%和58%; 第三针后分别为98%和68%. HB-AS04组GMT为对照组的10-350倍. HB-AS04疫苗的缺点为局部注射痛普遍, 亦较普通rHBV疫苗为著^[5]. Levie *et al*^[6]作了与此类似的研究, 2针HB-AS04疫苗的效果优于3针普通HBV疫苗, 尤以GMT为著. 局部注射后红、胀、痛的发生率(90%)明显高于标准rHBV疫苗(48%), 但均为轻度. 如能减少局部不良反应, 则该疫苗应有良好前景.

1.4 寡脱氧核苷酸(ODN)HBV疫苗 ODN可引起B淋巴细胞激活、增生及分泌抗体(Ig), 刺激灵长类浆细胞样树突状细胞的分子表达. 将ODN作为佐剂制成ODN-HBV疫苗免疫动物后抗体产生量明显增加, 对接种动物所产生的IgG亚型分析提示以Th1相关的IgG2b亚群升高更著. 通过体外测定 γ -干扰素水平亦提示ODN-(IMT504)HBV疫苗引起Th1反应增加. 由于猴、鼠细胞体外用IMT504/HBV疫苗免疫较人体细胞免疫刺激显著降低, 故有理由认为, 以ODN为佐剂的rHBV疫苗免疫人将收到良好效果^[7]. 吴晓娟 *et al*^[8]用CpG-ODN与HBV核酸疫苗联合免疫小鼠后, 抗体阳性率提高3倍, 抗体水平提高2倍; 其抗体阳转时间亦早于对照组; 即便其用量减少3倍, 诱导抗体水平和阳转率仍无改变.

1.5 多肽疫苗 短肽疫苗因去除了结构蛋白中的无效系列和免疫抑制系列, 仅包含有效免疫成分, 故有针对性更强、效果更好、而副作用低

的特点. Guan *et al*^[9]研究了一种含有新的治疗学HB多肽免疫刺激复合物(ISCOMS)疫苗. 电镜下该疫苗为典型鸟笼样结构的亚微颗粒, 直径约40 nm. ISCONS传递(delivery)系统能有效的改善多肽的免疫原理, 诱导体内更强的特异性免疫反应(特异性CTL反应). 此种疫苗尚未应用于HB免疫, 故其确切效果尚待证实.

1.6 含前S(Pre-S)HBV疫苗 普通HBV疫苗不含Pre-S片段, 其免疫原性逊于含Pre-S者. 此类疫苗分为含全Pre-S区和含Pre-S1及S2区的疫苗. 国内学者^[10]对含Pre-S1区免疫部位(区域)的研究表明, 鼠免疫原区主要存在于S1区的35-59片段, 该区免疫原性更强, 而抗该片段的抗体为中和病毒抗体. 含Pre-S2抗原的HBV疫苗对保护健康个体不受HBV感染较之不含Pre-S2者更有效^[11]. 对1-16岁癌症儿童接种含和不含Pre-S2的HBV疫苗20 μ g(<10岁10 μ g)的结果亦表明, 三针完成后血清转换率前者为72%, 后者为62%, 抗-HBs水平前者明显高于后者^[11]. 印度的一份研究也证实^[12], 按mo 0, 1, 2方案接种含Pre-S区的疫苗后婴儿(60名)抗体阳转率100%, 成人(62名)为96.4%, GMT婴儿为385.4 IU/L, 成人518.5 IU/L. 不良反应有低热、局部红肿. 认为含全Pre-S HBV疫苗安全有效, 该种疫苗国内亦有研究, 其效果已得到初步肯定.

1.7 HBV DNA疫苗 为通过蛋白佐剂翻译HBsAg的HBV DNA疫苗, 即接种外源性重组表达质粒(置入外源性质粒并在体内表达基因所编码的蛋白). 该蛋白能诱导产生体液免疫和细胞毒性T细胞(CTL)的形成进而诱导强烈的免疫反应. 由于CTL能识别不同的抗原表位, 利于克服病毒的免疫突变, 因此, DNA疫苗能打破HBsAg的转基因动物对HBsAg的免疫耐受, 并克服各自免疫的局限性. 该疫苗引起明显增强的脾细胞IL-12及 γ -干扰素反应, 诱导更强的CD8+CTL反应及引起比单纯应用rHBV免疫有更高的免疫保护作用^[13]. 该疫苗具有多样化的接种途径如皮内、皮下、肌内、基因枪注射技术、口服和喷雾接种. 如能解决多个抗原同时表达造成免疫反应彼此干扰、引起肝组织免疫损伤及干扰宿主细胞基因正常功能等问题, 则该疫苗将有广阔的免疫和治疗前景.

1.8 其他疫苗 (1)肺炎球菌多糖苷蛋白(PncPS)结合HBV疫苗^[14], 诱导机体产生抗疫苗血清型IgG浓度反应更明显, 具良好的免疫原性. (2)重组腺病毒载体HBV疫苗(可用作治疗), 可用于黏膜接

■创新盘点

本文较系统地讨论了HBV疫苗的种类及其免疫原性和安全性, 介绍了新型rHBV疫苗优点和不足, 便于读者了解和掌握.

■应用要点

本文将帮助读者比较系统的了解不同种类HBV疫苗的免疫特点,不同类型疫苗最适接种人群及年龄和最佳应用剂量。

种,应用剂量小,诱导小鼠产生特异性抗体和细胞免疫反应均高于皮下注射者^[15]。(3)口服或食用DNA HBV疫苗前已述及,为利用转基因植物生产的食用HBV疫苗,已部分完成了应用于人的临床实验。口服疫苗避免针刺,应用方便且安全。(4)DC疫苗属治疗性疫苗,用于慢性HB可行而有效,皮下注射后能有效抑制HBV复制,降低HBV DNA载量,清除HBeAg,改善肝功能;与拉米夫定联用可更有效清除HBV。此外DC疫苗对其他感染性疾病和肿瘤亦有良好的疗效。(5)一些学者应用脂质体作为佐剂制成的HBV疫苗,亦可引起很强的免疫反应。粒细胞-巨嗜细胞集落刺激因子及胸腺因子 $\alpha 1$ 作为HBV疫苗的佐剂亦具有提高免疫应答的作用^[16]。硫柳汞作为杀菌防腐剂用于注射剂疫苗已多年,其含汞量较高。我国学者采用低浓度硫柳汞,即由目前的50 mg/L降至1-2 mg/L,其杀菌效力仍能满足需求,且符合美、英等国药典对添加剂注射液抗微生物效力的要求^[17]。

2 rHBV疫苗的免疫原性和安全性

2.1 rHBV疫苗的免疫原性 HBsAg是由100个单位多肽组成的蛋白。基因重组的HBsAg据其不同种类含糖基化比例不同,含糖基化比例越少的HBsAg与mAB结合的表位密度越高。动物实验表明,血源疫苗含抗原蛋白最多,其抗原性最强,CHO次之,酵母疫苗又次之。因此,CHO疫苗诱导机体产生抗体量要高于甲基营养型酵母疫苗,后者高于酵母疫苗。目前,国内外所生产的rHBV疫苗的免疫原性大体接近^[18],接种后抗-HBs阳转率不同报道差异较大。对新生儿接种rHBV疫苗后抗-HBs阳转率酵母疫苗平均为90%^[19],汉逊酵母疫苗为99.9%,CHO疫苗高于93%。对幼儿及儿童,酵母疫苗为99%^[20],汉逊酵母疫苗为98.3%-100%,CHO疫苗为99%。对HBsAg阳性母亲所生婴儿的保护率,酵母疫苗在60%以上,CHO疫苗在95%-99%。对新生儿及儿童,抗-HBs阳转率排序大体为:汉逊酵母疫苗优于CHO疫苗优于酵母疫苗,地鼠疫苗亦优于酵母疫苗。对HBsAg阳性母亲所生子女保护率的排序大体为:汉逊酵母疫苗优于CHO疫苗优于血源疫苗^[21],略优于酵母疫苗,酵母疫苗对儿童抗-HBs阳转率要高于成人。对常规接种后无或弱反应者,新型rHBV疫苗如Hepacare疫苗、添加佐剂的寡核苷酸疫苗、HB-AS04疫苗可明显提高反应性。我国生产的第3代CHO疫苗(含

Pre-S, S1/S2)经多种质量和安全考察,完全达到世界卫生组织(WHO)和欧洲药典的标准^[22]。此外,HBV疫苗的效果与剂量等有关,WHO推荐20 μ g/针较为合适,剂量太小,诱导抗体低,尤高危人群如HBsAg阳性母亲的子女,对此类人群接种宜用等于或高于20 μ g/针及增加接种次数,缩短间隔时间^[2]。

2.2 HBV疫苗的安全性 HBV疫苗的安全性是政府部门、生产厂家、应用单位和接种者所共同关心的问题,各国对疫苗的质量和安全性要求特别严格。有些国家或地区建立了疫苗副反应及疫苗引起的结节性多动脉炎等报告系统,用以监测和评估疫苗的副反应^[23-24]。自rHBV疫苗取代血源疫苗以来,即未再见到接种rHBV疫苗引起HB的病例报道。rHBV疫苗的安全性已经多年的实践证实和世界所公认^[25]。除卫生预防部门的统计资料外,美国一份国家免疫调查显示,接种HBV疫苗者中93%认为安全,6%未表态,仅1%的人认为不安全。所有接种疫苗儿童的父母均认为安全^[26]。由于接种部位、操作及个体反应的不同,有部分人接种后出现一些不良反应。针刺部位反应主要有痛、红、胀、肿、痒,一般较轻,日余即可消失,无需处理。偶有引起针刺点感染的报道^[27],与操作本身及接种后局部细菌感染有关,而非HBV疫苗所致。局部反应中,皮下注射较肌肉注射出现频率为高,症状亦相对明显些;加佐剂(如AS04)的疫苗不良反应较普通疫苗出现频率高且重^[6-7],普通rHBV疫苗的不良反应发生率一般不超过2.5%,全身反应发生较少,主要有发热^[28],嗜睡、不适,发生率0.2%-0.25%^[29]。此外,尚有远期(大于1 wk)出现的少见严重病症如格林-巴综合征^[30]等。Pennesi *et al*^[31]报道1例12岁女童于接种HBV疫苗后发生肾小球肾炎,肾活检免疫组化检查发现肾组织存在HBsAg,经用血管紧张素转换酶抑制剂等治疗3 a方缓解。几内亚比绍首都基民1996-1997年出现的876名接种了rHBV疫苗的儿童中,7月龄死亡率高于1-7 mo和8-12 mo者,尤以女童多见。认为在高死亡区,HBV疫苗可能影响儿童使之易受感染^[32]。但此乃推测,尚不足为据。鉴于实行接种HBV疫苗后可使90%以上人获得保护的巨大益处,故少而轻的副反应不影响免疫计划的实施和HBV疫苗的应用。

另外,近年来国内外不少学者或机构采用HBV疫苗联合甲肝或其他(如白喉、炭疽、百日咳、脊髓灰质炎疫苗、流感疫苗,麻疹-腮腺炎

-水痘疫苗)疫苗同时接种收到满意效果^[33-35], 联合接种后各疫苗均产生相应的特异性抗各自抗原的抗体。对HBV疫苗而言, 接种后无论是抗体转换率还是GMT均不低于甚至略高于单独接种rHBV疫苗者。因此, 联合rHBV和其他疫苗免疫不失为一省时省力的方法, 值得推广。

3 参考文献

- Maayan-Metzger A, Kedem-Friedrich P, Kuint J. To vaccinate or not to vaccinate-that is the question: why are some mothers opposed to giving their infants hepatitis B vaccine? *Vaccine* 2005; 23: 1941-1948
- 李河民, 梁争论, 张华远. 关于乙型肝炎疫苗免疫原性的评价. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 378-381
- Das K, Gupta RK, Kumar V, Kar P. Immunogenicity and reactogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in subjects over age of forty years and response of a booster dose among nonresponders. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1132-1134
- Boland G, Beran J, Lievens M, Sasadeusz J, Dentico P, Nothdurft H, Zuckerman JN, Genton B, Steffen R, Loutan L, Van Hattum J, Stoffel M. Safety and immunogenicity profile of an experimental hepatitis B vaccine adjuvanted with AS04. *Vaccine* 2004; 23: 316-320
- Jacques P, Moens G, Desombere I, Dewijngaert J, Leroux-Roels G, Wettendorff M, Thoelen S. The immunogenicity and reactogenicity profile of a candidate hepatitis B vaccine in an adult vaccine non-responder population. *Vaccine* 2002; 20: 3644-3649
- Levie K, Gjørup I, Skinhoj P, Stoffel M. A 2-dose regimen of a recombinant hepatitis B vaccine with the immune stimulant AS04 compared with the standard 3-dose regimen of Engerix-B in healthy young adults. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 610-614
- Elias F, Flo J, Rodriguez JM, De Nichilo A, Lopez RA, Zorzopulos J, Nagle C, Lahoz M, Montaner A. PyNTTTTGT prototype oligonucleotide IMT504 is a potent adjuvant for the recombinant hepatitis B vaccine that enhances the Th1 response. *Vaccine* 2005; 23: 3597-3603
- 吴晓娟, 赵大鹏, 冷梅, 刘丹, 戚凤春, 汪春义, 王佳凤, 岳丹, 王华, 齐影, 付学奇. CpG-ODN对乙肝核酸疫苗及重组疫苗免疫效果的影响. *中国生物制品学杂志* 2005; 18: 232-235
- Guan XJ, Guan XJ, Wu YZ, Jia ZC, Shi TD, Tang Y. Construction and characterization of an experimental ISCOMS-based hepatitis B polypeptide vaccine. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 294-297
- Hu WG, Wei J, Xia HC, Yang XX, Li F, Li GD, Wang Y, Zhang JC. Identification of the immunogenic domains in HBsAg preS1 region using overlapping preS1 fragment fusion proteins. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2088-2094
- Emir S, Buyukpamuk M, Akyuz C, Kutluk T, Guler E, Caglar K. The comparison of antibody response to different hepatitis B vaccines with and without pre-S2 antigen in children with cancer. *Pediatr Hematol Oncol* 2002; 19: 227-233
- Joshi N, Kumar A, Raghu MB, Bhave S, Arulprakash R, Bhusari P, Rao R. Immunogenicity and safety of hepatitis B vaccine (Shanvac-B) using a novel pre-filled single use injection device Uniject in Indian subjects. *Indian J Med Sci* 2004; 58: 472-477
- Xiao-wen H, Shu-han S, Zhen-lin H, Jun L, Lei J, Feng-juan Z, Ya-nan Z, Ying-jun G. Augmented humoral and cellular immune responses of a hepatitis B DNA vaccine encoding HBsAg by protein boosting. *Vaccine* 2005; 23: 1649-1656
- Nurkka A, Joensuu J, Henckaerts I, Peeters P, Poolman J, Kilpi T, Kayhty H. Immunogenicity and safety of the eleven valent pneumococcal polysaccharide-protein D conjugate vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 1008-1014
- 周建勋, 邢来田, 韩金祥, 张凤丽, 李焱, 岳盈盈, 刘菊华, 李妍, 孟红. 重组腺病毒载体乙肝疫苗的免疫学研究. *中国微生物学杂志* 2004; 16: 336-337
- Kim MJ, Nafziger AN, Harro CD, Keyserling HL, Ramsey KM, Drusano GL, Bertino JS Jr. Revaccination of healthy nonresponders with hepatitis B vaccine and prediction of seroprotection response. *Vaccine* 2003; 21: 1174-1179
- 张岚, 汪恩浩, 朱征宇, 郑礼群, 王军. 降低乙型肝炎疫苗中硫柳汞浓度的研究. *中国生物制品学杂志* 2004; 17: 300-302
- Trama A, Walker D, Fox-Rushby J. Introducing hepatitis B virus vaccine into the Expanded Programme on Immunization in Bangladesh: a proposed method to evaluate whether the existing infrastructure has the capacity. *J Health Popul Nutr* 2005; 23: 25-33
- 崇雨田, 罗瑞虹, 谷进, 赵志新, 李建国, 姚集鲁. 广东新生儿接种重组乙型肝炎疫苗的免疫效果. *中山大学学报·医学科学版* 2005; 26: 92-94
- 黄瑛, 谢谨, 杨永锐. 幼儿820例乙型肝炎疫苗免疫应答的分析. *临床肝胆病杂志* 2005; 21: 49-50
- 梁争论, 李河民, 荆庆, 李艳萍, 王佑春, 时景璞, 赵桂珍, 尹爱红, 杨超美, 张华远. 国产重组(CHO细胞)乙型肝炎疫苗抗体反应和母婴传播阻断效果研究. *中国计划免疫* 2003; 9: 317-320
- 范秀媛, 孔德清, 张茂金. 重组乙型肝炎疫苗(CHO细胞)及其应用. *中国计划免疫* 2005; 11: 234-237
- Begier EM, Langford CA, Sneller MC, Wise RP, Ball R. Polyarteritis nodosa reports to the vaccine adverse event reporting system (VAERS): implications for assessment of suspected vaccine-provoked vasculitis. *J Rheumatol* 2004; 31: 2181-2188
- Geier MR, Geier DA. Hepatitis B vaccination safety. *Ann Pharmacother* 2002; 36: 370-374
- Rendi-Wagner P, Wiedermann G, Stemberger H, Kollaritsch H. New vaccination strategies for low- and non-responders to hepatitis B vaccine. *Wien Klin Wochenschr* 2002; 114: 175-180
- Allred NJ, Shaw KM, Santibanez TA, Rickert DL, Santoli JM. Parental vaccine safety concerns: results from the National Immunization Survey, 2001-2002. *Am J Prev Med* 2005; 28: 221-224
- Heijtkink RA, Bergen P, Melber K, Janowicz ZA, Osterhaus AD. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) derived from yeast cells (*Hansenula polymorpha*) used to establish an influence of antigenic subtype (adw2, adr, ayw3) in measuring the immune response after vaccination. *Vaccine* 2002; 20: 2191-2196
- 梁争论, 李艳萍, 荆庆, 吴小音, 李荣成, 王建峰, 杨继业, 钟熙, 任玲君, 李河民, 张华远. 一种新型重组(汉逊酵母)乙型肝炎疫苗人体安全性和免疫效果考核. *中国计划免疫* 2004; 10: 193-197
- Zhao YL, Chen YG, Li J, Han GX, Tian C, Liang JL, Li G, Wang ZG, Zhu YG, Tian ZN, Zhang HY, Wan

同行评价

本文对目前国内已经和正在研制的HBV疫苗的种类、免疫原性、安全性作一讨论, 具有一定的指导意义。

- ZJ, Liang ZL, Bi SL. Safety and immunogenicity of Bilive combined hepatitis A and B vaccine. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2004; 25: 470-473
- 30 Khamaisi M, Shoenfeld Y, Orbach H. Guillain-Barre syndrome following hepatitis B vaccination. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22: 767-770
- 31 Pennesi M, Torre G, Del Santo M, Sonzogni A. Glomerulonephritis after recombinant hepatitis B vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21: 172-173
- 32 Garly ML, Jensen H, Martins CL, Bale C, Balde MA, Lisse IM, Aaby P. Hepatitis B vaccination associated with higher female than male mortality in Guinea-bissau: an observational study. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 1086-1092
- 33 Usonis V, Meriste S, Bakasenas V, Lutsar I, Collard F, Stoffel M, Tornieporth N. Immunogenicity and safety of a combined hepatitis A and B vaccine administered concomitantly with either a measles-mumps-rubella or a diphtheria-tetanus-acellular pertussis-inactivated poliomyelitis vaccine mixed with a Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in infants aged 12-18 months. *Vaccine* 2005; 23: 2602-2606
- 34 Cheng HK, Rajadurai VS, Amin Z, Sriram B, Yee MF, Han HH, Bock HL, Safary A. Immunogenicity and reactogenicity of two regimens of diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B-inactivated polio and Haemophilus influenzae type b vaccines administered to infants primed at birth with hepatitis B vaccine. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35: 685-692
- 35 Rieger MA, Hofmann F, Michaelis M. Simultaneous vaccination against hepatitis A and B: results of an open, randomized study from the occupational health point of view. *Int J Occup Med Environ Health* 2004; 17: 379-391

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

全国消化系疾病的诊疗进展学习班通知

本刊讯 由福建医科大学附属协和医院承办的国家级继续医学教育项目《消化系疾病的诊疗进展》将于2006-10-14/18在福建省武夷山市举行, 学习班授予 I 类继续教育学分11分, 欢迎全国消化系病专业中高级医务人员报名参加。

联系人: 陈运新, xinxingge75@sohu.com, 0591-83357896转8482.

地址: 福建省福州市新权路29号福建医科大学附属协和医院, 邮编: 350001.

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 第一方面是直接参与, 包括: (1)酝酿和设计实验; (2)采集数据; (3)分析/解释数据. 第二方面是文章撰写, 包括: (1)起草文章; (2)对文章的知识性内容作批评性审阅. 第三方面是工作支持, 包括: (1)统计分析; (2)获取研究经费; (3)行政、技术或材料支持; (4)指导; (5)支持性贡献. 每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者. (世界胃肠病学杂志社2006-09-08)

影响乙肝疫苗免疫效果的因素

陈仕珠, 韩永战

陈仕珠, 韩永战, 解放军第451医院感染病科 陕西省西安市 710054

通讯作者: 陈仕珠, 710054, 陕西省西安市友谊东路269号, 解放军第451医院感染病科. chenshizhu34419@126.com
电话: 029-84734116

收稿日期: 2006-06-17 接受日期: 2006-07-18

摘要

影响乙型肝炎病毒(HBV)疫苗免疫的因素很多, 政府和民众对乙型肝炎(乙肝, HB)了解和认识程度、经济等状况、有关行政部门的重视程度和管理力度决定是否推行HBV疫苗免疫接种; 接种者的年龄及个体差异、用药情况、疫苗的种类、接种方案、接种方法和剂量、是否辅用佐剂等对接种后能否尽早产生保护性抗-HBs均有不同程度的直接影响. 对不同人群、不同个体应采用不同的接种方案和剂量, 必要时应用佐剂或免疫调节剂.

关键词: HBV疫苗; 免疫接种; 乙型肝炎; 佐剂

陈仕珠, 韩永战. 影响乙肝疫苗免疫效果的因素. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2701-2707

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2701.asp>

0 引言

虽然绝大多数人(不分种族)对血源或基因重组乙型肝炎病毒(HBV)疫苗有很好的应答反应, 但不同人群反应并不均一, 而呈多样性, 有反应强弱和无反应之异. 对完成全程接种后产生高水平(>100 IU/L, 国内为>10 IU/L)抗-HBs者称有保护反应, 对产生抗-HBs滴度在10-100 IU/L(国内为>2.1-10 IU/L)者称弱反应, 对产生低滴度(<10 IU/L, 国内为<2.1 IU/L)抗-HBs者则称无反应^[1]. 后两者不能或不能长期有效保护机体不被HBV感染, 显然不是人们接种HBV疫苗的初衷. 出现上述情况的原因复杂, 影响因素众多. 为此, 我们集中讨论乙型肝炎(HB)免疫和HBV疫苗接种后血清抗-HBs阳转及其滴度的影响因素.

1 疫苗因素

1.1 疫苗种类 我国自1996年以来所应用的基因工程HBV疫苗主要有酵母疫苗、甲基营养汉逊

酵母疫苗及仓鼠卵细胞(CHO)表达的3种HBV疫苗. 总体而言, 用同样的剂量按相同的程序接种同样的群体, 其免疫效果多无统计学差别^[2]. 但对不同人群不同疫苗则有差异. 对HB母婴阻断率国产HBV酵母疫苗(与国外酵母疫苗类似)平均达90% (85%-96%). 但酵母疫苗用于成人诱导抗-HBs的应答率较低. 血源HBV疫苗对诱导体外T细胞增殖反应(20 d后)较为明显, 而CHO HBV疫苗对诱导B淋巴细胞增殖作用较强^[3]. CHO HBV疫苗接种后抗-HBs阳转率和几何平均滴度(GMT)均较酵母疫苗为高^[4]. 中华地鼠卵巢细胞基因重组乙肝病毒(rHBV)疫苗不论是抗体阳转率还是抗体滴度(保护率)都相对优于酵母HBV疫苗^[5], 重组酵母来源试剂检测抗-HBs的阳转率比血源来源试剂检测可提高近10%^[6]. 汉逊酵母疫苗对6-9岁儿童的免疫效果较普通酵母疫苗为佳, 抗-HBs阳转率达98.25%-100%, GMT可高达数千IU/L. 我国长春生物制品研究所应用CpG-寡聚脱氧核苷酸(CpG-ODN)与不同剂量HBV疫苗配伍分别免疫小鼠后抗-HBs阳转率及抗-HBs水平分别较单用核酸疫苗的对照组高3倍和2倍. 而CpG和rHBV疫苗配伍免疫后抗-HBs阳转率和阳转时间均高于和早于CpG与核酸疫苗组. 加入CpG-ODN后, 即使rHBV疫苗用量减少3倍, 其诱导抗-HBs阳转率和水平亦无改变^[7]. CpG-ODN的应用将使更经济、高效的HB免疫成为可能.

1.2 疫苗佐剂 为提高免疫效果, 目前国内外所生产的rHBV疫苗已加入了佐剂. 这里所说的佐剂主要指需额外加用的较一般佐剂有更大的增强机体免疫应答作用和有免疫激动或调节作用的制剂. 寡脱氧核苷酸(ODNs)可激活B细胞, 使之增殖并分泌抗体, 刺激灵长类浆细胞样树突状细胞的分子表达. 动物实验和人体试用均表明, 将ODN作为rHBV疫苗佐剂接种后抗体(IgG)明显增加, 以与Th1相关的IgG2b亚群为著. ODNs作为rHBV疫苗佐剂被认为具有良好的前景^[8-9]. Boland *et al*^[10]应用3'-单磷酸脂A(AS04)作为佐剂对≥15岁健康受试者按mo 0, 6. 接种rHBV疫苗

■背景资料

乙肝免疫是否成功影响因素众多. 客观因素有社会各层人员对乙肝免疫的认识水平、经济状况、政府的宣传督导、财政支持及推行力度. 实施者尽力程度, 这些因素决定是否实施免疫; 个体因素包括性别、年龄、不同群体、健康状况、疫苗种类、接种方案、接种剂量、接种方法等则决定免疫是否成功. 掌握有关影响因素即可实现接种的群体化或个体化, 使不同群体获得成功免疫.

■应用要点

本文较全面概述了影响乙肝免疫的因素及克服不利因素的相关对策,帮助读者针对具体人群、具体情况选用适合该人群的最佳接种方案,以提高我国国民乙肝免疫的成功率和覆盖率。

(对照组按mo 0, 1, 6)后,应用AS04组诱导血清保护率为100%, GMT较对照组高两倍。美中不足的是AS04 rHBV疫苗注射部位痛、红、胀等症状出现率较普通rHBV疫苗为高^[11]。对标准rHBV疫苗接种后无反应的20-60岁成人,接种HBsAg-AS04后在各时间点抗-HBs阳转率及GMT均显著高于普通(标准)rHBV疫苗(98% vs 68%)^[12]。rHBV疫苗佐剂的研制和应用越来越深入和广泛,其进一步完善后将为那些无和弱反应者提供保护的机会。

1.3 与其他疫苗联合 近年来人们试将rHBV疫苗与甲肝疫苗、甚至与白喉、鼠疫、百日咳、脊髓灰质炎、流感(乙型)等病原体疫苗联合接种,其效果与单独接种rHBV疫苗者相当^[13-14],而接种程序上显然更方便。Rieger *et al*^[15]研究发现,将甲、乙肝病毒疫苗联合接种后,无论是有效抗-HBs保护率还是GMT均显著高于单独接种rHBV疫苗组。其他有关联合甲、乙肝病毒疫苗或HBV与其他疫苗联合接种资料几均表明,联合接种后各自均表现出很好的免疫原性和反应原性,抗-HBs阳性率及GMT在各时间点上与单独接种均无明显差异^[14,16-17],仅轻度不良反应出现率稍高于单独HBV疫苗接种者^[18]。

2 个体因素

2.1 年龄和性别 年龄对接种HBV疫苗后抗-HBs产生及其滴度的影响各家报道不一。一般来说,在接种剂量相当、部位及接种方法和程序相同的条件下,成人随年龄增加对HBV疫苗的反应性渐减弱,无反应的危险性增加^[19]。Joshi *et al*^[20]观察62例成人和62例婴儿接种HBV疫苗后保护性抗-HBs阳性率成人略低于婴儿(96.4% vs 100%)。巴西的一份双盲、多中心研究表明,抗-HBs阳转率婴儿为93.7%, 1-10岁为100%, 11-19岁为95.1%, 20-30岁成人为91.8%, 31-40岁为79.8%; GMT亦随年龄增加而递减^[21]。>50岁人群抗-HBs阳转率仅为75.3%,甚至更低^[22],其中弱反应者占32.4%^[23]。新生儿或幼儿接种HBV疫苗后抗-HBs阳转率在98%-100%,大学生为96%-98%,亦略低于新生儿或幼儿^[24]。而40岁以上人群对HBV疫苗的反应率则明显降低,为76%-85%^[23,25]。性别对HBV疫苗的应答率及抗-HBs GMT无明显差异,但大多数文献肯定HBV感染有性别差异,即男性HBV感染率高于女性,而女性对疫苗的反应性似高于男性,具体尚待确定。

2.2 免疫因素 对HBV疫苗的免疫应答涉及体内细胞及体液免疫状况。健康成人按常规接种标准剂量HBV疫苗后不产生抗-HBs者可能与HBsAg特异性T淋巴细胞(TC)功能缺陷或受损有关。Soroosh *et al*^[26]研究发现,对rHBV疫苗无反应者外周血CD4⁺TC的可变区(BV)5Ss-3基因家族显著异常,而且个体表现出过度表达TC受体BV基因。认为TC对HBsAg反应一般来说是缺少克隆和涉及多BV家族。超表达TC受体β链的可变性基因及CDR3对HBsAg反应为主体依赖性。对rHBV疫苗无反应者HBsAg特异性细胞反应(PBMC增殖, Th1, Th2, TGFβ, Th细胞活性分子)差,整个TC失能。TC反应异常可能是早期激活不良的结果^[27]。慢性HB患者Th1和Th2应答失衡,以Th2应答占优势,接种rHBV疫苗后Th2应答更强,表现为IL-4水平显著增高,而γ-干扰素水平无变化。进一步研究提示,对rHBV疫苗无应答的健康新生儿Th1和Th2细胞分泌分裂素不当^[28]。应用佐剂ODN疫苗后,与Th1相关的抗-HBs IgG2b亚群显著增加。提示ODN佐剂可提升Th1对HBV疫苗应答的活性。此外,能提高Th1活性的尚有胸腺因子α1等。HBsAg阳性母亲所生子女HB免疫失败的重要原因为其单核细胞培养液中IL-2明显低于HBsAg阴性者,外周血单核细胞内HBV DNA阳性率亦显著高于HBsAg阴性者^[23]。因此,长期以来,特异性TC免疫功能下降被认为是持续性HBV感染的中心机制。近年来对转基因鼠的研究表明,单核细胞衍生的树突状细胞(DC)在其中起重要作用。慢性HB患者DC与TC间相互作用受损,尤其是HBV复制活跃者,表现为: (1)DC对HBsAg反应时不能增加人白细胞抗原(HLA)II及B7的表达和IL-12的分泌; (2)缺乏引导T细胞对HBsAg的增殖反应; (3)不能激活TC产生细胞分裂素; (4)特异性细胞毒TC缺失。由于DC是体内重要的抗原递呈细胞,因此推断,其功能状态对接种HBV疫苗后能否产生保护性抗体非常重要^[29]。有明确免疫性疾病患者对rHBV疫苗反应低下这里不再赘述。不同个体对rHBV疫苗的免疫反应有异已被公认。慢性肾病血液透析患者中40%-50%接种后无反应^[30],有反应者仅57%。晚期肾病患者对rHBV疫苗的反应率明显降低^[31],且不受移植的影响^[32]。患者年龄越大、透析时间越长及并糖尿病者对rHBV疫苗的反应越差,充分透析后可改善对rHBV疫苗的反应^[1]。感染人类免疫缺陷病毒(HIV)受试者

按mo 0, 1, 6方案接种rHBV疫苗后有效抗-HBs阳转率仅39%, 无论是皮内或三角肌注射均不能提高抗-HBs阳转率. 血吸虫病患者亦对rHBV疫苗反应低下^[33]. 此外, 不同心理状况对rHBV疫苗的应答亦有一定影响. Burns *et al*^[34]研究了接种rHBV疫苗前有心理创伤(应激、对抗等)事件经历的260名医学生对接种标准rHBV疫苗的反应发现, 有创伤等经历者接种后抗体产生滴度<10 IU/L者较无创伤经历者高2倍以上, 并为影响机体免疫应答反应的独立因素. 认为免疫系统对心理状态变化非常敏感, 过度紧张(应激、激烈竞争)对抗-HBs的产生有一连续的影响.

2.3 HLA 在同一群体不同个体按同一方案应用同类型相同剂量疫苗后有约5%-20%的成人无应答. 对无应答的原因近年来不少学者作了大量研究, 除此前已提到的个体免疫功能异常外, 研究较多的和比较明确的即为HLA. Das *et al*^[35]研究发现HLA亚型1, B15, B40, A10和DR2在无反应人群中增加, 而在反应者则以HLA-ALL, C3, DR10, DR51类型为多见. 我国南方汉族人群HB免疫无/弱应答与HLA相关, HLA-DRB1-02与该人群对HBV疫苗中、强应答相关^[36]. 有人认为虽然引起无/低应答的原因众多, 但HLA系统可能起主要作用^[37]. 此外, 国人中与HBV疫苗接种不应答密切相关的组织相关性复合体单体型为DR4, 1122-DR53-DQ84. 无应答与特异的组织相关性复合体等位基因单体型关系密切. 在基因因素中, HLA和细胞分裂素基因多型性为对rHBV疫苗反应有关的独立因素^[38]. 对无应答者再次接种HBV疫苗后部分人可产生抗-HBs, 但通常GMT较低, 衰减较快, 有效保护时间持续较短, 远期效果尚不确定.

2.4 对HB的认识 目前世界不同国家和地区HB免疫的水平差异较大, 除外经济原因, 从政府到民众对HB免疫重要和必要性的认识水平存在不同程度的不足影响着HB免疫计划的实施. 据世界卫生组织(WHO)规划, 所有国家于20世纪末都要将HB免疫纳入婴儿和儿童的免疫计划, 至21世纪前50 a在全球范围内控制HB^[39]. 截止2001-06, 全球仅有124个国家的婴儿和儿童接受了WHO的接种方案. 2000年末, WHO欧洲区的51个国家中41个国家实施了常规HB免疫. 其他10个国家尚未实行WHO计划. 我国于2002年将HB免疫纳入新生儿计划免疫. 这些举措主要是在体现政府的认识和重视程度, 根据我国建

国后前20 a的免疫经验, 在推行HB免疫及其计划的实施上政府的行为起主要作用. 民众对接种HBV疫苗接受程度受教育和经济状况的影响. 总的来说, 受教育水平高者对HB及其免疫的了解和接受接种的比例较高. 亦有些受教育和经济水平较高的母亲, 对HBV疫苗等知识的掌握较多, 但因顾虑太多反而不愿让其婴儿接受接种HBV疫苗. 相反, 一些对接种HBV疫苗知识了解相对较少的母亲反而愿意让其婴儿接种. 接受HB免疫的直接因素除政府宣传推动外, 包括来自医师和护士的劝说及免费接种好处等信息^[40]的影响. 国内自愿接种HBV疫苗的人群中36.5%人并不知道HB的传播途径, 前来接种者以受朋友、医务人员动员或周边有人患HB或HBV携带的影响为多. 此外, 按mo 0, 1, 6方案接种者中有超过1/3的人因种种原因未完成全程接种, 因此, 推广快程序接种方案势在必行.

3 其他因素

3.1 免疫制剂 一般认为, 免疫抑制剂能透过胎盘进入胎儿循环并影响胎儿免疫系统进而影响对rHBV疫苗的免疫应答. Cimaz *et al*^[32]观察了因免疫性疾病应用免疫抑制剂的母亲所生9例婴儿对rHBV疫苗的反应, 另14例患结缔组织病未用免疫抑制剂的母亲所生婴儿为对照. 结果2组(1-17 mo)婴儿在全血细胞计数、免疫球蛋白及其亚类、淋巴细胞亚群、对rHBV疫苗的反应、自身抗体均无差异. Kasapcopur *et al*^[41]对应用强的松治疗的39例幼年特发性关节炎(JIA)患儿按标准方案接种rHBV疫苗后38例产生抗-HBs, 除水平稍低外余与正常儿童无异. 认为JIA患儿接种rHBV疫苗不受强的松影响. 左旋咪唑的免疫调节作用已被证实. 左旋咪唑有刺激抑制性T细胞活性和B淋巴细胞功能, 在免疫抑制的患者有贮存延迟超敏反应的作用. 慢性肾病患者每次透析时予80 mg左旋咪唑, 共4 mo, 再予40 μg rHBV疫苗按mo 0, 1, 6方案接种后82%的患者产生保护性抗-HBs. 对此前接种rHBV疫苗无反应者, 于接种同时应用左旋咪唑后77.8%产生抗-HBs, 而未用左旋咪唑的患者仅15%产生抗-HBs^[30]. 因此, 左旋咪唑明显改善免疫反应低下的肾病患者HB免疫效果的作用, 对其他免疫功能低下的人群(如免疫性疾病、应用免疫抑制剂、发育障碍等患者)的HB免疫亦可能有益. 由于HB患者存在免疫功能异常^[1,42], 左旋咪唑

■同行评价

本文内容丰富, 对临床有重要的参考价值, 对新型的乙肝疫苗的研究进展也做了较系统、较深入的分析.

增强HB患者对HBV疫苗的应答能力与其增加CD3, CD4和CD4/CD8比值水平从而增强患者的免疫功能有关^[43]。此外, 国内外学者伍用免疫调节剂胸腺因子 $\alpha 1$ 等亦收到较好效果。

3.2 接种方法、程序和剂量 WHO推荐的标准程序/方案即mo 0, 1, 6方案为目前全球HBV疫苗免疫应用最早因而也是最广泛的方案。但由于该接种程序间隔时间长、抗-HBs出现晚等缺点, 近年来, 针对不同人群如高危人群的HB免疫不少国家和地区采用不同方案。主要有mo 0, 1, 4^[44]; mo 0, 1, 3; mo 0, 1, 2; d 0, 7, 21方案及不同程序的4针方案。较之mo 0, 1, 6方案, mo 0, 1, 3和mo 0, 1, 2方案接种后抗-HBs阳转率出现早, 于接种第1针后3-4 mo抗-HBs阳转率即达最高, GMT达峰值^[37,45-46]。其中d 0, 7, 21方案较之其他方案抗-HBs阳转出现更早, GMT达峰值更快^[16,25]。13 mo后其抗-HBs水平与对照组接近。对需紧急免疫的高危人群和近期将执行特殊任务的军人或武警团体及既往按标准方案接种无反应者, 可采用更快捷的免疫方案, 即d 0, 7, 14方案接种HBV疫苗(20 μ g/针), 首针后1 mo儿童抗-HBs阳性率99.7%, 青年成人97.8%, 50岁以上成人达93.3%; 1 mo后GMT即达高峰, 明显早于和快于应用标准方案的对照组。未完成全程接种率比mo 0, 1, 6方案低近10倍。其抗-HBs衰减与mo 0, 1, 2等方案一样较mo 0, 1, 6方案出现稍早, 在时间上与两者程序的时间差基本一致, 随访36 mo抗-HBs阳性率及GMT与mo 0, 1, 6方案比较差异并不显著^[22]。d 0, 7, 21及d 0, 7, 14方案因操作简便, 易于完成全程接种而提高HBV疫苗免疫覆盖率和成功率。对交通不便、医疗条件落后偏远贫困山区新生儿HBV疫苗首针及时接种是难题之一。有学者用自毁型注射器、瓶装疫苗冷链外使用及Uniject预充式HBV疫苗冷链外使用, 不仅提高了HBV疫苗全程接种率, 而且首针及时接种率由7.5%提高到68.3%和81.3%。该策略对于在家出生的儿童, 首针及时接种率从7.3%提高到68.3%。血清学调查证明, 抗体阳转率达90%以上, 有89%以上的儿童产生了达保护水平(≥ 10 IU/L)的抗-HBs, 抗-HBs GMT在65-89 IU/L之间。实行HBV疫苗的冷链外存放、使用, 是在交通不便、住院分娩率低的边远贫困山区提高HBV疫苗首针及时接种率的有效策略之一, 尤其方便在家出生儿童。而HBV疫苗在冷链外存放、使用也是安全有效的^[47]。对于接种

次数, 标准方案为3针, 效果优于2针^[48], 而4针优于3针。但对绝大多数人来说, 3针即足以使机体产生保护性抗-HBs, 故无必要接种4针; 对弱或无反应者可接种4针。

对于HBV疫苗的剂量及接种方法, 标准方案推荐为每针20 μ g, 该剂量的免疫效果已得到充分肯定。近年来, 出于经济和获取疫苗难度等方面的考虑, 不少作者及疫苗生产厂家研究、介绍并推荐接种低剂量HBV疫苗及其免疫效果。Das *et al*^[49]比较了20 μ g(三角肌注射)和2 μ g(皮内注射)均按mo 0, 1, 6方案完成接种后1 mo, 两种剂量受试者均获抗-HBs阳性, 但GMT前者显著高于后者。1 a后两者抗-HBs虽仍均阳性, 但后者GMT下降显著。低剂量疫苗的优点为经济, 适合因受经济制约的国家和地区HB免疫; 但明显不足的是GMT低, 保护时间短。关于接种方法, 经典方法为三角肌内注射。Kyi *et al*^[50]采用皮下注射标准剂量1/7的HBV疫苗按mo 0, 1, 2方案接种后抗-HBs阳性率为93.6%, 与20 μ g三角肌内注射接近。而Ghabouli *et al*^[51]比较了皮内注射4 μ g和三角肌注射20 μ g(均按mo 0, 1, 6方案)HBV疫苗的免疫效果, 结果两者在血清保护率和GMT均接近。Poirriez *et al*^[52]认为1.5-2.5 μ g HBV疫苗皮下注射对成人和儿童均适用, 而20 μ g则更适用于低或无反应的高危人群。当疫苗费用成为群体接种的制约因素时, 低剂量HBV疫苗不失为一省钱省苗的选择。国内学者应用5 μ g和10 μ g按mo 0, 1, 2方案接种后1 mo抗-HBs阳转率和GMT两者分别为72%及59.5 IU/L和89%及106.8 IU/L。提示GMT与疫苗剂量相关^[46]。对疫苗的剂量与抗-HBs阳转率和GMT的关系现已基本形成共识, 即疫苗的剂量大, 抗-HBs GMT亦高, 维持时间亦长。皮下接种因剂量小, 即便抗-HBs阳转率与20 μ g者接近, 但GMT较低, 维持保护时间短^[53]。皮下注射的另一缺点是局部针刺反应(疼痛、肿胀等不适)较三角肌者多见。因注射引起局部感染而影响免疫效果者亦偶有报道, 而因惧怕针刺未免疫或未完成全程免疫者(73%)则大有人在^[54], 这些人的免疫效果可想而知。故如无疫苗缺乏或其他制约因素, 不推荐低剂量皮下注射。Banatvala *et al*^[55]对儿童和成人接种后长期随访发现, 接种后数年那些低或无反应者罕见出现HBsAg, 即便出现, 亦是暂时的: 即便是低水平或查不出抗-HBs者亦存在对疫苗的免疫记忆。

3.3 地区和经济差异 由HB引起的人类健康和经济问题为全球性问题。反之, 经济和自然条件问题又是影响HBV感染和HB免疫的重要因素。在发展中国家的贫困地区, 全程及时接种(尤第2针)率相对发达国家及较富裕的地区明显为低。这些因素虽不是接种本身, 但对整个人类来说, 却是更大的影响因素。HBV疫苗接种率受经济条件影响为全球共性问题。有调查显示, 有保险的家庭接种HBV疫苗者较无保险者更多^[44]。我国不少地区存在城乡、经济发达和经济较落后(尤贫困山区)地区间HBV疫苗免疫的差别。山东省曲阜市高一新生住校学生中市直学生HBsAg阳性率为1.79%, 来自农村的学生HBsAg阳性率为3.58%^[56]。广西、云南等地部分地区新生儿、儿童及其他人群HBV疫苗接种率更低, 反之HBV感染率则明显高于城市和经济等条件较好的地区。在边远山区, 首针及时接种率仅7.5%, 明显低于城市和经济较发达的地区。对于山区住院分娩的儿童, 首针及时接种率只有7.3%, 亦明显低于城市和经济较发达的地区^[56]。

总之, 影响HB免疫及免疫过程和免疫后效果的因素较多。社会及民众对HB免疫的认识水平、经济状况、政府的宣传动员及经费支持、卫生防疫部门的重视程度和管理力度及有关工作人员是否尽职尽责决定了是否能及时实行或接受免疫: 疫苗的种类、剂量、佐剂的应用, 接受免疫者的个体差异、身体免疫状况, 年龄、接种方案、是否加强免疫等则对免疫后抗-HBs产生和GMT及维持保护的时间均以不同方式和不同程度地影响HB免疫和免疫效果。

4 参考文献

- 1 Kovacic V, Sain M, Vukman V. Does efficient haemodialysis improve the response to hepatitis B virus vaccination? *Lijec Vjesn* 2004; 126: 133-137
- 2 Tregnaghi M, Ussher J, Baudagna AM, Calvari M, Grana G. Comparison of two recombinant hepatitis B vaccines and their interchangeability in Argentine infants. *Rev Panam Salud Publica* 2004; 15: 35-40
- 3 李河民, 梁争论, 张华远. 关于乙型肝炎疫苗免疫原性的评价. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 378-381
- 4 Li RC, Yang JY, Gong J, Li YP, Huang ZN, Fang KX, Xu ZY, Liu CB, Zhao K, Zhuang H. Efficacy of hepatitis B vaccination on hepatitis B prevention and on hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2004; 25: 385-387
- 5 中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华传染病杂志* 2005; 23: 421-431
- 6 Hieu NT, Kim KH, Janowicz Z, Timmermans I. Comparative efficacy, safety and immunogenicity of Hepavax-Gene and Engerix-B, recombinant hepatitis B vaccines, in infants born to HBsAg and HBeAg positive mothers in Vietnam: an assessment at 2 years. *Vaccine* 2002; 20: 1803-1808
- 7 吴晓娟, 赵大鹏, 冷梅, 刘丹, 戚凤春, 汪春义, 王佳凤, 岳丹, 王华, 齐影, 付学奇. CpG-ODN对乙肝核酸疫苗及重组疫苗免疫效果的影响. *中国生物制品学杂志* 2005; 18: 232-235
- 8 Elias F, Flo J, Rodriguez JM, De Nichilo A, Lopez RA, Zorzopulos J, Nagle C, Lahoz M, Montaner A. PyNTTTTGT prototype oligonucleotide IMT504 is a potent adjuvant for the recombinant hepatitis B vaccine that enhances the Th1 response. *Vaccine* 2005; 23: 3597-3603
- 9 Siegrist CA, Pihlgren M, Tougne C, Efler SM, Morris ML, AlAdhami MJ, Cameron DW, Cooper CL, Heathcote J, Davis HL, Lambert PH. Co-administration of CpG oligonucleotides enhances the late affinity maturation process of human anti-hepatitis B vaccine response. *Vaccine* 2004; 23: 615-622
- 10 Boland G, Beran J, Lievens M, Sasadeusz J, Dentico P, Nothdurft H, Zuckerman JN, Genton B, Steffen R, Loutan L, Van Hattum J, Stoffel M. Safety and immunogenicity profile of an experimental hepatitis B vaccine adjuvanted with ASO4. *Vaccine* 2004; 23: 316-320
- 11 Levie K, Gjørup I, Skinhoj P, Stoffel M. A 2-dose regimen of a recombinant hepatitis B vaccine with the immune stimulant ASO4 compared with the standard 3-dose regimen of Engerix-B in healthy young adults. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 610-614
- 12 Jacques P, Moens G, Desombere I, Dewijngaert J, Leroux-Roels G, Wettendorff M, Thoelen S. The immunogenicity and reactogenicity profile of a candidate hepatitis B vaccine in an adult vaccine non-responder population. *Vaccine* 2002; 20: 3644-3649
- 13 Cheng HK, Rajadurai VS, Amin Z, Sriram B, Yee MF, Han HH, Bock HL, Safary A. Immunogenicity and reactogenicity of two regimens of diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B-inactivated polio and Haemophilus influenzae type b vaccines administered to infants primed at birth with hepatitis B vaccine. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35: 685-692
- 14 Usonis V, Meriste S, Bakasenas V, Lutsar I, Collard F, Stoffel M, Tornieporth N. Immunogenicity and safety of a combined hepatitis A and B vaccine administered concomitantly with either a measles-mumps-rubella or a diphtheria-tetanus-acellular pertussis-inactivated poliomyelitis vaccine mixed with a Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in infants aged 12-18 months. *Vaccine* 2005; 23: 2602-2606
- 15 Rieger MA, Hofmann F, Michaelis M. Simultaneous vaccination against hepatitis A and B: results of an open, randomized study from the occupational health point of view. *Int J Occup Med Environ Health* 2004; 17: 379-391
- 16 Nothdurft HD, Dietrich M, Zuckerman JN, Knobloch J, Kern P, Vollmar J, Sanger R. A new accelerated vaccination schedule for rapid protection against hepatitis A and B. *Vaccine* 2002; 20: 1157-1162
- 17 Liu H, Ma J, Meng Z, Zhang Y, Han C, Zhang Y, Zhao H, Liu Y, Xing Z, Chen J, Jia Z, Xia G, Cao H, Liu C, Li Z. Immediate immunological effect

- of China-made recombinant hepatitis B vaccine expressed by transgenic Chinese hamster ovary cell line. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2002; 82: 43-46
- 18 Gupta RC, Thakur V, Safary A, Sarin SK. Immunogenicity and reactogenicity of a combined high dose hepatitis A and hepatitis B vaccine, compared to that of Twinrix in healthy Indian children. *Vaccine* 2002; 20: 2102-2106
- 19 Fisman DN, Agrawal D, Leder K. The effect of age on immunologic response to recombinant hepatitis B vaccine: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 1368-1375
- 20 Joshi N, Kumar A, Raghu MB, Bhav S, Arulprakash R, Bhusari P, Rao R. Immunogenicity and safety of hepatitis B vaccine (Shanvac-B) using a novel pre-filled single use injection device Uniject in Indian subjects. *Indian J Med Sci* 2004; 58: 472-477
- 21 Martins RM, Bensabath G, Arraes LC, Oliveira Mde L, Miguel JC, Barbosa GG, Camacho LA. Multicenter study on the immunogenicity and safety of two recombinant vaccines against hepatitis B. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 99: 865-871
- 22 陈仕珠, 张晋红, 张增平, 任菊香, 温风玲, 韩永战, 任雪莲, 陈鹰军. 常规和快速乙肝免疫接种效果比较. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1884-1888
- 23 Das K, Gupta RK, Kumar V, Kar P. Immunogenicity and reactogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in subjects over age of forty years and response of a booster dose among nonresponders. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1132-1134
- 24 陈雪莲. 大学生接种基因重组乙肝疫苗免疫效果观察. *黑龙江医药科学* 2004; 27: 88
- 25 陈敏, 陈清, 陈思东, 王德全, 蔡旭玲, 何炳欣, 黄祖星, 陈抒豪. 乙肝疫苗免疫后无(弱)应答影响因素的分析. *广东药学院学报* 2003; 19: 173-175
- 26 Soroosh P, Shokri F, Azizi M, Jeddi-Tehrani M. Analysis of T-cell receptor beta chain variable gene segment usage in healthy adult responders and nonresponders to recombinant hepatitis B vaccine. *Scand J Immunol* 2003; 57: 423-431
- 27 Marouen-Jamoussi S, Chtourou D, Kammoun A, Mahfoudh N, Makni H, Karray H, Masmoudi H, Hammami A, Masmoudi ML. Nonresponse to hepatitis B vaccine in health care workers. *Tunis Med* 2004; 82: 674-678
- 28 Jafarzadeh A, Shokri F. The antibody response to HBs antigen is regulated by coordinated Th1 and Th2 cytokine production in healthy neonates. *Clin Exp Immunol* 2003; 131: 451-456
- 29 Zheng BJ, Zhou J, Qu D, Siu KL, Lam TW, Lo HY, Lee SS, Wen YM. Selective functional deficit in dendritic cell-T cell interaction is a crucial mechanism in chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2004; 11: 217-224
- 30 Kayatas M. Levamisole treatment enhances protective antibody response to hepatitis B vaccination in hemodialysis patients. *Artif Organs* 2002; 26: 492-496
- 31 Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Bunnapradist S, Dulai G. Meta-analysis: the effect of age on immunological response to hepatitis B vaccine in end-stage renal disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1053-1062
- 32 Cimaz R, Meregalli E, Biggioggero M, Borghi O, Tincani A, Motta M, Airo P, Meroni PL. Alterations in the immune system of children from mothers treated with immunosuppressive agents during pregnancy. *Toxicol Lett* 2004; 149: 155-162
- 33 宋文剑, 程喻力, 刘腊珍, 孔争, 胡松, 刘凯, 林丽, 刘存喜. 慢性吸虫病对乙型肝炎疫苗保护性免疫的影响. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2005; 23: 163-165
- 34 Burns VE, Carroll D, Ring C, Harrison LK, Drayson M. Stress, coping, and hepatitis B antibody status. *Psychosom Med* 2002; 64: 287-293
- 35 Das K, Gupta RK, Kumar V, Singh S, Kar P. Association of HLA phenotype with primary non-response to recombinant hepatitis B vaccine: a study from north India. *Trop Gastroenterol* 2004; 25: 113-115
- 36 钱毅, 章廉, 梁雪梅, 侯金林, 骆抗先. 广东汉族人群乙肝疫苗免疫应答水平与HLA-DRB102, 07, 09的相关性. *第一军医大学学报* 2002; 22: 67-69
- 37 Chowdhury A, Santra A, Habibullah CM, Khan AA, Karunakaramaiah J, Kishore TS, Raju AV, Lahiri S. Immune response to an indigenously developed r-hepatitis B vaccine in mixed population: study of an accelerated vaccination schedule. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1037-1039
- 38 Wang C, Tang J, Song W, Lobashevsky E, Wilson CM, Kaslow RA. HLA and cytokine gene polymorphisms are independently associated with responses to hepatitis B vaccination. *Hepatology* 2004; 39: 978-988
- 39 Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 395-403
- 40 McGrane J, Staines A. Nursing staff knowledge of the hepatitis B virus including attitudes and acceptance of hepatitis B vaccination: development of an effective program. *AAOHN J* 2003; 51: 347-352
- 41 Kasapcopur O, Cullu F, Kamburoglu-Goksel A, Cam H, Akdenizli E, Calykan S, Sever L, Arysoy N. Hepatitis B vaccination in children with juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1128-1130
- 42 Wang KX, Peng JL, Wang XF, Tian Y, Wang J, Li CP. Detection of T lymphocyte subsets and mIL-2R on surface of PBMC in patients with hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2017-2020
- 43 Wang KX, Zhang LH, Peng JL, Liang Y, Wang XF, Zhi H, Wang XX, Geng HX. Effect of liniment levamisole on cellular immune functions of patients with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7208-7210
- 44 Middleman AB. Race/ethnicity and gender disparities in the utilization of a school-based hepatitis B immunization initiative. *J Adolesc Health* 2004; 34: 414-419
- 45 袁金明, 张金安. 两种免疫程序接种乙肝疫苗效果比较. *解放军护理杂志* 2004; 21: 67-68
- 46 Wang RX, Boland G, Guo Y, Lei SP, Yang CH, Chen J, Tian J, Wen JY, Du KH, van Hattum J, de Gast GC. Is a low dose of hepatitis B vaccine enough for a rapid vaccination scheme? *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2353-2355
- 47 林麒, 王贞明, 陈长, 艾于勤, 付祖云. 张家界市提高乙型肝炎疫苗首针及时接种率策略研究. *实用预防医学* 2005; 12: 540-542
- 48 Wallace LA, Bramley JC, Ahmed S, Duff R, Hutchinson SJ, Carman WF, Kitchin NR, Goldberg DJ. Determinants of universal adolescent hepatitis B vaccine uptake. *Arch Dis Child* 2004; 89: 1041-1042
- 49 Das HS, Sawant P, Shirhatti RG, Vyas K, Vispute S, Dhadphale S, Patrawalla V, Desai N. Efficacy of low dose intradermal hepatitis B vaccine: results of a randomized trial among health care workers. *Trop Gastroenterol* 2002; 23: 120-121
- 50 Kyi KP, Oo KM, Htun MM, Tun WM, Aye KK, Oo SS, Lwin KO, Nyunt S. Clinical trial of the

- intradermal administration of hepatitis B vaccine produced at the Department of Medical Research, Myanmar. *Vaccine* 2002; 20: 1649-1652
- 51 Ghabouli MJ, Sabouri AH, Shoeibi N, Bajestan SN, Baradaran H. High seroprotection rate induced by intradermal administration of a recombinant hepatitis B vaccine in young healthy adults: comparison with standard intramuscular vaccination. *Eur J Epidemiol* 2004; 19: 871-875
- 52 Poirriez J. Some questions to be raised about the hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2002; 20: 1696-1698
- 53 Chau KF, Cheng YL, Tsang DN, Choi KS, Wong KM, Chak WL, Chan YH, Li CS. Efficacy and side effects of intradermal hepatitis B vaccination in CAPD patients: a comparison with the intramuscular vaccination. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 910-917
- 54 McGregor J, Marks PJ, Hayward A, Bell Y, Slack RC. Factors influencing hepatitis B vaccine uptake in injecting drug users. *J Public Health Med* 2003; 25: 165-170
- 55 Banatvala JE, Van Damme P. Hepatitis B vaccine - do we need boosters? *J Viral Hepat* 2003; 10: 1-6
- 56 孔秀梅. 曲阜市住校高一新生HBsAg携带状况调查. *职业与健康* 2005; 21: 1048-1049

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中国中西医结合学会第九次全国中西医结合 影像学术交流大会

本刊讯 兹定于2007-05-10/14, 在泰安市泰山饭店召开中国中西医结合学会影像学专业委员会第九次学术会议暨全国中西医结合影像诊断与研究学习班. 欢迎相关领域研究人员、医师与会交流经验. 现将有关征文事项通知如下:

1 征文内容及类别

大会征集内容包括: (1)中西医结合影像学的基础与临床应用研究; (2)影像学(包括X线、CT、MRI、USG及核素等)的临床应用; (3)介入技术的临床应用; (4)其他传统医学, 如针灸等方面的影像学研究及有关信息的交流; (5)影像学最新进展介绍及有关信息的发布. 文章内容可涉及: 有创新意义的实验研究、临床论著、综述、技术交流、经验介绍及临床病例报告、短篇、个案等.

2 征文要求

来稿请寄3000字左右全文及300字左右摘要各一份, 统一用A4纸打印并附3.5寸Word文档软盘(发E-mail者可不交软盘). 软盘文件名或E-mail的主题请注明“中西医结合影像学术会议征文”; 来稿必须附单位介绍信, 注明论文作者署名无争议、不涉及保密、无一稿多投. 已在全国公开发行的刊物上发表的论文不再采用; 稿件请自留底稿, 概不退稿.

3 联系方式及截止日期

山东省济南市文化西路42号《中国中西医结合影像学杂志》编辑部. 邮编: 250011; 电话: 0531-82950414-6689; E-mail: yxbjb@163.com; ljb@sdzydfy.com. 2006-12-30截止收稿, 以当地邮戳为准.

4 其他

大会同期将举办国家级继续教育项目: 中国中西医结合影像学诊断与研究学习班. 届时将邀请国内知名专家前来讲学, 并授予国家级继续教育学分.

新生儿和儿童乙肝免疫

陈仕珠

■背景资料

人类乙肝(HB)免疫走过近30 a的历程,取得巨大成绩,亦存在不容忽视的问题,如HB免疫的地区差别,在家出生新生儿的免疫接种,常规接种方案间隔时间太长,部分接种疫苗剂量偏低,对早产儿、低体质量儿及HBV阳性母亲子女的免疫接种等问题均需有足够的认识并逐步解决。

陈仕珠,解放军第451医院感染病科 陕西省西安市 710054
通讯作者:陈仕珠, 710054, 陕西省西安市友谊东路269号, 解放军第451医院感染病科. chenshizhu34419@126.com
电话: 029-84734222
收稿日期: 2006-06-23 接受日期: 2006-07-10

摘要

自1991年WHO提出将乙型肝炎病毒(HBV)疫苗纳入新生儿计划免疫以来,绝大多数国家新生儿HBV疫苗接种覆盖率平均在90%以上,婴儿HBV疫苗接种覆盖率为85%-99%。我国HBsAg携带率从10.19%下降到0.2%-3.2%。不同地区新生儿和儿童全程接种率、首针及时接种率、免疫覆盖率差异较大。对不同新生儿和儿童HB免疫尚需注意的问题如HBV疫苗接种程序和接种剂量,早产、低体质量儿的免疫接种,HBsAg阳性母亲子女的免疫接种和母乳喂养,抗-HBs保护时间和加强免疫问题。

关键词: 新生儿; 儿童; 乙肝疫苗; 乙肝免疫; 免疫接种; 乙型肝炎

陈仕珠. 新生儿和儿童乙肝免疫. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2708-2712

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2708.asp>

0 引言

由于机体免疫识别功能尚未健全等原因,新生儿感染乙型肝炎病毒(HBV)后约90%将成为慢性HBV携带者,并在成年后易发展为肝硬化和肝癌^[1]。年龄越小,感染HBV后形成慢性携带或乙型肝炎(HB)的可能性越大,1-4岁感染时约30%-50%成为慢性HBV携带状态^[2]。因此,在上世纪末,新生儿、婴幼儿为HBV疫苗接种的主要对象。自世界卫生组织(WHO)于16 a前提出将HBV疫苗纳入计划免疫以来,使新生儿、婴幼儿及儿童HBV携带率显著下降,但各地区HB免疫并不平衡。为了加强对新生儿和儿童HB免疫的了解和认识,本文就新生儿、婴幼儿和儿童HBV疫苗现状及存在或需要改进的问题作专题讨论。

1 新生儿及儿童HB免疫发展历程

1971年Krugman首次证明了HB患者血浆中22 nm病毒表面颗粒(HBsAg)加热处理后接种黑猩猩可产生保护性抗HBsAg抗体,并能抵抗HBV的侵袭^[2],从此开始了研制和应用HBV疫苗的时代。其后不久,人们从HBsAg阳性者血浆中提出抗原并制成血源疫苗。美国于1981年开始接种血源HBV疫苗,我国于1985年底正式投产血源疫苗。1987年WHO建议在HBsAg阳性率 $\geq 2\%$ 的国家实施HBV疫苗儿童计划免疫接种。1991年WHO正式提出将HBV疫苗纳入计划免疫;次年我国卫生部提出将HBV疫苗纳入计划免疫管理,实施对所有新生儿接种HBV疫苗,但疫苗及其接种费用需由家长支付。1995年美国将HBV疫苗接种对象扩大到年长儿(11-12岁),1999年扩展到18岁以下^[3]。1996年我国基因重组仓鼠卵细胞(CHO)HBV疫苗和酵母HBV疫苗研制成功并投放市场,后者无论是产量还是安全性均明显大于和优于血源疫苗,为我国基因重组HBV(rHBV)疫苗的免疫预防提供了物质保障^[4]。WHO推荐到20世纪末所有国家都将把HBV疫苗纳入婴儿和儿童的免疫计划,并计划在21世纪头50 a在全球控制HB^[5]。2002-2012年为扩大HBV疫苗接种对象,增加财政等支持使HBV疫苗适用于所有国家阶段。但该项工作进展并不十分顺利。至2001-2006,全球方有129个国家接受WHO的接种方案,对新生儿及婴幼儿实行免疫接种^[6]。2002年WHO欧洲地区的51国中仅41国将HBV疫苗纳入常规免疫接种,其他国家因经济及获得疫苗不便等原因而暂未实行。至2004年初全球已有160多个国家将HBV疫苗纳入常规计划免疫。WHO还帮助发展中国家建立和扩大涉及疫苗研究和生产的基金^[7],疫苗和免疫全球联盟(the global alliance for vaccines immunization, GAVI)及疫苗基金为改善发展中国家政府免疫服务的两个全球性行动, GAVI是发达国家和发展中国家、联合国儿童基金会(UNICEF)、WHO、世

界银行、证卷和Melinda Gates基金、疫苗生产厂家及其他奖金在免疫方面的多方合作;疫苗基金是建立资源运转以服务于GAVI使命的经济机制^[8]。WHO的计划正在逐步得到实施。我国于2002年正式将HBV疫苗纳入计划免疫,对所有新生儿免费接种HBV疫苗,但需支付接种费,2005-06-01起改为全面免费^[9]。从此,我国新生儿HB免疫进入真正的计划免疫的阶段。随着经济的发展,人们对健康的关切和对HB免疫知识的了解渐增多及逐步建立起来的全民HB计划免疫的系统实施,至21世纪中叶在我国实现WHO控制HB的目标应不成问题。目前我国虽已将HB免疫对象扩大到所有年龄人群,但除新生儿外,其他人群HB免疫基本上是单位组织或个体自愿接种并自行支付疫苗和接种费用。就全国来说,远未达到像新生儿HB免疫那样的管理力度和接种覆盖率,即便在新生儿亦存在接种率的地区差别。

2 新生儿和儿童HB免疫现状

在WHO的努力及各国政府的重视下,除极少数国家外,绝大多数国家均已将HBV疫苗纳入新生儿等计划免疫,使新生儿HB急剧减少。对新生儿及婴幼儿的免疫覆盖率多数国家大致相同或接近。在欧洲大城市,新生儿接种覆盖率平均在95%以上,婴儿HBV疫苗接种覆盖率为85%-99%,儿童及年长儿相对较低^[10]。法国HBV疫苗接种率儿童为27.5%-99%,年长儿为52%-98%。2002年法国全国HBV疫苗接种率为21.7%,年长儿为46.2%^[11]。非洲部分国家婴幼儿HBV疫苗接种率近90%,接种后出现血清抗-HBs保护性阳转率达80%-83.5%。赞比亚的一份调查显示,婴幼儿接种HBV疫苗后14 a HBV携带率减少了89%-97%,HBV感染率减少80%,年长儿减少幅度较小(56%-73%)^[12]。儿童和年长儿尤其是经济条件差的国家和地区的儿童抗-HBs水平明显降低^[13-14]。南北美洲国家均实行了新生儿、婴幼儿HBV疫苗免疫计划,美国实行HBV疫苗接种后免疫覆盖率在97%以上,前3 a(1981-1984)新生儿HBV感染率即下降67%^[15]。美国原有120万慢性HB患者,1980年以来稳定下降,1990-2002年急性HB下降67%,儿童下降更著^[15];1990-2002年儿童和年长儿急性HB流行率下降89%,新发病例大多为外来人口^[3]。亚洲国家中实行WHO推荐的方案从时间和覆盖率上都有差异。印度属于中度HBV流行国家^[16],其婴幼儿对rHBV疫苗的反

应率达100%,成人96.4%,但成人抗-HBs几何平均滴度(GMT)高于婴儿^[17]。但有少数家长因顾虑太多而不愿接受HB免疫^[18]。美国近年来新生儿首针及时接种率有所下降,在7-12月龄中从47%下降到11%,全国2000年接种HBV疫苗的新生儿比1998年少75万^[19]。法国等欧洲国家婴儿(19.8%)、儿童(23.3%)和年长儿(46.2%)HBV疫苗接种率亦有下降^[11]。我国早在1985-1990期间对部分省、市、自治区新生儿作观察性HBV疫苗接种,随访至1999年,结果表明,14岁以下儿童HBsAg携带率从免疫前的15.2%下降到1.64%,总保护率达89.2%^[4]。21世纪以来各地区HBV疫苗接种率进一步增加,而HBsAg阳性率则相应地下降。北京地区3-12岁儿童HBsAg阳性率仅为0.52%,而疫苗保护率达88.5%^[20]。广东、浙江、江苏、云南部分地区,陕西、广西、湖北^[21]等地区新生儿HBV疫苗接种率平均达90%以上。上海市自1986年以来新生儿HBV疫苗接种率、及时接种率持续稳定在95%上下^[22]。部分城市的儿童、青年接种率达80%以上,有的(如上海)达99.5%,而HBsAg携带率从1992年的9.09%降至1.29%,有些地区下降到0.2%以下^[23]。广东为我国高HBV感染流行区之一,全省HBV标化流行率达68.94%。2002年的调查结果显示中小學生HBsAg携带率平均为10.19%,农村达16.34%。近年来HBsAg携带率已下降到1.78%。新疆一些地区幼儿HBsAg携带率2001年仍达3.2%;黑龙江部分地区则高达5.4%。由于我国对新生儿实施HBV疫苗计划免疫相对较晚,虽然多数地区新生儿HB免疫覆盖率在85%以上,但婴幼儿及年长儿的HB免疫则处于个人自由状态。整体说来,由于地区差异、东西部发展不平衡等,不同地区新生儿覆盖率差异较大,尤其是全程接种率和首针及时接种率差异更大。有资料显示,东部、中部和西部地区在医院出生者HBV疫苗接种率分别为94.9%、93.2%和82.0%;在家出生者分别为78.1%、81.8%和38.3%;首针及时接种率在医院出生者分别为84.3%、75.7%和64.8%;而在家出生者仅分别为29.4%、40.0%和17.6%。边远省份HBV疫苗接种率甚至还低于上述地区。云南等地区1-3岁儿童HBV疫苗接种率为70.34%,全程接种率为68.45%,首针及时接种率仅22.5%,全程及时接种率仅22.34%。该“三率”城市高于农村,而HBV感染率则农村高于城市。农村在家出生的新生儿大多数未接种或未及时接种。概而言之,我国自实施新生儿HBV疫苗计划

■应用要点

本文概括了新生儿和儿童HB免疫的现状和存在的问题,明确HB免疫过程中需注意的问题,吸取国内外的成熟先进的经验,提出对不同新生儿和儿童采取不同的接种方案、应用不同的剂量和方法及不同的加强免疫时机。

■名词解释

1 首针及时接种率: 指新生儿出生后12 h内完成首针HBV疫苗接种者数占该区域内所有新生儿首针HBV疫苗接种数的百分比。

2 全程接种完成率: 指及时按接种程序完成3针HBV疫苗接种数占该区域内所有HBV疫苗接种数的百分比。

免疫及扩大对其他人HB免疫以来, 所取得的成绩不小, 需解决和处理的问题不少, 面临的任务繁重及要走的路程尚遥, 要早日控制HB需政府、民众更大的投入和关注, 需全国人民的共同努力。

3 接种HBV疫苗需注意的问题

3.1 接种方案和接种剂量 目前国内外最常用的接种方案为WHO推荐的mo 0, 1, 6方案即标准方案或常规方案。该方案已被亿万人接种证实为效果可靠的方案, 但由于该方案提出时间早(主要适用于新生儿), 三针间隔时间太长, 造成全程接种率和及时接种率低^[24], 接种后抗体产生晚, 影响免疫效果。近年来针对不同人群, 不少学者采用mo 0, 1, 3和mo 0, 1, 2^[25]短程序接种方案, 其全程接种率和及时接种率较高, 抗-HBs阳转出现早, 抗-HBs阳转率、GMT均不低于甚至略高于标准方案。短程序接种的效果已为大多数学者所接受, 并出现d 0, 7, 21^[24,26]和d 0, 7, 14快速方案。后两者的及时接种率、全程接种完成率均大大高于标准方案, 抗体产生较标准方案早半年而血清抗-HBs阳转率、GMT等与标准方案者接近, 因此更方便操作, 适合各类人群尤其是家族中有HBsAg携带者的新生儿或儿童等紧急HB免疫, 可尽早产生保护性抗-HBs的抗体。关于HBV疫苗剂量, WHO推荐剂量为, 成人20 μg/针, <10岁儿童10 μg/针。近年来针对不同人群的经济状况及对HBV疫苗的反应差异, 国内外一些学者试用较高或低剂量HBV疫苗。Rana *et al*^[27]对年长儿接种10 μg和20 μg HBV疫苗的结果表明, 接种20 μg HBV疫苗者血抗-HBs阳性率出现早(2针后1 mo即可出现)约3 mo, 抗-HBs GMT亦高于10 μg者。有学者试用低剂量(1.5-5 μg)^[28-30]HBV疫苗sc, 完成接种后虽血清抗-HBs阳性率较高, 但GMT低^[31], 衰减快, 维持时间短, 且接种时局部反应较多。故大多数学者及HBV疫苗接受者认为, 在排除疫苗来源及经济条件差等制约因素后, 普通rHBV疫苗不推荐低剂量皮下接种。我国2005年慢性乙型肝炎防治指南推荐为, HBsAg阴性母亲的新生儿接种5 μg rHBV(酵母)疫苗或10 μg CHO疫苗; 对HBsAg阳性母亲新生儿接种10 μg rHBV酵母疫苗或20 μg CHO疫苗(同时于不同部位注射HB免疫球蛋白); 接种部位新生儿为大腿前外侧肌肉内, 儿童为上臂中部三角肌内^[9]。对HBsAg阳性母亲新生儿有接种30 μg甚至更大剂量rHBV疫苗者。

鉴于rHBV疫苗安全性好, 对HBsAg阳性母亲的新生儿常规接种后无或弱反应者可考虑增加剂量。

3.2 早产儿的接种 Sood *et al*^[32]比较了不同出生体质量(部分为早产儿)新生儿分别按出生后3 d内、6 wk和6 mo接种10 μg rHBV疫苗的效果表明, 第二针接种后1 mo有保护性反应率体质量大于2.5 kg之新生儿达95%, 体质量在1.8-2.4 kg者为60%, 体质量在1.2-1.79 kg者仅10%; 三针结束后1 mo, 血清抗-HBs阳性率分别增加到100%, 90%及45%。胎龄在34-36 wk者94%出现保护性抗-HBs反应, 而胎龄在31-33 wk者仅为55%。认为对HBV疫苗的反应在低体质量及短胎龄两因素中, 短胎龄起主要作用。Sadeck *et al*^[33]研究结果亦表明早产和低体质量儿对HBV疫苗的反应率低于足月生产和正常体质量儿(92% vs 100%); 保护性抗体反应率出生体质量≤1500 g和>1500 g者分别为75%和100%, 前者接种第4针后亦达100%。Linder *et al*^[34]对早产、低体质量婴儿按体质量和接种时间分3组: 组1为57例, 孕龄≤35 wk; 组2为39例, 孕龄≥37 wk; 该2组于出生后24 h内接受第1针HBV疫苗。组3为40例, 孕龄≤35 wk, 首针乙肝疫苗推迟至其体质量增加到2000 g时接种。3组均按mo 0, 1, 6方案接种3针。于3-3.5岁(至少于接种完成后2.5岁)复查。结果: 组3抗-HBs阳性率(92.5%)明显高于另2组(组1、54.4%, 组2、71.8%)。组3抗-HBs GMT(119 IU/L vs 14.2, 32.7 IU/L)亦显著高于另2组。认为推迟对早产、低体质量婴儿接种乙肝疫苗, 待其免疫系统较健全时再予接种, 可显著提高抗-HBs阳性率及GMT水平。

3.3 HBsAg携带母亲所生子女的接种 HBV感染的对象具体为易被HBV感染的人群, 该人群机体对HBV的免疫识别和清除能力差, 当接触HBV后即易被感染并转为慢性携带。这些人的基因遗传给子代时, 如配偶对HB免疫能力强(感染后自行清除HBV并产生抗体)则大部分子代可避免被感染; 如配偶对HBV的免疫能力一般, 则子代将有约1/2被感染并携带HBV; 如配偶对HBV的免疫力较弱或弱, 则子代几均可被HBV感染。同时这些易感人群对HBV疫苗的总反应比一般人要弱, 抗-HBs衰减较快^[35-36], 故接种HBV疫苗宜加大剂量, 必要时增加接种次数。荷兰国家卫生部已对HBsAg阳性母亲所生子女推荐4针方案(分别为出生时、出生后2, 4和11 mo)^[37]。国内有学者^[39]应用5倍剂量HBV疫苗

接种HB母亲所生子女, 应答率达94.7%, 约为普通剂量组的3倍. 关于是否应用抗-HBs免疫球蛋白(HBIG)意见尚不统一. 有学者观察不用HBIG单独注射HBV疫苗血清抗-HBs阳性率达95%-99%, 认为没必要应用HBIG^[36,39], 甚至认为HBIG可能干扰免疫记忆以致出生时注射HBIG使机体对HBV疫苗的反应降低^[40]. 但大多数国内学者认为应用HBIG较不用者免疫成功率更高^[41-42]. 对联合应用HBIG与HBV疫苗对阻断母婴传播的确切作用尚待进一步大宗样本对照研究. 由于HBIG应用后甚少不良反应, 故在目前, 在经济条件许可的情况下, 试用似有利而少害. 已知携带HBV母乳中含有可传染的HBV DNA, 但其传播给子女的有力根据并不多^[43-44]. Hill *et al*^[45]观察HB携带母乳喂养之子女常规接种HBV疫苗后15 mo检测血清HBsAg等阳性率并不高于非母乳喂养组, 但对HBeAg, HBV DNA阳性母乳最好不用母乳喂养. 对这些婴儿, 可采用快速d 0, 7, 14免疫方案, 首针后1 mo, 如血清抗-HBs GMT已达很高水平, 则不必禁止母乳喂养.

3.4 保护时间和加强免疫 接种HBV疫苗后产生抗-HBs的持续保护时间与个体免疫反应差异、接种剂量、初始抗-HBs GMT等有关, 确切保护时间不同个体差异较大, 亦很难确定, 从数月到近20 a不等. 一般来说, 剂量大、首针接种后即出现抗-HBs阳性者, 3针结束后抗-HBs GMT高者表明个体免疫应答强, 保护时间亦长, 反之则短. 平均保护时间各家报道不一. 总体而言, 接种后所产生的抗-HBs阳性率、GMT随时间延长而年递减约3.8%-8.9%. Levie *et al*^[46]观察42名新生儿出生时接种HBV疫苗后6 a, 近一半抗-HBs已消失, 但加强1针后, 迅速获得保护性抗-HBs滴度. 认为抗-HBs虽消失, 但免疫记忆仍存在. Williams *et al*^[47]研究结果与上相近, 组1新生儿接受常规HBV疫苗免疫接种后5 a, 41%有保护性抗-HBs, 加强接种后原有保护性抗-HBs者均有记忆反应. 组2接种后9 a, 仅39%有保护性抗-HBs, 加强免疫后93%有记忆反应. 加强免疫后1 a, 两组抗-HBs分别下降26和11倍. 亦有观察更长时间(18 a)血清保护性抗-HBs水平者, 几均同意上述观点, 但强调加强免疫^[35]. 我国2005年慢性HB防治指南提出有效保护时间大体为12 a相对较适中, 可以循用. 但实际操作中, 不可拘泥于具体时间, 应根据不同人群和不同个体区别对待, 如对母亲为HBV携带者, 可加强观察并酌情提前加强免疫. 由于加强免疫后所产生的

抗-HBs衰减快, 维持时间短, 故对高危者宜追踪监测, 必要时反复加强免疫. 此外, 对低反应者可于短时间(6 mo内)大剂量加强免疫, 对无反应者可采用d 0, 7, 14方案大剂量($\geq 30 \mu\text{g}$)快速免疫或联用免疫调节剂可获较好效果.

4 参考文献

- 1 庄辉. 加强对新生儿以外人群乙型肝炎疫苗免疫. 中华流行病学杂志 2004; 25: 376
- 2 李河民, 梁争论, 张华远. 关于乙型肝炎疫苗免疫原性的评价. 中华流行病学杂志 2004; 25: 378-381
- 3 Acute hepatitis B among children and adolescents—United States, 1990-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53: 1015-1018
- 4 刘崇柏, 苏崇鏊. 中国乙型肝炎疫苗免疫及存在的问题. 中华流行病学杂志 2004; 25: 377-378
- 5 Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 395-403
- 6 Van Damme P, Vorsters A. Hepatitis B control in Europe by universal vaccination programmes: the situation in 2001. *J Med Virol* 2002; 67: 433-439
- 7 Mahoney R. Policy analysis: an essential research tool for the introduction of vaccines in developing countries. *J Health Popul Nutr* 2004; 22: 331-337
- 8 Balaji KA. GAVI and the Vaccine Fund—a boon for immunization in the developing world. *Indian J Public Health* 2004; 48: 45-48
- 9 中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学学会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华传染病杂志 2005; 23: 421-431
- 10 Skifte TB. Childcare immunization programme—to what extent are children covered by vaccinations in Greenland? *Int J Circumpolar Health* 2004; 63 Suppl 2: 252-255
- 11 Denis F. Hepatitis B vaccination in France: vaccination coverage in 2002. *Bull Acad Natl Med* 2004; 188: 115-123
- 12 Whittle H, Jaffar S, Wansbrough M, Mendy M, Dumpis U, Collinson A, Hall A. Observational study of vaccine efficacy 14 years after trial of hepatitis B vaccination in Gambian children. *BMJ* 2002; 325: 569
- 13 Boland G, Beran J, Lievens M, Sasadeusz J, Dentico P, Nothdurft H, Zuckerman JN, Genton B, Steffen R, Loutan L, Van Hattum J, Stoffel M. Safety and immunogenicity profile of an experimental hepatitis B vaccine adjuvanted with AS04. *Vaccine* 2004; 23: 316-320
- 14 Sallam TA, Alghsham HM, Ablohom AA, Alarosi MS, Almotawakel RE, Farea NH, Mosleh AA. Immune response to Hepatitis B vaccine among children in Yemen. *Saudi Med J* 2005; 26: 281-284
- 15 Incidence of acute hepatitis B—United States, 1990-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 52: 1252-1254
- 16 Kiran V. Hepatitis-B vaccine introduction into the routine immunization schedule—Andhra Pradesh experience. *Indian J Public Health* 2004; 48: 63-66
- 17 Joshi N, Kumar A, Raghu MB, Bhav S, Arulprakash R, Bhusari P, Rao R. Immunogenicity and safety of hepatitis B vaccine (Shanvac-B) using a novel pre-filled single use injection device Unijet in Indian subjects. *Indian J Med Sci* 2004; 58: 472-477
- 18 Maayan-Metzger A, Kedem-Friedrich P, Kuint J.

■同行评价

本文集中讨论了新生儿和儿童HB免疫的现状和存在的问题, 概括了国内外有关研究成果和不同看法, 推荐一些成功经验, 如对早产儿、低体重儿及HBV阳性母亲子女的免疫接种及介绍短序方案的优点. 研究内容正针对我国高发病, 且提供了有关新生儿和儿童乙肝免疫的接种的信息, 提出问题有其重要意义.

- To vaccinate or not to vaccinate--that is the question: why are some mothers opposed to giving their infants hepatitis B vaccine? *Vaccine* 2005; 23: 1941-1948
- 19 Luman ET, Fiore AE, Strine TW, Barker LE. Impact of thimerosal-related changes in hepatitis B vaccine birth-dose recommendations on childhood vaccination coverage. *JAMA* 2004; 291: 2351-2358
 - 20 龚晓江, 王富珍, 李辉, 刘立荣, 李阳桦, 王宝兰, 李立琴, 张震, 韩庆英, 唐耀武. 北京市儿童乙型肝炎疫苗接种12年后免疫效果观察. *中华预防医学杂志* 2005; 39: 265-268
 - 21 余滨, 王夏, 韩荣华, 陈载超, 陈再芳. 武汉市近10年1-3岁儿童乙型肝炎疫苗接种率和乙型肝炎病毒表面抗原携带率调查及发病率分析. *中国计划免疫* 2005; 11: 117-119
 - 22 吴为寿, 孙超美, 姜民波, 张国华, 周宁, 欧阳佩英, 王萱怡, 徐志一. 乙型肝炎免疫预防持续效果探讨(18年随访结果). *中国计划免疫* 2005; 11: 204-207
 - 23 张海艳, 崔玲玲, 马立宪. 北京市东城区423名儿童乙型肝炎疫苗后血清学调查. *疾病监测* 2005; 20: 65-67
 - 24 Wright NM, Campbell TL, Tompkins CN. Comparison of conventional and accelerated hepatitis B immunisation schedules for homeless drug users. *Commun Dis Public Health* 2002; 5: 324-326
 - 25 Chowdhury A, Santra A, Habibullah CM, Khan AA, Karunakaramaiah J, Kishore TS, Raju AV, Lahiri S. Immune response to an indigenously developed r-hepatitis B vaccine in mixed population: study of an accelerated vaccination schedule. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1037-1039
 - 26 Nothdurft HD, Dietrich M, Zuckerman JN, Knobloch J, Kern P, Vollmar J, Sanger R. A new accelerated vaccination schedule for rapid protection against hepatitis A and B. *Vaccine* 2002; 20: 1157-1162
 - 27 Rana SS, Singhal R, Gupta RK, Sharma D, Kar P. Immunogenicity of low-dose and conventional-dose recombinant hepatitis B vaccines in healthy adolescents in India. *Singapore Med J* 2004; 45: 427-429
 - 28 Ghabouli MJ, Sabouri AH, Shoeibi N, Bajestan SN, Baradaran H. High seroprotection rate induced by intradermal administration of a recombinant hepatitis B vaccine in young healthy adults: comparison with standard intramuscular vaccination. *Eur J Epidemiol* 2004; 19: 871-875
 - 29 Schoub BD, Matai U, Singh B, Blackburn NK, Levin JB. Universal immunization of infants with low doses of a low-cost, plasma-derived hepatitis B vaccine in South Africa. *Bull World Health Organ* 2002; 80: 277-281
 - 30 Ristola MA, Vuola JM, Valle M, von Reyn CF. Antibody responses to intradermal recombinant hepatitis B immunization among HIV-positive subjects. *Vaccine* 2004; 23: 205-209
 - 31 Das HS, Sawant P, Shirhatti RG, Vyas K, Vispute S, Dhadphale S, Patrawalla V, Desai N. Efficacy of low dose intradermal hepatitis B vaccine: results of a randomized trial among health care workers. *Trop Gastroenterol* 2002; 23: 120-121
 - 32 Sood A, Singh D, Mehta S, Midha V, Kumar R. Response to hepatitis B vaccine in preterm babies. *Indian J Gastroenterol* 2002; 21: 52-54
 - 33 Sadeck LS, Ramos JL. Immune response of pre-term infants to hepatitis B vaccine administered within 24 hours after birth. *J Pediatr (Rio J)* 2004; 80: 113-118
 - 34 Linder N, Vishne TH, Levin E, Handscher R, Fink-Kremer I, Waldman D, Levine A, Ashkenazi S, Sirota L. Hepatitis B vaccination: long-term follow-up of the immune response of preterm infants and comparison of two vaccination protocols. *Infection* 2002; 30: 136-139
 - 35 Lu CY, Chiang BL, Chi WK, Chang MH, Ni YH, Hsu HM, Twu SJ, Su IJ, Huang LM, Lee CY. Waning immunity to plasma-derived hepatitis B vaccine and the need for boosters 15 years after neonatal vaccination. *Hepatology* 2004; 40: 1415-1420
 - 36 Milne A, West DJ, Chinh DV, Moyes CD, Poerschke G. Field evaluation of the efficacy and immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine without HBIG in newborn Vietnamese infants. *J Med Virol* 2002; 67: 327-333
 - 37 Boot HJ, Vermeer-de Bondt PE, Kimman TG. Protection of children born to hepatitis-B-infected mothers. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148: 1816-1818
 - 38 邱景邦, 王华, 张蔡斌, 郁莹莹, 卫建红. HBV携带者母亲所生婴儿乙型肝炎疫苗接种效果观察. *中国妇幼保健* 2005; 20: 386
 - 39 Keating GM, Noble S. Recombinant hepatitis B vaccine (Engerix-B): a review of its immunogenicity and protective efficacy against hepatitis B. *Drugs* 2003; 63: 1021-1051
 - 40 Boxall EH, A Sira J, El-Shuhkri N, Kelly DA. Long-term persistence of immunity to hepatitis B after vaccination during infancy in a country where endemicity is low. *J Infect Dis* 2004; 190: 1264-1269
 - 41 王赞. 乙肝疫苗单独及与乙肝免疫球蛋白联合免疫不同接种方法阻断母婴垂直传播的效果观察. *黑龙江医学* 2005; 29: 171-172
 - 42 段文斌, 王伯良, 周小平, 仲月霞. 乙肝免疫球蛋白和乙肝疫苗联合宫内感染的疗效分析. *第四军医大学学报* 2005; 26: 191-192
 - 43 李双双, 苏良香, 杜卫星, 邵雪峰. 乙肝病毒携带产妇产母乳喂养按全性探讨. *南通医学院学报* 2004; 24: 439-440
 - 44 唐瑟, 李运星, 王得成. 血中携带乙肝病毒孕妇及新生儿外周血和初乳中HBV DNA含量比较. *四川医学* 2005; 26: 522-523
 - 45 Hill JB, Sheffield JS, Kim MJ, Alexander JM, Sercely B, Wendel GD. Risk of hepatitis B transmission in breast-fed infants of chronic hepatitis B carriers. *Obstet Gynecol* 2002; 99: 1049-1052
 - 46 Levie K, Gjorup I, Skinhoj P, Stoffel M. A 2-dose regimen of a recombinant hepatitis B vaccine with the immune stimulant AS04 compared with the standard 3-dose regimen of Engerix-B in healthy young adults. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 610-614
 - 47 Williams IT, Goldstein ST, Tufa J, Tauillii S, Margolis HS, Mahoney FJ. Long term antibody response to hepatitis B vaccination beginning at birth and to subsequent booster vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 157-163

电编 李琪 编辑 潘伯荣

重点、高危和特殊人群之乙肝免疫

陈仕珠

陈仕珠, 解放军第451医院感染病科 陕西省西安市 710054
通讯作者: 陈仕珠, 710054, 陕西省西安市友谊东路269号, 解放军第451医院感染病科. chenshizhu34419@126.com
电话: 029-84734222
收稿日期: 2006-06-23 接受日期: 2006-07-10

摘要

重点、高危和特殊人群除自身更易感染乙肝病毒(HBV)外, 还包括当他们感染HBV后易形成慢性肝炎或携带并造成HBV传播, 他们是乙肝免疫的重点对象或需要尽快接种HBV疫苗的特殊对象. 该人群乙肝免疫覆盖率较低, 而HBV感染率和携带率较高; 其中一些人对HBV疫苗反应低下, 常规接种程序和接种剂量免疫后抗-HBs出现晚, 阳转率低, 几何平均滴度低, 有效保护时间短, 宜用快速免疫方案和大剂量HBV疫苗或接种4针, 必要时应用佐剂或免疫激动剂.

关键词: 高危人群; 乙肝病毒疫苗; 乙肝免疫; 免疫接种; 乙型肝炎

陈仕珠. 重点、高危和特殊人群之乙肝免疫. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2713-2717

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2713.asp>

0 引言

乙型病毒性肝炎(乙肝)免疫的对象视其对乙肝病毒(HBV)的易感性和应予免疫接种的紧迫性大体分普通人群、重点人群、高危人群和特殊人群. 普通人群指该人群本身感染和传播HBV机会相对较少, 如一般成人居民. 重点人群指2-13岁未接种或未全程接种过HBV疫苗的儿童、托幼机构和饮食行业的工作人员^[1-2]、成人中未接种和未感染过HBV的集体生活中的人群, 如新入伍的军人、武警、教师、运动员等^[3]. 高危人群主要指(1)有职业危险的医务人员, 如传染科、口腔科、妇产科、手术室、检验科和血液透析(血透)室的工作人员、疾病预防控制人员、新就业或将进入临床的医护人员等; (2)乙肝患者和HBsAg阳性者的配偶及家庭成员、未婚性伴侣和同家庭密切接触者; (3)血液透析

患者、器官移植前的患者、大量受血者及其他患有可使免疫功能下降和对疫苗反应下降疾病的患者; (4)经常使用血液和血制品者; (5)iv毒品者、男性同性恋和多性伴者; (6)免疫障碍或免疫抑制剂接受者、发育障碍收容所中的患者、精神病患者及其工作人员; (7)母亲为HBV携带或乙肝患者及某些旅游者^[4-6]. 特殊人群主要指囚犯、孤儿及执行特殊任务或特殊工作(军人、武警)等既易感染HBV又需特殊关注或照顾的群体(其中大部为重点人群和高危人群). 重点人群、高危人群和特殊人群除自身易感染HBV外, 还包括当他们感染HBV后更易造成HBV传播, 感染其他健康人群. 其中一些人对乙肝免疫无或弱反应, 他们是乙肝免疫的重点对象或需要尽快或立即接种HBV疫苗以减少HBV感染的特殊对象. 目前对这些人群乙肝免疫管理相对松散, 督促检查少, 接受全程免疫率低^[7]. 美国18-29岁高危人群中虽然80%的人看过医生, 但仅30%人接种过HBV疫苗^[8]. 我国自1992年将HBV疫苗纳入计划免疫管理以来, 各地区重点人群逐渐不同程度的接受了乙肝免疫, 但该人群的免疫覆盖率较低, 基本上处于个体自愿及部分团体组织的自由接种状态, 远未达到2002年以来对新生儿实行计划免疫后新生儿乙肝免疫的管理和接种覆盖水平.

1 医护和食品行业人员

1.1 医护人员 由于医护人员的工作性质, 接触和感染HBV的机会多于其他人群. 国内某卫校新生入学时HBV感染率为20.3%, HBsAg阳性率为6.5%. 毕业时HBsAg阳性率上升到11.2%, HBV感染率达26.9%, 新增HBsAg阳性者中76.5%为护士生, 3 a间HBsAg阳性率增加近一倍, 高于其他青年人群. 然而, 除传染科外的其他临床科室医护人员自我防护意识并不强. 有调查显示, 一些基层医院医护人员中有预防观念者为9.97%, 抽血操作经常戴手套者为5.7%, 接触患者后洗手者为37.9%, 被针刺后采取正确防护措施者为36.6%, 护理人员接种过乙肝

■背景资料

由于乙肝免疫对象涉及所有社会成员且短时间内不能做到对所有人群实施计划免疫, 故目前国内外均根据对HBV的易感性、感染后的危害性即接种乙肝疫苗的轻重缓急将社会成员分为普通人群、重点人群、高危人群和特殊人群. 分析讨论不同人群乙肝免疫的目的在于有重点的采取对该人群有效而实用的接种措施, 选择适合不同人群的接种方案, 使乙肝免疫做到群体化甚至个体化.

■创新盘点

除此前资料提出的乙肝免疫对象的人群划分外,本文首次提出特殊人群的概念。特殊人群兼有而又不同于其他人群的特点,如执行特殊或紧急任务(维和及重要军事行动)的军人、武警等,对该人群,需采用最快接种程序接种。

病毒疫苗者不到一半^[9]。即便是在大医院亦存在对职业防护知识了解的深度和广度不足的问题。在临床医务人员中,以手术室医护人员HBV感染率(42.5%)为高。有些接触HBV频率高的科室HBV感染率甚至可达85.7%。医护人员在行医过程中针刺损伤(HBV感染的重要途径)屡见不鲜。英国每年因针刺损伤者超过百万^[10]。国内临床科室每名医生每年有2.85次医疗性皮肤损伤,护士锐器损伤次数为3.4次/人,其中54%的损伤是内孔针头充满血液的情况下发生的^[11]。患者的血液、体液接触医护人员身体部位的构成比分别为接触鼻口为38.2%,接触眼为31.7%,接触手及躯干为30.1%,而不同部位所采取的相应防护措施的构成比分别为接触口鼻而戴口罩的只有39.1%,接触眼而戴眼罩的仅为1.1%,接触手及躯干戴手套及穿隔离衣的亦仅33.6%,总的防护率仅为18.5%。医护人员HBV疫苗接种率仅为23.2%^[12]。接种HBV疫苗的护理人员中,接种率以新护士为低^[13]。牙科医生对HBV传播的认识、无菌操作和自我防护意识亦较淡,超过50%的牙科医生认为HBV感染率较低^[14]。在医疗操作时戴手套者仅49%,在治疗下一个患者时换手套者仅24.8%^[15]。而他们中接种过HBV疫苗者仅占26%^[14]。表明医护人员确为较一般人群感染HBV的机会更多^[16]的高危人群。因此,如不严格操作规程,医务人员的医疗操作过程将可能是感染和传播HBV的过程。即便如此,由于医护人员对HBV感染危险性及乙肝免疫重要性等的了解和认识要先于和高于一般人群,故截止目前,接受乙肝免疫的重点或高危以及其他人群中,仍以医务人员相对为多,接受乙肝免疫的医务人员中,小于30岁者抗-HBs阳转率近90%。而平均HBV感染率则较同地区新生儿以外的其他人群为低。同其他人群一样,随年龄的增加,抗-HBs阳转率逐渐下降,医护人员总的血清抗-HBs阳性率保持在78.9%上下^[17]。随着接种方案的不断改进和完善,有学者采用2 μ g重组乙肝(rHB)疫苗按mo 0, 1, 2, 12三角肌注射四针方案,第1针注射后3, 12, 13和44 mo抗-HBs >10 IU/L者分别为73.3%, 95.6%, 100%和92.8%,几何平均滴度(GMT)分别为91.6, 616, 3662和367 IU/L。认为该方案可使医生获得长期保护作用,适用于省钱的接种政策^[18]。对三角肌接种失败者改用sc低剂量4针方案接种后94%产生高GMT的抗-HBs^[19]。Das *et al*^[20]采用20 μ g及2 μ g rHB疫苗按mo 0, 1, 6方案,分别予

三角肌im和sc。三针结束后1 mo,所有受试的护理人员抗-HBs均阳性,但GMT三角肌im者显著高于sc者。1 a后GMT维持显著差别,但仍均具保护作用(121.6 \pm 122.4 IU/L)。然而因后者的剂量仅为前者的1/10,故经济。伊朗的一份研究也认为,sc 4 μ g HBV疫苗后的免疫效果,无论是抗-HBs血清保护率还是GMT均接近。从经济上说更符合第三世界国家国情^[21]。但大多数研究均表明,im后GMT高于皮下/内者。目前我国自行生产的HBV疫苗安全性、免疫原性和反应性均很好(与国外疫苗相当),且数量充裕价格低,故以三角肌im 20 μ g(10 μ g <10 岁)三针快速方案为好。接种10 a后仍可检出HBsAg特异性记忆淋巴细胞^[22]。

1.2 食品行业人群 目前国内从事食品、餐饮及有关公共场所工作等人员的乙肝免疫形势严峻,据调查这些人群对乙肝传播途径的知晓率仅43.9%;成都一所烹饪专业1924名大学生中41.7%感染过HBV或已经是HBV携带者^[23]。接种过HBV疫苗者仅占20%^[24]。经济条件差的地区、小单位、部分个体经营食品等行业人员接种率更低。广州等地服务行业员工就业前体检HBsAg阳性率高达9%左右^[25-26]。目前各地有关部门采取积极措施,将HBV标志阳性者调离职业禁忌岗位,同时对无HBV感染者接种HBV疫苗,这些措施对减少HBV传播起积极作用。

2 血液透析及HIV, HCV感染者

2.1 血液透析者 慢性肾病(尤其晚期肾病)患者机体免疫功能紊乱,易继发病原体感染^[27],又因长期血液透析,尤易感染HBV等。而该人群对HBV疫苗的反应率仅40%-50%^[28]。Fabrizi *et al*^[29]汇集了17个临床试验结果表明,该群体对疫苗的反应率显著降低,感染HBV的危险比率达0.74;年龄越大,行血透时间越长,对HBV疫苗的反应越低^[30]。提出对这些患者需改变接种方案,经常检测其血清抗-HBs并及时加强免疫。晚期肾病患者经有效血透后可明显改善对HBV疫苗的反应^[30]。有学者尝试应用左旋咪唑治疗肾病血透患者同时接种乙肝病毒疫苗,每次透析时服左旋咪唑80 mg,共4 mo,按mo 0, 1, 6方案接种HBV疫苗,每针40 μ g,三角肌im;对照组为单独接种HBV疫苗。结果,应用左旋咪唑组患者接种后77.8%出现保护性抗-HBs,对照组为57%。对此前接种无反应者,应用左旋咪唑后反应率近80%,而未用左旋咪唑者仅15%有反应。由于HB

患者存在免疫功能异常^[31], 左旋咪唑通过增加CD3, CD4和CD4/CD8比值水平增强患者的免疫功能^[32]. 进而增强HB患者对HBV疫苗的应答能力. 因此, 对慢性肾病血透患者应用左旋咪唑治疗后予大剂量(40 μg)HBV疫苗可提高免疫成功率. 左旋咪唑价格低廉, 如经验证确有良效, 应推广应用.

2.2 HIV, HCV感染者 人感染HIV后因机体免疫系统损害, 不但易感染其他病原体, 对HBV疫苗反应亦降低. Ristola *et al*^[33]比较了HIV感染者sc和三角肌im HBV疫苗的效果, 结果3针后保护性抗-HBs仅为39%, 两组接近. 为改善免疫效果, Fonseca *et al*^[34]试用双倍剂量(40 μg)HBV疫苗按mo 0, 1, 6方案接种HIV感染者, 完成免疫后有效保护性抗-HBs阳性率由34%提升到47%; CD4细胞计数 $\geq 0.35 \times 10^9$ /L者与双倍剂量疫苗显著相关, $< 0.35 \times 10^9$ /L者间无相关性; 对HIV载量 $< 10 \times 10^7$ /L者, 双倍剂量组抗-HBs阳转率亦高于标准剂量组, HIV载量 $< 10 \times 10^7$ /L者间则无差异. 因此推荐对HIV感染(患)者接种HBV疫苗最合适的策略为: 在病毒载量低和CD4 $> 0.35 \times 10^9$ /L时予接种双倍剂量HBV疫苗. 泰国的一份研究表明, 对HIV阳性母亲所生的新生儿按mo 0, 1, 6方案每针10 μg接种HBV疫苗, 首针后3, 9, 12 mo查抗-HBs. 结果有HIV感染者对乙肝病毒疫苗的反应率显著低于无HIV感染组. 3针结束后3和6 mo, HIV阳性组有效保护率为71.4%, HIV阴性组为91.9%. 3针完成后12 mo, 抗-HBs滴度下降约50%, 无保护作用的低滴度抗-HBs百分率HIV阳性组明显高于HIV阴性组^[9]. HCV感染者机体对HBV疫苗的反应有与HIV感染者类似的下降. Chlabicz *et al*^[35]观察了48例慢性HCV感染者按mo 0, 1, 6方案接种后血清抗-HBs转换率第7月为72.9%(正常人为90.9%), 第18月时仅34.1%(正常人为90.0%)有保护作用. 与HIV感染者另一相似之处为抗-HBs滴度低而衰减速度快. 故对HCV感染者宜用大剂量(40 μg)HBV疫苗, 并随访观察、及时加强免疫. 风湿性关节炎患者对HBV疫苗的反应与慢性HCV感染者接近, 有效保护率为68%. 接种HBV疫苗对病情无影响. 无反应者与年迈、接种当日出现疼痛记分高有关^[36]. 如HIV和HCV联合感染则对HBV疫苗反应的伤害更显著^[37]. 接种HBV疫苗时除用双倍以上剂量外可酌情用4针方案并伍用佐剂等.

3 其他高危人群乙肝免疫

3.1 携带HBV孕妇胎儿和婴儿之乙肝免疫 目前我国孕妇HBV感染率和HBsAg, HBeAg携带率在一些地区仍然较高. 因此, 在当前通过接种HBV疫苗阻断母婴传播是减少和避免婴儿感染HBV的唯一途径. 国产重组仓鼠卵巢巢细胞(CHO)HBV疫苗已应用多年, 效果肯定. 儿童完成免疫后1 mo抗体阳转率均 $> 93\%$, 无或低应答率均值为2.13%, 抗体滴度为211.74-347.27 IU/L. 随访2-6 a, CHO HBV疫苗和其他疫苗抗体阳转率和抗体滴度有相同的下降趋势. 对HBsAg, HBeAg双阳性母亲所生的高危新生儿免疫后1 a阻断母婴传播保护率平均为74.64%(66.41%-85.19%), 表明国产重组(CHO)HBV疫苗母婴传播阻断效果稳定, 安全性好, 显著优于血源HBV疫苗^[38], 所有接种者未发生严重副反应. 对HBV携带者母亲所生的婴儿出生后按mo 0, 1, 6方案接种常规剂量HBV疫苗后1 mo(7 mo龄)其免疫应答率仅33.9%, 而加大剂量为30 μg按同法接种者免疫应答率达94.7%^[39]. 此外, 有研究表明, 怀孕期间应用免疫制剂对所生子女接种HBV疫苗的反应与未用免疫制剂者无异^[40]. 对早产、低体重儿乙肝免疫可将首针乙肝病毒疫苗推迟至其体重增加到2000 g时注射. 能显著提高抗-HBs阳性率及GMT水平^[41]. HBsAg阳性产妇所分娩的新生儿于出生后24 h内, 1, 6 mo龄接种3次HBV疫苗, 每次30 μg, 随访至3岁. 免疫失败者与HLA-DR3抗原有关, HLA-DR3可能为免疫失败的易感基因, HLA-DR15则可能为其保护基因^[42]. 此外, 免疫失败也可能与HBsAg阳性母亲病毒变异有一定联系.

3.2 性传播HBV者之乙肝免疫 尽管乙肝免疫已使不少国家新生儿HBV感染率明显下降, 但性传播HBV仍然是成人慢性HBV感染的潜在来源和重要因素, 如男性同性恋、妓女、囚犯等是性传播HBV的主要危险人群. 扩大对这些人群的乙肝免疫是预防成人慢性HBV感染主要措施. 目前对世界范围性传播HBV的预防并不成功. 性传播疾病者乙肝免疫率很低与对有关预防知识缺乏有关, 其接种与否医师起主要作用^[43]. 男性同性恋者乙肝免疫状况不容乐观, 该人群对常规免疫方案前两针接种基本能完成, 但第3针则多不能完成, 采用快速接种方案可明显提高免疫接种率和成功率. 对该人群而言, 乙肝问题虽重要, 但不是通过教育能预防的^[44].

■应用要点

了解接种对象人群的划分及其特点, 以便根据需要有步骤的实施免疫, 这对我像我国这样人口众多的国家逐步实行全民乙肝免疫具有指导作用.

■名词解释

高危人群: 相对于其他人群除感染HBV的机会较其他人群更高或自身高度易感外, 还包括当他们感染HBV后更易形成慢性肝炎或携带并易造成HBV传播的人群。他们是乙肝免疫的主要对象或需要尽快接种乙肝疫苗的特殊对象。

3.3 对囚犯的免疫接种 囚犯属于需要重点免疫的特殊人群, 其中很大部分年轻囚犯属于与性传播有关的高危人群, 但囚犯总体接种率不高。美国疾病控制和预防中心的1份调查表明, 成人囚犯HBV感染率达13%-47%, 慢性HBV感染率为普通人群2-6倍^[45]。该中心报告2001年美国有2.2万收监者患急性乙肝, 新感染HBV的7.8万人中, 29%此前被收监过^[46]。在其他发达国家该人群接种HBV疫苗者也不到40%。发展中国家则更低。美国1所监狱犯人中, 30%属HBV感染高危人群, 但其中一半人不认为他们处于高危境况, 44%的人不知道HBV能传播。但对接种HBV疫苗态度积极^[47]。英格兰和威尔士对该人群中>18岁者采用d 0, 7, 21方案, 对<18岁采用mo 0, 1, 2方案接种HBV疫苗, 12 mo后再注射第4针。2003年有14 163名犯人接种了26 265次, 但中位覆盖率仅17%。覆盖率超过50%的监狱已安排有专门负责接种管理的保健人员^[48]。因此, 乙肝免疫覆盖率与是否有管理人员和管理工作是否到位有关。

3.4 流动人群 流动人群为相对不固定的群体。该人群中含有乙肝高危人群, 但接种或全程接种HBV疫苗者较少, 而HBV感染率和HBsAg携带率则高(11.6%)于当地固定居住的人群。该人群属于需重点免疫的对象。Wright *et al*^[49]在1999年之前按mo 0, 1, 6方案对英格兰游散于社会上无家可归的孤儿行乙肝免疫接种, 由于该人群游动不定, 全程接种完成率甚低。2000年起采用快速(d 0, 7, 21)方案接种后, 全程免疫完成率为mo 0, 1, 6方案的7倍。国内外已实行的对集体生活人群接种HBV疫苗大都采用mo 0, 1, 6方案, 其间隔时间长, 全程接种完成率、及时接种率较快速方案低近10倍^[50], 故对这些人群改用短程序接种方案势在必行。

3.5 军人和执行紧急任务人群 对于军人等经常变动驻地的群体有时难以及时完成标准程序全程接种, 对经常执行特殊任务需要应急或快速免疫的人群则更难完成。如同时需接种甲肝疫苗, 则多有不便, 不能达到及时保护易感人群的目的。快速乙肝免疫接种方案^[50]如d 0, 7, 21和d 0, 7, 14方案更适合这些人群乙肝免疫接种, 其抗-HBs阳性率高, GMT达峰值时间早, 且可使常规免疫不产生抗体者产生抗体。应为重点和高危人群及其他需紧急乙肝免疫(last minute immunisation)人群较为理想的免疫方案。

总之, 重点、高危和某些特殊人群有其易感HBV的职业或生活特点和接种难点, 对HBV疫

苗反应有其异点。乙肝免疫要做到免疫方便、覆盖率高、抗-HBs阳转率和GMT水平高应根据不同人群采用适合该群体特点的接种方案, 做到免疫接种群体化。比较而言, 快速接种方案适用群体范围更大些。对目前所用的HBV疫苗, 接种剂量在经济条件及疫苗来源允许的情况下, 推荐新生儿和儿童不低于10 μ g/针, 大龄儿童及成人不低于20 μ g/针; 对HBsAg和/或HBeAg阳性母亲所生子女剂量应 \geq 20 μ g/针; 必要时可接种4针。对那些免疫功能低下(如慢性肾病等, 尤其是年龄大、病程长的患者)和对多次注射HBV疫苗无反应者接种剂量不低于30 μ g/针或辅用佐剂/免疫调节剂。

4 参考文献

- 1 庄辉. 加强对新生儿以外人群乙型肝炎疫苗免疫. 中华流行病学杂志 2004; 25: 376
- 2 刘崇柏, 苏崇鳌. 中国乙型肝炎疫苗免疫及存在的问题. 中华流行病学杂志 2004; 25: 377-378
- 3 郝玉兰, 龚晓红. 北京市非新生儿乙型肝炎的疫苗预防. 中华流行病学杂志 2004; 25: 381-384
- 4 中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学学会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华传染病杂志 2005; 23: 421-431
- 5 李河民, 梁争论, 张华远. 关于乙型肝炎疫苗免疫原性的评价. 中华流行病学杂志 2004; 25: 378-381
- 6 Fisman DN, Agrawal D, Leder K. The effect of age on immunologic response to recombinant hepatitis B vaccine: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 1368-1375
- 7 Rich JD, Ching CG, Lally MA, Gaitanis MM, Schwartzapfel B, Charuvastra A, Beckwith CG, Flanagan TP. A review of the case for hepatitis B vaccination of high-risk adults. *Am J Med* 2003; 114: 316-318
- 8 Ghabouli MJ, Sabouri AH, Shoeibi N, Bajestan SN, Baradaran H. High seroprotection rate induced by intradermal administration of a recombinant hepatitis B vaccine in young healthy adults: comparison with standard intramuscular vaccination. *Eur J Epidemiol* 2004; 19: 871-875
- 9 朱胜春. 护士职业防护现状调查分析与对策. 天津护理 2005; 13: 36-37
- 10 Trim JC. Raising awareness and reducing the risk of needlestick injuries. *Prof Nurse* 2004; 19: 259-264
- 11 邢颜超, 高海莲, 程维兴, 贾氢, 王文利. 医务人员职业损伤的研究分析. 解放军预防医学杂志 2002; 20: 27-30
- 12 洪锦兰, 涂英. 基层医院医护人员职业损伤预防防护状况的调查. 赣南医学院学报 2005; 25: 119-121
- 13 Ruef C. Immunization for hospital staff. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17: 335-339
- 14 Duffy RE, Cleveland JL, Hutin YJ, Cardo D. Evaluating infection control practices among dentists in Valcea, Romania, in 1998. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25: 570-575
- 15 杜民权, 江汉, 台保军, 郭颖, 黄薇. 牙科医生对感染控制的态度和行为分析. 武汉大学学报. 医学版 2003; 24: 373-376
- 16 王文蔚. 某卫校学生乙肝病毒感染状况及四年后追踪调查结果分析. 安徽卫生职业技术学院学报 2004; 3: 87-88
- 17 何小青, 吕玉芳, 胡梦华. 医务人员乙型肝炎疫苗预防

- 成效分析. 现代中西医结合杂志 2004; 13: 2147-2148
- 18 Erensoy S, Bilgic A, Arda B, Ozer O. Low-dose intramuscular hepatitis B vaccination in medical students: 4-year follow-up. *Infection* 2002; 30: 303-305
 - 19 Playford EG, Hogan PG, Bansal AS, Harrison K, Drummond D, Looke DF, Whitby M. Intradermal recombinant hepatitis B vaccine for healthcare workers who fail to respond to intramuscular vaccine. 2002; 23: 87-90
 - 20 Das HS, Sawant P, Shirhatti RG, Vyas K, Vispute S, Dhadphale S, Patrawalla V, Desai N. Efficacy of low dose intradermal hepatitis B vaccine: results of a randomized trial among health care workers. *Trop Gastroenterol* 2002; 23: 120-121
 - 21 Wang RX, Boland G, Guo Y, Lei SP, Yang CH, Chen J, Tian J, Wen JY, Du KH, van Hattum J, de Gast GC. Is a low dose of hepatitis B vaccine enough for a rapid vaccination scheme? *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2353-2355
 - 22 Wang RX, Boland GJ, van Hattum J, de Gast GC. Long-term persistence of T cell memory to HBsAg after hepatitis B vaccination. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 260-263
 - 23 张智淦, 陈静. 烹饪专业大学生阳性率调查. 预防医学情报杂志 2004; 20: 119-121
 - 24 熊文辉, 翁倍兰. 深圳市龙岗区食品公共场所从业人员病毒性肝炎相关知识及行为分析. 职业与健康 2005; 21: 556-557
 - 25 黄榕卿. 13319名食品及公共场所从业人员HBsAg、HBeAg携带情况分析. 中国初级卫生保健 2004; 18: 70
 - 26 许宏建, 岑永珍, 芳兰, 孟瑞琳, 何由成, 刘少梅. 广州市服务行业从业人员健康调查. 热带医学杂志 2004; 4: 430-431
 - 27 Verkade MA, van de Wetering J, Klepper M, Vaessen LM, Weimar W, Betjes MG. Peripheral blood dendritic cells and GM-CSF as an adjuvant for hepatitis B vaccination in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2004; 66: 614-621
 - 28 Kayatas M. Levamisole treatment enhances protective antibody response to hepatitis B vaccination in hemodialysis patients. *Artif Organs* 2002; 26: 492-496
 - 29 Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Bunnapradist S, Dulai G. Meta-analysis: the effect of age on immunological response to hepatitis B vaccine in end-stage renal disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1053-1062
 - 30 Kovacic V, Sain M, Vukman V. Does efficient haemodialysis improve the response to hepatitis B virus vaccination? *Lijec Vjesn* 2004; 126: 133-137
 - 31 Wang KX, Peng JL, Wang XF, Tian Y, Wang J, LiCP. Detection of T lymphocyte subsets and mIL-2R on surface of PBMC in patients with hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2017-2020
 - 32 Ke-Xia Wang, Li-Hua Zhang, Jiang-Long Peng, Yong Liang, Xue-Feng Wang, Hui Zhi, Xiang-Xia Wang, Huan-Xiong Geng. Effect of liniment levamisole on cellular immune functions of patients with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7208-7210
 - 33 Ristola MA, Vuola JM, Valle M, von Reyn CF. Antibody responses to intradermal recombinant hepatitis B immunization among HIV-positive subjects. *Vaccine* 2004; 23: 205-209
 - 34 Fonseca MO, Pang LW, de Paula Cavaleiro N, Barone AA, Heloisa Lopes M. Randomized trial of recombinant hepatitis B vaccine in HIV-infected adult patients comparing a standard dose to a double dose. *Vaccine* 2005; 23: 2902-2908
 - 35 Chlabicz S, Grzeszczuk A, Lapinski TW. Hepatitis B vaccine immunogenicity in patients with chronic HCV infection at one year follow-up: the effect of interferon-alpha therapy. *Med Sci Monit* 2002; 8: CR379-CR383
 - 36 Elkayam O, Yaron M, Caspi D. Safety and efficacy of vaccination against hepatitis B in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 623-625
 - 37 Gandhi RT, Wurcel A, Lee H, McGovern B, Shopis J, Geary M, Sivamurthy R, Sax PE, Ukomadu C. Response to hepatitis B vaccine in HIV-1-positive subjects who test positive for isolated antibody to hepatitis B core antigen: implications for hepatitis B vaccine strategies. *J Infect Dis* 2005; 191: 1435-1441
 - 38 梁争论, 李河民, 荆庆, 李艳平, 王右春, 时景璞, 赵桂珍, 尹爱红, 杨超美, 张华远. 国产重组(CHO细胞)乙型肝炎疫苗抗体反应和母婴传播阻断效果分析. 中国计划免疫 2003; 9: 317-320
 - 39 邱景邦, 王华, 张蔡斌, 郁莹莹, 卫建红. HBV携带者母亲所生婴儿乙肝病毒疫苗接种效果观察. 中国妇幼保健 2005; 20: 386
 - 40 Cimaz R, Meregalli E, Biggioggero M, Borghi O, Tincani A, Motta M, Airo P, Meroni PL. Alterations in the immune system of children from mothers treated with immunosuppressive agents during pregnancy. *Toxicol Lett* 2004; 149: 155-162
 - 41 Linder N, Vishne TH, Levin E, Handsheer R, Fink-Kremer I, Waldman D, Levine A, Ashkenazi S, Sirota L. Hepatitis B vaccination: long-term follow-up of the immune response of preterm infants and comparison of two vaccination protocols. *Infection* 2002; 30: 136-139
 - 42 刘海英, 孔北华, 徐群, 王磊一, 江森. 新生儿乙肝病毒疫苗接种阻断HBV母婴传播与HLA-DR区基因相关性的研究. 山东大学学报. 医学版 2003; 41: 378-381
 - 43 Samoff E, Dunn A, VanDevanter N, Blank S, Weisfuse IB. Predictors of acceptance of hepatitis B vaccination in an urban sexually transmitted diseases clinic. *Sex Transm Dis* 2004; 31: 415-420
 - 44 Sansom S, Rudy E, Strine T, Douglas W. Hepatitis A and B vaccination in a sexually transmitted disease clinic for men who have sex with men. *Sex Transm Dis* 2003; 30: 685-688
 - 45 Transmission of hepatitis B virus in correctional facilities--Georgia, January 1999-June 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53: 678-681
 - 46 Hepatitis B vaccination of inmates in correctional facilities--Texas, 2000-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53: 681-683
 - 47 Vallabhaneni S, Macalino GE, Reinert SE, Schwartzapfel B, Wolf FA, Rich JD. Prisoners' attitudes toward Hepatitis B vaccination. *Prev Med* 2004; 38: 828-833
 - 48 Gilbert RL, Costella A, Piper M, Gill ON. Increasing hepatitis B vaccine coverage in prisons in England and Wales. *Commun Dis Public Health* 2004; 7: 306-311
 - 49 Wright NM, Campbell TL, Tompkins CN. Comparison of conventional and accelerated hepatitis B immunisation schedules for homeless drug users. *Commun Dis Public Health* 2002; 5: 324-326
 - 50 Nothdurft HD, Dietrich M, Zuckerman JN, Knobloch J, Kern P, Vollmar J, Sanger R. A new accelerated vaccination schedule for rapid protection against hepatitis A and B. *Vaccine* 2002; 20: 1157-1162

■同行评价

作者调研了大量的相关文献, 对乙肝免疫的具体策略进行了科学的评价. 论证合理, 观点鲜明, 有一定的学术参考价值.

电编 李琪 编辑 潘伯荣

乙肝免疫过程中要注意的几个问题

陈仕珠

■背景资料

目前乙肝免疫接种过程中不同程度的存在影响免疫效果的问题,即未考虑到接种对象的群体化甚至个体化现象。在疫苗种类、剂量和接种方案选择上不同年龄、人群应有所异,其中短程方案适用人群范围更大,总体效果好;对联合其他疫苗免疫及加强免疫人群的时间均存在需相对具体和明确的问题。

陈仕珠,解放军第451医院感染病科 陕西省西安市 710054
通讯作者:陈仕珠, 710054, 陕西省西安市友谊东路269号, 解放军第451医院感染病科. chenshizhu34419@126.com
电话: 029-84734222
收稿日期: 2006-06-17 接受日期: 2006-07-18

摘要

乙型肝炎病毒(HBV)疫苗问世近30 a以来,成效巨大,但因各种因素影响,不同群体和不同个体乙肝(HB)免疫的重点或迫切性及免疫效果始终存在差异,即存在HBV疫苗接种群体化甚至个体化问题。因此,在实际操作中需注意根据不同年龄、不同人群甚至不同个体选择不同接种方案 and 不同剂量;对高危等人群应采用快速接种方案,并监测其抗-HBs水平,必要时加强免疫或应用佐剂。对HBsAg阳性母亲的子女等应加大接种剂量和/或接种4针。HBV疫苗与某些其他疫苗联合或同时接种为一省时简便的方法,效果肯定。

关键词: 乙肝免疫; 乙肝病毒疫苗; 免疫接种; 乙型肝炎

陈仕珠. 乙肝免疫过程中要注意的几个问题. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2718-2721
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2718.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)免疫效果受多种因素影响,每个环节,每个因素均可对接种后能否产生抗-HBs及其水平造成影响。严格意义上讲,乙肝(HB)免疫亦存在群体化甚或个体化问题,即什么类型疫苗相对适合什么样的人群;不同人群应采用不同的接种方案;相同年龄(人群)而不同人群(年龄)接种剂量亦不应完全相同;接种部位、方法的不同亦可能对抗-HBs阳转及其水平等产生影响。这些问题在实际操作中国内外已有一些具体做法,如对高危人群、HBsAg阳性母亲的子女等人群接种时已部分做到。但对大多数人甚至包括许多专业人员来说却很生疏,造成免疫效果欠佳。在HBV疫苗问世近30 a, HB免疫已扩展到社会各群体的今天,是应正式提

出接种群体或个体化的时候了。因此,有必要对HB免疫过程中需要注意的问题作一说明。

1 HBV疫苗

目前所用的基因重组HBV(rHBV)疫苗免疫原性好,安全可靠。总体而言,不同种类疫苗对各类人群均适用,但不同年龄间亦存在一定差别。动物实验表明,血源HBV疫苗诱导的抗体较高,其次为仓鼠卵巢细胞(CHO)疫苗,普通酵母HBV疫苗诱导抗体最低;汉逊酵母疫苗诱导抗体滴度高于普通酵母疫苗,后者在成人的抗体阳转率及几何平均滴度(GMT)明显低于儿童^[1]。因此,在选择疫苗时应考虑到接种者年龄等因素。对新生儿或幼儿,几种HBV疫苗均适用;对高危人群,当选择CHO疫苗或汉逊酵母疫苗,如用普通酵母疫苗则应适当加大剂量,必要时增加接种次数(如4针)。由于酵母疫苗产量大而成本低,目前大部分rHBV疫苗为此类疫苗。近年来北京、兰州等地已生产CHO疫苗并投放市场,使CHO疫苗市场占有率有所上升。随着新一代rHBV疫苗的相继问世,疫苗的免疫原性和反应原性提高,接种成功率将增加。

2 接种方案

世界卫生组织(WHO)推荐的mo 0, 1, 6方案为早期提出用于新生儿的经典方案。经20多年的实践,该方案的局限性逐渐显现出来。由于HBV传播和被感染的个体有一定差异和家族集聚性,因此,HBV感染对象依其感染机会、易感性和感染后造成传播可能性的大小分为普通人群、重点人群和高危人群,此外还有部分有别于上述人群的特殊人群(见本期其他文章)。因此,近年来因应不同人群的免疫需要而出现了不同于经典方案的mo 0, 1, 4; mo 0, 1, 3; mo 0, 1, 2^[2]及d 0, 7, 21^[3-4]和d 0, 7, 14方案。如何选择接种方案?迄今为止尚无统一要求,一般来说,接种方便、副反应少、经济、效果好的方案即为该人群或个体要选择接种方案。然而许多卫生防疫和临床医护人员只知道mo 0, 1, 6方案,故无从选择。

表 1 不同接种程序特点比较

	mo 0, 1, 6	mo 0, 1, 4	mo 0, 1, 3	mo 0, 1, 2	d 0, 7, 21	d 0, 7, 14
间隔时间	长	较长	中	较短	短	短
完成接种率	低	较低	中	较高	高	高
及时接种率	低	较低	中	较高	高	高
抗体阳转率	晚	较晚	中	较早	早	早
达GMT峰值	晚	较晚	中	较早	早	早
适用人群	普通	普通	普通、 重点	普通、 重点	普通、重点、 高危、特殊	普通、重点、 高危、特殊

■应用要点

本文所讨论的问题将使人们对目前我国乃至世界HB免疫有一较系统的认识,并在实际操作中加以甄别和应用.如不同人群不能一成不变的应用同一种方案,同一种剂量和相同的加强免疫时机.

比较而言,短程序方案因间隔时间短,易于记忆和掌握,对接种者和实施者均较方便,且接种后抗-HBs出现早,阳转率及GMT高.其机制可能与免疫记忆和每次出现免疫反应的时间与再次接触抗原间隔时间越短相对越明显、越强烈的免疫现象有关.具体来说,对普通人群,mo 0, 1, 6方案就免疫效果而言应可选用.对重点人群,mo 0, 1, 6方案亦可用,但以mo 0, 1, 3或更短程序方案较为合适.对高危人群,在时间上应越快越好,故以mo 0, 1, 2及更短程序的d 0, 7, 21和d 0, 7, 14为好.对部分特殊人群如很快将出发执行特殊任务(维和、抢险、军事行动等)而需紧急免疫的军人、武警等人员,则以d 0, 7, 21及d 0, 7, 14方案为好,可达到紧急免疫(last minute immunisation)^[5]的目的(表1).短程序方案首针接种后1 mo抗-HBs阳转率及GMT即接近峰值,GMT与mo 0, 1, 6等方案接近甚或高于后者^[4];GMT下降稍早于长程序方案,但在时间上与程序时间差基本一致^[4].

2.1 剂量 关于接种剂量,大多数国家和地区比较统一,但有些国家和地区因受疫苗来源和经济条件的制约而采用小剂量(2-5 μg)皮下(sc)或肌肉注射(im).有些HBV疫苗说明书上亦标注5 μg 而未限定年龄或人群,对成功免疫造成一定影响.对一般人群WHO推荐每针剂量为20 μg .对高危新生儿,我国卫生部2005年制订的慢性乙型肝炎防治指南^[5]指明接种剂量为10 μg 重组酵母或20 μg CHO HBV疫苗,成人建议接种20 μg ,与WHO的推荐剂量吻合.实践已证实接种后抗-HBs阳转率及GMT与疫苗剂量有关,剂量低,即使能诱导抗-HBs阳转,但GMT低,衰减快,不能达到长期有效保护作用,尤其是那些对HBV疫苗反应较差的人群如免疫功能较低下的血透、感染HIV或丙型肝炎病毒等患者或携带者^[6-9].对这类人群不少学者采用更大剂量(30-40 μg)HBV疫苗^[10].对HBsAg阳性母亲的新

生儿,每针20 μg ,年长儿和成人可增加到30 μg /针或40 μg /针.对按mo 0, 1, 6方案接种常规剂量无或弱反应者,儿童不低于20 μg /针,成人不低于30 μg /针^[11],同时改用快程序接种方案,可提高抗-HBs阳转率及GMT水平.

2.2 接种方法 目前绝大多数国家和地区均采用上臂三角肌(im(新生儿除外)),只要操作无误或注射准确,效果肯定,但要注意进针务必达肌肉内,否则过浅注入皮下脂层,使疫苗被分解破坏而达不到免疫效果,反而引起局部肿胀.除三角肌im外,有些学者采用低剂量sc,其优点为用量小、经济、可缓解因缺苗而不能实施免疫的困难,但其缺点除前述产生抗-HBs水平低等外,副反应如注射部位疼痛红肿等发生率较三角肌im显著为高^[12].因此,在疫苗来源和经济不是主要制约因素时,不推荐低剂量sc HBV疫苗.我国目前各种HBV疫苗来源丰富,价廉质优(与发达国家相若)且安全,故不必在剂量上过于节俭.

2.3 联合免疫问题 既往接种HBV疫苗几均为单独进行,且需排除诸多因素.近年来许多有价值的研究结果部分打消了以往缺乏经验的顾虑.接种HBV疫苗同时接种其他疫苗即为其中之一.国内外学者^[13-14]首先将甲、乙肝病疫苗同时不同部位接种后两者均出现相应的特异性抗各自疫苗抗原的抗体,阳转率及GMT不低甚至还高于分别单独接种HBV疫苗的对照组.Cheng *et al*^[15-17]将HBV疫苗与其他6种疫苗同时接种亦收到类似效果.表明联合多种疫苗接种不但不会出现彼此免疫干扰,而且由于节省了时间,简化了分别接种的繁琐程序,既方便接种者也方便了卫生防疫人员的操作,对像我国这样一个人口众多的大国无疑是一便利之事,只要疫苗来源充裕和操作无误,可推广应用.

3 加强免疫及应用免疫调节剂

关于接种HBV疫苗后有抗体应答者抗体维持保

■名词解释

加强免疫: 指为避免由接种HBV疫苗所诱导的无保护作用的低水平抗体或因抗体随时间延长而衰减到不能有效保护机体不被HBV感染所作的追加或再次免疫。

护时间, 各家报道因观察随访时间不同而多有不同, 从5-18 a不等, 抗体产生后随时间延长而逐渐衰减, 平均年衰减率为4%。卫生部制订的慢性乙型肝炎防治指南认为一般至少可持续12 a是比较适中的。这里有3个问题需要指出: (1) 抗体保护时间是指接种者群体或整体而言, 而非指具体个人, 不同个体差异可能会很大(从无应答-弱应答-相对低水平应答-高GMT应答), 弱应答者抗体数月后即消失, 而强应答则可有效保护长达近20 a。所以必须考虑到接种的群体化甚至个体化, 不能一概而论; (2) 加强免疫问题, 对一般人群来说, 有效保护抗体减少或消失不等于加强免疫, 当然, 也不等于不加强免疫。众多研究表明^[18-19]接种HBV疫苗并产生保护性抗-HBs者, 即便抗体消失机体仍保留很强的记忆反应, 此时即便感染HBV, 亦是短暂的, 机体将很快清除HBV并产生抗-HBs, 不主张对这类人群加强免疫。国内亦有不少学者赞同这种看法^[20]; (3) 国人与西方(尤其是欧美)人对HBV的易感性及对HBV疫苗的反应性有一定差别。在讨论或看待这些问题时应参考该种因素。然而何时、何种情况(人群)应该加强免疫, 目前(包括WHO等)尚无统一而具体的意见。人们比较认可的有下列几种: (1) 高危人群完成接种后虽出现抗-HBs阳转, 但水平临近阈值下限, 其家族成员中有对HBV疫苗无反应者, 可对其抗-HBs监测, 如抗-HBs小于10 IU/L, 可予加强免疫。对HBsAg及HBeAg阳性母亲的子女等则必须加强接种, 以避免抗-HBs消失后被感染; (2) 完成全程接种后弱反应者可予加强免疫^[21], 对无反应者可采用倍量接种(4针方案), 必要时予免疫激动剂以提高免疫应答反应。由于我国HBV感染率高, 携带HBV或HBsAg阳性者众多, 因此在疫苗的安全性良好和无其他条件限制的情况下, 加强免疫对象(条件)可适当放宽。关于应用佐剂和免疫调节剂问题, 一般佐剂如铝在疫苗生产过程中即已加入, 这里所指主要是额外加入新的用以增强对HBV疫苗免疫应答的制剂如HB-As04疫苗^[22], HB-脱氧核苷酸(ODN)疫苗^[23-24]以及疫苗同时应用的粒细胞集落刺激因子等。对此类疫苗效果许多研究结果均予肯定^[20]。由于这类制剂价格昂贵, 且接种后副反应较大, 除非必要且条件许可, 一般常规HB免疫接种普通HBV疫苗即可。

4 参考文献

- 1 李河民, 梁争论, 张华远. 关于乙型肝炎疫苗免疫原性

的评价. 中华流行病学杂志 2004; 25: 378-381

- 2 Chowdhury A, Santra A, Habibullah CM, Khan AA, Karunakaramaiah J, Kishore TS, Raju AV, Lahiri S. Immune response to an indigenously developed r-hepatitis B vaccine in mixed population: study of an accelerated vaccination schedule. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1037-1039
- 3 Wright NM, Campbell TL, Tompkins CN. Comparison of conventional and accelerated hepatitis B immunisation schedules for homeless drug users. *Commun Dis Public Health* 2002; 5: 324-326
- 4 Nothdurft HD, Dietrich M, Zuckerman JN, Knobloch J, Kern P, Vollmar J, Sanger R. A new accelerated vaccination schedule for rapid protection against hepatitis A and B. *Vaccine* 2002; 20: 1157-1162
- 5 中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华传染病杂志 2005; 23: 421-431
- 6 Kayatas M. Levamisole treatment enhances protective antibody response to hepatitis B vaccination in hemodialysis patients. *Artif Organs* 2002; 26: 492-496
- 7 Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Bunnapradist S, Dulai G. Meta-analysis: the effect of age on immunological response to hepatitis B vaccine in end-stage renal disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1053-1062
- 8 Ristola MA, Vuola JM, Valle M, von Reyn CF. Antibody responses to intradermal recombinant hepatitis B immunization among HIV-positive subjects. *Vaccine* 2004; 23: 205-209
- 9 Chlabicz S, Grzeszczuk A, Lapinski TW. Hepatitis B vaccine immunogenicity in patients with chronic HCV infection at one year follow-up: the effect of interferon-alpha therapy. *Med Sci Monit* 2002; 8: CR379-383
- 10 Fonseca MO, Pang LW, de Paula Cavalheiro N, Barone AA, Heloisa Lopes M. Randomized trial of recombinant hepatitis B vaccine in HIV-infected adult patients comparing a standard dose to a double dose. *Vaccine* 2005; 23: 2902-2908
- 11 邱景邦, 王华, 张蔡斌, 郁莹莹, 卫建红. HBV携带者母亲所生婴儿乙肝病毒疫苗接种效果观察. 中国妇幼保健 2005; 20: 386
- 12 Joshi N, Kumar A, Raghu MB, Bhave S, Arulprakash R, Bhusari P, Rao R. Immunogenicity and safety of hepatitis B vaccine (Shanvac-B) using a novel pre-filled single use injection device Uniject in Indian subjects. *Indian J Med Sci* 2004; 58: 472-477
- 13 赵玉良, 陈玉国, 李军, 韩革新, 田茶, 梁金龙, 李国, 王志国, 朱永贵, 田志年, 张华远, 万宗举, 梁争论, 毕胜利. 倍尔来福™甲、乙型肝炎联合疫苗安全性和免疫原性研究. 中华流行病学杂志 2004; 25: 470-473
- 14 Rieger MA, Hofmann F, Michaelis M. Simultaneous vaccination against hepatitis A and B: results of an open, randomized study from the occupational health point of view. *Int J Occup Med Environ Health* 2004; 17: 379-391
- 15 Cheng HK, Rajadurai VS, Amin Z, Sriram B, Yee MF, Han HH, Bock HL, Safary A. Immunogenicity and reactogenicity of two regimens of diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B-inactivated polio and Haemophilus influenzae type b vaccines administered to infants primed at birth with hepatitis B vaccine. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35: 685-692
- 16 Usonis V, Meriste S, Bakasenas V, Lutsar I, Collard F, Stoffel M, Tornieporth N. Immunogenicity and safety of a combined hepatitis A and B vaccine administered concomitantly with either a measles-

- mumps-rubella or a diphtheria-tetanus-acellular pertussis-inactivated poliomyelitis vaccine mixed with a Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in infants aged 12-18 months. *Vaccine* 2005; 23: 2602-2606
- 17 Guptan RC, Thakur V, Safary A, Sarin SK. Immunogenicity and reactogenicity of a combined high dose hepatitis A and hepatitis B vaccine, compared to that of Twinrix in healthy Indian children. *Vaccine* 2002; 20: 2102-2106
- 18 Banatvala JE, Van Damme P. Hepatitis B vaccine - do we need boosters? *J Viral Hepat* 2003; 10: 1-6
- 19 Seto D, West DJ, Ioli VA. Persistence of antibody and immunologic memory in children immunized with hepatitis B vaccine at birth. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21: 793-795
- 20 Siegrist CA, Pihlgren M, Tougne C, Efler SM, Morris ML, AlAdhami MJ, Cameron DW, Cooper CL, Heathcote J, Davis HL, Lambert PH. Co-administration of CpG oligonucleotides enhances the late affinity maturation process of human anti-hepatitis B vaccine response. *Vaccine* 2004; 23: 615-622
- 21 Boot HJ, Vermeer-de Bondt PE, Kimman TG. Protection of children born to hepatitis-B-infected mothers. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148: 1816-1818
- 22 Boland G, Beran J, Lievens M, Sasadeusz J, Denticio P, Nothdurft H, Zuckerman JN, Genton B, Steffen R, Loutan L, Van Hattum J, Stoffel M. Safety and immunogenicity profile of an experimental hepatitis B vaccine adjuvanted with AS04. *Vaccine* 2004; 23: 316-320
- 23 Elias F, Flo J, Rodriguez JM, De Nichilo A, Lopez RA, Zorzopulos J, Nagle C, Lahoz M, Montaner A. PyNTTTTGT prototype oligonucleotide IMT504 is a potent adjuvant for the recombinant hepatitis B vaccine that enhances the Th1 response. *Vaccine* 2005; 23: 3597-3603
- 24 吴晓娟, 赵大鹏, 冷梅, 刘丹, 戚凤春, 汪春义, 王佳凤, 岳丹, 王华, 齐影, 付学奇. CpG-ODN对乙肝核酸疫苗及重组疫苗免疫效果的影响. *中国生物制品学杂志* 2005; 18: 232-235

■同行评价

本文重点阐述了接种乙肝病毒疫苗过程中的注意事项, 内容较为新颖全面, 基本反映了目前临床上使用疫苗的一些注意问题, 有可读性, 也有临床指导意义。

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2006中国结直肠肛门外科学术会议通知

本刊讯 为了加强与世界同行的交流与接轨, 将我国直肠肛门外科的专利化发展到一个新的台阶, 由“中华医学会外科学分会结直肠肛门外科学组”、“中国抗癌协会大肠癌专业委员会”、“中国中医药学会肛肠分会”和“中国中西医结合学会大肠肛门病专业委员会”共同主办的“2006中国结直肠肛门外科学术会议”将于2006-11-09/12在珠海国际会议中心大酒店举行。届时结直肠肛门外科的专家、同行将共聚一堂, 规划我国结直肠肛门外科协作研究、共同发展的前景。大会将邀请国际最著名的美国、欧洲、新加坡、日本、香港及台湾的专家和我国外科界、中医界、肿瘤界以及相关领域的专家就本专业进展作专题报告。大会同时还采用手术录像、提问、讨论、争鸣、答疑、展板等多种方式进行研究交流。这将是我国结直肠肛门外科学界的一次盛会。诚邀普通外科、结直肠肛门外科的专家、同行参会, 参会者可获得中华医学会 I 类继续教育学分。联系电话: 020-87331428, 87332200-86698

乙型肝炎病毒疫苗免疫接种策略及卫生经济学评价

韩永战, 陈仕珠

■背景资料

卫生经济学分析是疾病防治策略决策的重要依据。当前人们对乙型肝炎(HB)免疫的卫生经济学分析和评价的认识不足, 相关的乙型肝炎病毒(HBV)疫苗接种策略的卫生经济学分析和研究资料缺乏, 如何使HB接种的效益/成本最大化仍是卫生经济学分析和评价的一项重要内容。

韩永战, 陈仕珠, 解放军第451医院感染病科 陕西省西安市 710054

通讯作者: 陈仕珠, 710054, 陕西省西安市友谊东路269号, 解放军第451医院感染病科. chenshizhu34419@126.com
电话: 029-84734116

收稿日期: 2006-07-27 接受日期: 2006-08-25

摘要

乙型肝炎病毒(HBV)疫苗接种是预防HBV感染的主要措施。运用卫生经济学方法分析和评价HBV疫苗接种策略以确定最佳乙肝(HB)免疫策略, 对合理分配卫生资源, 有效的控制HB流行有重要意义。常用的卫生经济学评价指标有成本效果分析、成本效益分析和成本效用分析。国内外自对新生儿实行普及接种HBV疫苗以来已取得了巨大的社会和经济效益。但与HBsAg阳性母亲的新生儿、婴幼儿和青少年、普通成人和高危人群接种HBV疫苗有关的卫生经济学分析和评价的资料较少, 也不全面。因此, 加强这方面的研究工作有助于确定HBV疫苗最佳免疫策略, 充分发挥接种HBV疫苗的巨大价值。

关键词: 乙型肝炎; HBV疫苗; 免疫接种; 卫生经济学

韩永战, 陈仕珠. 乙型肝炎病毒疫苗免疫接种策略及卫生经济学评价. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2722-2728
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2722.asp>

0 引言

乙型肝炎(HB)是一种严重危害人们健康和生命的传染性疾病, 可造成经济和劳动力的重大损失。HBV疫苗免疫接种是预防HB的主要措施, 运用卫生经济学方法对HBV疫苗免疫接种策略进行分析和评价, 有利于卫生决策者科学的制定HBV疫苗免疫接种规划, 合理利用有限的卫生资源, 充分发挥接种HBV疫苗的巨大价值。

1 HBV感染的危害性

据世界卫生组织(WHO)公布, 全球约20亿人感染过HBV, 其中3.5亿人为慢性HBV感染者^[1]。我国属于HBV感染高流行区, 2004年中国疾病

预防控制中心调查, 我国HBsAg流行率仍高达9.09%。据此推算, 现有人口中被HBV感染者约有1.2亿, 社会上流动着3000万慢性HB(CHB)患者^[2]。HBV感染可引起CHB、肝硬化(HC)和肝细胞癌(HCC), 造成患者劳动能力丧失和预期寿命减少。HBsAg阳性者中约有25%发展为CHB, 部分CHB患者将演变成HC和HCC。CHB、代偿期和失代偿期HC的5 a病死率分别为0%-2%, 14%-20%和70%-86%^[1-2]。全世界每年约有100万人死于HBV感染所致的肝衰竭、HC和HCC^[1]。我国每年因肝病死亡的人数超过30万人。其中, 50%为原发性HCC, 归因于HBV感染者为80%。HBV感染给国家、家庭和个人带来沉重的经济负担。在HBV感染率和患病率低的美国每年因HB花费超过7亿美元^[3]。我国每年因CHB(包括HC, HCC)造成的直接和间接经济损失约9000亿元人民币^[2]。HBV感染者因患病而造成误工或丧失劳动能力未能产生劳动价值, 使预期收入减少或丧失, 个人和家庭的生活质量下降, 甚至因病返贫。还可能引起家庭成员和密切接触者的感染, 造成他人的经济损失。此外, HB对心理和精神的影响更是无法估量。HBV携带者和HB患者因社会和身体原因在学习、工作等方面的机会减少, 影响其正常的学习、工作和人际交往, 给他们带来了沉重的精神压力。HBV感染已成为世界性重大公共卫生和社会问题之一。

2 HBV疫苗免疫接种的卫生经济学评价指标

卫生经济学评价是指应用技术经济分析与评价方法, 对卫生规划的制定、实施过程或产出结果, 从成本和效果两个方面进行科学的分析, 使有限的卫生资源得到合理配置与有效利用^[4]。目前, 常用的经济学评价指标有成本效果分析、成本效益分析和成本效用分析。

2.1 成本效果分析(cost-effectiveness analysis, CEA) 成本是指社会在实施某项卫生服务规划或方案所投入的全部财力资源、物力资源和人力资源, 通常用货币统一计量和表示。成本的计算和分析是进行经济学评价和分析的基础。

HBV疫苗免疫接种的成本由疫苗费、材料费、疫苗损耗费、仪器设备折旧费、宣传费、试剂采购和参观考察差旅费、接种对象误工费、医务人员劳务费、交通费、误餐费、材料试剂运输费等组成。因不同地区的经济发展不均衡, 人们收入不同, 各地HBV疫苗免疫接种的成本也有差异。一个国家或地区HBV疫苗接种总成本与单一HBV疫苗免疫接种的成本、接种人数以及HBV疫苗全程接种率等有关。HBV疫苗是计划免疫疫苗中价格最贵的一种, 通过对HBV疫苗免疫接种的成本分析, 可以为政府增加疫苗接种的预算提供参考依据。同时, 为控制疫苗免疫接种的费用、挖潜节支、提高卫生资源利用的效率提供决策参考。

效果是指卫生规划目标的实现程度。常采用相对效果指标如治愈率、阴转率等和绝对效果指标如发现人数、治疗人数、治愈人数、项目覆盖人数等作为效果的衡量单位^[4]。HBV疫苗免疫接种的效果是指HBV疫苗接种后所降低的HBsAg阳性人数、HB患者人数以及HC, HCC等并发症的患者人数、死亡人数和(或)HB及其HC, HCC等并发症的发病率、死亡率等。CEA的基本思想是以最低的成本去实现确定的计划目标。卫生项目成本相同时比较其效果大小, 效果高的方案为优; 效果相同者比较其成本的大小, 成本低的方案为优; 成本效果均不相同的, 比较增量成本和增量效果的比率^[4]。

2.2 成本效益分析(cost-benefit analysis, CBA) 效益是指发病率降低所带来的对治疗需求的减少, 也就是所节省的治疗费用, 一般用货币来表示。费用包含直接费用和间接费用。直接费用是指患者直接花费的各种费用, 如医药费、营养费、交通费等和患者因病而发生的误工费、家属的陪护费等。间接费用是患者损失的工作寿命以及可能发生并发症的费用。HBV疫苗免疫接种的效益可用接种HBV疫苗后由于发病率下降而减少的HBsAg阳性人数、HB患者人数以及HC, HCC等并发症患者人数所节省的费用计算。计算效益时, 应考虑到所节省的HB, HC, HCC患者花费的费用和社会、家庭花费的费用, 即社会、家庭和患者的实际损失及患者因病休或早死所致的预期劳动价值损失。此外, 因HBV疫苗免疫接种避免了因患病造成的身体和精神痛苦以及对学习、工作和人际交往的不良影响。这种效益难以使用货币值计量, 是一种无形效益。一个国家或地区HBV疫苗接种的总效益为因实

施免疫预防而减少的支出总费用。由于各个国家和地区的实际情况不尽相同, 所得结果相差也很大。效益大小与当地人均国民生产总值、疾病发病率、疫苗全程接种率和接种疫苗后的保护率等因素有关。CBA就是对不同项目的成本及效益进行比较分析, 以筛选出成本效益好的卫生项目方案。CBA常用指标为效益成本比(benefit cost ratio, BCR)和净效益(net benefit, NB)。BCR = 接种疫苗产生的总效益/接种疫苗所需的总成本。NB = 总效益-总成本。

2.3 成本效用分析(cost-utility analysis, CUA) CUA是通过比较项目投入成本和经质量调整的健康效益产出量, 来衡量卫生项目或治疗措施效率的一种经济学分析方法。其原则为: 所有卫生项目方案中获得相同质量调整寿命的某项方案所需费用越少, 该项方案的效率越高^[4]。常用指标有失能调整寿命年(disability-adjusted life-year, DALY)、质量调整寿命年(quality-adjusted life-year, QALY)等。以往对疾病负担(burden of disease, BOD)的统计最常用的统计指标是发病率和死亡率。发病率不能反映疾病所致的伤残程度和持续时间, 死亡率也不能反映不同疾病对生产力的影响。因此, 在进行卫生经济学分析时, 不仅要考虑死亡, 还要考虑患病后的伤残状态。因身体结构缺陷或功能障碍而导致身体应具备的能力丧失称为失能(disability)。DALY就是对早逝损失的时间和失能状态下存活的时间以年龄权重和时间贴现作加权调整后的综合计算。DALY由早逝所致的寿命损失年(year of life lost, YLL)和失能引起的寿命损失年(year of life with disability, YLD)两部分组成。1个DALY被定义为1个健康寿命年的损失^[5]。QALY也是评估生命质量的一项指标, 可通过计算某种健康状况的意愿值与患者愿意生活在这种健康状况下的时间乘积得出。需要指出的是, 在进行各种形式的卫生经济学分析时, 用于分析的数据的来源有不同的途径, 除了部分数据来源于学者的抽样调查外, 有的来源于现有的医学文献及对某些医学参数作出的假设。利用医学文献的数据涉及医学文献的适用性, 即文献上报道的研究成果与所进行的卫生经济学是否处于相同的形式和条件下。利用假设的经济成果则需进行敏感性分析。

3 HBV疫苗免疫接种策略的卫生经济学评价

HB是可预防却难治的传染病, 大规模的疫苗接

■研究前沿

新生儿、婴幼儿和青少年的HBV疫苗普及接种是低、中、高流行区最优免疫策略, 可获得巨大成本效果和经济效益。经济发展水平和HBV流行强度不一的地区可采用不同剂量免疫策略。HBIG与HBV疫苗联合免疫为HBsAg阳性母亲的新生儿HBV疫苗免疫的最佳免疫策略。加强免疫策略以小剂量为既经济又有效的策略。

■创新盘点

本文集中讨论了有关HBV疫苗免疫接种的卫生经济学评价指标,总结了HBV疫苗免疫接种的经济效益,指出了应加强研究的内容和方向。

种是从根本上控制HBV感染的主要手段,无论是对国家、地区、家庭还是个人,早期预防都是最节省成本的健康投资。HBV疫苗免疫接种策略有多种类型:按接种对象可分为新生儿、青少年、高危人群和一般人群接种策略;按接种方案可分为全体接种、筛选并接种和非接种策略;按接种剂量可分为高剂量和低剂量接种策略。HBV疫苗免疫接种还涉及到接种前是否筛选、接种后是否加强免疫以及何时、用何剂量加强免疫的问题。在这些策略中哪种比较合理、经济,能获得最大的社会和经济效益,需要运用卫生经济学方法加以分析和研究。以下按接种对象对HBV疫苗免疫接种策略的卫生经济学加以归纳和讨论。

3.1 新生儿HBV疫苗免疫接种策略的成本效果评价 世界不同地区HBV感染的流行强度差异很大,分为低(HBsAg流行率<2%)、中(流行率为2%-7%)和高(流行率>8%)流行区。澳大利亚、新西兰、北欧和西欧、北美洲(包括加拿大、美国)属于低流行区;亚洲南部和西南亚、以色列、日本、东欧和南欧以及中、南美洲属于中流行区;东南亚及印度尼西亚、韩国和菲律宾属于高流行区。我国属于HBV高流行区,不同地区,HBV感染的流行强度也有区别。在HBV感染低流行区,最初的免疫策略集中在HBV感染母亲的婴儿和高危人群,作为国家计划免疫最重要的组成部分,无论在HBV感染高流行的国家,还是在中、低流行的国家,都应优先保障对婴儿实施HBV疫苗普及免疫接种。有关HBV疫苗免疫接种的经济学评价的文献已表明,在HBV感染低、中和高流行区,普及免疫接种是有成效的^[6]。在世界范围内除了很低的流行区域外,对新生儿、婴幼儿和青少年HBV疫苗普及接种是低、中、高流行区的最优免疫策略,可有效降低儿童HBsAg的携带率,使新生儿和儿童HB发病率大幅减少^[7-13]。中国、新加坡、香港、中国台湾、泰国、印度尼西亚、韩国等高流行国家的HBsAg携带率由8%以上下降到2%以下。我国HBV慢性持续感染的分布有明显的地区性,各地均在世界中、高流行区水平上。因流行区域HBsAg携带率的高低不同,接种疫苗的成本效果也有较大差异。1992年北京市对新生儿实施HB计划免疫并采用高剂量免疫策略,使小年龄组HBsAg携带率下降近80%;使1992年出生的90 776名新生儿一生中避免发生1779

例急性HB、1507例CHB、381例HC、1244例HCC、3359例HBsAg携带者^[14]。5-8岁儿童免疫后8 a, HBsAg的阳性率由免疫前的4.87%降至免疫后的0.48%,疫苗保护率90.14%^[15]。1992年上海市新生儿接种HBV疫苗后0-5岁儿童HBsAg携带率较1980年下降了85.18%^[16]。11岁以下儿童HBsAg阳性率在1%以下,与本底相应各年龄组比较,新生儿免疫后的下降幅度在89%-95%之间^[10]。1992-2001上海市新生儿接种HBV疫苗投入501 129.49元将会减少1例HCC、10例HC、100例CHB、1000例HBsAg携带者^[17]。山西省HBV疫苗免疫儿童HBsAg携带率为0.41%,未免疫儿童HBsAg携带率为3.24%,免疫保护率为87.35%。5-10岁儿童HBsAg携带率由8.20%降至0.41%,保护率达95.00%;儿童接种1000人份HBV疫苗预期可阻断106名HBsAg慢性携带者和27名CHB患者^[18]。广东省1-14岁儿童HBsAg携带率从1992年的19.86%降至2002年的8.56%,其中1-9岁儿童HBsAg携带率从17.88%降至5.75%;估计全省HBV疫苗纳入计划免疫管理10 a间,减少了173万HBsAg携带者、43万CHB患者和5万HC患者^[19]。山东烟台市使用HBV疫苗后3 a(2000-2002)比使用前3 a(1990-1992)儿童HB发病率5岁以下、5-9岁、10-14岁分别下降了81%, 69%, 31%;1990年、2001年9岁以下儿童HBsAg阳性率分别为10.46%, 4.65%,下降了55.50%^[20]。湖南、河北等地接种HBV疫苗后保护率为86.65%-87.9%^[21-22]。湖南、河北、广西和上海等4个HB肝炎疫苗试点区内,对1986-1988出生并接种HB血源疫苗的新生儿,连续14-15 a累计随访21 680人次。各试点区免疫儿童HBsAg携带率低于1.66%,阻断HBV慢性感染的效果持续在90%左右^[23]。2002年的一项成本效果评估以近11 a中国年平均新生儿人口作为观察队列,成本效果亦非常显著。同样接种1000份HBV疫苗,在中流行区可减少67名慢性携带者和17例CHB患者,在特高流行区(HBsAg携带率>13%)则可阻断164名慢性携带者和41例CHB患者;我国目前推广新生儿HB预防接种,平均每1000份HBV疫苗将可减少98名慢性携带者和25例CHB患者^[24]。总而言之,我国各地目前推广HBV疫苗预防接种的成本效果均非常高。

3.2 新生儿HBV疫苗免疫接种策略的成本效益评价 各个国家和地区经济发展水平不同,新生儿HBV疫苗普及免疫接种后获得的经济效益有

所差别. 在HBV低流行的国家(瑞士、西班牙、意大利、比利时、加拿大、英国、美国等)完成的CBA均发现, 普及免疫接种有很好的经济效益. 瑞士的一项对85 000名出生人群的跟踪研究显示, 高危新生儿出生前系统筛选和接种, 每年可减少11%的慢性感染人数和6例死亡人数, 挽回每个寿命年的成本估计为23 350 CHF; 婴儿和学龄儿童普及接种对预防HBV慢性感染和死亡有更大的作用(减少68%-78%); 挽回每个寿命年的成本从8820 CHF(婴儿普及接种)到12 380 CHF(学龄儿童普及接种); BCR从1.2(高危新生儿出生前系统筛选和接种)到2.9(婴儿普及接种). 表明对HBV疫苗普及接种比对新生儿选择性接种策略有更好的BCR^[12]. 西班牙学者研究表明, 花费最少的HBV疫苗接种策略是无筛选接种^[25]. 意大利对新生儿、12岁儿童和高危人群普及接种以来, 每年费用约5754.4万美元, 直接费用为4103.4万美元, 间接费用为1651.0万美元. 接种HBV疫苗后, 急性HB发病率由1980年代的19/10万人下降到1996年的4.2/10万人; HBsAg携带率由1980年代的3%下降到1997年的0.9%; 因急性HB国家和社会所花费的费用由1985-1990 (35 614例)的48 321.6万美元下降到1991-1996 (17 608例)的23 890.8万美元, 免疫接种以来节省的费用为24 430.8万美元^[13]. 泰国新生儿HBV疫苗接种策略有4种: (1)HBsAg筛选和接种, (2)HBsAg及HBeAg筛选和接种, (3)对所有新生儿普及接种, (4)不接种. 结果显示, 预防1例的BCR: (1)类为292.79泰铢, (2)类为264.34泰铢, (3)类为151.05泰铢, (4)类为0泰铢^[26]. 2001年非洲莫桑比克的婴儿常规HBV疫苗免疫接种每年增加免疫服务预算约56%. 预计通过HBV疫苗干预每年可减少4000多人的未来死亡. 每个未折现死亡所增加的费用达436美元, 每个未折现DALY所增加的费用为36美元^[27]. HBsAg携带率高的地区或人群, HBV疫苗接种的成本效益相对较高. 北京市新生儿HBV疫苗免疫接种使得1992年出生的90 776名新生儿获得8583.37万元的净效益, BCR为13.33^[14]. 北京市东城区新生儿预防接种投入成本34.24万元, 因避免急、慢性HB及HCC所节省费用为591.79万元, 获得499.2万元的净效益, BCR为15.58; 去掉间接效益后的直接BCR为10.84; 去掉HCC费用, BCR仍达6.48^[15]. 1992-2001上海市新生儿HBV疫苗接种10 a的总成本为0.24亿元, 获得总效益为41.22

亿元, BCR为172; 估计挽回HB, HC, HCC的疾病总负担为59 762.55个DALY, 挽回1个DALY的成本为402.50元^[17]. 2002年上海市普陀区新生儿HBV疫苗免疫接种1 a内投入免疫接种的成本为56 847元, 因避免患HB, HC和HCC而产生的效益为6 750 175元. BCR为119^[28]. 国内辽宁、浙江等地研究结果亦表明, BCR最低亦达1.48^[29-30]. 我国农村及流动人口中儿童的HBV疫苗接种率相对较低, 也缺乏有关的经济学分析资料.

新生儿HBV疫苗接种的最佳策略是普及接种, 无论低流行区还是高流行区国家, 将新生儿列为HBV疫苗接种的主要对象是控制HBV感染的最经济的健康投入. 经济发展水平和HBV流行强度不一的地区实施HB普及免疫可采用不同剂量免疫策略. 有研究表明, 在经济发达地区, 如果不受经济预算的约束, 应实施高剂量免疫策略, 以明显降低人群HBsAg阳性率并取得较大的净效益; 在经济较落后的地区, 提倡实施低剂量免疫策略, 也能起到较好的降低HBsAg阳性率的作用, 投入单位成本也可获得较大的效益^[15,31]. 但是, 对HBV疫苗普及免疫的成效也有不同的看法. 在印度这样HB中度流行的低收入国家, 儿童HB免疫普及接种成效并不明显, 因为挽回每个寿命年的成本超过印度的年国民生产总值^[32].

3.3 HBsAg阳性母亲的新生儿HBV疫苗免疫接种策略的卫生经济学评价 母婴传播是HBV感染的重要途径之一, 阻断母婴传播是预防和控制HBV感染的重要阶段. HBsAg阳性母亲的新生儿出生后单用HBV疫苗接种的保护效果已得到肯定, 而HB免疫球蛋白(HBIG)和HBV疫苗联合应用对阻断宫内和出生后感染HBV似有更佳效果. 为阻断HBV母婴传播, 许多国家将HBIG与HBV疫苗联合应用. HBIG与HBV疫苗联合应用比单用HBV疫苗可提高5%-10%的阻断率^[8]. 在发达及中等发达国家, 孕产妇在分娩前均检测单项HBsAg, 凡HBsAg阳性母亲的新生儿均用HBIG和HBV疫苗联合免疫. 结果表明, 对筛选的HBV阳性母亲所生的婴儿用HBIG与HBV疫苗联合免疫为最佳免疫策略. 但是, 筛选孕妇和跟踪观察感染母亲的婴儿需要较大的成本. 国内一项对产前筛选方案的卫生经济学评价结果显示, 当HBV疫苗保护率为90%时, 采用分娩前仅查一次HBsAg可获净效益9251.55万元, BCR为23.87, 获得的经济效益亦最高^[33].

■应用要点

本文归纳和论述了目前国内外常见的HBV疫苗免疫接种策略的卫生经济学评价的进展情况, 提出了有关HBV疫苗接种最佳效益的接种策略.

■名词解释

1 成本:指社会在实施某项卫生服务规划或方案所投入的全部财力资源、物力资源和人力资源,通常用货币统一计量和表示。

2 效果:指卫生规划目标的实现程度。常采用相对效果指标如治愈率、阴转率等和绝对效果指标如发现人数、治疗人数、治愈人数、项目覆盖人数等作为效果的衡量单位。

3 效益:指患病率降低和减少所带来的对治疗需要的减少,也就是所节省的治疗费用,一般用货币来表示。

4 效用:用健康效益产出量来衡量卫生项目或治疗措施的效率。常用指标有失能调整寿命年(DALY)、质量调整寿命年(QALY)等。

3.4 婴幼儿和青少年HBV疫苗免疫接种策略的卫生经济学评价 青少年HBV疫苗免疫接种可在社区或学校进行。加拿大的一项研究表明,在社区诊所免疫接种,每人接种成本为63美元;在学校接种,每人成本小于或等于40美元。在校接种的效益大于在社区诊所接种^[34]。美国对大城市以学校为基础的HBV疫苗接种计划亦取得明显成效,六年级学生对HB的全程免疫率从8%提升到82%,每次接种疫苗的费用比传统方法少1.46美元,避免了2400多万美元的潜在健康护理费用^[35]。美国费城4384名亚裔儿童全部3针HBV疫苗接种花费268 660美元,使接种覆盖率增加了12%;每个儿童、每针和每套接种的成本分别为64, 119和537美元。挽回每个折现寿命年的折扣费用为11 525美元,且挽回106个寿命年,BCR为4.44^[36]。对婴幼儿和青少年加强免疫策略与效益的研究表明,加强免疫策略以小剂量为既经济又有效的策略。当接种率为100%时,儿童7岁或12岁时用2.5 μ g HBV疫苗1针加强免疫,可获净效益9008.06万元,BCR为12.15;在保护率一定的前提下,随着加强免疫剂量的增加各项BCR值均减小^[33]。

3.5 普通成人和高危人群HB免疫接种策略的卫生经济学评价 在普通成人中推广接种HBV疫苗,也有较大的经济效益和社会效益。不但可以提高整个人群的平均寿命和生命质量,而且是预防和控制HB的最经济、最有效的措施。国内的多项调查结果表明,普通成人接种HBV疫苗可以与新生儿接种HBV疫苗一样获得显著的经济效益。四川攀枝花市1990-1991 HBV疫苗接种投入成本235.58万元(1999年的贴现值),产出效益9283.81万元,净效益9048.23万元,BCR为39.41;减少HB患者669例、HBsAg携带者1737例,减少工作寿命损失639.47人年、寿命损失1418.30人年^[37]。成人HBV疫苗接种前是否筛选的研究报告不多。广东东莞市社区人群HBV疫苗接种前最优筛选方案为仅检测抗-HBs^[38],外来青年工人为仅检测抗-HBc^[39],这与同时检测HBsAg、抗-HBs和抗-HBc等3项指标的预防效果相同,但却显著节省费用。

高危人群比普通成人更容易发生HBV感染,也更易造成HBV传播,感染其他健康人群,故免疫接种后的成本效果、成本效益应更大。有限的评估资料显示高危人群HB免疫预防亦可取得较好的成本效益。南非HBsAg和HBcAg均阴

性的血液透析患者接种HBV疫苗后,36名患者中的26人(占72%)血清抗体阳转,25人(占69%)的抗体保护水平大于10 IU/L;由于减少了每月需要HBsAg检测的患者人数,在第1年末每名患者纯节约90左右南非兰特;平均每名患者每年节约380左右南非兰特^[40]。35名接种HBV疫苗无反应的血液透析患者用高剂量HBV疫苗sc,追踪2 a后评估,每位患者的平均成本为127.7欧元,可产生快速而有持续的血清学保护效果,成本效益也最佳^[41]。国内外高危人群HB免疫预防的卫生经济学评价的资料较少。与该人群HB免疫不规范、接种率低有关,有必要加强高危人群HBV疫苗免疫接种及作卫生经济学评价。

3.6 HB联合疫苗免疫接种策略的卫生经济学评价 疫苗的联合使用通过减少成本(时间和固定资产)和提高疫苗的覆盖率、减少发病率而产生经济效益。HB联合疫苗的卫生经济学资料亦较少。有研究表明,对儿童和卫生工作者用HA和HB联合疫苗比单一HBV疫苗接种减少了成本、有更大的效益。2000年德国对1-15岁和11-15岁儿童用HA和HB联合疫苗接种的分析表明,在过去30 a,1-15岁儿童新增HB病例只有7484例,减少45 820例;11-15岁儿童新增HB病例只有31 339例,减少21 905例。11-15岁新增HB病例数量的明显减少将节约费用29亿德国马克。1-15岁儿童将节约费用51亿德国马克。疫苗接种的成效从避免每例感染花费90 000德国马克到节约50 000德国马克。如将未经报道的病例也考虑在内且平均分配到每一年龄段,在过去30 a,11-15岁儿童疫苗接种,避免每例感染约节省69 796德国马克;1-15岁儿童约节省55 850德国马克^[42]。对接种前筛选的一年级大学生、部队新兵、到HA流行区的旅游者、临床性传播性疾病(STD)患者和监狱同室住者等几种人群用HA和HB联合疫苗,采用筛选后推迟接种、或筛选后立即接种、或不筛选就接种的预防方案进行CBA的结果表明,不筛选就接种效益最大。在每种人群中,不筛选就接种的成本较少,且至少与筛选后立即接种同样有效。筛选后推迟接种在几种人群的成本减少但效益也较低。认为接种前HA和HB的筛选并不是有成效。如平衡减少的成本和减少的效益,对老年旅游者和监狱同室住者,筛选后推迟接种可能是首选^[43]。对美国西部11个州健康中心和公共安全的工作者用HA和HB联合疫苗接种与HBV疫苗接种的成效

进行比较研究, HA和HB联合疫苗将防止29 796个工作日、222个住院治疗日、6个早逝和214个QALYs的丧失。用HA和HB联合疫苗接种替代HBV疫苗将减少发病率、死亡率和成本^[44]。因此, 如条件许可, 联合疫苗接种应予提倡。

总之, HBV疫苗免疫接种无论对儿童还是成人都取得巨大的经济效益, 是当前预防控制HB的最经济、最有效的措施。随着新生儿HB免疫预防接种工作的深入和扩展, 人群中HBV慢性携带者将越来越少, 流行率将逐步降低。HB的成本效果和成本效益将发生明显改变, 随之而来的HB的免疫策略和重点接种人群也需调整。受多种因素的影响, 对HBV疫苗免疫接种的卫生经济学评价也将是一个动态、长期的过程。目前, 与HBsAg阳性母亲的新生儿、婴幼儿和青少年、高危人群和普通成人的HB免疫接种有关的卫生经济学分析和评价的资料较少, 也不全面, 缺乏系统性, 国内资料尤其欠缺。应加强这方面的研究工作, 以确定相应的HBV疫苗最佳免疫策略, 利于卫生决策者制定HBV疫苗免疫接种规划, 合理利用有限的卫生资源, 充分发挥接种HBV疫苗的巨大价值。

4 参考文献

- 中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华传染病杂志 2005; 23: 421-431
- 张玲霞. 提高慢性乙型肝炎防治水平——解读《慢性乙型肝炎防治指南》. 解放军医学杂志 2006; 31: 377-378
- Kanwal F, Gralnek IM, Martin P, Dulai GS, Farid M, Spiegel BM. Treatment alternatives for chronic hepatitis B virus infection: a cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 2005; 142: 821-831
- 齐亚莉, 王富珍, 张文英, 李辉. 新生儿乙肝疫苗预防接种效果评估. 中国卫生经济 2003; 22: 54-55
- 许群. 失能调整寿命年(DALY)-测量疾病负担的新指标. 中国防痨杂志 1999; 21: 234-237
- Beutels P. Economic evaluations of hepatitis B immunization: a global review of recent studies (1994-2000). *Health Econ* 2001; 10: 751-774
- Incidence of acute hepatitis B-United States, 1990-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 52: 1252-1254
- 刘崇柏, 苏崇鳌. 乙型肝炎疫苗免疫及存在的问题. 中国计划免疫 2004; 10: 159-162
- 刘崇柏, 苏崇鳌. 中国乙型肝炎疫苗免疫及存在的问题. 中华流行病学杂志 2004; 25: 377-378
- 苏晓婷. 浅谈我国乙型肝炎免疫预防的效果. 中国公共卫生管理 2002; 18: 532-533
- Hudeckova H, Straka S, Szilagyi M, Avdicova M, Rusnakova S. Cost effectiveness and cost benefit of viral hepatitis B vaccination in the Slovak Republic. *Cent Eur J Public Health* 2002; 10: 146-148
- Zurn P, Danthine JP. Economic evaluation of various hepatitis B vaccination Strategies in Switzerland. *Soz Praventivmed* 1998; 43 Suppl 1: S61-64, S134-137
- Da Villa G, Sepe A. Immunization programme against hepatitis B virus infection in Italy: cost-effectiveness. *Vaccine* 1999; 17: 1734-1738
- 齐亚莉, 王富珍, 龚晓红, 潘利, 曾宪嘉, 李辉. 北京市新生儿乙肝疫苗免疫策略成本效益分析. 中国公共卫生 2004; 20: 1067-1069
- 卢亮平, 李辉, 邢丽丽, 周婉馨, 王玉琴, 姬朝红. 高剂量乙肝疫苗免疫策略成本效益分析. 中国公共卫生 2002; 18: 27-28
- 李燕婷, 吴寰宇, 张爱香, 沈微娟, 袁国娟. 上海市不同地区新生儿乙肝疫苗免疫效果观察. 上海预防医学 2000; 12: 410-411
- 武桂英, 龚幼龙, 于淑丽, 邵瑞太, 秦怀金. 上海市新生儿乙型肝炎疫苗接种成本效果、效益与效用分析. 中华流行病学杂志 2004; 25: 474-478
- 翟如芳, 邢秀生, 闫以让, 何晓红, 光明, 李太生, 李国英, 范富云, 常少英, 安建会. 重组乙型肝炎疫苗(酵母)免疫的保护效果及成本-效益评价. 中国计划免疫 2006; 12: 94-96
- 罗耀星, 李建基, 邓峰, 李晖, 张吉凯, 蔡汉港, 陆碧茹, 赵占杰. 广东省儿童乙型肝炎疫苗纳入计划免疫管理10年后血清学效果分析. 中国计划免疫 2003; 9: 293-296
- 姜梅, 李波, 姜涛. 接种乙型肝炎疫苗10年预防效果评价. 中国计划免疫 2003; 9: 296
- 王继杰, 颜天强, 罗述斌, 李乔生, 李述智, 曹惠霖, 刘崇柏, 夏国良. 新生儿乙肝疫苗免疫后15年效果观察. 实用预防医学 2000; 7: 419-421
- 马景臣, 刘洪斌, 张英林, 孟宗达, 韩常全, 邢占春, 张玉伟, 赵卉, 刘玉忠, 侯良书, 高小丽, 夏国良, 曹惠霖, 刘崇柏. 农村新生儿乙型肝炎疫苗普种后14年免疫效果考核. 中国计划免疫 2002; 8: 181-184
- 夏国良, 贾志远, 颜天强, 李荣成, 刘洪斌, 徐志一, 曹惠霖, 刘崇柏. 新生儿单纯乙型肝炎抗原疫苗免疫持久性和远期保护效果. 中华实验和临床病毒学杂志 2002; 16: 146-149
- 詹发先, 夏国良, 贾志远, 颜天强, 李荣成, 孟宗达, 曹惠霖, 刘崇柏, 徐志一. 新生儿乙型肝炎疫苗普遍接种阻断乙型肝炎病毒慢性感染的成本-效果评估. 中国计划免疫 2002; 8: 323-326
- Plans-Rubio P. Critical prevalence of antibodies minimizing vaccination costs for hepatitis A, hepatitis B, varicella, measles and tetanus in adults and adolescents in Catalonia, Spain. *Vaccine* 2004; 22: 4002-4013
- Vimolket T, Poovorawan Y. An economic evaluation of universal infant vaccination strategies against hepatitis B in Thailand: an analytic decision approach to cost-effectiveness. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36: 693-699
- Griffiths UK, Hutton G, Das Dores Pascoal E. The cost-effectiveness of introducing hepatitis B vaccine into infant immunization services in Mozambique. *Health Policy Plan* 2005; 20: 50-59
- 耿翠芳, 楼映. 乙肝疫苗免疫接种的成本效益分析. 上海医药 2004; 25: 471-472
- 高林, 高丽敏. 大连市乙肝疫苗计划免疫项目成本-效益分析. 中国初级卫生保健 2004; 18: 33-35
- 张永利. 乙肝疫苗免疫的成本效益分析. 中国公共卫生管理 2005; 21: 337-338
- 王璐, 李辉, 王树声, 龚健, 曾宪嘉, 李荣成, 农艺, 黄月葵, 陈修荣, 黄兆能. 中国乙型肝炎不同流行区最佳免疫策略研究. 中华预防医学杂志 1999; 33: 104-106
- Sahni M, Jindal K, Abraham N, Aruldas K, Puliyel JM. Hepatitis B immunization: cost calculation in a community-based study in India. *Indian J*

- Gastroenterol* 2004; 23: 16-18
- 33 齐亚莉, 王富珍, 龚晓红, 潘利, 曾宪嘉, 李辉. 北京市乙肝疫苗不同加强免疫和产前筛查方案的卫生经济学评价. *疾病控制杂志* 2004; 8: 393-395
- 34 Guay M, Cloutre AM, Blackburn M, Baron G, De Wals P, Roy C, Desrochers J, Milord F. Effectiveness and cost comparison of two strategies for hepatitis B vaccination of schoolchildren. *Can J Public Health* 2003; 94: 64-67
- 35 Wilson T. Economic evaluation of a metropolitan-wide, school-based hepatitis B vaccination program. *Public Health Nurs* 2000; 17: 222-227
- 36 Deuson RR, Brodovicz KG, Barker L, Zhou F, Euler GL. Economic analysis of a child vaccination project among Asian Americans in Philadelphia, Pa. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001; 155: 909-914
- 37 蒋德勇, 刘爱忠, 谭红专, 罗斌, 赵梦瑜, 林永霞, 周春蓉, 李涛, 陈红明. 成人乙型肝炎疫苗预防接种的成本-效益分析. *中国计划免疫* 2003; 9: 157-160
- 38 张巧利, 单金华, 夏宪照, 袁钦发, 王水能. 社区人群乙肝疫苗接种前最优筛检方案. *预防医学情报杂志* 2005; 21: 30-32
- 39 张巧利, 夏宪照, 王水能, 郑志文. 外来青年工人乙肝疫苗接种前最优筛检方案的研究. *疾病控制杂志* 2004; 8: 112-114
- 40 Taal MW, van Zyl-Smit R. Cost-effectiveness of hepatitis B vaccination in haemodialysis patients. *S Afr Med J* 2001; 91: 340-344
- 41 Mat O, Mestrez F, Beauwens R, Muniz-Martinez MC, Dhaene M. Primary high-dose intradermal hepatitis B vaccination in hemodialysis: cost-effectiveness evaluation at 2 years. *Hemodial Int* 2006; 10: 49-55
- 42 Szucs T. Cost-effectiveness of hepatitis A and B vaccination programme in Germany. *Vaccine* 2000; 18 Suppl 1: S86-89
- 43 Jacobs RJ, Saab S, Meyerhoff AS, Koff RS. An economic assessment of pre-vaccination screening for hepatitis A and B. *Public Health Rep* 2003; 118: 550-558
- 44 Jacobs RJ, Gibson GA, Meyerhoff AS. Cost-effectiveness of hepatitis A-B vaccine versus hepatitis B vaccine for healthcare and public safety workers in the western United States. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25: 563-569

电编 张敏 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》, 俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

本刊主要报道食管癌、胃癌、肝癌、大肠癌、病毒性肝炎、幽门螺杆菌、中医中药、中西医结合等胃肠病学和肝病学的进展及原创性等基础或临床研究的文章。

《世界华人消化杂志》2006年由北京报刊发行局发行, 国际标准刊号ISSN 1009-3079, 国内统一刊号CN 14-1260/R, 邮发代号82-262, 出版日期8, 18, 28日, 月价72.00, 年价864元。欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023 北京市2345信箱, 世界胃肠病学杂志社。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wcjd@wjgnet.com; 网址: www.wjgnet.com。

Tc-99m-RBC显像定位诊断胃肠道出血的价值

唐恭顺, 张松林, 孔荷花, 郭长吉, 徐艳, 张燕燕, 张卫方, 毛远, 陈曼

唐恭顺, 张松林, 孔荷花, 徐艳, 张燕燕, 张卫方, 毛远, 陈曼,
北京大学第三医院核医学科 北京市 100083
郭长吉, 北京大学第三医院消化科 北京市 100083
通讯作者: 唐恭顺, 100083, 北京市海淀区花园北路49号, 北京
大学第三医院核医学科. tgs010@163.com
电话: 010-62017691-2350
收稿日期: 2006-07-11 接受日期: 2006-07-19

Value of Tc-99m-labeled red blood cells scintigraphy in diagnosis of gastrointestinal bleeding

Gong-Shun Tang, Song-Lin Zhang, He-Hua Kong, Chang-Ji Guo, Yan Xu, Yan-Yan Zhang, Wei-Fang Zhang, Yuan Mao, Man Chen

Gong-Shun Tang, Song-Lin Zhang, He-Hua Kong, Yan Xu, Yan-Yan Zhang, Wei-Fang Zhang, Yuan Mao, Man Chen, Department of Nuclear Medicine, the Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China
Chang-Ji Guo, Department of Gastroenterology, the Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China
Correspondence to: Gong-Shun Tang, Department of Nuclear Medicine, the Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China. tgs010@163.com
Received: 2006-07-11 Accepted: 2006-07-19

Abstract

AIM: To retrospectively study the value of technetium-99m-labeled red blood cell scintigraphy in the localization of gastrointestinal bleeding.

METHODS: A total of 42 patients received Tc-99m RBC scintigraphy for the localization of gastrointestinal bleeding from January 2000 to December 2005, of which 17 cases were confirmed by surgical and endoscopic findings. The data obtained by Tc-99m RBC scintigraphy and the final results were comparatively analyzed.

RESULTS: Of the 17 cases confirmed by operation and endoscopy, 4 were found with perfect matches with the data of Tc-99m RBC scintigraphy, 6 with general matches and 7 without matches. The overall match ratio was 58.8% (10/17). The mismatches between Tc-99m RBC scintigraphic and endoscopic/surgical findings included 4 aspects: inaccurate localization of

gastrointestinal bleeding, unknown abdominal radioactivity, false-positive and false-negative diagnosis.

CONCLUSION: Two steps are keys to avoid the diagnostic pitfall in the localization of gastrointestinal bleeding: to know the intestine anatomy; to view the obscure radioactivity in left upper abdomen carefully.

Key Words: Tc-99m-labeled red blood cells scintigraphy; Gastrointestinal bleeding; Localization

Tang GS, Zhang SL, Kong HH, Guo CJ, Xu Y, Zhang YY, Zhang WF, Mao Y, Chen M. Value of Tc-99m-labeled red blood cells scintigraphy in diagnosis of gastrointestinal bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(27):2729-2732

摘要

目的: 回顾性分析Tc-99m-RBC显像定位诊断胃肠道出血, 总结定位诊断不准确的原因。

方法: 收集我科2000-2005年Tc-99m-RBC显像病例42例, 通过手术、内镜最终明确诊断出血部位和出血病因者17例。分析Tc-99m-RBC显像报告与最终诊断的符合情况及原因。

结果: Tc-99m-RBC显像诊断与最终诊断符合4例, 基本符合6例, 不符合7例。符合率为10/17。不符合的诊断主要是对出血灶的肠段定位偏低、对出血肠段判断错误、不明原因的异常放射性浓聚、假阳性和假阴性诊断。肠段判断错误的病例, 报告对出血点的腹部分区正确。

结论: 正确掌握肠管的解剖走行, 谨慎报告左上腹模糊的放射性浓聚是提高Tc-99m-RBC显像定位诊断胃肠道出血的关键。

关键词: Tc-99m RBC显像; 消化道出血; 定位诊断

唐恭顺, 张松林, 孔荷花, 郭长吉, 徐艳, 张燕燕, 张卫方, 毛远, 陈曼. Tc-99m-RBC显像定位诊断胃肠道出血的价值. *世界华人消化杂志* 2006;14(27):2729-2732
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2729.asp>

■背景资料

Tc-99m-RBC显像诊断消化道出血简便、无创、灵敏。但是此方法结论与最终诊断的符合率、对出血肠段定位诊断的准确性需要进一步研究。

■创新盘点

本文病例都有手术病理结论,使本文的经验具有很高的可信度。阅读重点在讨论部分,以具体病例为对象进行了回顾和经验总结。左上腹假阳性(回肠)报告,腹部异常放射性浓聚灶与肠段的解剖关系判断错误是主要问题。

0 引言

胃肠道出血是临床常见症状。诊断胃肠道出血并不困难,困难的是定位诊断胃肠道出血。定位诊断胃肠道出血的方法很多,临床医师偏好Tc-99m-RBC显像是因为该方法简便、无创、灵敏。但是本方法结论与最终诊断的符合率、对出血肠段定位诊断的准确性需要进一步研究。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院核医学科2000-01/2005-12 6 a中Tc-99m-RBC显像42例。查出住院病历者31例,病历未整理归档者2例,门诊检查、患者住院病历中无胃肠道出血相关记录和Tc-99m-RBC显像资料者8例,门诊患者没有住院病历者1例。31例资料完整的受检者中,最终明确出血位置和出血原因者17例,其中男10例,女7例。年龄13-77(中位62)岁。17例患者中,小量出血6例(间断出血5例,初发出血1例),中量出血9例(间断出血6例,初发出血3例),急性大出血者2例。出血量分类按照以下标准进行:小量出血指便血量<400 mL/d,没有乏力、头晕、心悸。中量出血指便血量400-800 mL/d,伴乏力、头晕、心悸、晕厥。大量出血指便血量>800 mL/d,除乏力、头晕、心悸、晕厥外,出现血压下降,肢冷、口渴、尿量减少,临床上采取了紧急补液、输血等抗休克措施。按照出血肠段划分,17例受检者中,胃和食道出血3例,十二指肠出血4例,空肠出血3例,回肠出血4例,横结肠出血1例,乙状结肠出血1例,直肠出血1例。

1.2 方法 采用SIEMENS Orbiter7500 γ 照相机,低能通用型准直器,放大倍数1,窗宽20%,能峰140 keV,矩阵128 \times 128。或采用GE discovery VH双探头ECT,低能通用型准直器,放大倍数1,窗宽20%,能峰140 keV,矩阵512 \times 512。采集模式:一般使用时间模式1帧/min,监测中发现感兴趣区,偶尔采用计数模式500 K/帧。采集由核医学影像技术人员完成。Tc-99m-RBC标记方法采用体内标记红细胞法:检查前患者口服高氯酸钾400 mg,1 h后iv亚锡焦磷酸钠20 mg,30 min后患者仰卧位于检查床上。iv Tc-99m-RBC 37 Mbq后,立即启动 γ 照相机采集1帧,此后每5 min采集1帧,每帧采集1 min。动态采集中如发现异常,随时加采集图像。采集和监测中如已经能够确定诊断,停止检查。如果没有发现出血灶,采集持续60-90 min。急性大出血患者由床旁医师到核医学科监护,采集过程中同时输血、补

液、维持各种监护措施,不定时观察血压、心率、各种临床症状。核医学科医师结合临床表现和已经获得的各种检查,采用非盲法读片。下班时间之急诊读片、报告由值班医师完成,上班时间读片、报告由科主任带领全科(至少超过3名医师)共同完成。分析结果以阴性及阳性表示。消化道内出现局限性异常放射性浓聚影,且有放射性密度及位置变化即被判断为阳性,否则为阴性。最终诊断由胃镜、结肠镜、外科手术及其病理结果证实。

2 结果

定位诊断效果:17例胃肠道出血患者采用Tc-99m-RBC显像做定位诊断。其中食道和胃出血3例中,符合1例,基本符合1例,假阴性1例。十二指肠出血4例中,符合2例,基本符合1例,不符合1例。空肠出血3例中,基本符合2例,不符合1例。回肠出血4例中,符合1例,基本符合1例,不符合2例。横结肠1例基本符合。乙状结肠1例不符合。直肠1例为假阴性。因此,本研究用Tc-99m-RBC显像定位诊断17例胃肠道出血,符合者4例,基本符合者6例,合计10例。不符合者5例,假阴性者2例,合计7例。符合率10/17(表1)。

3 讨论

Tc-99m-RBC显像是灵敏度很高的诊断方法^[1-3],其最大的优势是简便。除了大便潜血实验、血红蛋白测定外,Tc-99m-RBC显像是创伤最小的诊断方法。Tc-99m-RBC显像唯一的创伤是iv,唯一的配合是平卧检查床上休息或睡觉。急性大出血患者,配合胃镜、结肠镜或其他检查困难,但配合Tc-99m-RBC显像容易。急性大出血患者,我院的常规作法是,在床旁医师的陪同下,输血、补液、抗休克、仪器监护的同时,患者在核医学科接受Tc-99m-RBC显像。Tc-99m-RBC显像直观、整体性强。左上腹浓聚灶通常提示空肠出血,右下腹浓聚灶通常提示回肠出血,中上腹病变通常提示十二指肠或胃出血,结肠出血的放射性异常浓聚灶也与其腹部体表投影相一致。由于整个腹部都在探测范围内,图像中包括肝、脾、双肾、膀胱等解剖学标志,未经专业培训的临床医师也能识别异常放射性浓聚灶的腹部分区。

复习文献发现,设置对照组(无胃肠道出血)的研究极少,用于评价Tc-99m-RBC显像诊断胃肠道出血的灵敏度、特异性资料有限。多数文

表 1 Tc-99m-RBC显像定位诊断胃肠道出血

No	性别	年龄	出血部位	出血原因、确诊手段、补充说明	Tc-99m-RBC结果	符合情况
1	F	67	乙状结肠	毛细血管症(结肠镜); 放射性肠炎	结肠脾曲及直肠出血可能性大	不符合
2	F	77	回肠	距回盲瓣5 cm回肠末端毛细血管扩张(手术)	右下腹回肠出血可能性大	符合
3	M	41	胃底、食道	胃底、食道静脉曲张(胃镜), 门脉血栓(MRI, 血管超声)	空肠或其以上肠道出血可能性大	基本符合
4	F	63	十二指肠升部	近Treitz韧带处恶性胃肠道间质瘤(手术)	左上腹空肠区活动性出血	基本符合
5	F	76	十二指肠	十二指肠降部糜烂(胃镜); 胃镜见活动性渗血	不除外空肠小量间断性出血	符合
6	M	49	十二指肠	十二指肠溃疡型中分化腺癌毕Ⅱ氏术后十二指肠输入襻出血	左上腹(约于胃部位)活动性出血	符合
7	M	50	胆道、十二指肠	十二指肠溃疡型中分化腺癌术后胆道、十二指肠出血(胃镜); 门静脉梗阻(血管造影)	右侧中下腹回肠出血可能性大	不符合
8	M	72	胃底、食道	胃底、食道静脉曲张破裂出血(胃镜)	胃底部及回肠区活动性出血	符合
9	F	72	直肠	距肛门3-8 cm直肠不规则溃疡(结肠镜), 范围7 cm×5 cm	未见明显活动性出血	不符合
10	F	27	回肠	距回盲瓣60-110 cm处回肠克隆氏病(手术); 见4处病灶各约3 cm	右侧中下腹、空回肠交界处出血可能性大	基本符合
11	M	41	空肠	距Treitz韧带100 cm处2 cm×2 cm空肠息肉(手术)	上部回肠(左肾内侧下极)小量活动性出血可能性大	基本符合
12	M	72	胃	喷门灶性低分化腺癌(手术)	未见活动性胃肠道出血征象	不符合
13	M	21	空肠	距Treitz韧带30 cm处空肠恶性胃肠道间质瘤(手术)	不除外十二指肠小量出血	不符合
14	F	76	横结肠	横结肠毛细血管扩张症(结肠镜)	降结肠小量间断性出血	基本符合
15	M	62	空肠	距Treitz韧带130 cm处空肠胃肠道良性间质瘤(手术)	降结肠区活动性出血可能性大	基本符合
16	M	13	回肠	距回盲瓣50 cm处回肠Meckel憩室(手术); 病理: 伴胃黏膜异位	空肠小量间断性出血可能性大	不符合
17	M	15	回肠	距回盲瓣80 cm处回肠Meckel憩室(手术)	左上腹空肠区不除外小量渗血可能	不符合

■名词解释

1 Tc-99m-RBC显像: 放射性核素Tc-99m与受检者体内红细胞结合, 可发现消化道出血部位。

2 γ 照相机和ECT: 目前 γ 照相机和ECT是同一台机器。Tc-99m-RBC显像只做平面照相称为 γ 照相。如果探头环绕患者360度照相, 并通过计算机重建出断层图像就是ECT。

Tc-99m-RBC结果完全复制核医学报告单的结论; 判断符合情况除了比较Tc-99m-RBC显像报告的描述外, 还回顾性复习显像图片, 然后才评价是否符合。

献提供真阳性率和假阴性率。本文报道的符合率10/17, 完全符合的只有4例。回顾性分析图像后发现, 主要存在以下问题。A. 定位过低: 十二指肠出血报告为空肠出血(例4), 横结肠病变报为降结肠出血(例14)。由于肠蠕动的存在, 避免肠段定位过低是尽量捕捉最早出现异常浓聚影的部位。B. 定位错误: 小肠在腹腔内走行复杂, 判断困难。通常, 左上腹是空肠区域, 右下腹是回肠区域。但左下腹可能是回肠区域, 也可能是空肠区域。例11异常放射性浓聚灶在左上腹偏下误判为回肠病变。例10系克隆氏病, 异常放射性浓聚灶在中下腹, 出血肠段定位在空回肠交界

处似乎偏高。术后回顾性分析术前Tc-99m-RBC显像, 可以认为出血位置应当属于回肠区域(图1)。例15系距Treitz韧带130 cm处空肠良性胃肠道间质瘤, 术前Tc-99m-RBC显像报告为降结肠出血。术后回顾性复习显像图像, 仍然难以区分降结肠和空肠。如果结合病史, 患者系间断中量出血, 黑便为主, 说明出血位置在空肠的可能性大, 降结肠的可能性小。本例显像临床资料利用不充分(图2)。C. 假阳性: 2例回肠Meckel憩室报告左上腹空肠区发现异常放射性浓聚灶。复习图像后认为, 放射性浓聚程度不强, 强度变化小, 位置基本固定, 不能完全除外游离Tc-99m胃显

■同行评价

本文分析了Tc-99m-RBC显像在消化道出血定位正确与否的原因,对于Tc-99m-RBC显像在消化道出血的精确定位有一定的指导意义。



图 1 例10, 回肠克隆氏病, 中下腹异常放射性浓聚灶。

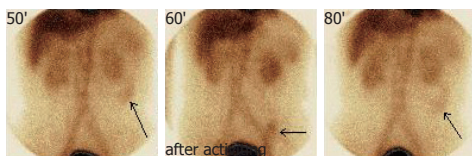


图 2 例15, 空肠良性胃肠道间质瘤, 左侧腹异常放射性浓聚灶, 患者活动后浓聚灶向下移动。

影的干扰。例1报告结肠脾曲和直肠出血。复习图片认为, 左上腹的异常放射性浓聚病变可能是左肾影。直肠区的放射性浓聚可能是会阴部污染。D. 不明原因的异常放射性浓聚: 例7, 因反复便血或大量便血, 失血性休克入院。2 a前患者十二指肠溃疡型中分化腺癌手术切除。Tc-99m-RBC显像发现右侧中下腹异常放射性浓聚, 回肠出血可能性大。胃镜见胆道内活动性出血、十二指肠出血; 选择性血管造影发现门静脉梗阻。虽然发现了明确的胃肠道出血灶, 但客观存在的右侧中下腹异常放射性浓聚没有得到合理解释(图3), 是否因为手术导致肠管走行改变或还有其他出血灶? 例13手术发现距Treitz韧带30 cm处空肠恶性胃肠道间质瘤, Tc-99m-RBC

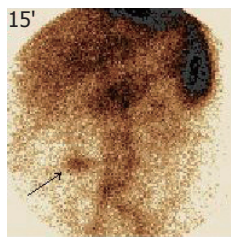


图 3 例7, 十二指肠溃疡型中分化腺癌术后, 胃镜见肠道内活动性出血、十二指肠出血, 右下腹不明原因的异常放射性浓聚灶。

显像在十二指肠降部或胆囊区发现片状放射性浓聚, 异常放射性浓聚的原因并不清楚。

总之, 虽然Tc-99m-RBC显像诊断消化道出血已经有30余年历史, 即使采用非盲法读片, 我们仍然出现以上几种问题。捕捉最早出现异常浓聚影, 对小肠解剖走行的把握, 充分利用临床提供的各种资料, 对左上腹、会阴区浓聚灶的小心识别有助于提高Tc-99m-RBC显像报告的符合率。

4 参考文献

- 1 Olds GD, Cooper GS, Chak A, Sivak MV Jr, Chitale AA, Wong RC. The yield of bleeding scans in acute lower gastrointestinal hemorrhage. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 273-277
- 2 Lewis DH, Jacobson AF. BUN/creatinine ratios: aid to decision making about delayed imaging in Tc-99m red blood cell scans for gastrointestinal hemorrhage. *Clin Nucl Med* 1998; 23: 201-204
- 3 Oliveras A, Aubia J, Cao H, Puig JM, Barbosa F, Mir M, Orfila A, Lloveras J, Masramon J. 99mTc-labelled red blood cell scintigraphy for localization of gastrointestinal bleeding in chronic renal failure. *Nephron* 1998; 80: 76-78

电编 张敏 编辑 王晓瑜

乙肝表面抗原大蛋白与HBV DNA的比较及其与ALT的关系

杨延敏, 王洪笑, 王桂利, 崔亚利, 梁萍

杨延敏, 王洪笑, 王桂利, 崔亚利, 梁萍, 北京丰台医院 北京市 100071

通讯作者: 杨延敏, 100071, 北京市丰台区, 北京丰台医院检验科. yyanmin2005@yahoo.com.cn

收稿日期: 2006-07-13 接受日期: 2006-07-19

Comparison between hepatitis B virus large protein and DNA and its association with alanine aminotransferase level

Yan-Min Yang, Hong-Xiao Wang, Gui-Li Wang, Ya-Li Cui, Ping Liang

Yan-Min Yang, Hong-Xiao Wang, Gui-Li Wang, Ya-Li Cui, Ping Liang, Beijing Fengtai Hospital, Beijing 100071, China

Correspondence to: Yan-Min Yang, Department of Laboratory Medicine, Beijing Fengtai Hospital, Beijing 100071, China. yyanmin2005@yahoo.com.cn

Received: 2006-07-13 Accepted: 2006-07-19

Abstract

AIM: To explore the clinical significance of hepatitis B virus large protein (HBV-LP) in the diagnosis of viral replication.

METHODS: Serum samples were collected from 177 patients with HBV infection. HBV-LP, HBV preS1 and HBV markers were examined using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). HBV DNA was quantitatively detected by real-time polymerase chain reaction. The level of alanine aminotransferase was obtained by an automated biochemistry analyzer.

RESULTS: No significant difference was found between the detectable rates of HBV DNA and HBV-LP in patient with the same HBV markers. The positive rates of HBV-LP and HBV DNA in HBeAg-positive patients were higher than those of HBeAg negative ones (95.45% vs 44.36%, $P < 0.05$; 93.18% vs 41.35%, $P < 0.05$). There was significant difference between the detectable rates of HBV DNA and HBV preS1 in patients with the same HBV markers ($P < 0.05$). The average level of ALT in HBV-LP-positive patients was higher than that of HBV-LP-negative ones.

CONCLUSION: There is a perfect correlation between the positive rate of HBV-LP and HBV DNA, and HBV-LP is a reliable serological marker that can reflect the replication of HBV as well as liver function.

Key Words: Hepatitis B virus large protein; HBV DNA; Alanine aminotransferase

Yang YM, Wang HX, Wang GL, Cui YL, Liang P. Comparison between hepatitis B virus large protein and DNA and its association with alanine aminotransferase level. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(27):2733-2736

摘要

目的: 检测不同模式乙肝患者血清中乙肝表面抗原大蛋白(HBV-LP)、乙肝前S1, HBV DNA以及ALT, 比较HBV-LP以及乙肝前S1的检出与HBV DNA及ALT之间的关系, 探讨HBV-LP用于乙肝患者临床诊断的意义。

方法: 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)检测177例HBV患者血清HBV-LP和乙肝前S1, 荧光定量PCR方法检测患者HBV DNA, 全自动生化分析仪检测ALT。

结果: 相同乙肝模式患者血清HBV-LP与HBV DNA检出率无显著差异; HBeAg阳性患者血清中HBV-LP与HBV DNA阳性率均明显高于HBeAg阴性患者(95.45% vs 44.36%, $P < 0.05$; 93.18% vs 41.35%, $P < 0.05$); 相同乙肝模式患者血清乙肝前S1的检出低于HBV DNA的检出, 两者差异显著($P < 0.05$); HBV-LP阳性患者的ALT明显高于HBV-LP阴性患者。

结论: 乙肝表面抗原大蛋白与HBV DNA有较高的符合率, 是反映乙肝患者体内病毒复制情况的可靠指标; 而且乙肝表面抗原大蛋白阳性患者ALT较阴性患者高, 表明HBV-LP同时也反映了乙肝病情的活动情况。

关键词: 乙肝病毒表面抗原大蛋白; HBV DNA; 丙氨酸转氨酶

杨延敏, 王洪笑, 王桂利, 崔亚利, 梁萍. 乙肝表面抗原大蛋白与HBV DNA的比较及其与ALT的关系. 世界华人消化杂志

■背景资料

近年来临床将乙肝前S1指标多用于乙肝患者的检测, 但是应用结果表明乙肝前S1指标与HBV DNA的相关性不高。

■研发前沿

乙肝表面抗原大蛋白(HBV-LP)在乙肝病毒侵入、组装成熟过程中起到非常关键的作用, 与HBV DNA复制水平密切相关, 而且HBV-LP的过量表达是导致肝细胞凋亡以及病变的主要原因。

■相关报道

解放军302医院在HBV-LP与HBV DNA的相关性上进行了研究,浙江湖州中心医院对HBV-LP在抗病毒治疗患者中的检测意义进行了研究。

2006;14(27):2733-2736

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2733.asp>

0 引言

乙型肝炎是我国发病率较高的传染病,已经成为危害广大人民群众健康的社会公众性问题^[1],实验室的诊断对于判断病毒复制程度、监测抗病毒治疗效果以及评估预后效果等的作用至关重要。长期以来,临床上检测病毒及其复制情况的方法主要有酶联免疫法测HBV血清标志物和PCR法测定HBV DNA,HBV DNA是检测HBV自身,HBV血清标志物则是检测人体对HBV的体液免疫反应状态^[2]。近年来随着对乙肝表面抗原大蛋白中前S区抗原在乙肝发病机制、感染与复制等方面研究的深入,研究者们逐渐认识到乙肝表面抗原前S区具有越来越重要的临床意义^[3-5]。研究人员发现,HBV表面大蛋白(HBV-LP)在空间上具有两种不同的跨膜构象,作为HBV的包装蛋白,内侧可以和HBV核壳体膜结合,外侧可与易感细胞受体结合,是HBV颗粒成熟包装的关键^[3]。由于单独的前S区抗原作为乙肝表面抗原大蛋白的一部分,无法模拟其复杂的拓扑结构,通过此种方法制作的mAb只具有线性表位但是失去了构象型表位。这样针对低级结构抗原制作出的mAb在实际应用中便可能导致漏检。我们使用北京热景生物技术有限公司研制的HBV-LP酶免定量试剂盒研究乙肝表面抗原大蛋白检测用于临床的意义,该试剂盒包被针对构象型前S区的高亲和力、高特异性的单抗来检测HBV-LP。

1 材料和方法

1.1 材料 血清标本均来自2005-06/2005-10,北京丰台医院门诊或是住院患者,共计177例,其中男92例,女85例,年龄15-81(平均47.3)岁,所有标本均于-20℃保存以备用。Roche公司生产LightCycler自动荧光PCR仪;日本奥林巴斯AU-640全自动生化分析仪;高速台式离心机(Sigma公司);恒温加热器(美国Type17600Dr Bath);酶标仪(DENLEY DRAGON MK2);洗板机(DENLEY DRAGON WellWash4)。乙肝表面抗原大蛋白、乙肝两对半以及乙肝前S1检测采用酶联免疫方法,乙肝表面抗原大蛋白酶免定量试剂由北京热景生物技术有限公司提供;乙肝两对半检测为上海实业科华生物技术有限公司的酶联免疫法试剂,其中HBsAg检测试剂盒

为中国药品生物制品检定所批检产品;乙肝前S1试剂购自上海阿尔法生物技术有限公司。

1.2 方法 HBV DNA检测采用荧光定量方法,检测试剂盒购自深圳匹基生物工程有限公司,灵敏度为 5.0×10^2 copies/mL,取 $\geq 1 \times 10^3$ copies/mL为阳性,阴性时取实测拷贝值,低于灵敏度以下作零拷贝处理。肝功能检测,血清ALT测定采用全自动生化分析仪,ALT>666.8 nkat/L视为异常。

统计学处理 计量资料采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 不同乙肝两对半模式患者血清HBV-LP, HBV DNA以及乙肝前S1检出情况比较 相同乙肝两对半模式组中HBV-LP的阳性率与HBV DNA的阳性率经过 χ^2 验证没有显著性差异($P>0.05$);在所有HBsAg阳性患者中乙肝表面抗原大蛋白的阳性率明显高于乙肝前S1的阳性率,经过 χ^2 验证均有显著性差异($P<0.05$);不同的乙肝两对半模式组中乙肝表面抗原大蛋白的阳性率经过 χ^2 验证组间均有显著性差异($P<0.05$,表1)。

2.2 HBeAg阳性和阴性患者中HBV-LP, HBV DNA以及乙肝前S1的检出情况比较 在HBeAg阳性中乙肝表面抗原大蛋白的阳性率明显高于和HBeAg阴性组,经过 χ^2 验证两者有显著性差异($P<0.05$,表2)。

2.3 HBV-LP与ALT之间的关系 HBV-LP阳性患者转氨酶(ALT)水平明显高于与HBV-LP阴性患者,经过 t 检验有显著性差异($P<0.05$,表3)。

3 讨论

酶联免疫法(ELISA)一直是临床上用于乙肝病毒感染的血清检测手段,传统认为乙肝两对半中HBeAg阳性表明HBV复制活跃、传染性较强^[2]。我们的研究显示,在44例HBeAg阳性患者中HBV-LP阳性率(95.45%)与HBV DNA的阳性率(93.18%)一致,经过 χ^2 验证无显著差异;该组中乙肝前S1的阳性率(56.82%)明显低于HBV-LP和HBV DNA的阳性率。结果表明,HBV-LP与HBV DNA的检出具有良好的一致性,能够准确的反映出乙肝患者体内病毒的复制情况,同时结果还表明HBV-LP的检出由于使用针对构象型前S区的mAb,因而其检出率明显高于目前临床上使用乙肝前S1指标^[6]。过去临床上认为乙肝患者出现HBeAg阴转是HBV复制减弱、传染性降低和预后良好的象征,但是我们的研究显示,

■创新盘点

本研究阐述了HBV-LP反映HBeAg阴性患者病毒复制水平的临床意义。

表 1 不同乙肝模式患者中HBV-LP, HBV DNA与乙肝前S1检测比较

模式	HBV M <i>n</i>	HBV DNA		HBV-LP		乙肝前S1	
		阳性	阳性率(%)	阳性	阳性率(%)	阳性	阳性率(%)
HBsAg(+)HBeAg(+)HBcAb(+)	35	34	97.14	33	94.29	22	62.86
HBsAg(+)HBeAg(+)	9	7	77.78	9	100	3	33.33
HBsAg(+)HBeAb(+)HBcAb(+)	63	45	71.43	48	76.19	14	22.22
HBsAg(+)HBcAb	23	10	43.48	11	47.83	4	17.39
HBsAb(+)HBeAb(+)HBcAb(+)	30	0	0	0	0	2	6.67
HBsAb(+)HBcAb(+)	17	0	0	0	0	0	0
合计	177	96	54.24	101	57.06	45	25.42

■应用要点

HBV-LP在临床的广泛应用, 可以更加真实的了解患者的病情, 指导治疗。

表 2 HBeAg阳性和阴性中HBV-LP, HBV DNA以及乙肝前S1的检测比较

	HBV DNA		HBV-LP		乙肝前S1	
	阳性	阳性率(%)	阳性	阳性率(%)	阳性	阳性率(%)
44例HBeAg阳性	41	93.18 ^a	42	95.45 ^a	25	56.82
133例HBeAg阴性	55	41.35 ^a	59	44.36 ^a	20	15.04
合计	96	54.24 ^a	101	57.06 ^a	42	25.42

^a $P < 0.05$ vs 乙肝前S1组。

在133例HBeAg阴性患者中HBV DNA与HBV-LP的阳性率分别为41.35%和44.16%, 可能是免疫清除不全或是HBV基因前C区变异所致^[7], 多为慢性乙肝, 而且此类患者发生肝硬化、肝癌的风险较大。转氨酶(ALT)是判断肝内炎症活动度的可靠指标, 临床上通常将血清转氨酶水平变化作为乙肝患者病情转归的一个重要指标。我们的研究显示, HBV-LP阳性的ALT水平明显高于与阴性患者($P < 0.05$), 说明HBV-LP阳性患者较阴性患者肝组织损伤严重, 这与HBV-LP阳性代表存在HBV复制相符合, 同时国外研究表明, 乙肝表面抗原大蛋白是导致肝细胞病变及凋亡的主要原因^[8-9], 这个结果表明, HBV-LP可用于观察临床疗效和估计预后。

目前HBV DNA的检测是HBV复制最直接的指标, 但此方法对实验室条件要求严格, 不易推广, 特别是广大基层医疗单位还难以开展。乙肝两对半的血清免疫学标志物, 可反映乙肝患者的病情和传染性, 现已作为常规检查项目开展, 不过由于其方法的灵敏度、特异性的限制以及HBV为逃避宿主的免疫反应常发生变异, 导致检测结果的失真。而使用酶联免疫定量方法检测HBV-LP与HBV DNA的检测有良好一致性, 是反映HBV复制活跃的可靠指标, 可以做为HBV感染、复制和乙肝患者诊断、治疗和预后

表 3 HBV-LP与ALT检出的关系

HBV-LP	<i>n</i>	ALT (nkat/L)
阳性	99	1133.56 ± 716.81 ^a
阴性	78	516.77 ± 283.39

^a $P < 0.05$ vs HBV-LP阴性患者。

的重要标志物, 具有较高的临床应用价值, 适于在广大基层医院开展。

4 参考文献

- 1 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床. 第2版. 北京, 人民卫生出版社, 2001
- 2 谢志贤, 谭爱国, 何美懿, 董莹. 血清中乙型肝炎5项标志表现模式与乙型肝炎病毒-DNA含量的关系. 中华医院感染学杂志 2002; 12: 81-83
- 3 Bruss V, Vieluf K. Functions of the Internal Pre-S Domain of the Large Surface Protein in Hepatitis B Virus Particle Morphogenesis. *J Virol* 1995; 69: 6652-6657
- 4 Bruss V. Envelopment of the hepatitis B virus nucleocapsid. *Virus Res* 2004; 106: 199-209
- 5 Lambert C, Mann S, Prange R. Assessment of determinants affecting the dual topology of hepadnaviral large envelope proteins. *Journal of General Virology* 2004; 85: 1221-1225
- 6 孙颖, 辛绍杰, 雷厉, 侯俊, 貌盼勇. 乙肝病毒外膜蛋白检测对于判定HBV DNA复制的意义. 世界华人消化杂志 2006; 14: 354-357
- 7 Hamasaki K, Nakata K, Nagayama Y, Ohtsuru A, Daikoku M, Taniguchi K, Tsutsumi T, Sato Y,

■名词解释

乙肝表面抗原大蛋白: 是乙肝病毒包膜蛋白中的一种, 和病毒的复制密切相关, 由HBV基因中的S, preS1以及preS2基因共同表达。

- Kato Y, Nagataki S. Changes in the prevalence of HBeAg-negative mutant hepatitis B virus during the course of chronic hepatitis B. *Hepatology* 1994; 20: 8-14
- 8 Foo NC, Ahn BY, Ma X, Hyun W, Yen TS. Cellular Vacuolization and Apoptosis Induced by Hepatitis B Virus Large Surface Protein. *Hepatology* 2002; 36: 1400-1407
- 9 Roingeard P, Sureau C. Ultrastructural analysis of hepatitis B virus in HepG2-transfected cells with special emphasis on subviral filament morphogenesis. *Hepatology* 1998; 28: 1128-1133

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 会议纪要 •

第六届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会 暨《消化道恶性梗阻的动脉内灌药联合内支架治疗应用 技术》国家级继续医学教育学习班会议纪要

本刊讯 第六届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会于2006-09-15/09-18在浙江省杭州市之江饭店会议中心隆重举行。本次会议由上海同仁医院与浙江省中医药大学第一医院联合举办。《中华放射学杂志》、《中华消化内镜杂志》、《世界华人消化杂志》和《介入放射学杂志》共同协办。卫生部科技教育司、上海市卫生局以及浙江省卫生厅等相关领导参加了会议开幕仪式,并分别就卫生部“十年百项”技术推广、国家级继续医学教育、上海市重大医学成果转化等项目背景作了介绍,对推广成果规范提出了新的要求。肖湘生、李麟荪、杨仁杰、李彦豪、吴云林、龚彪、李宁等50余位国内著名介入放射学、消化内镜以及外科学方面专家参加了会议专题演讲及沙龙研讨。来自北京、上海、浙江、河北、四川、黑龙江、江苏、安徽、甘肃、江西、内蒙古、福建、云南、甘肃、辽宁、湖南17个省市自治区的320名代表报名参加了会议。到会参加研讨会暨学习班的代表中,高级技术职称170名,中级技术职称121名,初级技术职称28人,分别占总人数的54.2%, 38.5%和7.3%。本次会议通过由专家专题演讲、录象演播、现场操作演示以及沙龙研讨专家与代表互动等多种形式着重介绍消化道恶性病变消化内镜、介入放射学、外科以及其他综合治疗的新技术与新方法。参加会议的代表们学习积极性极高,求知欲望十分强烈,会场认真的学习气氛使专家演讲的激情也欲罢不能。尽管中午课程都在临近1点结束,下午更是延迟到傍晚6点30分之后,但会场仍每每座无虚席。而在晚上举行的消化道支架技术研讨沙龙气氛则变得更为热烈。参会专家与代表围绕消化道管腔内支架治疗应用技术以及出现的问题亮出各自观点进行激烈的讨论,一些专家列举实际案例就消化道内支架治疗中的热点问题针锋相对的质疑与辩论。直至晚上10点40分主持人断然终止研讨议程时满场代表仍意犹未尽。专题演讲和研讨结束后,由介入放射和消化内镜相关专家分别进行了食管支架、肠道支架、PTCD和ERCP胆道支架、内镜操作技术以及消化道肿瘤血管介入的现场操作演示。由于观摩演示的展示厅偏小,因而显得尤其拥挤。许多代表观看演示直至傍晚6点结束。此次会议学术气氛相当浓厚。在紧凑有序的专题演讲间隙,不少代表踊跃通过手机短信进行提问,演讲专家也不厌其烦的通过投影仪现场认真解答。会后许多专家和代表普遍感慨参加此会受益非浅,认为大会为不同学科间相互学术交流和研讨搭建了一个沟通平台。并建议今后多举行类似的研讨沙龙和短信答疑,以能带动更多有相关经验者参与互动交流。不少代表表态:如获下届会议通知,一定积极参加。

第六届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会主题内容“消化道恶性梗阻的动脉内灌药联合内支架治疗应用技术”是卫生部第二轮面向农村和基层推广适宜技术“十年百项”计划项目和上海市重大医学成果转化项目。该项目开展以来已先后在上海、河北邢台、宁夏银川、黑龙江哈尔滨、江苏南京举办五届全国研讨会并在上海、江苏沐阳、甘肃兰州等地举办地区性继续教育学习班。因其内容涉及肿瘤内科诊治、消化内镜操作及介入放射学技术等边缘学科高新技术,对消化道恶性梗阻性病变治疗的实用性强、临床疗效好,故深受相关专业从业医师的普遍欢迎。此次会议的圆满结束,为消化道恶性病变介入治疗技术的进一步推广应用起到积极的推动作用。

我们将不断进取,进一步总结经验,继续积极筹备相关内容的研讨会议,为我国消化道病变介入诊疗技术的发展和提高搭建一个有一定质量和水平的交流平台。(茅爱武编委 上海同仁医院介入诊疗中心)

世界华人消化杂志投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 世界华人消化杂志®, 国际标准刊号 ISSN 1009-3079, 国内统一刊号 CN 14-1260/R, 大16开, 旬刊, 每期160页, 定价24元, 全年864元, 邮发代号82-262, 由世界胃肠病学杂志社出版。世界华人消化杂志主要报道消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化病理、消化预防医学、消化护理、消化医学、影像消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化诊断指南、消化治疗指南、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用、消化专家门诊。世界华人消化杂志被国际权威检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国学术期刊文摘、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、解放军医学图书馆CMCC系统、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)收录。2005年版中国科技期刊引证报告:《世界华人消化杂志》的总被引频次为3 353, 位居1 608种中国科技论文统计源期刊的第8位, 内科医学类, 28种期刊的第2位。《世界华人消化杂志》的影响因子为1.769, 位居1 608种中国科技论文统计源期刊的第14位, 内科医学类, 28种期刊的第2位。《世界华人消化杂志》的即年指标0.211, 他引总引比0.30, 地区分布数28, 基金论文比0.43, 国际论文比0.01。世界华人消化杂志荣获2001、2003年度百种中国杰出学术期刊称号。

1.2 栏目 述评, 食管癌, 胃癌, 肝癌, 病毒性肝炎, 大肠癌, 幽门螺杆菌, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。专家述评4 000字以内, 研究原著6 000字以内, 焦点论坛4 000字以内, 文献综

述6 000字以内, 研究快报4 000字以内, 临床经验1 800字以内, 病例报告800字以内。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用, 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD₅₀, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊, 中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(国家科技部, 2003年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2004年版)收录的学术期刊。世界胃肠病学杂志社, 100023, 北京市2345信箱郎辛庄北路58号院怡寿园1066号, 电话: 010-85381901 Email: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com.

静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T_{1/2}, Vmax不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kDa改为*M_r* 30 000或30kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-、±及-后列出. 如37.6±1.2°C, 45.6±24岁, 56.4±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56±0.27 ng/L, 131.6±0.4 mmol/L, *t* =28.4±0.2°C. BP用kPa(mmHg), RBC数用×10¹²/L, WBC数用×10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M_r*明确的体内物质以mmol/L, nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1

N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B₁₂用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 七年, 7 a; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU=16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10⁻³ g与5×10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10年, 10 a; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L酒精; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm=45×10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*ν*; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍

体、四联球菌、五四运动、星期六等。统计学数字采用阿拉伯数字,如1 000-1 500 kg, 3.5 ± 0.5 mmol/L等。测量的数据不能超过其测量仪器的精密度,例如6 347意指6 000分之一的精密度。任何一个数字,只允许最后一位有误差,前面的位数不应有误差。在一组数字中的mean \pm SD应考虑到个体的变差,一般以SD的1/3来定位数,例如 $3\ 614.5 \pm 420.8$ g, SD的1/3达一百多g,平均数波动在百位数,故应写成 3.6 ± 0.4 kg,过多的位数并无意义。又如 8.4 ± 0.27 cm,其SD/3=0.09 cm,达小数点后第2位,故平均数也应补到小数点后第2位。有效位数以后的数字是无效的,应该舍。末尾数字,小于5则舍,大于5则进,如恰等于5,则前一位数逢奇则进,逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍。末尾时只可1次完成,不得多次完成。例如23.48,若不要小数点,则应成23,而不应该 $23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24$ 。年月日采用全数字表达法,请按国家标准GB/T 7408-94书写。如1985年4月12日,可写作1985-04-12;1985年4月,写作1985-04;从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止,写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00;从1985年4月12日起至1985年6月15日止,写作1985-04-12/06-16,上午8时写作08:00,下午4时半写作16:30。百分数的有效位数根据分母来定:分母 ≤ 100 ,百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\ 000$,百分数到小数点后1位;余类推。小数点前后的阿拉伯数字,每3位间空1/4阿拉伯数字距离,如1 486 800.475 65。完整的阿位伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求,本刊论文中的句号都采用黑圆点;数字间的起止号采用“-”字线,并列的汉语词间用顿号分开,而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开,参考文献中作者间一律用逗号分开;表示终了的标点符号,如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半,通常不用于一行之首;而表示开头的标点符号,如括号及书名号的前一半,不宜用于一行之末。标点符号通常占一格,如顿号、逗号、分号、句号等;破折号应占两格;英文连字符只占一个英文字符的宽度,不宜过长,如5-FU。外文字符下划一横线表示用斜体,两横线表示用小写,三横线表示用大写,波纹线表示用黑体。

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容,鲜明而有特色,阿拉伯数字不宜开头,不用副题名,一般20个字左右,最好不超过26个字。避免用“的研究”或“的观察”等非特定词。

3.2 作者 论文署名作者不宜过多,一般不超过8人,主要应限于参加研究工作并能解答文章有关问题、能对文稿内容负责者,对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中。作者署名的次序按贡献大小排列,多作者时姓名间用逗号,如是单名,则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格)。世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献。第一方面是直接参与,包括:(1)酝酿和设计实验;(2)采集数据;(3)分析/解释数据。第二方面是文章撰写,包括:(1)起草文章;(2)对文章的知识性内容作批评性审阅。第三方面是工作支持,包括:(1)统计分析;(2)获取研究经费;(3)行政、技术或材料支持;(4)指导;(5)支持性贡献。每个人必须在第一至第三方面至少具备一条,才能成为文章的署名作者。世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者。

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码。格式如:张旭晨,梅立新,承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如:张旭晨,男,1966-02-26生,河北省定县人,汉族。1994年北京中医药大学硕士,讲师。主要从事消化系统疾病的病理研究。

3.5 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No.30224801

3.6 通讯作者 格式如:通讯作者:马连生, 030001, 山西省太原市双塔西街77号, 太原消化病研治中心。wcjd@wjgnet.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 接受日期:

3.7 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅,方便检索,英文题名以不超过10个实词为宜,应与中文题名一致。

作者 署名一般不超过8人。作者姓名汉语拼音拼写法规定为:先名,后姓;首字母大写,双名之间用半字线“-”分开,多作者时姓名间加逗号。格式如:“潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者,后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China
基金资助项目 格式如: Supported by National

World Journal of Gastroenterology
自2005-01-01起为周刊发行,每月7、14、21、28日出版。北京报刊发行局发行,邮发代号: 82-261。WJG出版的模式为开放存取+印刷版。免费通过<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>获取,即:阅读、下载、复制、打印和检索论文的全文。

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起为旬刊发行,每月8、18、28日出版。北京报刊发行局发行,邮发代号:82-262。《世界华人消化杂志》出版的模式为开放存取+印刷版。免费通过<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>获取,即:阅读、下载、复制、打印和检索论文的全文。

Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wjgd@wjgnet.com

收稿及接受日期 格式如: Received: Accepted:

摘要 包括目的、方法、结果、结论,书写要求与中文摘要一致。格式如下:

Abstract

AIM:

METHODS:

RESULTS:

CONCLUSION:

Zhang XC, Gao RF, Li BQ, Ma LS, Mei LX, Wu YZ, Liu FQ, Liao ZL. Effects of Weixibao nizhuanwan on gastric precancerous lesions 300 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006; 14:

3.8 中文摘要 必须在300字左右,内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的),方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计,双盲、单盲还是开放性,使用什么方法,如何进行分组和对照,数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则,对照组匹配的特征。如研究对象是患者,应阐明其临床表现,诊断标准。如何筛选分组,有多少例进行过随访,有多少例因出现不良反应而中途停止研究),结果(应列出主要结果,包括主要数据,有什么新发现,说明其价值和局限,叙述要真实、准确、具体,所列数据经用何种统计学方法处理;应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值;概率写 P ,后应写出相应显著性检验值),结论(全文总结,准确无误的观点及价值),中文摘要格式如下:

摘要

目的:

方法:

结果:

结论:

张旭晨, 高瑞丰, 李炳庆, 马连生, 梅立新, 吴玉珍, 刘凤芹, 廖振林. 胃细胞逆转丸治疗胃癌前期病变300例. *世界华人消化杂志* 2006;14:

3.9 正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相

关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表 图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并考入磁盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。

致谢 致谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang *et al*”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣 *et al*^[2-5]认为……;

PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年核心期刊为准, 引用被PubMed收录的期刊文献用英文表达, 请附引用文献网上摘要打印件, 包括PMID编号(摘要的左下方)。按顺序编号装订, 并考入磁盘内。在引用参考文献页码末尾注明PMID编号; 无PMID编号的期刊请删除(重要文献必须保留者, 请附首页复印件)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。参考文献格式如下:

- 1 Ma LS, Pan BR. Strengthen international academic exchange and promote development of gas-troenterology. *World J Gastroenterol* 1998; 4: 1 [PMID: 11819215]
- 2 马连生, 潘伯荣, 马景云. 世界胃肠病学杂志英文版的现状. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 855-863
- 3 Lam SK. Academic investigator's perspectives of medical treatment for peptic ulcer. In: Swabb EA, Azabo S, eds. *Ulcer disease: investigation and basis for therapy*. New York: Marcel Dekker, 1991: 431-450
- 4 尚克中, 陈九如. 胃肠道造影原理与诊断. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995: 382-385

4 投稿须知

4.1 投稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)可建议熟悉该专业的审稿人或因利益冲突而不适宜审阅该稿的审稿人姓名; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部, 所有来稿均需接受同行审阅。

4.2 审稿过程 所有来稿均经2位同行专家的严格评审, 所有审稿人的姓名对作者通常是保密的。

投稿时, 作者可以提出要求回避的同行专家名单, 也可以推荐2位非本单位的审稿人, 尤其是本刊编委会成员。审稿过程大约需要1 mo。

4.3 录用 来稿经本刊编辑部初审、2位同行专家评审, 将评审后的稿件分为优先发表、可以发表、修改后发表、修改后再审、退稿等项处理。录用稿件作者需交纳发表费, 发表后可获得2本样刊及20套单行本(稿酬)。

4.4 修改时间 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿寄回给作者自行修改。当原稿退还作者修改时, 作者必须于1 mo内将修改后的稿件及软盘寄回编辑部; 逾期寄回的, 作重新投稿处理。

4.5 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》、《中文生物医学期刊/会议文献数据库》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录。

4.6 投稿清单 (1)投稿函; (2)第1部分为题名及作者, 作者及单位, 第1作者简介, 基金资助项目, 通讯作者Email, 电话, 传真, 收稿日期, 接受日期; (3)第2部分英文摘要; (4)第3部分中文摘要; (5)第4部分为0引言, 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法, 统计学处理, 2 结果, 3 讨论, 致谢, 4 参考文献。

4.7 投稿地址 在线投稿: <http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>。邮局寄送(已在线提交的稿件不必再寄): 请将打印的稿件一式2份(附高质量的图)、存有全文(文字、图表)的磁盘和其他信息(全部文件的清单, 各文件的名称、格式和使用平台等)寄往: 100023, 北京市2345信箱, 世界胃肠病学杂志社。

世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱
郎辛庄北路58号院怡寿园1066号
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893
Email: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

World Journal of Gastroenterology创刊于1995-10-01, 原刊名《China National of New Gastroenterology》, 1995-06-27 国科发信字(95)225号批准国内外公开发行。1998-02-12经国家科学技术部和国家新闻出版总署批准更名为WJG, 国科发信字(1998)027号。2002-11-14经国家工商行政管理总局商标局核定使用商品(第16类), 获得商标注册证第2001158号。

致谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

蔡淦 教授
上海曙光医院蔡淦工作室

陈红松 副研究员
北京大学肝病研究所

陈其奎 教授
中山大学附属第二医院消化内科

程英升 副教授
上海交通大学附属第六人民医院放射科、上海交通大学影像医学研究所

戴冬秋 教授
中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

党双锁 副教授
西安交通大学第二医院感染科

房静远 教授
上海第二医科大学附属仁济医院、消化疾病研究所

龚国忠 教授
中南大学湘雅二医院肝病研究中心

何超 教授
浙江大学医学院附属邵逸夫医院

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

黄志勇 副教授
华中科技大学同济医院普外科

匡安仁 教授
四川大学华西医院核医学科

李旭 副教授
广州南方医院急诊科

李延青 教授
山东大学齐鲁医院消化科

刘占举 教授
郑州大学第二附属医院消化内科

禄韶英 主治医师
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕宾 教授
浙江中医学院附属医院(浙江省中医院、浙江省东方医院)消化科

茅爱武 主任医师
上海同仁医院介入诊疗中心

聂青和 副教授
第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心、传染病科

宁琴 教授
华中科技大学同济医学院附属同济医院感染科

牛建昭 教授
北京中医药大学细胞生物化学实验室

邵成浩 讲师
第二军医大学长海医院普外科

施诚仁 教授
上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

唐霓 副研究员
重庆医科大学

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

徐大华 副主任医师
首都医科大学宣武医院普外科

许文燮 教授
上海交通大学生命科学院生物医学工程系文选医学楼328室

杨林 副研究员
中山大学附属第三医院感染病科

喻荣彬 副教授
南京医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系

张吉翔 教授
南昌大学第二附属医院消化科