

regulates the hypoxia response signal through the P-body protein DDX6[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(14): 6086-6099.

[22] Lee ST, Chu K, Jung KH, et al. MicroRNAs induced during ischemic preconditioning [J]. *Stroke*, 2010, 41(8): 1646-1651.

[23] Caprara V, Scappa S, Garrafa E, et al. Endothelin-1 regulates hypoxia-inducible factor-1 alpha and-2 alpha stability through prolyl hydroxylase domain 2 inhibition in human lymphatic endothelial cells [J]. *Life Sci*, 2014, 118(2): 185-190.

[24] Kang BY, Park KK, Sutliff RL, et al. MicroRNA-98 negatively regulates hypoxia-induced endothelin-1 expression

in human pulmonary artery endothelial cells [J]. *FASEB Journal*, 2012, 26(Suppl 1): 873.

[25] Li C, Gonsalves CS, Malik P, et al. MicroRNA 648 Targets ET-1 mRNA and is cotranscriptionally regulated with MICAL3 by PAX5 [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(3): 514-528.

[26] Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs Independent of vesicles in human plasma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(12): 5003-5008.

(收稿日期: 2016-03-18 修回日期: 2016-06-02)

• 综述 • doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2016.26.039

乙型肝炎疫苗的应用及研究*

郑贤义 综述, 吉兆华, 闫永平[△], 邵中军 审校

(第四军医大学军事预防医学院军队流行病学教研室, 西安 710032)

[关键词] 乙型肝炎病毒; 疫苗; 应用

[中图分类号] R512.6+2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)26-3719-03

乙型肝炎(乙肝)呈全球性分布,高流行区(发病率大于8%)主要在亚太及中欧地区,中流行区(发病率在2%~8%)集中在中东及印度次大陆地区,低流行区(发病率小于2%)集中在西欧及北美地区^[1-2]。我国2006年全国乙肝流行病学调查显示总人群乙肝的发病率为7.2%,西部地区的发病率较东、中部地区高^[3]。乙肝给人类社会带来了沉重的负担,全世界至少有20亿人或是全人口的1/3感染过乙肝病毒(HBV),慢性感染者占全世界总人口的6%。由HBV感染引起的肝硬化及肝癌患者分别占肝硬化及肝癌患者的30%及53%,每年大约有50万人死于乙肝相关性疾病^[4]。因此,降低总人群中乙肝患者的数量意义重大,而接种乙肝疫苗是预防HBV感染的有效途径。

1 国内外乙肝疫苗的应用现状

世界卫生组织(WHO)的目标是到1997年所有国家将乙肝疫苗纳入到国家免疫目录,到2010年前后,国家免疫总覆盖率为90%,所有的地区免疫覆盖率不少于80%,然而到2007年底仍有11.5%的国家并没有将乙肝疫苗纳入到婴幼儿的常规免疫计划中^[5]。HBV流行低的地区,如美国(发病率大约为0.4%)婴儿出生首剂接种率为61.5%;高危人群和非高危人群的成人完成3针次乙肝疫苗接种率分别为41.8%及31.2%^[6-7]。HBV中度流行的地区,如欧洲联盟成员国及欧洲经济区的27个国家中,74%的国家实施了儿童及婴幼儿乙肝疫苗的常规接种,1岁龄平均疫苗接种率为96%,高危人群实行普及乙肝疫苗接种^[8]。乙肝高流行的地区,如南非1岁以下婴幼儿疫苗接种率为97%,成人接种率低,即使是卫生工作人员,接种率都达不到19.9%(完成3次接种)^[8];中国台湾地区婴幼儿疫苗接种率为96.7%^[9]。我国2009年调查显示,新生儿首剂及时接种率为91%,3针覆盖率为93%^[10];对于成年

人,我国采取“自愿接种”的原则,《成人乙型肝炎免疫预防技术指南》建议的接种对象包括所有未接种或者未全程接种乙肝疫苗或接种史不详的18岁以上成人,以及所有自愿接种乙肝疫苗的18岁以上成人^[11]。

2 乙肝疫苗的种类

2.1 血源性乙肝疫苗 血源性乙肝疫苗是最早应用于预防乙肝的疫苗,在我国部分省市进行了推广应用,具有良好的免疫效果。宿飞等^[12]对1986年出生并接种血源性乙肝疫苗的婴儿进行20年的随访,发现20年平均乙肝表面抗原(HBsAg)阳性率为0.61%,较免疫前本底同年龄组HBsAg阳性率下降93.59%。但我国于1998年6月30日起停止了该类疫苗的生产,并于2000年起停止该类疫苗的使用,主要是由于该类疫苗必须从人体血液中提取,来源困难,难以满足普遍接种的需要。

2.2 基因工程疫苗(亦称重组疫苗)

2.2.1 酵母菌表达的乙肝疫苗是目前应用最广的乙肝疫苗。1982年Valenzuela在酿酒酵母中成功表达HBsAg,酵母菌表达系统因发酵培养,表达量高且易形成稳定的抗原颗粒,利用工业化生产在全世界得到了广泛的应用^[13]。目前已上市的主要为重组酿酒酵母乙肝疫苗和重组汉逊酵母乙肝疫苗,这两类乙肝疫苗主要含HBsAg成分^[14-15];研究还发现重组汉逊酵母乙肝疫苗要优于重组酿酒酵母乙肝疫苗^[16]。

2.2.2 哺乳动物细胞表达乙肝疫苗主要是利用中国仓鼠卵巢细胞(CHO)传代生产的蛋白质疫苗。CHO细胞表达的蛋白接近于人体来源的乙肝表面抗原,具有较好的免疫原性,克服了由减毒活疫苗或灭活疫苗带入的潜在遗传危害,适合于工业化生产。中国大多数厂家生产的乙肝疫苗仅含S抗原,含大蛋白和中蛋白的疫苗还处在临床研究阶段,而国外所生产和研究的重组乙肝疫苗(CHO细胞)大都带有前S和S抗原,免疫效

* 基金项目:国家科技重大专项(2012ZX10004907)。 作者简介:郑贤义(1981—),主治医师,在读硕士,主要从事传染病流行病学的研究。

[△] 通讯作者, E-mail: yanyping@fmmu.edu.cn.

果要好^[17]。

2.3 新型乙肝疫苗 已应用于临床的新型乙肝疫苗有多价联合乙肝疫苗(DTPa-HBV-IPV/Hib), 包含有百日咳、白喉、破伤风、流行性感及乙肝肝炎等抗原成分, 其安全性及免疫有效性得到了多中心的验证^[18]。Godon 等^[19]报道了治疗性乙肝疫苗(名为 HP-110), 能够持久性地刺激 Th 细胞, 从而提高 HBeAg 血清转换, 降低病毒载量。Hayden 等^[20]报道了口服乙肝疫苗, 其原理主要是通过口腔或内脏的抗原提呈细胞(APCs)的活化来诱导免疫应答。其他还未用于临床的新型乙肝疫苗在此不赘述。

3 不同人群乙肝疫苗免疫策略

3.1 未成年人的乙肝疫苗接种策略 用于未成年人的乙肝疫苗主要是酵母菌表达的乙肝疫苗(酵母疫苗)和中国仓鼠卵巢细胞表达的乙肝疫苗(CHO 疫苗), 推荐剂量分别为 5 μg 和 10 μg , 接种 3 剂, 程序是 0、1、6 个月接种, 新生儿出生后 24 h 内接种首剂; 如果母亲是乙肝患者或是 HBV 携带者, 推荐给新生儿同时接种乙肝免疫球蛋白(HBIG), 剂量大于 100 U 效果好^[21]。崔富强等^[22]选取北京市、甘肃省和浙江省宁波市在 1997~2005 年出生的儿童(母亲 HBsAg 阳性)作为研究对象, 回顾性调查接种不同剂量重组乙肝疫苗(酵母疫苗)阻断 HBV 母婴传播的效果, 接种 10 μg \times 3 重组乙肝疫苗组及接种 5 μg \times 3 重组乙肝疫苗组的疫苗保护率分别为 97.29% 及 79.41%, 说明 10 μg 优于 5 μg 。Van Damme 等^[23]报道了由比利时、澳大利亚及乌克兰多中心组织的一项针对 11~15 岁青少年的随机单盲临床试验, 随访 5 年后, 试验组按成人剂量 20 μg , 程序是 0、6 个月接种重组乙肝疫苗(Engerix B), 对照组按儿童剂量 10 μg , 程序是 0、1、6 个月接种重组乙肝疫苗, 两组分别有 79.5% 及 91.4% 的研究对象乙肝病毒表面抗原抗体(anti-HBs)浓度大于或等于 10 mU/mL。国内针对未成年人接种 2 剂乙肝疫苗的方案还处在临床前研究阶段^[24]。

3.2 成年人的乙肝疫苗接种策略 国内 Ren 等^[25]报道了成人(16~49 岁)使用 3 种国产乙肝疫苗及 1 种进口乙肝疫苗的比较研究, 接种方案是 10 μg 剂量, 0、1、6 个月程序接种, 大连高新的乙肝疫苗血清 anti-HBs 阳转率最高, 达 95.05%, 同其他种疫苗相比, 差异有统计学意义; 国产乙肝疫苗与进口乙肝疫苗相比, anti-HBs 的几何平均滴度(GMT)的差异有统计学意义; 随着年龄的增加, 血清 anti-HBs 阳转率呈下降趋势($\chi^2 = 4.940, P = 0.026$)。王萍等^[26]报道成人接种不同剂量重组乙肝疫苗(汉逊酵母 CHO)的比较研究, 程序是 0、1、6 个月接种, 完成接种程序后 1~2 个月内进行血清学检测, 10 μg 组和 20 μg 组 anti-HBs 阳性率分别为 98.03% 和 99.41%, 抗体平均滴度分别为 173.42 mU/mL 和 585.51 mU/mL, 说明 20 μg 的免疫效果优于 10 μg 。国内缺少短接种周期报道, Hernández-Bernal 等^[27]报道了加速方案与传统方案的比较研究, 乙肝疫苗的剂量是 20 μg , 前者的接种程序是 0、10、21 d, 后者的接种程序是 0、1、6 个月, 1 个月末血清 anti-HBs 阳转率分别为 92.6% 及 96.3%, 加速方案具有与传统方案近似的免疫效果。

3.3 特殊人群的乙肝疫苗接种策略 免疫耐受或是免疫缺陷患者通过常规乙肝疫苗接种策略往往不能诱导机体产生保护性抗体。北京友谊医院 Feng 等^[28]报道了在肝移植患者使用两种方案的对比研究, 第一种方案是快速程序即 40 μg 乙肝疫苗在 0、1、2、3 个月接种, 20 μg 乙肝疫苗在 4、5、6 个月接种; 第二种方案是加速程序即 40 μg 乙肝疫苗在 0、7、14、28 d 接种, 20 μg 乙肝疫苗在 2、3、4 个月接种, 第一种方案应答率为

24.6%, 第二种方案应答率为 8.8%, 第一种方案优于第二种方案。Somi 等^[29]回顾性地研究了肝硬化患者(准备肝移植)乙肝疫苗的免疫效果, 接种方案是剂量 40 μg , 在 0、1、2、6 个月接种, 总体应答率为 39.2%, 对没有发生应答的患者按照原方案重新进行一轮接种, 又有 51% 发生应答反应。在艾滋病患者中, Potsch 等^[30]报道使用 40 μg 乙肝疫苗, 在 0、1、2、6 个月接种的方案, 完成 4 剂接种后, 血清抗体阳转率为 91%。

3.4 接种过乙肝疫苗人群的加强免疫策略 部分人群接种过乙肝疫苗后出现低应答或无应答, 可以重新进行一个循环乙肝疫苗接种, 婴幼儿剂量可由 5 μg 增加到 10 μg , 或是更换其免疫原性更好的疫苗(如 CHO 疫苗), 程序是 0、1、6 个月接种^[31]。针对接种乙肝疫苗获得了成功的保护性抗体, 数年后抗体水平下降的人群, 是否需要再次加强接种乙肝疫苗, 目前各国报道不一。中国大陆及台湾学者认为应当加强免疫, 欧洲乙肝低发病率国家的学者认为有回忆性应答不必加强免疫^[32-34]。

4 结 语

大量的证据显示, 注射乙肝疫苗是预防 HBV 感染的最有效方法。我国自从实行扩大计划免疫后, 对新生儿实行普遍的乙肝疫苗接种, 5 岁以下婴幼儿 HBV 的感染率已下降到 1% 左右, 取得了巨大的成就。近年来, 针对未成年人接种乙肝疫苗免疫效果的研究, 特别是乙肝疫苗在阻断母婴传播及针对未成年人免疫持久性等方面取得了较大的进展, 但是针对成人接种乙肝疫苗免疫效果的研究却相对较少。成人乙肝疫苗的应用理论大多来自于未成年人乙肝疫苗应用的研究成果。因而, 在实际应用乙肝疫苗预防 HBV 感染时, 成人不同于未成年人, 主要表现在如下几个方面: (1) 国家对新生儿实行免费接种乙肝疫苗的制度, 有完善的监管制度保证, 而成人实行的是自愿、自费接种乙肝疫苗的制度, 成人乙肝疫苗的接种率低; (2) 家长普遍关心下一代人的健康成长, 对儿童接种乙肝疫苗的依从性好, 而部分成人对自己的预防保健却认识不够, 特别是文化素质相对较低的农民; (3) 感染 HBV 的成人绝对数量大, 形成巨大的 HBV 库, 对未感染者形成了严重的威胁; (4) 成人流动性较大, 完成 3 针次的接种程序需要 6 个月的时间, 许多成人(如农民工)不能完成 3 针次的疫苗接种; (5) 政策上, 针对未成年人的研究获得了更多的基金支持; (6) 未成年及特殊人群(如学生、医务工作者)随访性好, 研究的可行性好, 普通人群则不易做到。因此, 研究适合我国成人的乙肝疫苗的种类及免疫程序十分必要。

参考文献

- [1] Kim WR. Epidemiology of hepatitis B in the United States [J]. *Curr Hepat Rep*, 2007, 6(1): 3-8.
- [2] Zampino R, Boemio A, Sagnelli C, et al. Hepatitis B virus burden in developing countries [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(42): 11941-11953.
- [3] Liang X, Bi S, Yang W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China—declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination [J]. *Vaccine*, 2009, 27(47): 6550-6557.
- [4] Chan HL, Jia J. Chronic hepatitis B in Asia—new insights from the past decade [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(Suppl 1): 131-137.
- [5] Mereckiene J, Cotter S, Lopalco P, et al. Hepatitis B immunisation programmes in European Union, Norway and

- Iceland; where we were in 2009? [J]. *Vaccine*, 2010, 28 (28):4470-4477.
- [6] Lu PJ, Byrd KK, Murphy TV, et al. Hepatitis B vaccination coverage among high-risk adults 18-49 years, U. S., 2009[J]. *Vaccine*, 2011, 29(40):7049-7057.
- [7] Zhao Z, Murphy TV, Jacques-Carroll L. Progress in newborn hepatitis B vaccination by birth year cohorts-1998-2007, USA[J]. *Vaccine*, 2011, 30(1):14-20.
- [8] Burnett RJ, Kramvis A, Dochez C, et al. An update after 16 years of hepatitis B vaccination in South Africa[J]. *Vaccine*, 2012, 30(Suppl 3):45-51.
- [9] Chiang CJ, Yang YW, You SL, et al. Thirty-year outcomes of the National hepatitis B immunization program in Taiwan[J]. *JAMA*, 2013, 310(9):974-976.
- [10] Cui F, Liang X, Gong X, et al. Preventing hepatitis B through Universal vaccination: reduction of inequalities through the GAVI China project[J]. *Vaccine*, 2013, 31 (Suppl 9):29-35.
- [11] 梁晓峰, 崔富强. 中国成人乙型肝炎免疫预防技术指南[J]. *中华流行病学杂志*, 2011, 32(12):1199-1203.
- [12] 宿飞, 孙超美, 姜铭波, 等. 血源性乙型肝炎疫苗免疫后 20 年效果探讨[J]. *中国疫苗和免疫*, 2011, 17(4):291-293, 298.
- [13] Grotto I, Mandel Y, Ephros M, et al. Major adverse reactions to yeast-derived hepatitis B vaccines—a review[J]. *Vaccine*, 1998, 16(4):329-334.
- [14] Hadji-Abbes N, Martin M, Benzina W, et al. Extraction and purification of hepatitis B virus-like M particles from a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain using alumina powder[J]. *J Virol Methods*, 2013, 187(1):132-137.
- [15] Seo HS, Park JS, Han KY, et al. Analysis and characterization of hepatitis B vaccine particles synthesized from *Hansenula polymorpha*[J]. *Vaccine*, 2008, 26(33):4138-4144.
- [16] 孙静, 韩悦, 王艳, 等. 接种不同剂量重组乙型肝炎疫苗(酵母、汉逊酵母)的血清抗体应答[J]. *中国疫苗和免疫*, 2010, 16(2):140-142.
- [17] Wang F, Zhao YL, Ma JC, et al. Long-term efficacy of 10-12 years after being immunized with Chinese hamster ovary cell derived hepatitis B vaccine in Chinese Rural Communities[J]. *Vaccine*, 2012, 30(12):2051-2053.
- [18] Van Der Meeren O, Kuriyakose S, Kolhe D, et al. Immunogenicity of infanrix? hexa administered at 3, 5 and 11 months of age[J]. *Vaccine*, 2012, 30(17):2710-2714.
- [19] Godon O, Fontaine H, Kahi S, et al. Immunological and antiviral responses after therapeutic DNA immunization in chronic hepatitis B patients efficiently treated by analogues[J]. *Mol Ther*, 2014, 22(3):675-684.
- [20] Hayden CA, Streatfield SJ, Lamphear BJ, et al. Bioencapsulation of the hepatitis B surface antigen and its use as an effective oral immunogen[J]. *Vaccine*, 2012, 30(19):2937-2942.
- [21] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. *胃肠病学*, 2011, 16(6):351-366.
- [22] 崔富强, 王富珍, 郑徽, 等. 接种不同剂量重组乙型肝炎疫苗(酵母)阻断乙型肝炎病毒母婴传播的评价[J]. *中国计划免疫*, 2007, 13(4):289-292.
- [23] Van Damme P, Moiseeva A, Marichev I, et al. Five years follow-up following two or three doses of a hepatitis B vaccine in adolescents aged 11-15 years: a randomised controlled study[J]. *BMC Infect Dis*, 2010, 10(1):357.
- [24] Li J, Zhang D, Ma R, et al. Preclinical evaluation of a two-dose vaccination schedule of recombinant *Hansenula polymorpha* hepatitis B vaccine in animals[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2013, 9(4):736-743.
- [25] Ren JJ, Dai XW, Jiang ZG, et al. Immunological effects of a 10- μ g dose of domestic hepatitis B vaccine in adults[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2012, 13(11):948-954.
- [26] 王萍, 李艳萍, 韦琳, 等. 成人接种不同剂量重组乙型肝炎疫苗(汉逊酵母)的免疫学效果评价[J]. *中国疫苗和免疫*, 2013, 19(5):448-450.
- [27] Hernández-Bernal F, Aguilar-Betancourt A, Aljovin V, et al. Comparison of four recombinant hepatitis B vaccines applied on an accelerated schedule in healthy adults[J]. *Hum Vaccin*, 2011, 7(10):1026-1036.
- [28] Feng L, Niu Y, Chen H, et al. Immunogenicity of different hepatitis B virus vaccination schedules in liver transplant recipients[J]. *Hepatol Res*, 2013, 43(5):495-501.
- [29] Somi MH, Hajipour B. Improving hepatitis B vaccine efficacy in end-stage renal diseases patients and role of adjuvants[J]. *ISRN Gastroenterol*, 2012(2012):960413.
- [30] Potsch DV, Camacho LA, Tuboi S, et al. Vaccination against hepatitis B with 4-double doses increases response rates and antibodies titers in HIV-infected adults[J]. *Vaccine*, 2012, 30(41):5973-5977.
- [31] Han K, Shao X, Zheng H, et al. Revaccination of non- and low- responders after a standard three dose hepatitis B vaccine schedule[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2012, 8(12):1845-1849.
- [32] Schillie S, Murphy TV, Sawyer M, et al. CDC guidance for evaluating health-care personnel for hepatitis B virus protection and for administering postexposure management[J]. *MMWR Recomm Rep*, 2013, 62(RR/10):1-19.
- [33] Su FH, Chu FY, Bai CH, et al. Efficacy of hepatitis B vaccine boosters among neonatally vaccinated university freshmen in Taiwan[J]. *J Hepatol*, 2013, 58(4):684-689.
- [34] Chen Y, Lv H, Gu H, et al. The effects of different dosage levels of hepatitis B vaccine as booster on anti-HBs-negative children 5-15 y after primary immunization; China, 2009-2010[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10(2):498-504.