

丙型肝炎疫苗研究现状及策略

聂青和 综述

李梦东 审校

丙型肝炎病毒(HCV)感染有潜在的致肝硬化和肝癌的危险。约 60% 的急性丙型肝炎(HC)患者转化为慢性^[1]。到目前为止,尚未发现令人满意的治疗药物。因此,HCV 感染的防治工作更应以预防为主,这样 HCV 疫苗的研究就成为当务之急的前沿课题,但是 HCV 的体外培养分离尚未成功,HCV 病毒蛋白仍很难从培养和血清中分离获得,用传统的方法制备疫苗是不可能的;而且尚未找到 HCV 保护性中和抗体,少数有关 HCV 的中和抗体的报道,还需要进一步观察证实^[2]。笔者就 HCV 疫苗的研究现状综述如下。

HCV E 区基因的研究

HCV nt 变异贯穿了整个基因组,但 E 区变异最大。HCV 属黄病毒科,黄病毒和瘟病毒包膜蛋白诱导机体产生的抗体为保护性中和抗体^[3]。所以,HCV E 区基因及其编码的包膜糖蛋白,是 HCV 疫苗研究的重点和关键。HCV E 区有两个高变区(HVR₁, HVR₂),Kato 等^[4]对 E₁ 和 E₂ 区的 40 个克隆进行了序列分析,证明 HCV-J 和 HCV-US 同型不同株间 nt 的差异分别为 12%~24% 和 8%~17%,HVR₁ 变异高于 HVR₂,同一患者中可能有多种不同的变异体存在。HVR₁ 氨基酸的突变具有累积性,在 HVR₁ 新的变异体出现 2~3 月后,可测到针对原 HVR₁ 的抗体,提示 HVR₁ 可能含有诱导机体产生中和抗体的抗原表位。目前发现 E₂ HVR 含特异性抗体结合的线性表位,是一个快速突变的蛋白区。HC 患者病情加重和 E₂ HVR 的变异体出现相关。HCV E₂ HVR 变异体出现是机体免疫压力选择作用的结果,反过来新的变异体出现又使病毒逃逸了机体的免疫监视^[5]。最近 Shimizu 等人^[6]应用 HCV 敏感的细胞系 HPB-Ma 进行 HCV 感染的体外阻断试验,证明了 HCV 感染者中有中和抗体的存在。但结果提示在 HCV 慢性感染中,HCV 出现了

新变异体,抗原性发生了改变。中和抗体仅能和最近的 HCV 株发生反应。

重组痘苗病毒载体表达的黄病毒和瘟病毒蛋白可诱导机体产生中和抗体^[3],所以重组痘苗病毒载体在表达 HCV 包膜糖蛋白中具有重要应用价值。Ralston 等^[7]用重组痘苗病毒载体转染哺乳动物细胞成功地表达了 HCV 结构蛋白,发现所表达的 E₁ 和 E₂ 包膜糖蛋白易形成复合物。用纯化的包膜糖蛋白 E₁ E₂ 复合物免疫黑猩猩可产生高滴度的抗 E₁ 和抗 E₂ 抗体。而应用 E₁ 包膜糖蛋白仅能刺激机体产生弱的免疫反应,提示 E₁、E₂ 包膜糖蛋白可能均是 HCV 疫苗的必需成分。

抗 HCV 感染的免疫力

HCV 感染者易转化为慢性^[1],说明大多数 HCV 感染者缺乏足够的免疫力,不能清除体内病毒,易成为持续性感染者。最近香港学者报告在急性散发性肝炎的病原学中 HCV 感染极为罕见^[8]。说明 HCV 在人群中绝大多数以慢性感染的形式存在。90%~100% 的 HCV 感染者均有抗 HCV-C、NS₃ 和 NS₄ 抗体^[9]。抗 HCV 阳性者 HCV RNA 阳性率高达 80%~90%,高效价抗 HCV 及其持续性与病毒血症有关。感染 HCV、抗 HCV 阳性的黑猩猩受到同源或异源 HCV 株攻击后,仍会再次发病^[10],这与早先发现的 HC 患者可能有多次复发的结果相似,说明感染 HCV 后机体的免疫力可能非常弱,甚至完全没有。感染 HCV 后缺乏足够免疫力的原因可能是:① 体内 HCV 病毒量很低,一般 < 10³ CID/ml,可能没有足够的免疫原刺激产生稳定的免疫保护力;② HCV RNA 和病毒蛋白变异很大,至少存在 6 个基因型和 3 个血清型^[11],彼此间可能没有交叉保护力;③ 可能与免疫选择和进化有关的 HCV E 区基因变异较大,很容易形成免疫逃逸突变株。世界各地分离的部分 HCV 株 E 基因的变异率高达 20%~40%,甚至抗 HCV-E 抗体之间也没有交叉免疫反应,这是疫苗研制的一个重要障碍。

HCV 疫苗的现状与研究策略

1993 年底美国 Chiron 公司的 Choo 等^[12]报告用重组痘苗病毒载体, 在 HeLa 细胞中表达 HCV 包膜糖蛋白 E₁ 和 E₂, 加佐剂制成 HCV 疫苗。在 0、1、7 月份对 7 只黑猩猩进行免疫, 均产生了抗 E₁、抗 E₂ 抗体, 而且效价高于慢性 HCV 感染者, 在最后 1 次加强免疫后 2~3 周, 用约 10 个 CID₅₀ 的 HCV 静脉攻击动物, 7 只中只有 5 只获得了完全性保护, 而对对照组 5 只黑猩猩均发生了 HCV 感染。这表明应用疫苗预防 HCV 感染有效, 另两只抗 HCV-E 抗体效价 < 15 000 的黑猩猩一过性感染了 HCV, 表现为血清 HCV RNA 短暂阳性和丙氨酸转氨酶值一过性升高, 但没有转化为慢性。正如 Koziel^[13]等指出, 尽管应用了较大剂量的 E₁、E₂ 包膜糖蛋白及多次免疫程序, 仍有黑猩猩受到感染。今后研制的疫苗应能够保护大剂量 HCV 攻击。此外, Choo 等的研究是在最后一次加强免疫后动物血清抗 HCV-E 抗体效价达到高峰时进行攻击, 攻击后 HCV-E 抗体效价迅速下降, 现在不知免疫后抗体能维持多久, 该抗体水平和免疫保护间的关系仍需要进一步研究, 这是决定疫苗有效性的另一个因素。实验中除了两只动物曾用活的重组痘苗病毒免疫外, 其它均用重组表达的包膜蛋白, 均不能产生明显的细胞免疫反应, 因此应进一步研究针对 HCV 的细胞免疫反应。更值得一提的是 Choo 等的研究尚未涉及 HCV 疫苗能否保护不同株的 HCV 感染, 实际上研制 HCV 疫苗最大的障碍是 HCV E 区高度变异, 有效的 HCV 疫苗必须能够诱导机体产生针对多种 HCV 株的免疫反应。是否能通过加入不同株高度保守的位点或包括多个株多种变异位点来解决这一问题, 因而将来的疫苗可能是一种混合疫苗^[14]。与 HCV 感染有关的细胞免疫是 HCV 疫苗研制的另一方面。Koziel 等^[15]从慢性 HC 患者肝脏中浸润的淋巴细胞中发现有针对 HCV E₁ 和 NS₂ 的人白细胞抗原 (HLA)-I 型相关的细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL), 进而在体外研究了 CTL 所识别的 HCV 表位, 结果发现至少存在四个与 HLA-I 型有关的表位, HCV C 蛋白比较保守, 变异性不大, 除了可能是 CTL 的靶抗原外, 也可能是体液免疫及辅助性 T 细胞识别的主要抗原。但 HCV E₂ 蛋白的 CTL 识别位点变异性很大, 可能象 HIV-1 一样, 借助 CTL 表位的变异以逃逸免疫监视。因此, CTL 识别表位的发现有助于 HCV 多肽疫苗的研究。美国 Merck 实验室以基因疫苗的方法建立了

CTL 介导的细胞免疫来预防流感病毒取得成功。这对目前面临困境的 HCV 疫苗研究有一定的指导意义, 提供了一条新思路。HCV 包膜蛋白变异性很大, 这与流感病毒相似, 但其核心蛋白高度保守。因此, 通过基因转移方法, 将 HCV-C cDNA 导入体内, 表达 C 蛋白后, 借助 CTL 介导的细胞免疫, 能否预防 HCV 感染, 颇值得研究。

参 考 文 献

- 1 Saito I, Miyamura T, Ohbayashi A, et al. Hepatitis C virus infection is associated with development of hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87:6547.
- 2 Farci P, Alter HJ, Wong DC, et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees after antibody-mediated in vitro neutralization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91:7792.
- 3 Rumenapf T, Stark G, Meyers G, et al. Structural proteins of hog cholera virus expressed by vaccinia virus; Further characterization and induction of protective immunity. *J Virol*, 1991, 65:589.
- 4 Kato N, Sekina H, Nakazawa T, et al. Hepatitis C virus hypervariable region may confer escape from immunosurveillance. In: Nishioka K, Suzuki H, Mishiro S, et al (eds). *Viral hepatitis and liver diseases*. Tokyo: Springer-Verlag, 1994, 329.
- 5 Weiner AJ, Geysen HM, Christopherson C, et al. Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants; Potential role in chronic HCV infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89:3468.
- 6 Shimizu YK, Hijikata M, Iwamoto A, et al. Neutralizing antibodies against hepatitis C virus and the emergence of neutralization escape mutant viruses. *J Virol*, 1994, 68:1494.
- 7 Ralston R, Thudium K, Berger K, et al. Characterization of hepatitis C virus envelope glycoprotein complexes expressed by recombinant vaccinia viruses. *J Virol*, 1993, 67:6753.
- 8 BCY Wong, CL Lai, JYC Lo, et al. Incidence of acute hepatitis A to E in Hong Kong; A prospective study. *Hepatology* 1994, 20:414A.
- 9 Viazov S, Zibert A, Ramakrishnan K, et al. Typing of hepatitis C virus isolates by DNA enzyme immunoassay. *J Virol Methods*, 1994, 48:81.
- 10 Farci P, Alter HJ, Govindarajan S, et al. Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. *Science* 1992, 258:135.
- 11 Dusheiko GM, Virology and sequence variation of hepatitis

C. Lancet, 1995, 345 :563.

12 Choo QL, Kuo G, Ralson R et al. Vaccination of chimpanzees against infection by the hepatitis C virus. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91 :1294.

13 Koziel MJ, Liang TJ. Vaccination against hepatitis C virus infection, miles to go before we sleep. Hepatol, 1994, 20 : 758.

14 Harrison TJ. Prospect for a hepatitis C vaccine. Lancet, 1995, 345 :565.

15 Koziel MJ, Dudley D, Wong JT, et al. Intrahepatic cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus in persons with chronic hepatitis. J Immunol, 1992, 149 : 3339.

(收稿: 1996-05-24 修回: 1996-09-25)

择期剖宫产术中剖宫产儿综合征原因分析

杜毅新¹ 夏占波²

随着剖宫产率的逐年上升,人们除了关注剖宫产术对新生儿死亡的影响外,还提出了剖宫产儿综合征的问题。据此,对我们医院 582 例剖宫产儿分为择期和急症两组进行对比分析。

一、资料和方法:选择 1986 年 7 月至 1996 年 7 月,孕妇年龄在 22~40 岁,孕周为 37~42 周,肝、肾功能正常,无手术禁忌症,胎儿宫内发育正常,无胎儿窘迫、无畸形的剖宫产儿 582 例,其中择期剖宫产儿 112 例,急症剖宫产儿 470 例。术前两组用药相同,选择连硬外麻,麻醉用药为 2%利多卡因,术中输液选用对母儿无副作用的林格氏液,术后跟踪观察新生儿 7 天。

二、结果:

1. 两组剖宫产新生儿所患疾病人数及死亡人数:择期剖宫产儿组中,新生儿死亡 2 例,均死于肺透明膜症所致的呼吸、循环衰竭,新生儿窒息 6 例,新生儿吸入性肺炎 3 例,新生儿硬肿症 1 例;而急症剖宫产儿组中,无一例新生儿死亡,但新生儿窒息有 3 例,新生儿肺炎 3 例,新生儿硬肿症 1 例。

2. 两组剖宫产儿组新生儿患病情况:择期剖宫产儿 110 例,患病 10 例,急症剖宫产儿 470 例,患病 7 例。经 χ^2 检验, $P < 0.01$, 差异有显著性,说明择期剖宫产术中新生儿患病率显著高于急症剖宫产术中新生儿。

三、讨论:目前有关剖宫产儿综合征报道尚少。本资料显示,择期剖宫产术出现剖宫产儿综合征的

患病率大于急症剖宫产,且前者死亡 2 例,后者无一例死亡,分析其原因:①择期剖宫产由于尚未出现子宫收缩,胎头未受刺激,处于缺血状态下娩出,中枢神经处于功能低下状态,使其呼吸中枢神经受抑制;口、鼻、咽腔内积存的液体约 15ml 因未受挤压,难以排出,影响气道通畅和气体交换,在建立第一口呼吸时易致羊水吸入;胎儿胸壁未受挤压,胎肺组织含水量较多,肺泡内渗液也较多,出生后易致湿肺,使肺扩张程度较差,滞留在肺泡内的液体虽然能迅速蒸发,但是不能蒸发的物质,如纤维蛋白等粘附在肺泡及支气管壁上,形成嗜伊红膜,阻碍了气体交换,导致呼吸困难;②剖宫产儿体内免疫因子(IgA、IgG、IgM、C3、备解因子 B 等)含量低,抵抗能力低下,易致感染;③由于硬膜外麻醉仰卧位,使产妇血压下降,减少了子宫胎盘血液灌注而导致胎儿宫内缺氧;④切开子宫肌层到胎儿身体全部娩出的时间间隔延长;⑤新生儿娩出后体位摆放不当;⑥手术者技术问题等均是择期剖宫产术中易出现剖宫产儿综合征的致命弱点。

所以针对以上原因,我们提出以下 6 点建议:①严格掌握剖宫产指征,杜绝一切社会因素所致的择期剖宫产发生。②一般情况下,尽量做催产素激惹试验,诱发宫缩,了解胎儿对宫缩的耐受性。③产术中体位,常规行左侧 15° 卧位,上半身抬高 30°。④掌握好麻醉的深度。⑤处理好新生儿第一口呼吸,减少盲吸法,提倡喉镜下抽液法。⑥因剖宫产儿体内免疫因子少,又易发生湿肺和呼吸窘迫综合征,所以,需常规使用抗生素预防感染。

(收稿: 1997-08-11 修回: 1997-10-17)

1 湖南省慈利县人民医院妇产科 427200

2 安化县人民医院妇产科