

## 综述

## 乙型肝炎疫苗的研究现状

北京医学院流行病学教研室 庄 辉

乙型肝炎感染是目前世界上一个严重的公共卫生问题[1, 2]。据报导,美国乙型肝炎累积感染率(即人群HBsAg、抗-HBs以及抗-HBc阳性率之和)为7~10%,东南亚和非洲为60~80%。虽然由于报告不全和监测方法不同,乙型肝炎总发病率难以估计,但据美国、澳大利亚、瑞典和希腊等国报导,乙型肝炎发病率仍在继续上升;约50~70%急性临床型肝炎病例为乙型肝炎。

感染乙型肝炎病毒后,约6~10%患者可成为慢性携带状态。据估计,目前世界上HBsAg携带者人数在2亿以上。美国和西欧HBsAg流行率在0.5%以下,南美和南欧为1~2%,北非和苏联大部分地区为3~5%,中非、南非和东南亚为6~10%及以上[3]。值得指出的是:HBsAg携带者母亲在乙型肝炎围产期传播中起重要作用。例如在人群HBsAg流行率较高的地区,HBsAg携带者母亲所生之婴儿,其中40~70%可成为HBsAg阳性者。

乙型肝炎病毒携带状态与慢性肝病有关,其中一些患者可发展为肝硬化和原发性肝细胞癌。据估计,1977年美国死于肝硬化者30,848例,其中11%与乙型肝炎病毒感染有关;死于原发性肝细胞癌者2,409例,其中约36%(867例)与乙型肝炎病毒感染有关。有人对我国台湾政府职员前瞻性调查表明,HBsAg携带者患原发性肝细胞癌的危险性较非HBsAg携带者高200倍以上。台湾省男性HBsAg携带者死于原发性肝细胞癌或肝硬变的寿命危险性(Life-time risk)约50%[2]。

乙型肝炎感染在某些人群尤为严重,例如多次输血患者、免疫缺陷患者、血透析、器官移植以及肿瘤科患者和工作人员、精神迟钝教养机构住院者和工作人员、医院护理人员 and 实验室工作人员、以及同性恋者、毒瘾者和妓女等。血透析患者和医务人员乙型肝炎病毒感染总流行率分别为65%和40%。同性恋者乙型肝炎病毒感染流行率为70%。美国HBsAg携带者中1/6为同性恋者[4]。

但是,目前所采取之各项乙型肝炎预防措施均有一定局限性,例如用灵敏方法对所有供血者进行

HBsAg筛选、禁止使用商品血源、血透析单位中HBsAg阳性与阴性病人及其所用的器械分开等切断传播途径的措施,对输血和血透析单位具有重要意义,可使输血后肝炎发病率下降85%,但对其他人群的预防效果并不显著,亦不能用于暴露后预防。乙型肝炎免疫球蛋白(HBIG)和免疫血清球蛋白(ISG)被动免疫虽是目前用于暴露后预防的唯一措施;但HBIG最高保护率只有60%左右,且该制剂较贵,保护期限较短(半年);因此,反复暴露者需定期重复注射HBIG。应用特异性抗病毒制剂可能是治疗大量乙型肝炎病毒慢性携带者的一种方法,但目前人和动物试验表明,虽然少数病人和动物于应用抗病毒制剂后,体内乙型肝炎病毒完全被消除,但多数受试者于停用该类制剂后,乙型肝炎指标又回升到治疗前水平。因此,最近10年来,各国学者努力发展乙型肝炎疫苗,做了大量研究工作。目前乙型肝炎疫苗已研制成功,正在进行现场流行病学试验,如再次证明本疫苗有预防效果,且无严重副作用,美国食品药品监督管理局已于1980年正式批准本疫苗,并可广泛用于防疫实践。

## 乙型肝炎疫苗的特点

乙型肝炎疫苗的研究始于1970年。到目前为止,已研制出三代疫苗。

**一、第一代乙型肝炎疫苗:**第一代乙型肝炎疫苗以Krugman等<sup>⑥</sup>和Soulier等<sup>⑦</sup>全血清疫苗为代表(表1)。此2种疫苗均为未经纯化之HBsAg阳性血清,经98°C加热1分钟或60°C灭活10小时。Krugman等<sup>⑥</sup>证明HBsAg阳性血清用蒸馏水稀释至1:10,98°C加热1分钟,可使乙型肝炎病毒灭活,但仍具有抗原性,接种后可使69%易感者免于发病。但Soulier等<sup>⑦</sup>报告,HBsAg阳性血清经60°C加热10小时并不能使乙型肝炎病毒完全灭活,接种后可能发病。

**二、第二代乙型肝炎疫苗:**Krugman等<sup>⑥</sup>的观察结果极大地促进了各国学者对乙型肝炎疫苗的研究。此后,各国学者致力于制备较为高度纯化之第二

代乙型肝炎疫苗〔8~11〕, 以提高本疫苗的免疫原性和

安全性。第二代乙型肝炎疫苗的特点见表 1。

表 1

第一、二代乙型肝炎疫苗的特点〔13〕

疫苗代数	研制者	亚型	剂型	每次疫苗剂量之蛋白质浓度 (μg/ml)	纯化方法	灭活方法
1	Krugman等	单价, ayw	1:10稀释血清	未报告	未纯化	98°C加热1分钟
1	Soulier等	未报告	未稀释血清	未报告	未纯化	60°C加热10小时
2	Purcell等	单价, ayw或adr	亚单位(22nm)	20*	离心	福尔马林1:2,000 37°C96小时
2	Buynak等	二价, ad和ay	亚单位(主要为22nm)	20	离心和化学处理	福尔马林1:4,000 37°C72小时
2	Maupas等	单价, ayw	亚单位(混合颗粒)	100	固相免疫吸附剂	福尔马林1:1,000 37°C48小时; 或4°C1周
2	Reesink等	单价, adw	亚单位(混合颗粒)	未报告	化学吸附剂和离心	101°C加热90秒; 或65°C10小时

\* 特异性HBsAg浓度; 本疫苗还含有1.4%正常人血清白蛋白。

**三、第三代乙型肝炎疫苗:** 虽然上述疫苗(除 Soulier疫苗外)均无残余乙型肝炎病毒污染, 亦无即刻型或迟缓型不良反应, 但对猩猩的免疫原性均不强。其中某些疫苗曾在“志愿者”身上进行试验, 结果人产生抗-HBs水平甚至较猩猩更低。为了进一步探索更加安全、有效的乙型肝炎疫苗, 各国学者先后研制出第三代乙型肝炎疫苗(表 2)〔12-20〕。此代疫苗的特点如下:

**1. 纯化方法:** 此代疫苗绝大多数为22nm HBsAg颗粒纯化制剂, 均经不同方法纯化, 包括单纯超速离心(NIAID疫苗)、超速离心和酶消化相结合(MSD疫苗)、单纯亲和层析(Maupas疫苗)以及聚乙烯乙二醇沉淀和超速离心相结合(Maupas疫苗)。此外, 一些学者研制出更为纯化之乙型肝炎疫苗。Hollinger等〔15〕应用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离出2种分子量为22,000和25,000之HBsAg多肽作为疫苗。Skelley等〔21〕应用较弱的非离子清洁剂Triton x100R溶解HBsAg颗粒, 最后获得2个低分子量的多肽成分(分子量为23,000和28,000)。Prince等〔19〕将HBeAg阳性血清经聚乙烯乙二醇组分沉淀, 然后溶解沉淀物, 并将大颗粒在pH5.0下再次沉淀, 而将主要为小颗粒之上清液用羟基磷灰石吸附纯化, 最后将此二产物经氯化铯梯度离心, 从而获得含有HBeAg和所有3种HBsAg颗粒(包括Dane颗粒)之疫苗。

多肽疫苗理论上不含有宿主污染物以及病毒或宿主的核酸, 但仍含有产生保护性抗体所必需之抗原决定簇。猩猩试验表明: 多肽疫苗具有抗原性, 且可预防乙型肝炎病毒感染。虽然理论上多肽疫苗较完整的

病毒颗粒疫苗具有更大的优越性, 但其成本高, 且抗原产量较低。

**2. 原始材料:** 上述疫苗的原始材料均为慢性HBsAg携带者的血浆。此类血浆的传染性(完整的传染性乙型肝炎病毒颗粒数量)和HBsAg滴度与血浆中是否存在HBeAg密切相关。相反, 血浆中存在抗-HBe与相对无感染性(但不是绝对的)以及HBsAg滴度较低有关。鉴于上述情况, 世界卫生组织〔22〕于1979年修订了原先关于乙型肝炎疫苗的原始材料应无HBeAg、DNA多聚酶活性和Dane颗粒的建议。人和猩猩安全试验均表明, 由乙型肝炎指标阳性血浆制备之疫苗并无残余乙型肝炎病毒传染性。

**3. 亚型:** 此代疫苗大多数只有一个亚型, 但猩猩交叉攻击试验证明, 对a决定簇的抗体足以预防乙型肝炎病毒各种亚型的再感染。

**4. 剂型:** 由NIAID、MSD以及Maupas等制备之初期疫苗均为液体制剂。多数动物试验表明, 该类疫苗对猩猩具有抗原性, 可产生有效的保护抗体反应, 但当同样疫苗用于“志愿者”时, 结果却并不理想, 其抗体反应一般出现较迟, 且滴度较低。因此, 大多数第三代疫苗均以氢氧化铝或磷酸铝作为佐剂, 以提高疫苗的效力。

**5. 剂量:** 用于猩猩和人体试验之乙型肝炎疫苗剂量低至2-10μg(Maupas等疫苗), 高至50μg(NIAID疫苗)。但是, 猩猩试验的结果并不能正确反映乙型肝炎疫苗用于人的效力。因此, 为了评价不同乙型肝炎疫苗的相对效力, 必须有适宜的疫苗标准和可信的体内试验系统。常规动物系统例如豚鼠已用于乙型肝炎疫苗的免疫原性定量, 但此类动物甚至对

表 2

第三代乙型肝炎疫苗的特点

研制者 (文献)	亚型	剂型	每次疫苗剂量 之蛋白质浓度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	纯化方法	灭活方法
Hilleman等 <sup>(12)</sup> (MSD疫苗) <sup>①</sup>	单价, adw	亚单位(22nm)	20-40	超速离心和酶消化	福尔马林1:4,000 37°C 72小时
Purcell等 <sup>(13)</sup> (NIAID疫苗) <sup>②</sup>	单价, adw	亚单位(22nm)	20-50 <sup>③</sup>	超速离心	福尔马林1:2,000 37°C 96小时
Maupas等 <sup>(14)</sup>	二价, ad+ay	亚单位 (混合颗粒)	2-10	亲和层析或 聚乙烯乙二醇沉淀 与超速离心相结合	福尔马林1:2,500 37°C 48小时, 或4°C 7天
Hollinger等 <sup>(15)</sup>	二价, adw + ayw	多肽(分子量为 22,000和 25,000)	40	十二烷基硫酸钠— 聚丙烯酰胺凝胶电 泳	
Reesink等 <sup>(16)</sup>	单价, ad	亚单位(22nm)	25	化学吸附剂和超速 离心	加热101°C90秒或 65°C10小时
Shikata <sup>(17)</sup>	单价, adr	亚单位(22nm)	20	亲和层析、超速离 心和/或凝胶层析 加酶醇化或不加酶 醇化	加热60°C10小时和 福尔马林1:2,000 37°C96小时
陶其敏等 <sup>(18)</sup>	未报告	亚单位(小园球状 颗粒)	未报告	超速离心	福尔马林1:1,000 (温度和时间未报告)
Cabasso <sup>(17)</sup>	二价, adw + ayw	亚单位(22nm小园 球状颗粒和少量丝 状颗粒)	未报告	与Shikata疫苗相 同	加热60°C10小时和 福尔马林处理(条 件未报告)
Prince等 <sup>(19)</sup>	单价, adw	亚单位(5nm颗粒)	50 <sup>③</sup>	聚乙烯乙二醇沉 淀、羟基磷灰石吸 附和氯化铯梯度离 心	吐温80(1%)和福 尔马林1:2,000 37°C72小时
Crosnier等 <sup>(20)</sup>	四价, ayw <sub>2</sub> + ayw <sub>3</sub> + ayw <sub>4</sub> + adw <sub>2</sub>	亚单位 (混合颗粒)	5	区带离心	福尔马林1:10,000 30°C48小时

注: ① MSD 即 Merck Sharp and Dohme。② NIAID 即 The National Institute of Allergy and Infectious Diseases。③ 此疫苗的一些批号含有人血清白蛋白; NIAID疫苗之剂量浓度为HBsAg浓度。

极微量疫苗亦很敏感,于注射0.1~1 $\mu\text{g}$  HBsAg一次剂量后,50%豚鼠可产生免疫反应。初步资料表明,小鼠效力试验可能更适用于比较评价。

最近发现至少有3种动物的肝炎病毒(土拨鼠肝炎病毒、地松鼠肝炎病毒和北京鸭肝炎病毒)与乙型肝炎病毒极为相似[23-25],从而认为在动物界可能存在一个新的人乙型肝炎样病毒科(Human hepatitis B-like family of viruses)。上述3种动物有可能作为研究乙型肝炎和乙型肝炎疫苗预防效果的廉价

动物模型。

**四、其他乙型肝炎疫苗:**考虑到由人血浆制备之乙型肝炎疫苗的安全性问题,一些学者试图用其他来源获得HBsAg,以制备乙型肝炎疫苗。

**1. 用乙型肝炎病毒DNA重组和在细菌细胞系建立无性系繁殖制备HBsAg[26-27]:**一些研究者已建立了乙型肝炎病毒DNA无性系繁殖。一旦用此法制备HBsAg成功,则可生产大量成本较低之HBsAg。此外,本法可选择只是主要抗原决定簇的整组基因部

分(例如 a 决定簇)作无性系繁殖,故可用来生产特别安全,且成本较低之乙型肝炎疫苗。

**2. 在体外组织培养系统中繁殖乙型肝炎病毒**<sup>[28]</sup>: 目前此法尚未成功。但一旦此法成功,则可提供为生产疫苗所需之大量病毒来源。但是,由此生产之疫苗亦存在与其他组织培养疫苗共同的问题,例如组织培养系统不可能产生与慢性HBsAg携带者血浆相当之病毒抗原水平(高达 $10^{13}$ HBsAg颗粒/毫升)等。

此外,组织培养还可作为检验乙型肝炎疫苗安全性和研究乙型肝炎病毒感染机制的一种方法。

**3. 用人肝癌细胞系体外生产HBsAg**<sup>[29-31]</sup>: 现已报告有2株人肝癌细胞系可产生HBsAg,其中一株为Alexander细胞系,现已证明此细胞系含有大部分乙型肝炎病毒的完整的基因组,它们结合于宿主细胞的基因组中;但未发现有HBeAg、HBcAg以及完整的感染性病毒。由于人肝癌细胞系具有恶性变特点,且产生HBsAg量较少,故不宜作为生产乙型肝炎疫苗之用。但是,此细胞系可以大量繁殖,如果由此制备之乙型肝炎疫苗的安全性得以确保,则此法极有希望。

**4. 乙型肝炎表面抗原多肽疫苗的制备**<sup>[41-44]</sup>: 另一个刚制备好的HBV疫苗是来自HBsAg的22-nm球形颗粒的多肽成分。HBV表面抗原的多肽各作者分离出的数目不同,有人分离出7个,有人9个,但都认为至少有两个主要多肽,它们HBV的抗原决定簇:一个多肽分子量在22,000~24,000dalton,另一个分子量在26,000~29,000,后者是带葡萄糖基的;前者定名P I(或P23),后者定名P II(或P28)。其余的大分子量多肽是P I和P II的聚合物。最近Skelly等<sup>[42]</sup>报告已从这两个多肽的复体制出一些可溶于水的蛋白胶粒(Protein micelles),可能是第三代HBV疫苗的适宜的基础物质。通过实验得知,不但多肽可以刺激动物产生抗-HBsAg的抗体(抗-HBs),而且这种新制出的胶粒制品加上铝佐剂可以刺激动物产生比完整HBsAg颗粒更高的抗-HBs。如Zuckerman所说<sup>[43]</sup>这类多肽疫苗应当比22-nm亚单位疫苗更安全,因为它们会比22-nm颗粒更不容易含有感染性颗粒或者更不易有宿主蛋白的污染;这种宿主蛋白的污染可能在一些疫苗接受者中产生不良反应。最近Vyas<sup>[41]</sup>正在准备人工合成这两种多肽,制成疫苗,其安全性会更加提高,因为已有不少人将这两个多肽的氨基酸顺序测出,为人工合成打下了基础。

## 猩猩试验

大多数猩猩试验的目的是:1、确定疫苗是否含有传染性乙型肝炎病毒或其他传染性因子;2、确定疫苗能否产生对乙型肝炎病毒感染的保护性免疫;3、了解关于疫苗的免疫原性、剂量反应关系、自家免疫反应以及暴露后可否接种疫苗等问题。

**一、安全试验:** 现行乙型肝炎疫苗在人群中进行评价之前,一般均在血清学阴性之猩猩身上作疫苗安全和效果试验。目前美国每批新疫苗至少用4只血清学阴性之猩猩作安全试验。一般其中2只猩猩静脉注射疫苗1次,另外2只静脉注射疫苗10次,然后每只猩猩至少观察6个月,监测其是否有乙型肝炎病毒感染的血清学、生化学或组织学证据。虽然不是所有的猩猩安全试验均符合上述条件,但结果表明,现行乙型肝炎疫苗并无残余乙型肝炎病毒以及其他肝炎致病因子(表3)。

有人认为多次接种乙型肝炎疫苗,可能掩盖其中含有少量传染性乙型肝炎病毒<sup>[19]</sup>。Gerety等<sup>[17]</sup>的研究支持这一假设:2只猩猩先后注射100次乙型肝炎疫苗和1次已知有传染性乙型肝炎病毒的接种物,结果均未发现有乙型肝炎病毒感染的血清学或其他证据。此种明显干扰现象的机制尚不清楚,可能是对接种大量HBsAg而产生的一种免疫反应。但Purcell等<sup>[13]</sup>报告,猩猩接种10次含有活的乙型肝炎病毒之疫苗后,发生典型的乙型肝炎。上述结果表明,静脉注射1~10次疫苗,对于确定其是否含有活的残余乙型肝炎病毒是适宜的。

几次猩猩安全试验<sup>[16, 19, 32]</sup>均未证明,动物于接种乙型肝炎疫苗后发生自家免疫性肝病或产生对肝细胞膜成分的自家抗体(肝特异性蛋白质抗体),亦未发现任何接种疫苗之猩猩发生非甲非乙型肝炎以及局部或系统过敏反应。

**二、免疫原性试验:** 猩猩试验表明,所有疫苗均有免疫原性,动物于接种疫苗后均产生抗-HBs。但对不同疫苗所产生之抗-HBs,反应类型和强度并不相同,这可能与疫苗的效力、剂量、接种次数、采血时间以及猩猩免疫反应的遗传变异性有关。例如NI-AID二价疫苗,用4个不同剂量(50、20、10和5 $\mu$ g)测定其免疫原性,每组动物皮下注射疫苗2次,间隔1个月。结果注射较大剂量之动物,最初抗-HBs滴度较高,但于接种后6个月及1年检测,所有4组动物的抗-HBs滴度极为相似。接种疫苗猩猩所产生之抗

表3 乙型肝炎疫苗在猩猩身上安全试验结果

研制者 (文献)	亚型	剂量、注射次数和接种途径 (注1)	动物数(只)	
			接种数	接种后感染数
MSD <sup>(12)</sup>	二价 adw + ayw	20µg, 1次 静脉注射	6	0
NIAID <sup>(13)</sup>	单价 adw	500µg, 1次, 静脉注射	4	0
	单价 ayw	500µg, 1次, 静脉注射	4	0
NIAID <sup>(19)</sup>	二价 adw + ayw	500µg, 1次, 静脉注射	5	0
		50µg, 1次, 静脉注射	2	0
Maupas等 <sup>(14)</sup>	二价 ad+ay	10-50µg(5ml) 2次, 静脉注射; 或1次, 皮下注射	5	0
Reesink等 <sup>(16)</sup>	单价 ad	300µg, 1次*; 25µg, 1次*	2 1	0 0
Cabasso <sup>(17)</sup>	二价 adw + ayw	360µg, 1次, 静脉注射	4	0

\* 疫苗剂量系指疫苗所含之蛋白质浓度。除说明外, 注射之疫苗量均为1毫升。\* 未报告接种途径。

表4 乙型肝炎疫苗在猩猩身上保护效果试验结果

研制者 (文献)	剂型	亚型	剂量①和 接种次数	动物 数 (只)	用乙肝病毒 攻击时具有 抗-HBs之 动物数	用于攻击之 乙肝病毒 HBsAg亚型②		自疫苗 接种至 攻击之 月数	发生HBsAg 阳性和/或肝 炎之动物数
						adw	ayw		
NIAID <sup>(13,17)</sup>	液体	adw	50µg × 2	8	8	4	4	6-24	0
		ayw	50µg × 2	8	8	4	4	6-17	1
		对照 <sup>③</sup>		13	0	5	8	6-24	12
NIAID <sup>(17,19)</sup>	液体	adw + ayw	50µg × 2	12	10	6	6	6-24	1 <sup>⑤</sup>
			5-20µg × 2 <sup>④</sup>	12	10	6	6	6	3 <sup>⑥</sup>
		对照		12	0	6	6	6-24	11 <sup>⑦</sup>
MSD <sup>(12)</sup>	液体	adw + ayw (批号 559)	20µg × 3	6	5	6		4	0
		对照		5	5	5		4	5
Hollinger <sup>(15)</sup>	铝沉淀 多肽	adw + ayw	40µg × 4	4	4	4		7	0
Shikata <sup>(17)</sup>	铝沉淀	adr	20µg × 2	18	18	未报告	未报告	6	0

注: ①剂量系指疫苗所含之蛋白质浓度; ②接种~10<sup>3</sup>CID<sub>50</sub> (50%猩猩感染剂量) 乙型肝炎病毒, ayw或adw亚型, 用人血清或血浆稀释; ③对照动物注射疫苗稀释液, 为0.1%人血清白蛋白或不予注射; ④12只动物分为3组(每组4只), 分别注射5、10或20µg疫苗; ⑤此只动物的HBsAg水平极低, 只1份血清标本阳性; ⑥其中2只动物于接种疫苗后未产生抗-HBs, 第3只动物的抗-HBs反应迟缓, 且较弱; ⑦另1只动物自动产生抗-HBs, 对乙型肝炎病毒有抵抗力。

体水平, 与其实验感染后所见之抗体水平相当。一些动物抗体可持续至接种疫苗后至少2年。

猩猩接种疫苗后, 亦可能出现不理想的免疫反应, 例如于疫苗接种后2个月或3个月尚无抗体产生, 或虽有抗体, 但水平一直较低。

### 三、保护效果试验: 见表4。

由表4可见, 用活的乙型肝炎病毒攻击后, 接种疫苗之猩猩均未感染乙型肝炎病毒, 但对照组动物均受感染, 其中多数发病, 表现为血清转氨酶升高, 肝活检有典型病理改变。

用不同于疫苗的乙型肝炎病毒亚型, 对接种疫苗之动物进行交叉攻击试验表明, 除1只动物外, 均对不同乙型肝炎病毒亚型具有抵抗力。此只唯一受感染之猩猩系于初种后17个月时受攻击, 此时其抗-HBs已不能测到。但是, 弱抗体反应不一定与无保护性有关。一些猩猩于活的乙型肝炎病毒攻击时, 已无可测到之抗-HBs, 但仍具有保护性。

由于猩猩接种疫苗后一般出现抗-HBs较快, 加之乙型肝炎感染潜伏期较长(有时可达6个月), 因此, 有人[13]用NIAID单价乙型肝炎疫苗作暴露后预防: 4只猩猩接种10<sup>3</sup>CID<sub>50</sub>乙型肝炎病毒, 然后于48小时和1个月后再接种乙型肝炎疫苗, 其中3只于接种疫苗后很快产生抗-HBs, 且均未感染; 第4只猩猩抗-HBs和乙肝发病几乎同时出现, 该动物曾注射ayw亚型肝炎病毒, 尔后接种adw亚型疫苗, 因此,

所产生之抗体可能是直接对d亚型决定簇,而不是对a共同抗原决定簇,这可能是该动物对乙型肝炎病毒感染无抵抗力的原因,但亦可能是由于其抗体反应出现较晚所致。

猩猩试验证明[13],动物于攻击前不久、攻击时或后不久接种HBIG以预防乙型肝炎感染,结果并不理想,5只接种高滴度HBIG的猩猩,其中4只感染乙型肝炎病毒。接种组和对照组动物的唯一区别是:前者潜伏期较长。

### 人体试验

至今仅有少数疫苗进行过人体试验[12-14,16-18],其中以美国NIAID和MSD疫苗以及法国疫苗研究较多。

**一、安全试验:**由于动物试验结果,NIAID单价疫苗和MSD二价疫苗安全、有效,因此,在少数“志愿者”身上进行试验,以评价其对人的安全性。此二种疫苗人体试验结果与以前猩猩试验结果完全一致或极为相似。

NIAID疫苗试验的“志愿者”为修道院修女,与外界接触较少,试验前曾作既往或现在是否感染乙型肝炎的筛选,“志愿者”于接种疫苗后至少观察6个月,监测血清转氨酶水平和乙型肝炎病毒感染的血清学指标(HBsAg、抗-HBs、抗-HBc),未发现有乙型肝炎病毒感染以及其他不良反应。其中1名接种NIAID ayw单价疫苗者,于接种后约2个半月转氨酶水平开始升高,此例显性非甲非乙型肝炎感染的原因不明,但并非由疫苗所引起。

对MSD疫苗亦进行了同样的人体安全试验,证明是安全的。

Maupas等生产的二批法国疫苗未曾作人体安全试验,即在高危险人群中进行疫苗效果的临床试验。

**二、免疫原性试验:**NIAID adw单价疫苗和首批MSD二价疫苗均在少数“志愿者”身上进行过免疫原性试验,结果表明:此二种疫苗对人的免疫原性尚不及猩猩。“志愿者”注射1次或2次50 $\mu$ gNIAID疫苗后,抗-HBs出现较晚,最早于接种后10~14周出现,且滴度较低。MSD二价疫苗的免疫原性试验结果与NIAID疫苗相似。此种并不理想的结果至少部分是由于上述疫苗中含有某些附加剂。例如NIAID液体疫苗,最初加有浓度为0.1%人血清白蛋白作为稳定剂。该疫苗不加入血清白蛋白并作进一步纯化后,抗-HBs反应显著提高。“志愿者”注射一次剂

量为10、20或40 $\mu$ g不含人血清白蛋白NIAID adw液体疫苗后,约40%于接种后3周内产生抗-HBs;如于初种后6周再加强一次,则于初种后10周,血清阳转率可达90%。

同样NIAID adw疫苗加铝佐剂后免疫原性更佳。接种一次剂量为10、20或40 $\mu$ g者,其中80%于3周内产生抗-HBs;如果加强一次,于10周时产生抗体者达94%。但注射3种不同剂量NIAID铝佐剂疫苗(10、20或40 $\mu$ g)的“志愿者”,其血清阳转率几乎相同。

人体免疫原性试验表明,初期MSD疫苗所产生之抗-HBs反应亦并不理想。但在生产程序略作改进后所制备之MSD新批号疫苗,其免疫原性和稳定性明显提高。成人于接种此批疫苗后5个月,抗-HBs血清阳转率达80-90%;6个月后加强一次,无论是接种何种剂量(10、20或40 $\mu$ g),接种者的血清阳转率几乎达100%。儿童于注射2次MSD新批号疫苗后(每次10 $\mu$ g或40 $\mu$ g,间隔1个月),3个月时100%产生抗-HBs。

### 疫苗在高危险人群中的试验

**一、法国疫苗试验:**Maupas等制备之疫苗在法国已进行了几次大规模的临床试验[33-35],其中一次是在肾透析单位的病人和工作人员中进行的[14]。在应用疫苗前,这些肾血透析单位工作人员和病人每年乙型肝炎总发病率为40%,病人中为50%。由于受试者不愿参加安慰剂,对照试验,故全部人员均接种疫苗,少数不愿接种疫苗的病人和工作人员作对照。免疫程序是接种2次或3次疫苗,每次2~10 $\mu$ g,间隔1个月,12个月时加强一次,接种之疫苗为液体疫苗或铝沉淀疫苗。但未提供各组接种人数。于12个月加强一次后,病房工作人员血清总阳转率为90%,血透析病人为60%。一般工作人员抗-HBs出现较快,且滴度较高;但病人抗-HBs一般出现较迟,且滴度较低。于12个月加强一次后,两组抗-HBs滴度均显著升高。铝佐剂疫苗所产生之抗-HBs反应较液体疫苗为高。

本研究虽无合适对照可供比较,但与接种前或与拒绝接种的工作人员和病人比较,本疫苗可显著降低病人和工作人员乙型肝炎感染率和发病率。149名病房工作人员于接种疫苗后出现原发性抗-HBs反应,其中仅8名感染乙型肝炎;35名病人具有原发性抗-HBs反应,其中仅1名发生乙型肝炎感染。此9例均为亚临床型感染,其特点是于首次疫苗接种后6~15

个月出现短暂抗原血症和抗-HBc, 此后 9 例均产生抗-HBs。于观察期内 13 名工作人员和 20 名病人于接种疫苗后未产生抗-HBs, 其中各有 9 例后来发生临床型或亚临床乙型肝炎感染。3 例无抗体反应之病人(无 1 例为病房工作人员)后来发展成为乙型肝炎病毒慢性感染者。

由于疫苗组曾发生临床型和亚临床型乙型肝炎感染, 加之在猩猩试验后未曾作人体安全试验, 故 Maupas 疫苗的残余传染性问题尚不能除外。

Doniach 等〔36〕报告, 20 名“志愿者”接种 Maupas 疫苗后, 未见有明显自家免疫反应。

在乙型肝炎呈高度地方性地区(例如非洲某些国家), 主要传播方式是什么尚不清楚。有二个研究指出, 除垂直传播外, 水平传播可能对导致年幼儿童慢性携带状态起重要作用。最近, Maupas 等〔34, 35〕在塞内加尔 2 岁以下儿童中进行乙型肝炎疫苗预防效果试验。接种组 335 名, 注射 3 次 Maupas 疫苗, 每次间隔 1 个月; 对照组 267 名, 注射白喉、破伤风、脊髓灰质炎三联疫苗, 注射次数和间隔时间与接种组相同。于免疫前乙型肝炎血清学阴性之接种者, 于乙型肝炎疫苗接种占 94.5% 产生特异性抗-HBs 反应。本试验证明, 由母体获得之抗-HBs 并不干扰乙型肝炎疫苗的自动免疫。不论接种者于免疫前乙型肝炎指标状况如何, 接种疫苗后均无不良反应, 追踪观察 12 个月后, 易感儿童中 HBsAg 携带率下降 85%。

Crosnier 等〔20〕对法国另一种乙型肝炎疫苗的预防效果进行了试验, 该疫苗由法国巴斯德生物制品研究所生产, 曾在 4 只猩猩身上作过试验, 证明安全、有效, 接着就在法国 48 个血透析单位的工作人员中进行随机、双盲和安慰剂对照试验, 以观察其预防效果。本试验共计有 318 名受试者完成全程接种, 其中 164 名注射 3 次乙型肝炎疫苗, 每次间隔 1 个月, 154 名注射相应安慰剂。两组追踪观察 12 个月。疫苗组乙型肝炎感染率为 3.6%, 安慰剂组为 12.3% ( $P < 0.005$ )。疫苗组 6 名感染者均于首次接种后 63 天内发生, 但安慰剂组 19 名感染者则于整个 12 个月追踪观察期内发生。本试验证明: 两组副作用发生率并无差异。疫苗组于接种后 94% 获得抗-HBs 反应。于首次接种疫苗后 4 个月, 抗-HBs 平均高峰水平为  $2433 \pm 1077$  mIU/ml。

**二、美国疫苗试验:** Szmunness 等对美国 MSD 疫苗在高危险人群中进行 3 次大规模临床试验〔37, 38〕。在此试验前, 曾对血透析病人于接种 MSD 疫苗后所产生之免疫反应进行了研究〔39〕。79 名血透析病人随

机分为二组, 第一组为 40 名, 肌肉注射 MSD 疫苗 2 次; 第二组为 39 名, 肌肉注射 MSD 疫苗 3 次。每次注射疫苗剂量二组均为  $40\mu\text{g}$ , 间隔 1 个月。二组均于首次疫苗接种后 6 个月加强一次。结果于 6 个月内产生抗-HBs 者为 80%, 加强一次后 89% 接种者具有抗-HBs。初种 3 次者的抗-HBs 滴度较初种 2 次者为高, 但两组抗-HBs 阳性率相同。男性病人的抗-HBs 阳性率及其抗体滴度均较女性为低。

Szmunness 等〔37〕的第一次试验系在男性同性恋者中进行, 这是一次随机、双盲和安慰剂对照试验, 共计有 1083 名易感之男性同性恋者参加。所试之 MSD 疫苗为单价 ad 亚型铝佐剂疫苗; 安慰剂仅含铝佐剂, 溶于疫苗稀释液中。疫苗和安慰剂均注射 3 次, 第一次和第二次间隔 1 个月, 第三次于第一次注射后 6 个月接种。每次疫苗注射剂量为  $40\mu\text{g}$ 。本试验证明 MSD 疫苗十分安全, 副作用发生率较低, 与安慰剂并无明显差异。于注射疫苗后 2 个月内 77% 接种者含有高水平抗-HBs; 加强一次后, 抗-HBs 阳性率升至 96%, 并于整个观察期内基本上保持不变。最初 18 个月疫苗组临床型和亚临床型乙型肝炎感染率为 1.4~3.4%, 安慰剂组为 18~27% ( $P < 0.0001$ ), 下降 92.3%。值得指出的是: 于接种疫苗后 75 天内即可见乙型肝炎感染率明显下降, 说明即使在暴露后应用此疫苗可能仍然有效。

第二次试验〔38〕是在纽约 3 个大的血透析中心医务人员中进行, 参加试验者共计有 90 名医务人员, 按年龄、性别配对分为三组, 第一组 20 名, 第一次注射 HBIG 3ml, 然后于 1、2 及 6 个月, 各注射乙型肝炎疫苗  $20\mu\text{g}$ ; 第二组 26 名, 首次同时于不同部位分别注射 HBIG 3ml 或乙型肝炎疫苗  $20\mu\text{g}$ , 然后于 1 和 6 个月后各注射疫苗  $20\mu\text{g}$ 。第三组 44 名, 于开始时以及 1 和 6 个月分别只注射疫苗  $20\mu\text{g}$ 。三组均追踪观察 8 个月, 结果发现被动获得之抗体并不干扰对疫苗的自动免疫反应; 三组抗体出现时间及其滴度均相同; 自动获得抗体至少可持续 8 个月之久。最为重要的是: 本试验证明, 同时应用乙型肝炎疫苗和 HBIG 可使接种者立即得到保护, 但仅注射乙型肝炎疫苗者可能于几个月内仍无抗体。这一发现为暴露后预防提出了新的可能性。

第三次试验是在纽约 3 个大的血透析中心病人中进行, 此试验预期于 1982 年完成。

最近, 美国疾病控制中心 Francis 等在男性同性恋者中对 MSD 疫苗进行第四次试验〔28〕。本试验的实验设计与 Szmunness 的第一次试验极为相似。受试者来自 5 个性病医院, 上述医院病人中每年乙型肝炎指

标血清阳转率高达30%。本试验正在进行中,可望于今年获得关于疫苗预防效果的初步结果。

此外,关于乙型肝炎疫苗预防围产期传播是否有效的试验正在计划中〔28〕。用HBIG预防垂直传播并非完全无效。Beasley等〔40〕报告,于出生后48小时内给新生儿注射HBIG可降低慢性乙型肝炎发病率。

本研究以及其他学者的研究还表明,成人和新生儿于注射HBIG后,乙型肝炎潜伏期延长。Beasley等现正在进行第二次试验,如果证明HBIG有部分预防效果,则将对疫苗、HBIG以及HBIG和疫苗联合三种接种方法的预防效果进行比较研究。

乙型肝炎疫苗在高危险人群中试验结果见表5。

表 5 乙型肝炎疫苗在高危险人群中试验结果

报告者 (文献)	接种人群	组 别	接种 人数	疫苗及 其剂型	剂量和 接种程序	抗-HBs 阳转率 (%)	乙型肝炎 感染率 (%)
Maupas等 <sup>(33)</sup>	血透析单 位工作人员	接种组	106	Maupas	2-10 $\mu$ g,	91.5	8.5
		未接种组	24	疫苗(液体或 铝剂)	初种2次, 间隔1个月 一年后加强一次	未报告	50
	血透析单 位病人	接种组	37			62.2	21.6
		未接种组	31			未报告	74.2
Maupas等 <sup>(14)</sup>	血透析单 位工作人员	接种组	未报告	Maupas疫苗	2-10 $\mu$ g, 初种2次	90	5.3①
		未接种组	未报告	(液体或铝 剂)	或3次,间隔1个月, 一年后加强一次	60	40
	血透析单 位病人	接种组	未报告				2.9①
		未接种组	未报告				50
Maupas等 <sup>(35)</sup>	乙型肝炎地 方性地区 (塞内加尔) 2岁以下儿童	接种组	238②	Maupas铝剂 疫苗	10 $\mu$ g, 初种3次,间 隔1个月,一年后加 强一次	94.5	2.9
		对照组	195②	白-破-脊三联 疫苗	接种程序同接种组	4.6	10.3
Crosnier等 <sup>(20)</sup>	血透析单位工 作人员	疫苗组	164	巴斯德研究所 铝剂疫苗	5 $\mu$ g, 接种3次,间 隔1个月	94	3.6
		安慰剂组	154	疫苗稀释液	接种程序同疫苗组	未报告	12.3
Stevens等 <sup>(39)</sup>	血透析中心 病人	第一组	40	MSD疫苗 铝剂	40 $\mu$ g, 初种2次,间 隔1个月,6个月时 加强一次	89③	0
		第二组	39	MSD疫苗 (铝剂)	40 $\mu$ g, 初种3次,间 隔1个月,6个月时 加强一次		
Szmunness等 <sup>(37)</sup>	男性同性 恋者	疫苗组	549	MSD疫苗 (铝剂)	40 $\mu$ g, 接种3次, 间隔1个月,6个月 后加强一次	96	1.4-3.4
		安慰剂组	534	疫苗稀释液	注射程序同疫苗组	未报告	18-27
Szmunness等 <sup>(38)</sup>	血透析中 心工作人员	第一组	20	MSD疫苗 (铝剂)	第一次注射HBIG, 于1、2及6个月各 注射疫苗20 $\mu$ g	100	未报告
		第二组	26	MSD疫苗 (铝剂)	首次于不同部位同 时注射HBIG 和疫 苗20 $\mu$ g,于1和6个 月加强疫苗1次	96	未报告
		第三组	44		于开始时以及1和6 个月各注射疫苗20 $\mu$ g	98	未报告

注: ①接种疫苗后具有原发反应者的感染率; ②接种前血清学阴性者; ③6个月加强一次后两组抗-HBs血清阳转率。



## 参 考 文 献

1. Zuckerman AJ: Nature, 287: 483, 1980.
2. Zuckerman AJ: J Infect Dis, 143: 301, 1981.
3. Szmuness W et al: In Vyas GN et al [ed], Viral Hepatitis, p 297, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1978.
4. Szmuness W et al: J Med Virol, 4: 327, 1979.
5. Krugman S et al: Infectious Diseases of Children, 7th ed, p90, The C.V. Mosby Company, 1980.
6. Krugman S et al: J Infect Dis, 122: 432, 1970.
7. Soulier JP et al: Amer J Dis Child, 123: 429, 1972.
8. Purcell RH et al: Amer J Med Sci, 270: 395, 1975.
9. Buynak EB et al: Proc Soc Exp Biol Med, 151: 694, 1976.
10. Maupas P et al: Lancet, i: 1367, 1976.
11. Reesink HW et al: 17th Congress of the German Society of Blood Transfusion and Immunohematology, p 119, Frankfurt, 1976.
12. Hilleman MR et al. In Vyas GN et al [ed], Viral Hepatitis, p525, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1978.
13. Purcell RH et al: In Vyas GN et al [ed], Viral Hepatitis, p491, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1978.
14. Maupas, P et al: In Vyas GN et al [ed], Viral Hepatitis, p539, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1978.
15. Hollinger FB et al: In Vyas GN et al [ed], Viral Hepatitis, p557, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1978.
16. Reesink HW et al: In Vyas GN et al [ed], Viral Hepatitis, p714, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1978.
17. Gerety RJ et al: J Infect Dis, 140: 642, 1979.
18. Tao CM et al: Chin Med J [Engl], 4: 101, 1978.
19. Prince AM et al: In Vyas NG et al [ed], Viral Hepatitis, p507, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1978.
20. Crosnier J et al: Lancet, i: 455, 1981.
21. Skelley J et al: J Gen Virol, 44: 679, 1979.
22. World Health Organization: Proposed Requirement for Hepatitis B Vaccine, Biological Substance, No 31-79, p1239, 1979.
23. Summers J et al: Proc Natl Acad Sci USA, 75: 4533, 1978.
24. Marion PL et al: Proc Natl Acad Sci USA, 77: 2941, 1980.
25. Mason WS et al: J Virol, 36: 829, 1980.
26. Hirshman SZ et al: Proc Natl Acad Sci USA, 77: 5507, 1980.
27. Price P et al: J Med Virol, 6: 139, 1980.
28. McAuliffe VJ et al: Reviews of Infect Dis, 2: 470, 1980.
29. Alexander J et al: S Afr J Med Sci, 41: 89, 1976.
30. Aden P et al: Nature, 282: 615, 1979.
31. Marion PL et al: J Virol, 33: 795, 1980.
32. Treppe C et al: Lancet, i: 488, 1979.
33. Maupas P et al: Intervirology, 10: 196, 1978.
34. Barin F et al: Prog Med Virol, 27: 148, 1981.
35. Maupas P et al: Lancet, i: 289, 1981.
36. Doniach D et al: Lancet, i: 721, 1979.
37. Szmuness W et al: N Engl J Med, 303: 833, 1980.
38. Szmuness W et al: Lancet, i: 575, 1981.
39. Stevens CE et al: Lancet, ii: 1211, 1980.
40. Beasley RP et al: In Vyas GN et al [ed], Viral Hepatitis, p333, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1978.
41. Vyas GN: 个人通讯.
42. Skelly J et al: Nature, 290(5801): 51-54, 1981.
43. Zuckerman AJ et al: Hepatitis Virus of Man, p213-216, Academic Press, 1979.
44. Tiollais P et al: Science, 213: 406-411, 1981.

## 曾接种麻疹活疫苗的儿童发生麻疹原因的探讨

辽宁省防疫站 戴德生 李春英 沈阳市和平区防疫站 杜春芬 张文媛

近年来我省麻疹发病率较应用麻疹活疫苗最初几年有回升,在某些麻疹病例中是曾接种麻疹活疫苗的儿童。为探讨其原因,我们作了调查,结果如下:

1980年于麻疹流行期间,收集曾接种麻疹但发生了麻疹的患儿的急性期血清。用2个血凝单位抗原测定血抑抗体,用2ME进行抗体反应类型分类,如果血清经2ME处理后血抑抗体滴度呈四倍下降,说明主要是IgM抗体,定为初次反应,即原发性免疫失

败,如果血抑抗体不呈四倍下降,为二次反应虽麻疹疫苗免疫成功,但因抗体消失或很低而感染发病。结果在53例病人中有26人为初次反应,占49.06%;27人为二次反应,占50.94%。据此,我们认为曾接种麻疹而又发生麻疹的病人中,有相当一部分系属基础免疫失败,即原先的免疫没有成功。这也是当前麻疹发生的一个原因。