

戊型肝炎基因重组疫苗的研究进展

王玲 庄辉

戊型肝炎(戊肝)既往称为肠道传播的非甲非乙型肝炎,是一种急性传染病,具有急性病毒性肝炎的临床和流行病学特征。戊肝主要经污染的水和食物传播,也有可能是动物源性疾病,因为非人类灵长动物、猪、牛、羊、啮齿动物等对戊肝病毒(HEV)也易感^[1]。该病是亚洲、中东及南非青壮年急性肝炎的主要病原,在人群中经粪-口途径传播^[2]。在1988-1998年间,HEV曾被归类到嵌杯病毒属,但最近对HEV非结构区的基因进化树分析结果不支持这种分类法。目前HEV被归到一个单独的属,即戊肝样病毒属^[3]。HEV至少有4个基因型,但只有一个血清型^[4]。HEV感染主要发生在一些卫生条件差的发展中国家,而在发达国家大部分病例为输入性,但最近研究显示,在美国有些戊肝患者从未到过国外^[5]。迄今已有50余次戊肝爆发或流行,主要发生在中亚和东南亚、中东、北非和西非以及墨西哥等地区^[6],中国是戊肝高发区之一,曾发生11次该病的爆发或流行。中国新疆地区1988-1998年间曾发生一次迄今为止世界上最大的戊肝流行,共计发病119 280例,死亡707例^[7,8]。在发展中国家,戊肝占成人急性病毒性肝炎的50%以上,尽管只有1%~3%的患者发展为致死性急性坏死型肝炎,但孕妇感染后病死率可高达20%^[9],构成严重的公共卫生问题,因此,亟需研制一种有效的戊肝疫苗。尽管曾有用细胞培养分离HEV的报道^[10],但至今尚无可供实际应用的HEV组织培养体系,从而严重阻碍了HEV灭活及减毒活疫苗的研制^[11,12],因而将研究侧重于核酸疫苗和重组蛋白疫苗,但至今世界上尚无商品化的戊肝疫苗。与乙肝基因工程疫苗相比,戊肝重组疫苗的研究尚处于起始阶段,但已取得了较大进展^[13]。

1. HEV基因组及基因型:HEV基因组是由线性、单股正链RNA构成,基因组全长约7.5 kb。全基因组含有3个相互重叠的开放读码框架(ORFs),这些读码框可表达不同的蛋白^[14]。ORF1由5079 bp组成,主要编码含1690氨基酸的非结构蛋白,该蛋白参与病毒基因组的复制及蛋白加工。此外,ORF1还含有两个未知功能区X和Y区。ORF2位于5147~7127 nt,由1980 nt组成,编码660个氨基酸,分子量为71~88 kDa^[1,15],可能代表一个或多个结构蛋白或壳蛋白,但ORF2蛋白pORF2在病毒体内的实际大小尚不清楚^[16]。ORF2含有能引起中和抗体的重要表位,已成为疫苗研制的焦点^[17]。主要表位位于ORF2和ORF3的羧基末端,

在不同株HEV中,ORF2所含表位较ORF3更保守。许多不同的ORF2抗原已被证实能引发抗体,但大多数抗体并不是中和抗体。一些研究提示,截断的ORF2片段比全长ORF2蛋白的抗原性好^[18-20]。到目前为止,只有3个ORF2抗原(TrpE-C2、Burma 62 kDa和Pakistan 55 kDa)所引发的抗体被证实能中和HEV^[21]。ORF3长369 nt,与ORF1 5'端有1 nt重叠,与ORF2有328 nt的重叠,编码细胞内表达蛋白pORF3(含123个氨基酸)。对病毒复制的生物学研究显示,pORF3可能与肝细胞支架有关,作为肝细胞支架的抛锚位点,ORF2和RNA可在此结合并开始病毒核壳装配过程^[22]。

HEV基因序列相对稳定^[23],不同地域分离的病毒基因组通常有明显的差异,目前对基因型尚无统一的分型方法。以ORF2区的核苷酸差异不超过20%的标准^[24],可将从世界不同地区分离的HEV毒株归分为4个主要基因型^[14]:1型包括东南亚(缅甸和部分印度株)、中北亚(中国、巴基斯坦、哈萨克斯坦和印度株)和北非株;2型为单一的北美(墨西哥)分离株;3型由美国株和从猪分离到的毒株构成;4型包括从中国分离的亚型和大部分台湾分离株。尽管HEV基因型不同,但未发现由基因型差异导致血清型不同,目前HEV只有一个血清型^[4]。

2. HEV重组疫苗研究:目前尚无商品化HEV疫苗,但HEV疫苗的研制已经取得重大进展。有研究资料显示,研制有效HEV疫苗是可能的:①在自然感染患者和实验感染HEV的猕猴均有抗-HEV抗体反应;②戊肝血清流行病学调查显示,以前感染过HEV的人群在再次发生戊肝流行时可得到保护;③用抗-HEV抗体被动免疫,可预防动物实验感染HEV,提示用戊肝疫苗免疫可产生体液免疫,以预防戊肝。由于目前已确定HEV只有一个血清型,因此,有可能研制出对所有HEV毒株均有保护的戊肝疫苗。HEV ORF2编码的蛋白是目前公认的最有前景的亚单位候选疫苗,因其具有良好的抗原性。已有许多ORF2基因或其片段在不同细胞中成功地进行了表达,如原核细胞、昆虫细胞、酵母细胞、动物和植物细胞等^[13],且其表达产物均有良好的免疫原性。

(1)原核表达: Meng等^[25]报道能结合HEV中和抗体的最小ORF2片段位于452~617aa之间,该片段不仅能引发中和抗体,还能与其他型别的抗体发生交叉反应。利用系列合成肽研究发现,ORF2编码的抗原表位多分布在C末端2/3区域^[26],这些抗原与急性期和恢复期抗-HEV抗体的产生关系密切,但稍长一点的ORF2片段作为重组蛋白表达时,其表位就会被遮盖。到目前为止,已有许多不同的ORF2片段

在大肠埃希菌中进行了表达,但只有少数表达产物具有免疫活性。第一个候选疫苗是在大肠埃希菌中表达的缅甸株(1型)ORF2 蛋白羧基端片段和色氨酸合成酶构成的重组融合蛋白(TrpE-C2)^[27]。该蛋白大小为 439 个氨基酸(221~660aa),用该蛋白给 2 只猕猴接种后,再用同株 HEV 攻击,无一感染。但用墨西哥株(2型)攻击该 2 只猕猴,动物有感染,却不发病。此外,Im 等^[28]的研究显示,用细菌中表达的 23 kDa 的 ORF2 多肽 pE2(394~607aa)(HEV 主要结构蛋白)免疫,再用同种病毒攻击时,可保护实验动物不感染或感染但不发病。

(2)杆状病毒-昆虫细胞表达:目前认为最好的戊肝候选疫苗是在昆虫细胞中表达的重组杆状病毒 HEV 衣壳抗原^[12]。当 1 型分离株的 ORF2 片段在杆状病毒昆虫表达系统中表达时,最初的 72 kDa 蛋白迅速裂解为一些小蛋白,可能是杆状病毒编码的蛋白酶所致,数量较多的是 56 kDa 和 53 kDa 蛋白。但有研究显示,Sar 55 株 ORF2 的惟一中和表位位于 578~607aa 之间^[15],因此,理论上认为只有 56 kDa 蛋白(112~607aa)含有该表位,而 53 kDa 蛋白(112~578aa)则不含此表位。56 kDa 重组蛋白比全长蛋白的可溶性好,用氢氧化铝作佐剂是有效的免疫原,给猕猴注射 2 次 400 ng 的该疫苗后,抗体滴度可达 1:10 000。随后用同型(Sar 55)HEV 对免疫动物进行静脉内攻击,均未发病,说明 56 kDa 蛋白免疫有效^[29]。为探讨 53 kDa 蛋白的免疫原性和保护性,同一组研究人员将该蛋白进行了纯化并加氢氧化铝佐剂,然后用该蛋白对恒河猴进行免疫。给猴肌肉注射 2 次 385 ng 该疫苗后,用同种病毒攻击,结果显示,用大剂量病毒攻击时,该疫苗可明显减少排毒,但不能预防发病;而用小剂量 HEV 攻击免疫动物时,则检测不到病毒,说明有保护性免疫^[16]。上述结果表明,56 kDa 蛋白对疾病的免疫保护性较 53 kDa 蛋白更好,疫苗引起的完全保护至少可持续 6 个月,部分保护可持续至少 1 年^[30]。

(3)酵母或其他细胞表达:酵母表达系统已被成功地用于疫苗生产,例如重组乙型肝炎表面抗原。应用该表达系统有以下优点:①其表达产物与天然蛋白相似;②可以维持表达产物的生物学活性;③易于大规模生产等。佟玉品等^[31-33]报道了在毕赤酵母中成功地表达了 HEV ORF2 蛋白(69~660aa 和 112~660aa),重组蛋白表达产物为 59 kDa,经纯化后给恒河猴免疫,猴体内可检出高达 1:8000 的抗-HEV 抗体。自 1990 年 Curtiss 首次报道在烟草中表达链球菌变异株表面蛋白 A(SpaA)后,用植物表达蛋白的研究已取得了重大进展。近年来用植物表达口服疫苗的研究倍受学术界的重视,Ma 等^[13]将 HEV ORF2 的部分基因 E2(810 bp,349~604aa)构建到 pCAMBIA1301 质粒中,构建成植物表达质粒 p1301E2,该质粒在西红柿中表达的重组抗原具有免疫活性。由此可见,转基因西红柿为生产一种新型 HEV 低价口服疫苗提供了可能性。

(4)亚单位 HEV 疫苗:DNA 免疫通常可引起细胞和体

液免疫,具有较长期的保护作用,因此,DNA 疫苗的研制成了 HEV 疫苗研制的另一个热点。重组 DNA 疫苗是最近发展起来的一种新型疫苗,通过给人或动物直接注入带有靶基因的质粒 DNA,该 DNA 在宿主体内表达目的蛋白并引起免疫反应,进而防治疾病。最近一种新的技术已被用于开发亚单位疫苗,将纯化的含有编码目的蛋白和适当调节因子的质粒 DNA 注入哺乳类动物体内并在其中表达。这种亚单位疫苗与其他种类的疫苗相比有如下优点:①在活细胞内表达的抗原以其天然形式存在,通常可引起双重免疫即细胞和体液免疫;②DNA 可以大量制备,成本低,纯度高,且相当稳定;③与活疫苗不同的是载体不会致病,也不会引起免疫反应。

Lu 等^[34]用 HEV ORF3 全长 cDNA 片段插入真核表达质粒 pSVL,构建了 HEV cDNA 重组质粒,并用 100 μg 该质粒给 BALB/c 小鼠接种 2 次后,16 只小鼠中有 12 只产生了抗-HEV IgG,而 5 只只注射空载体 pSVL DNA 的对照小鼠中,无 1 只抗-HEV IgG 阳转。说明 HEV cDNA 重组质粒可刺激小鼠产生抗 HEV 应答。He 等^[35]将 HEV ORF2 基因全长插入真核表达载体,构建了重组质粒 pJHEV,用该质粒 DNA 在 BALB/c 小鼠中试验,可引起对 ORF2 特异的免疫反应,100% 小鼠血清抗体阳转,而注射空载体的对照组则无抗-HEV 应答。在酶联免疫吸附试验和免疫印迹试验中,注射 pJHEV 的小鼠血清不仅能特异性的识别在重组杆状病毒中表达的 HEV ORF2 结构蛋白,而且能特异性地识别野毒 HEV^[36]。Panda 等^[37]将全长 HEV cDNA 构建到 pSGI 载体内,并分别扩增了 3 个 ORFs,然后重新构建成全长克隆,用该克隆体外翻译的 RNA 在 HepG2 组织培养中有感染性,6 次传代后用 PCR 检测仍可检出病毒复制。

(5)重组 HEV 样颗粒(rHEV VLPs):近年来对 VLPs 作为免疫原倍受重视。研究发现,当带有 N 末端 111 个 aa 的壳蛋白在杆状病毒表达系统中表达时,自动装配成 VLPs^[38]。电镜显示,这些病毒样颗粒是由 60 个 54 kDa 蛋白构成的,并排列成 T=1 的对称型^[39]。作为黏膜免疫原,rHEV VLPs 有以下优点:①VLPs 是由单一蛋白装配而成,无核酸,因而不复制;②易于大量制备和纯化,在 10⁷ 个昆虫细胞内产量约为 1 mg;③其抗原性与 HEV 很相似;④给实验动物注射,rHEV VLPs 有很高的免疫原性;⑤在低 pH 环境中稳定(如在胃中);⑥口服 rHEV VLPs 引起与自然感染相同的免疫反应。

Li 等^[39]用纯化的 rHEV VLPs 不加佐剂作为口服疫苗免疫小鼠,观察血液中抗-HEV IgM、IgG 和 IgA 以及粪便中 IgA 抗体的反应。结果显示,rHEV VLPs 可引发血液中高滴度的抗-HEV 抗体,免疫后 2 周可检测到血抗-HEV IgM,4 周后可查到血抗-HEV IgG 和 IgA,8 周后可检出粪便抗-HEV IgA,提示用 rHEV VLPs 经口免疫可引起全身和肠道的抗体应答。由于小鼠对 HEV 不易感,Li 等^[40]最近又用 10 mg 纯化的 rHEV VLPs 对猕猴进行了不加佐剂的经口免疫,出现血清抗-HEV 后,再用野毒 HEV 经静脉攻击,所有动

物均未感染或发病。上述结果提示, rHEV VLPs 可作为 HEV 口服候选疫苗。

3. 实验动物: 目前用于实验性感染 HEV 的动物主要有非人灵长类、猪及大鼠, 其中最常用的是非人灵长类动物, 主要有黑猩猩和猕猴等, 但黑猩猩价格昂贵, 难以获得, 因此常用猕猴等作为实验动物。

(1) 猕猴和食蟹猴是目前最常用的实验动物, 因为它相对便宜, 且易于获得。用人 HEV 毒株攻击猕猴通常会出急性肝炎, 并伴有与人类肝炎相似的生化、组织病理学和血清学标志的改变。病变的程度与病毒的剂量有关, 低水平的病毒可引起感染, 但不发病。用猕猴实验表明, 接种某一型 HEV 疫苗可对不同基因型 HEV 产生交叉免疫^[41]。

(2) 小鼠也是常用的戊肝疫苗免疫的实验动物之一, 由于其经济、易得、便于操作和管理等优点, 常用它作免疫学效果观察。但由于它不感染 HEV, 且种系差异较大, 小鼠作为戊肝疫苗免疫的动物模型有一定限制。

(3) 树鼩是低等小型灵长类动物, 20 世纪 80 年代起, 树鼩即被用于 HBV 实验感染动物模型, 李彤等最近报告野生成年树鼩对人 HEV 易感, 有可能作为戊肝疫苗的动物模型。

4. 疫苗的临床试验: 迄今已有很多 HEV 候选疫苗正在研究之中, 但只有一种候选疫苗进入了临床试验阶段^[42]。用杆状病毒表达的 55 kDa 的重组壳蛋白疫苗已在美国通过 I 期临床试验, 经 88 名志愿者试验证明, 该疫苗安全, 有较好的免疫原性。尔后, 在尼泊尔进行了 I 期临床试验, 给 44 名志愿者分两组进行免疫, 于 0、1 和 6 个月时分别注射 5 μ g 或 20 μ g 疫苗, 注射后无严重不良反应。在免疫后第 2 个月时, 44 名志愿者中, 有 43 名血清抗-HEV 抗体阳转; 第 7 个月时另 1 名血清抗-HEV 也阳转。说明该 HEV 候选疫苗在尼泊尔人群中有较好的免疫性。同样的疫苗目前正在尼泊尔进行 II 和 III 期临床试验^[12]。

5. 问题及展望: 除上述研究进展外, 还有许多问题需要进一步研究。例如, 最近有些输血后感染 HEV 的报道, 提示戊肝经输血传播的可能性^[43-46], 有待进一步证实, 但应采取相应的预防措施。此外, 为获得有效免疫, 应该使用经口服疫苗还是注射疫苗? 一种单价疫苗能否提供对不同分离株(包括从动物中分离的 HEV) 保护性免疫, 并达到对戊肝的长期免疫? 为促进疫苗发展及帮助我们病毒复制机理的进一步了解, 还应建立一种有效、实用的组织培养体系。

参 考 文 献

- Aggarwal R, Krawczynski K. Hepatitis E: an overview and recent advances in clinical and laboratory research. *J Gastroenter Hepatol*, 2000, 15: 9-20.
- Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E virus. In: Knipe D, Howley P, Griffin D, et al. eds. *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia (Lippincott): Williams and Wilkins, 2001. 3051-3061 [chapter 89].
- Berke T, Maston DO. Reclassification of the Caliciviridae into distinct genera and exclusion of hepatitis E virus from the family on the basis of comparative phylogenetic analysis. *Arch Virol*, 2000,

- 145: 1421-1436.
- Schlauder GG, Mushahwar IK. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J Med Virol*, 2001, 65: 282-292.
- Erker JC, Desai SM, Schlauder GG, et al. A hepatitis E virus variant from the United States: molecular characterization and transmission in cynomolgus macaques. *J Gen Virol*, 1999, 80 (Pt 3): 681-690.
- Worm HC, van der Poel WHM, Brandstätter G. Hepatitis E: an overview. *Microbes and Infection*, 2002, 4: 657-666.
- Zhuang H, Cao XY, Liu CB, et al. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. In: Shikata T, et al. eds. *Viral hepatitis C, D and E*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1991. 277-285.
- Zhuang H, Zhu WF, Li F, et al. Studies on hepatitis E. *Chin Med Sci J*, 1999, 14: 47-50.
- Skidmore S. Overview of hepatitis E virus. *Curr Infect Dis Rep*, 2002, 4: 118-123.
- Huang R, Li D, Wei S, et al. Cell culture of sporadic hepatitis E virus in China. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1999, 6: 729-733.
- Meng J, Dubreuil P, Pillot J. A new PCR-based seroneutralization assay in cell culture for diagnosis of hepatitis E. *J Clin Microbiol*, 1997, 35: 1373-1377.
- Purcell RH, Nguyen H, Shapiro M, et al. Pre-clinical immunogenicity and efficacy trial of a recombinant hepatitis E vaccine. *Vaccine*, 2003, 21: 2607-2615.
- Ma Y, Lin SQ, Gao Y, et al. Expression of ORF2 partial gene of hepatitis E virus in tomatoes and immunoactivity of expression products. *World J Gastroenterol*, 2003, 9: 2211-2215.
- Hepatitis E. WHO/CDS/CSR/EDC/2001.6.
- Schofield DJ, Glammann J, Emerson SU, et al. Identification by phage display and characterization of two neutralizing chimpanzee monoclonal antibodies to the hepatitis E virus capsid protein. *J Virol*, 2000, 74: 5548-5555.
- Zhang M, Emerson SU, Nguyen H, et al. Immunogenicity and protective efficacy of a vaccine prepared from 53 kDa truncated hepatitis E virus capsid protein expressed in insect cells. *Vaccine*, 2002, 20: 853-857.
- Tam AW, Smith MM, Guerra ME, et al. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*, 1991, 185: 120-131.
- Ghabrah TM, Tsarev S, Yarbough PO, et al. Comparison of tests for antibody to hepatitis E virus. *J Med Virol*, 1998, 55: 134-137.
- Anderson DA, Li F, Riddell M, et al. ELISA for IgG-class antibody to hepatitis E virus based on a highly conserved, conformational epitope expressed in *Escherichia coli*. *J Virol Methods*, 1999, 81: 131-142.
- Obriadina A, Meng J, Ulanova T, et al. A new enzyme immunoassay for the detection of antibody to hepatitis E virus. *J Gastroenterol Hepatol*, 2002, 17: s360-s364.
- Emerson SU, Purcell RH. Recombinant vaccines for hepatitis E. *Trends Mol Med*, 2001, 7: 462-466.
- Zafrullah M, Ozdener MH, Panda SK, et al. The ORF3 protein of hepatitis E virus is a phosphoprotein that associates with the cytoskeleton. *J Virol*, 1997, 71: 9045-9053.
- Arankalle VA, Paranjape S, Emerson SU, et al. Phylogenetic analysis of hepatitis E virus isolates from India (1976-1993). *J Gen Virol*, 1999, 80: 1691-1700.
- Anod T, Noel JS, Fankhauser RL. Genetic classification of Norwalk-

like viruses. *J Infect Dis*, 2000, 181(suppl 2): s336-s348.

25 Meng J, Dai X, Chang JC, et al. Identification and characterization of the neutralization epitope(s) of the hepatitis E virus. *Virology*, 2001, 288: 203-211.

26 Li F, Riddell MA, Seow HF, et al. Recombinant subunit ORF2. 1 antigen and induction of antibody against immunodominant epitopes in the hepatitis E virus capsid protein. *J Med Virol*, 2000, 60: 379-386.

27 Purdy MA, McCaustland KA, Krawczynski K, et al. Preliminary evidence that a trpE-HEV fusion protein protects cynomolgus macaques against challenge with wild-type hepatitis E virus (HEV). *J Med Virol*, 1993, 41: 90-94.

28 Im SWK, Zhang JZ, Zhuang H, et al. A bacterially expressed peptide prevents experimental infection of primates by the hepatitis E virus. *Vaccine*, 2001, 19: 3726-3732.

29 Tsarev SA, Tsarva TS, Emerson SU, et al. Successful passive and active immunization of cynomolgus monkeys against hepatitis E. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 10198-10202.

30 Zhang M, Emerson SU, Nguyen H, et al. Recombinant vaccine against hepatitis E: duration of protective immunity in rhesus macaques. *Vaccine*, 2002, 20: 3258-3291.

31 佟玉品, 毕胜利, 江永珍, 等. 戊型肝炎病毒结构区基因 ORF2 蛋白在巴氏毕赤酵母中的胞内表达与纯化的初步研究. *病毒学报*, 2001, 17: 34-37.

32 佟玉品, 毕胜利, 张明程, 等. 戊型肝炎病毒结构区基因 ORF2 在 *pichia pastoris* 中的分泌表达. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2000, 14: 391-392.

33 鲁健, 佟玉品, 江永珍, 等. 酵母表达的重组戊型肝炎病毒 ORF2 蛋白在实验感染恒河猴血清抗体检测中的应用. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2001, 15: 382-383.

34 Lu FM, Zhuang H, Zhu YH, et al. A preliminary study on immune response to hepatitis E virus (HEV) DNA vaccine in mice. *Chin Med J*, 1996, 109: 919-920.

35 He J, Hoffman SL, Hayes CG. DNA inoculation with a plasmid vector carrying the hepatitis E virus structural protein gene induces immune response in mice. *Vaccine*, 1997, 15: 357-362.

36 He J, Binn LN, Caudill JD, et al. Antiserum generated by DNA vaccine binds to hepatitis E virus (HEV) as determined by PCR and immune electron microscopy (IEM); application for HEV detection by affinity-capture RT-PCR. *Virus Research*, 1999, 62: 59-65.

37 Panda SK, Ansari IH, Durgapal H, et al. Synthesized RNA from a cDNA clone of hepatitis E virus is infectious. *J Virol*, 2000, 74: 2430-2437.

38 Xing L, Kato K, Li TC, et al. Recombinant hepatitis E capsid protein self-assembles into a dual-domain T = 1 particle presenting native virus epitopes. *Virology*, 1999, 265: 35-45.

39 Li TC, Takeda N, Miyamura T. Oral administration of hepatitis E virus-like particles induce a systemic and mucosal immune response in mice. *Vaccine*, 2001, 19: 3476-3484.

40 Li TC, Suzuki Y, Ami Y, et al. Protection of cynomolgus monkeys against HEV infection by oral administration of recombinant hepatitis E virus-like particles. *Vaccine*, 2004, 22: 370-377.

41 Purcell RH, Emerson SU. Animal models of hepatitis A and E. *Instit Lab Animal Res*, 2001, 42: 161-177.

42 Stevenson P. Nepal calls the shots in hepatitis E virus vaccine trail. *Lancet*, 2000, 355: 1623-1628.

43 夏宁绍, 张军, 郑英杰, 等. 戊型肝炎病毒核酸阳性血浆经输血传播感染恒河猴的研究. *中华肝病杂志*, 2004, 12: 13-15.

44 Nicand E, Grandadam M, Teyssou R. Viremia and faecal shedding of HEV in symptom-free carriers. *Lancet*, 2001, 357: 68-69.

45 Arankalle V, Chobe L. Retrospective analysis of blood transfusion recipients: evidence for post-transfusion hepatitis E. *Vox Sang*, 2000, 79: 72-74.

46 高东英, 彭耿, 朱家明, 等. 献血员戊型肝炎病毒亚临床型感染情况调查. *中华肝病杂志*, 2004, 12: 11-12.

(收稿日期: 2003-10-28)

(本文编辑: 尹廉)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于文稿申请“快速通道”发表的规定和要求

为了使反映我国流行病学领域中,有重大研究成果内容的论文尽快、及时在我刊发表,本刊自 2003 年起,对作者的来稿从审查到正式发表的程序,开辟了“快速通道”。为了使广大作者、读者了解文稿申请“快速通道”的规定和要求,特将申请“快速通道”的规定和要求公布如下:(1)凡内容涉及有重大创新和为国内首创,达到或超过国内或国际先进水平的论文,均可申请进入“快速通道”,以使论文快速发表;(2)作者本人提出进入“快速通道”申请;(3)作者提供国内外数据库的查新报告;(4)作者提供两位同行知名专家(作者所在单位的专家和作者的导师应回避)的推荐信,推荐信内容应包括本研究为“最新”、“首创”,及申请快速发表论文的理由;(5)作者提供申请快速发表论文的作者署名无争议、发明权(即首创权)无争议的证明;(6)作者提供论文一式 3 份(包括软盘);(7)作者提供由作者单位科研部门开具的介绍信。

凡符合上述规定和要求,获准进入“快速通道”的论文,将由本刊编委会总编辑、相关专业编委共同审议决定是否刊登(每篇论文需交纳快速审稿费 200 元,并请通过邮局汇款),如编委会审查后同意论文发表,本刊郑重承诺,该论文于收稿后 4 个月内正式刊出。

本刊编辑部