



乙型肝炎自动免疫进展

王用楫

(卫生部生物制品研究所,北京)

乙型肝炎(下称乙肝)是广大流行区域的一种常见病、多发病。估计全世界目前有1.5—2.0亿人口受到乙肝感染。这组被感染人群中,除一小部分是由输血或注射污染而引起的血清性乙肝外,多数是由接触乙肝病毒引起的。病毒在携带者血流和种种分泌物中经常存在,从而通过血液、围产期母子间、家庭内密切接触等多种多样的途径广泛散布。乙肝在临床上虽然是一种自限性疾病,但有相当比例(10%左右)的病例可发展成为慢性肝炎,严重影响到社会的劳动生产力。

乙肝是只侵犯人类而不感染其它动物的疾病,所以人类是散布乙肝病毒的唯一宿主。倘若有安全有效的乙肝疫苗在人群中实行预防接种,其结果将会象使用小儿麻痹或麻疹疫苗一样,不仅可以保护受接种者个体,减少易感人群,而且还有控制传染源、降低群体发病率的作用,在流行病学上就会发挥极为明显的防病、灭病效果^[1]。

乙肝病毒在体外的细胞系统尚未分离、培养成功,当前不可能以传统的病毒培养材料来制备疫苗。1965年,Blumberg等发现了澳大利亚抗原^[2],以后证明就是乙肝表面抗原(HBsAg),且HBsAg慢性携带者在人群中广泛存在。这个发现,在病毒培养尚未成功的情况下,不但使乙肝血清学、免疫学、流行病学的研究、观察成为可能,而且还为采用HBsAg携带者的血清或血浆作为原材料,提供了研制HBsAg的崭新途径。沿着这个方向,近十年来乙肝灭活疫苗的发展已获得令人鼓舞的结果。

除发现携带者血流中经常有大量HBsAg存在外,下列的实验结果也都是发展乙肝灭活疫苗的重要基础。第一、含有乙肝病毒MS-2株的人血清,经稀释、加热后接种儿童,然后以MS-2株进行试验攻击,结果半数受种者获得了对临床肝炎的保护^[3,4]。第二、乙肝病毒在猩猩中传递成功^[5],且证明猩猩对乙肝的易感性与人类相似^[6],从而使猩猩成为研究乙肝感染和乙肝疫苗安全试验的动物模型。第三、经灭活的HBsAg提纯制剂,显现良好的抗原性和免疫原性;且在猩猩^[7]和人体^[8]实验中证明,抗-HBs的产生就意味着抗乙肝感染免疫力的建立。与此同时,还应看到乙肝病毒尚未培养成功和缺乏敏感的普通实验动物模型,是限制乙肝疫苗发展的两大障碍。

1975年以来从纯化的HBsAg已经制出灭活的乙肝疫苗^[9-11]。由于抗原来源为HBsAg阳性血清或血浆,早期当然会着重考虑疫苗的安全问题,曾有过选择

不含乙肝病毒颗粒(即Dane颗粒)、DNA多聚酶和乙肝e抗原(HBeAg)具为阴性的血浆,作为制备疫苗原材料的主张^[12]。实践说明:不排除DNA多聚酶和HBeAg两项指标的原材料来制备疫苗,对疫苗接受者不曾表明有任何的危险。从实际出发,目前已经认为这两项指标实无保留的必要了^[13]。为了原材料的稳定和提高,美国目前已选择和固定HBsAg阳性供血者作为HBsAg的主要来源,使用血球还输的采浆技术(Plasmapheresis),定时采取血浆。此外,从血站常规血液中发现的HBsAg阳性血浆中和为制备胎盘免疫球蛋白常规筛选胎盘中发现的HBsAg阳性血清,也可选择HBsAg滴度达到一定标准者作为制备疫苗原材料的来源。如果要制备相当量的疫苗,将会趋向于固定供血者和采用采浆技术。

为浓缩血浆或血清中的HBsAg,已使用的合适方法有硫酸铵法和聚乙二醇法。当然选用HBsAg滴度高的原材料还是首要的。众所周知,HBsAg携带者血浆中含有三种不同形态的颗粒,即直径40—42nm的乙肝病毒颗粒,20—22nm的球形颗粒和20—22nm×100—230nm的管形颗粒,其中球形颗粒所占比例最大。乙肝HBsAg疫苗是由经纯化的球形颗粒组成的,因其无感染性且容易与有感染性的、较大的病毒颗粒分离开来。纯化球形颗粒的方法有超离心、分级沉淀和层析技术等。为提高效率或大量纯化,越来越趋向于使用等比重及速率区带离心法。有人主张于离心后再以胃蛋白酶消化以除去可能带有的宿主抗原。浓缩和提纯之后,应检测蛋白含量和HBsAg滴度,抗原应为蛋白含量的主题部分。

HBsAg经纯化并不能彻底除去病毒颗粒,因此必须再经物理或化学方法处理以灭活制剂中残存的乙肝病毒。早期实验工作中,血清或血浆未经纯化,加热98℃1分钟或60℃10分钟并不能使病毒完全灭活。以后采用适当浓度(1:1000—1:4000)的甲醛处理经纯化的疫苗,已有资料说明能使全部残存病毒灭活。我们认为应优先选用甲醛灭活法,因为甲醛在疫苗内兼有灭活病毒、稳定疫苗免疫原性及作防腐剂三重作用。这也正是多年来甲醛最常用于各种灭活疫苗的理由。在有关乙肝病毒灭活资料累积尚感不足的今天,为了加强疫苗的安全性,亦可采用甲醛和加热两者联合处理的办法。

在尚未充分了解乙肝病毒灭活动力作用之前,为保证疫苗中确没有活的病毒存在,用至人体的疫苗事

先要用猩猩进行安全试验。根据现有的实验资料,1979年世界卫生组织颁发的乙肝疫苗规程中建议^[13],每批疫苗须用4只猩猩进行安全性检定。使用1人份(40—50 μ g)和10人份(400—500 μ g)剂量各静脉接种2只,隔离、观察6个月,每周检查转氨酶及乙肝各项感染指标,每月作一次肝活体检查。所有项目全部正常时,该批疫苗的安全检定才算通过。在猩猩缺如的情况下,国家检定部门有权决定进行人体试验,以判定疫苗的安全性。现在也正在研究不用猩猩的安全试验法。一旦得到不同灭活方法对乙肝病毒作用机理的充分试验数据,则安全试验将会不象现在这样重要。

小鼠、豚鼠等非灵长动物接受适当剂量的疫苗注射后,亦可引起抗-HBs的免疫应答,这就为检测疫苗的抗原性提供了方便的实验方法。用此类方法已经证明,疫苗如经煮沸90秒钟再加热60 $^{\circ}$ C10小时或仅煮90秒钟,可明显降低其抗原性。猩猩试验表明:注射疫苗两次,间隔1个月,当剂量达50 μ g时,动物抗体全部阳转,且全部获得对强毒攻击的完全保护。两次注射剂量如降至20 μ g,仅部分动物抗体阳转和获得攻击保护。为评价单价亚型(adw或ayw)疫苗和双价亚型(ayw-adr)疫苗而设计的猩猩试验表明,不管所用攻击毒的亚型如何,猩猩都可受到乙肝感染和临床肝炎的保护,这说明亚型疫苗所产生对异种亚型病毒的保护,和对同型病毒一样牢固。

从已知人体接种疫苗的资料,可得出这样的初步印象:人用疫苗应加铝盐佐剂,如氢氧化铝或磷酸铝均可提高免疫效果。疫苗的合适用量为40—50 μ g,共免疫三次,第一、二次间隔1个月,第6个月接种加强针一次,抗-HBs阳转率可达85%以上。据血液透析站工作人员和病人^[14]以及乙肝高发人群^[15]接种疫苗的观察结果,受接种者显有受到保护的初步效果。

在乙肝自动免疫的发展中,现在得到的结果只是一个良好的开端,当前正处于疫苗研制和效果观察的初步阶段。我们认为:为观察疫苗的安全性,应在乙肝低发地区试验接种。为评价疫苗效果,则可在高发地区使用,首先选择有高度接种乙肝危险的人群。这类人群包括接受输血的病人,血库、血站或血液化验工作者,临床医生、护士或有关保健人员,HBsAg阳性母亲的婴儿,以及乙肝病人密切接触的家庭成员或集体居住成员等。乙肝象狂犬病一样有一相当长久的潜伏期,推想也可以评价在确知接触乙肝病毒后即时使用疫苗的保护性效果。在一个接触乙肝后接种疫苗的猩猩试验中^[13],使用4只猩猩,先静脉接种病毒,48小时后皮下注射乙肝病毒,结果有3只受到了疫苗的保护,同时也证明都有血清抗体产生。

另一种疫苗称为多肽疫苗^[16,17],系由HBsAg提取的,分子量分别为23,000和28,000两种多肽组份。初步研究表明这类疫苗在抗原性和免疫原性上不及纯化的HBsAg颗粒。但希望最后能发展成为一种合成的多肽疫苗。

总之,在缺乏培养乙肝病毒的情况下,用携带者的HBsAg经高度纯化制得的乙肝疫苗,是一种有别于传统疫苗的独特疫苗。通过猩猩和人体接种实验,表明有其安全性、抗原性和免疫原性。目前正在逐步扩大使用范围,对其安全性、有效性将会作出进一步评价。由于所用原材料系采自携带者的血浆,此种疫苗的产量终将受到限制。因此,一些研究工作者在基因工程^[18,19]、化学合成^[20]、病毒培养等不同领域中为大量制备疫苗正进行着工作,希望早日有所突破,促使大规模人群的乙肝预防接种得以实现。

参 考 文 献

- [1] 王用楫:微生物学报, 15(2), 156, 1975.
- [2] Blumberg, B. S. et al.: *Ann. Intern. Med.*, 66: 924, 1976.
- [3] Krugman, S. et al.: *J. A. M. A.*, 217: 41, 1971.
- [4] Krugman, S. et al.: *N. Engl. J. Med.*, 288: 755, 1973.
- [5] Barker, L. F. et al.: *J. Infect. Dis.*, 127: 648, 1973.
- [6] Barker, L. F. et al.: *J. A. M. A.*, 211: 1509, 1970.
- [7] Buynak, E. B. et al.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 151: 694, 1976.
- [8] Maupass, P. et al.: *Intervirology*, 10: 196, 1978.
- [9] Purcell, R. H. et al.: *Am. J. Med. Sci.*, 270: 395, 1975.
- [10] Hilleman, M. R. et al.: *Am. J. Med. Sci.*, 270: 401, 1975.
- [11] Tao, C. M. et al.: *Chinese Med. J.*, 4: 101, 1978.
- [12] WHO Tech. Rep. Ser. 602, 1977.
- [13] WHO Proposed Requirements for Hepatitis B Vaccine (Requirements for Biological Substances) 31, 1979.
- [14] Szmunn, W. et al.: *N. Engl. J. Med.*, 303: 833, 1980.
- [15] Purcell, R. H. et al.: *Am. J. Clin. Pathol.*, 70: 159, 1978.
- [16] Zuckerman, A. J., *Nature (London)*, 255: 104, 1975.
- [17] Melnick, J. L. et al.: *J. Infect. Dis.*, 133: 210, 1976.
- [18] Charnary, P. et al.: *Progr. Med. Virol.*, 27: 88, 1981.
- [19] Pourcel, C. et al.: *Progr. Med. Virol.*, 27: 93, 1981.
- [20] Sela, M.: *Asian J. Infect. Dis.*, 1: 97, 1977.