

全球乙型肝炎疫苗研发分析

陈大明^{1,2}, 肖 宏^{1*}

(1. 中国科学院上海生命科学信息中心, 上海 200031; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

[摘要] 世界上大多数国家都制定了乙型肝炎(乙肝)免疫计划, 这为预防性乙肝疫苗的研发提供了导向。从第一代血源性疫苗到重组乙肝疫苗, 再到合成肽疫苗和 DNA 疫苗, 乙肝疫苗的研制技术不断进步, 其应用范围也已从预防扩展到治疗。本文分析了各国乙肝免疫计划与乙肝疫苗研发的关系, 总结了预防性和治疗性乙肝疫苗的研发思路, 并提出乙肝疫苗进一步研发的方向。

[关键词] 免疫计划; 肝炎, 乙型; 疫苗

[中图分类号] R 512.62 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)07-0774-04

Analysis of global hepatitis B vaccine research and development

CHEN Da-ming^{1,2}, XIAO Hong^{1*} (1. Shanghai Information Center for Life Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China; 2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

[ABSTRACT] More than 100 countries have added hepatitis B vaccination to their routine immunization programmes. Hepatitis B vaccines progressed from blood vaccines to recombinant vaccines, then to peptide vaccines and DNA vaccines, to their functions extended from prophylactic to therapeutic. This article analyzes the relationship between hepatitis B vaccine R&D and the immunization programmes in different countries, to summarize the R&D of both prophylactic and therapeutic vaccines, and points out the direction for future vaccine development.

[KEY WORDS] immunization programme; hepatitis B; vaccines

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(7): 774-777]

乙型肝炎(乙肝)具有感染性强、携带率高、流行面广、慢性化倾向严重等特点, 给人类的健康带来了严重的威胁。世界卫生组织(WHO)的统计表明, 世界上约 1/3 的人口曾经感染过乙肝病毒(HBV), 其中约有 3.5 亿成为 HBV 表面抗原携带者, 乙肝每年造成全球 50 多万人死亡。人是 HBV 的惟一宿主, 但慢性乙肝的治疗目前尚无理想的措施; 利用计划免疫控制乙肝已成为世界各国的共识。从传统的血源性疫苗到重组乙肝疫苗, 再到当前的合成肽疫苗和 DNA 疫苗, 乙肝疫苗的应用范围已经从预防扩展到了治疗。本文分析了各国的乙肝免疫计划与乙肝疫苗研发的关系, 总结了预防性和治疗性乙肝疫苗的研发思路, 并以此为基础, 提出乙肝疫苗进一步的研究方向。

1 乙肝疫苗与扩大免疫计划

1991 年, WHO 提出, 把乙肝免疫纳入各国的常规免疫计划。自此以来, 150 多个国家先后采取相应措施, 实行乙肝免疫接种(表 1)。从表 1 中可以看出, 各国疫苗免疫的主要对象是婴幼儿、青少年, 以及成年人中与乙肝密切接触的高危人群。根据免疫计划, 各国或地区的政府机构统一控制和管理乙肝疫苗制品, 规定疫苗的生产工厂, 制定相应的监

控、检测和优质生产规范(GMP)标准, 并执行保护性法律。这意味着, 根据各国的免疫计划选择疫苗的配伍、剂型、佐剂和传递系统, 有针对性地开展疫苗研发, 对于研发机构而言非常重要。

2 预防性乙肝疫苗研发分析

2.1 现用的预防性乙肝疫苗 1979 年法国科学院开发了亚单位血源疫苗。然而, 血源性疫苗可能造成一些疾病的血源性传播, 于是各国又相继开发基因工程乙肝疫苗。基因工程疫苗的基本原理是将 HBV 表面抗原(HBsAg)基因克隆到质粒中, 然后转化酵母细胞或哺乳动物细胞, 通过基因重组及细胞培养的方法来表达 HBV 抗原。利用基因工程方法制备的疫苗免疫人群可得到与血源疫苗同样的免疫效果。

[基金项目] 中国科学院决策工程(SDP)项目(2005)2-3 号。Supported by Scientific Decision Project of Chinese Academy of Science (2005)2-3.

[作者简介] 陈大明, 硕士生。E-mail: chendaming@sibs.ac.cn

* Corresponding author. E-mail: hxiao@sibs.ac.cn

表 1 各国的乙肝免疫计划(2006 年 3 月)
Tab 1 Hepatitis B immunization programmes

国家或地区	计 划	免 疫 措 施
美 国	国家免疫计划(NIP)	(1)对所有新生儿免疫接种,对未免疫的儿童进行补种; (2)围产期 HBV 感染预防; (3)对未免疫接种的儿童和青少年常规免疫; (4)在高危感染人群中,对未接受免疫接种的成人免疫接种 ^[1] 。
加拿大	加拿大乙肝免疫计划	根据 HBV 感染的威胁程度不同,对不同人群分别决定免疫与否 ^[2] 。
欧 盟	乙肝免疫计划	(1)多数国家采取新生儿免疫计划; (2)当接受计划免疫的婴儿和(或)儿童成年后,终止青少年免疫计划 ^[3] 。
中 国	2006~2010 年全国乙型肝炎 病毒性肝炎防治规划	(1)对儿童进行乙肝疫苗免疫; (2)对 2002 年后出生未接种乙肝疫苗的儿童进行补种; (3)在自愿的前提下,提倡免疫规划儿童以外人群,尤其是重点人群、高危人群接种乙肝疫苗 ^[4] 。
印 度	广泛免疫计划	在 33 个地区和 15 个城市进行乙肝免疫接种 ^[5] 。

目前,HBV 基因在真核细胞中的表达主要有 4 条途径:(1)将 S₁S₂ 和(或)S₁ 基因重组质粒转化酵母,经发酵生产;(2)将 S₁S₂ 和(或)S₁ 基因重组质粒转化哺乳动物细胞(例如中华地鼠卵巢细胞,CHO),经动物细胞大量培养生产;(3)将 S₁S₂ 和(或)S₁ 基因插入疫苗病毒 DNA 非必需区,转染哺乳动物细胞,大量培养生产;(4)将 S₁S₂ 和(或)S₁ 基因插入昆虫核多角体病毒 DNA 非必需区,转染家蚕和蝶蛹生产。

自 1981 年美国食品药品监督管理局(FDA)首次批准血源性乙肝疫苗以来,预防性乙肝疫苗的研发已由血源性疫苗转向了基因工程疫苗,目前很多国家血源疫苗已停止生产,我国自 2001 年以后也全部使用基因工程疫苗^[6](表 2)。根据表面抗原的前 S₁ 和前 S₂ 区能引起早期抗体的产生,诱导并发挥清除病毒作用的原理,人工合成的前 S 多肽乙肝疫苗成为继基因工程重组疫苗后的第三代乙肝疫苗。

表 2 现用的主要乙肝疫苗(2006 年 3 月)*
Tab 2 The current vaccines for hepatitis B

疫苗名称(商品名)	类型或针对疾病	生产企业	流通地区
乙肝疫苗重组乙型肝炎疫苗(Engerix B)	重组疫苗	葛兰素史克(GlaxoSmithKline)	美国
重组乙型肝炎疫苗(Recombivax HB)	重组疫苗	默沙东(Merck & Co.)	美国
重组乙型肝炎疫苗(HbVaxpro)	重组疫苗	赛诺菲巴斯德(Sanofi Pasteur)	欧洲
重组乙型肝炎疫苗重组(CHO)	乙型肝炎疫苗	华北制药,兰州生物制品研究所 等 15 家机构	中国
重组乙型肝炎疫苗重组(酵母)	乙型肝炎疫苗	北京天坛生物,深圳康泰生物	中国
联合疫苗甲、乙型肝炎联合疫苗(TwinRix)	甲型肝炎,乙型肝炎	葛兰素史克(GlaxoSmithKline)	美国
甲、乙型肝炎联合疫苗(倍尔来福,Bilive)	甲型肝炎,乙型肝炎	北京科兴生物	中国
B 型流行性感冒联合及乙型肝炎(Comvax)	乙型肝炎,B 型流行性感冒	默沙东(Merck & Co.)	美国
白喉,破伤风类毒素,非细胞吸附百日咳, 乙型肝炎(重组),非活性脊髓灰质炎疫苗(Pediarix)	乙型肝炎,脊髓灰质炎, 白喉-破伤风-百日咳	葛兰素史克(GlaxoSmithKline)	美国
白喉,破伤风类毒素,非细胞百日咳,乙型肝炎(重组), 非活性脊髓灰质炎,B 型流行性感冒联合疫苗(Hexavac)	乙型肝炎,脊髓灰质炎, 白喉-破伤风-百日咳,B 型流行性感冒	赛诺菲巴斯德(Sanofi Pasteur)	欧洲

* 资料来源:(1)美国食品药品监督管理局(FDA)生物制剂评价与研究中心(available at <http://www.fda.gov/cber/vaccine/licvacc.htm> accessed 2006-04-20); (2)欧洲药品局(EMEA)人用医药信息(available at <http://www.emea.eu.int/index/indexh1.htm> accessed 2006-04-20); (3)国家食品药品监督管理局数据库(available at http://app1.sfda.gov.cn/webportal/portal.po?UID=DWV1_WOUID_URL_4258 accessed 2006-03-30); (4)北京科兴生物制品有限公司(available at <http://www.sinovac.com.cn/wmdcp/brlf/gybrlf/> accessed 2006-03-30)

2.2 在研的预防性乙肝疫苗 现用的乙肝疫苗免疫各种易感人群都是很有效的,因此,预防性疫苗的研究集中于疫苗应用过程的改进上,以减少接种针次,提高疫苗的稳定性,方便储运,降低成本,主要的思路包括:(1)疫苗剂型、佐剂和传递系统的改进,如

利用植物表达系统生产的口服疫苗有较好的免疫原性^[7];(2)多种疫苗的联合,以减少接种针次,例如以四联疫苗(乙肝疫苗与白喉-破伤风-百日咳疫苗的联合)为基础与其他疫苗的联合;(3)特定人群的乙型肝炎预防。表 3 列出了在研的预防性乙肝疫苗,

从中可以看出,多价疫苗和针对特定人群的疫苗成为目前预防性乙肝疫苗研发的主要方向。

表 3 在研的预防性乙肝疫苗*
Tab 3 Hepatitis B vaccines in development

疫苗名称	研发机构或企业	试验阶段	研究目的
HBVAXPRO	伊拉兹马斯医学中心(Erasmus MC)	临床Ⅳ期	艾滋病患者的乙肝预防
HB-AS02V	葛兰素史克(GlaxoSmithKline)	临床Ⅲ期	透析前、腹膜透析和血液透析患者的乙肝预防
HB-AS02V	葛兰素史克(GlaxoSmithKline)	临床Ⅲ期	尿毒症患者的乙肝预防
Engerix-B 和 Twinrix	St. Joseph's 保健(St. Joseph's Healthcare)	临床Ⅳ期	血液透析患者的乙肝预防
Engerix-B, Twinrix	美国国家儿童健康与人类发展研究院(NICHD)	临床Ⅳ期	用于成年艾滋病患者的乙肝预防,比较不同疫苗用量和给予方式的效果
DTaP-IPV-HB-PRP~T	赛诺菲巴斯德(Sanofi Pasteur)	临床Ⅲ期	该疫苗与 PENTAXIM™和 ENGERIX B 的效果比较
DTPw-HBV	葛兰素史克(GlaxoSmithKline)	临床Ⅲ期	用于已给予轮状病毒疫苗免疫的婴儿,预防乙肝、白喉-破伤风-百日咳
DTPw-HBV/Hib	葛兰素史克(GlaxoSmithKline)	临床Ⅲ期	婴儿初次免疫后的免疫记忆研究,以及 15~18 周岁儿童加强免疫的免疫原性和反应原性研究

* 资料来源:美国国家卫生研究院(NIH)临床试验数据库(available at <http://www.clinicaltrials.gov/> accessed 2006-04-30)

3 治疗性乙肝疫苗研发分析

提高机体的免疫能力,打破免疫耐受对于成功实现乙肝治疗极为重要。目前的治疗性疫苗研究策略主要有:(1)利用前 S 抗原和 S 抗原的疫苗激活 T 细胞清除感染 HBV 的肝细胞;(2)DNA 疫苗;(3)

现用的预防性 HBV 疫苗,或者将其与抗 HBV 免疫球蛋白(HBIG)联合运用^[8]。自 2001 年法国科学家利用乙肝疫苗对慢性乙型肝炎患者开展治疗以来,已有多项临床研究表明疫苗在乙肝治疗方面的有效性(表 4)。

表 4 治疗性乙肝疫苗研究(2001 年 1 月至 2005 年)
Tab 4 Therapeutic hepatitis B vaccine research(2001 Jan. to 2005)

免疫策略	完成时间,国家或地区	研究结果
preS2 或 S	2001, 法国	疫苗可降低慢性乙肝患者体内的 HBV 复制水平 ^[9]
preS2, 分阶段进行	2002, 土耳其	疫苗可降低部分慢性乙肝患者体内的 HBV DNA 水平,疫苗与干扰素 α 的联合治疗效果优于干扰素 α 单独治疗 ^[10]
preS2, preS1, S	2002, 德国	疫苗促进 HBsAg 特异性 T 细胞的增殖和 Th2 细胞因子的产生,但未能诱导 Th1 淋巴因子的产生 ^[11]
pre-S2/S 疫苗	2003, 土耳其	对于高转氨酶水平、高病毒载量的免疫耐受儿童,疫苗未能实现血清转化,也未能降低其 HBV DNA 水平 ^[12]
糖基化/未糖基化 HBsAg 环状颗粒,少量 preS2	2003, 日本	包膜特异性 CD4 ⁺ T 细胞降低 HBV 复制水平,其机制是产生抗病毒细胞因子而不是促进细胞毒性 T 细胞的产生 ^[13]
pre-S2/S 疫苗	2003, 土耳其	疫苗未能对免疫耐受期的慢性乙肝患者起作用 ^[14]
pre-S2/S 疫苗	2003, 土耳其	疫苗未能对 HBsAg 非活性的患者血清转化起作用 ^[15]
自体树突状细胞疫苗	2004, 中国	临床研究表明,自体树突状细胞疫苗能较好地抑制 HBV 复制,降低血清病毒载量,促进 HBeAg 转化 ^[16]
pCMV-S2. S DNA 疫苗	2004, 法国	DNA 疫苗安全有效,可对部分抗病毒治疗无效的患者特异、暂时地激活 T 细胞应答 ^[17]
HBsAg-抗 HBs 免疫复合物型治疗性疫苗	2006, 中国	治疗性乙型肝炎疫苗在健康志愿者中安全有效地产生良好的特异性体液免疫和细胞免疫效应,尤其是特异性体液免疫效应 ^[18]

从表 4 可以看出,现有的治疗性疫苗临床研究多集中于利用前 S 抗原和 S 抗原来激活 T 细胞应答,但存在一定的局限性。DNA 疫苗研究时间较短,已完成的临床研究不多,而且其作用机制尚不十

分清楚,值得进一步深入研究。

治疗性乙肝蛋白疫苗和 DNA 疫苗均可望打破乙肝免疫耐受状态,但目前正在进行临床研究的治疗性乙肝疫苗不多(表 5)。

表5 在研的治疗性乙肝疫苗*

Tab 5 Therapeutic vaccines for hepatitis B in development

疫苗类别	研发企业	试验阶段	研究目的
由 PMED 疫苗枪介导的 ppdpSC18 治疗性乙肝疫苗	PowderMed	临床 I 期	慢性乙型肝炎感染患者 HBV DNA 治疗的安全性研究
重组乙肝表面抗原疫苗	上海复旦悦达生物技术(Shanghai Fudan-Yueda Bio-tech) 法国国家艾滋病及病毒性肝炎研究部(ANRS), 葛兰素史克(GlaxoSmithKline)	临床 II 期	治疗乙肝
		临床 III 期	联合拉米夫定治疗塞内加尔慢性乙型肝炎感染患者

* 资料来源:(1)美国国家卫生研究院(NIH)临床试验数据库(available at <http://www.clinicaltrials.gov/> accessed 2006-03-31);(2)上海复旦悦达生物技术有限责任公司(available at <http://www.fudanyueda.com/index1.asp> accessed 2006-04-15)

4 小 结

全球的乙肝防治形势严峻,乙肝病毒感染依然是造成世界范围内最常见的致死病因之一;因此,世界各国也都意识到了乙肝预防的重要性。从第一代血源性乙肝疫苗到第三代合成肽乙肝疫苗,常规免疫中所使用的乙肝疫苗生产技术日益成熟。目前的预防性疫苗研发方向之一是通过配伍、剂型、佐剂和传递系统等方面的技术改进,或者研制联合疫苗,使其在有效性、经济性和便捷性上更具优势;另一方向则是开发用于特定群体乙肝预防的疫苗。这些技术的进步将为各国的免疫计划提供更多、更为便捷有效的工具。

过去几年的研究表明,治疗性乙肝蛋白疫苗的应用仍然存在诸多难题,需要进一步深入探索其作用机制,才能更有针对性地明确研发方向。治疗性乙肝 DNA 疫苗研究仍然处于早期阶段,值得进一步深入研究。

[参 考 文 献]

[1] Eric EM, Harold SM, Anthony EF, et al. A Comprehensive Immunization Strategy to Eliminate Transmission of Hepatitis B Virus Infection in the United States; Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Part 1: Immunization of Infants, Children, and Adolescents [R]. MMWR Recommendations and Reports, 2005, 54:1-23.

[2] Canadian Nursing Coalition on Immunization. Canadian Hepatitis B Immunization Programs By Risk Group (updated 2006-03-28) [EB/OL]. Available at accessed 2006-04-30.

[3] Damme PV, Herck KV, Leuridan E, et al. Introducing universal hepatitis B vaccination in Europe; differences still remain between countries[J]. Eurosurveillance, 2004, 9:10-12.

[4] 中华人民共和国卫生部. 2006~2010 年全国乙型病毒性肝炎防治规划[R]. 2006.

[5] Government of India. Multi Year Strategic Plan 2005-2010; Universal Immunization Programme[R]. 2005.

[6] Koff RS. Hepatitis A, hepatitis B, and combination hepatitis vaccines for immunoprophylaxis; an update [J]. Dig Dis Sci, 2002, 47:1183-1194.

[7] Thanavala Y, Mahoney M, Pal S, et al. Immunogenicity in humans of an edible vaccine for hepatitis B[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102:3378-3382.

[8] Autran B, Carcelain G, Combadiere B, et al. Therapeutic vaccines for chronic infections[J]. Science, 2004, 305:205-208.

[9] Pol S, Nalpas B, Driss F, et al. Efficacy and limitations of a specific immunotherapy in chronic hepatitis B[J]. J Hepatol, 2001, 34:917-921.

[10] Senturk H, Tabak F, Akdogan M, et al. Therapeutic vaccination in chronic hepatitis B[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 17:72-76.

[11] Jung MC, Gruner N, Zachoval R, et al. Immunological monitoring during therapeutic vaccination as a prerequisite for the design of new effective therapies; induction of a vaccine-specific CD4⁺ T-cell proliferative response in chronic hepatitis B carriers[J]. Vaccine, 2002, 20:3598-3612.

[12] Dikici B, Bosnak M, Ucmak H, et al. Failure of therapeutic vaccination using hepatitis B surface antigen vaccine in the immunotolerant phase of children with chronic hepatitis B infection [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2003, 18:218-222.

[13] Ren F, Hino K, Yamaguchi Y, et al. Cytokine-dependent antiviral role of CD4-positive T cells in therapeutic vaccination against chronic hepatitis B viral infection[J]. J Med Virol, 2003, 71:376-384.

[14] Yalcin K, Danis R, Degertekin H, et al. The lack of effect of therapeutic vaccination with a pre-S2/S HBV vaccine in the immune tolerant phase of chronic HBV infection[J]. J Clin Gastroenterol, 2003, 37:330-335.

[15] Yalcin K, Acar M, Degertekin H. Specific hepatitis B vaccine therapy in inactive HBsAg carriers; a randomized controlled trial[J]. Infection, 2003, 31:221-225.

[16] Chen M, Li YG, Zhang DZ, et al. Therapeutic effect of autologous dendritic cell vaccine on patients with chronic hepatitis B; A clinical study [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11:1806-1808.

[17] Mancini-Bourgine M, Fontaine H, Scott-Algara D, et al. Induction or expansion of T-cell responses by a hepatitis B DNA vaccine administered to chronic HBV carriers [J]. Hepatology, 2004, 40:874-882.

[18] 刘顺爱, 徐道振, 张剑平, 等. 治疗性乙型肝炎疫苗的免疫效应 [J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14:89-92.

[收稿日期] 2006-05-14

[修回日期] 2006-06-19

[本文编辑] 邓晓群