

【临床与循证】

HBV 疫苗诱导树突状细胞和 T 淋巴细胞表达对聚乙二醇干扰素治疗慢性乙肝患者病毒学应答的影响

刘 邦¹, 林小钦², 林 静¹, 林海燕¹, 朱璐璐¹, 张碧凤¹, 朱秀玲³, 李东良^{1*}

1. 福建医科大学福总临床医学院(联勤保障部队第九〇〇医院)肝胆内科, 福建 福州 350025

2. 福建医科大学孟超肝胆医院 肝病科, 福建 福州 350025

3. 厦门大学附属东方医院 肝胆内科, 福建 福州 350025

摘要: 目的 探讨乙肝疫苗诱导树突状细胞(DC)和特异性细胞毒性T淋巴细胞(CTL)表达促进聚乙二醇干扰素 α (peg-IFN- α)治疗慢性乙型肝炎(CHB)患者病毒学应答的效果及安全性。方法 2016年1月—2019年1月南京军区福州总医院肝胆内科和福建医科大学孟超肝胆医院收治的120例HBsAg阳性CHB初治患者,随机分为疫苗诱导+peg-IFN- α 治疗组(治疗组)和peg-IFN- α 单药治疗组(对照组),各60例。治疗组采取HBV疫苗皮下多点注射,20 μ g/次,1次/4周,共3次;诱导开始2周后注射peg-IFN- α 180 μ g/次,1次/7d,总疗程50周。对照组皮下注射peg-IFN- α 180 μ g/次,1次/7d,总疗程48周。检测两组患者治疗前后12周的免疫学指标(DCs计数、IL-12水平和HBV特异性CTL细胞IFN- γ 反应率和反应强度);24和48周时HBV DNA阴转率、HBeAg血清学转换率及HBsAg转阴率。结果 最终108例完成实验(治疗组55例,对照组53例),两组患者抗病毒治疗前DCs数量和IL-12分泌水平均处于较低的水平,抗病毒治疗12周后DCs数量和IL-12水平较前均有明显上升,差异有统计意义($P<0.001$)。治疗组与对照组相比DCs计数、IL-12水平和特异性CTL细胞IFN- γ 反应强度,差异具有统计学意义($P<0.001$)。治疗24周、48周的HBV DNA转阴率、HBeAg血清学转换率,两组比较差异无统计学意义;但治疗组48周HBsAg转阴率,治疗组明显高于对照组两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 多点注射乙肝疫苗能够诱导CHB患者树突状细胞和HBV特异性CTL细胞表达及其细胞因子的分泌,提高聚乙二醇干扰素 α 治疗CHB患者的HBsAg转阴率。

关键词: 慢性乙型肝炎; 抗病毒治疗; 聚乙二醇干扰素 α ; 乙型肝炎疫苗; 病毒学应答

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2020)03-0521-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.03.031

Expression of dendritic cells and cytotoxic T lymphocyte induced by hepatitis B vaccination and its impact on virological response in patients with chronic hepatitis B treated with pegylated interferon

LIU Bang¹, LIN Xiaoqin², LIN Jing¹, LIN Haiyang¹, ZHU Lulu¹, ZHANG Bifeng¹, ZHU Xiuling³, LI Dongliang¹

1. Department of Hepatobiliary Medicine, Fuzong Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China

2. Department of Hepatology, Mengchao Hepatobiliary Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China

3. Department of Hepatobiliary Medicine, Oriental Hospital Affiliated to Xiamen University, Fuzhou 350025, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of hepatitis B vaccination on dendritic cells(DC) and cytotoxic T lymphocyte(CTL) expressions and virological response in patients with chronic hepatitis B being treated with pegylated interferon. **Methods** A total of 120 patients with HBsAg positive treatment-naive chronic hepatitis B (CHB) who visited the outpatient service or were hospitalized

收稿日期: 2020-01-05

基金项目: 福建省社会发展引导性(重点)项目(2016Y0068)

第一作者: 刘 邦(1989—)男,硕士,主治医师,研究方向为肝胆疾病。Tel: 15705960536 E-mail: 476396466@qq.com

*通信作者: 李东良,教授,主任医师,博士生导师,研究方向为肝胆疾病临床和科研。E-mail: dongliangli93@163.com

in Fuzhou General Hospital and Mengchao Hepatobiliary Hospital of Fujian Medical University from January 2016 to January 2019 were divided randomly into treatment group (60 cases) and control group (60 cases). The patients in the two groups were treated with pegylated interferon alpha (180 µg, subcutaneous injection, once a week) for 48 weeks, on this basis, the patients in the induction group were treated with hepatitis B vaccination (20 µg, multiple subcutaneous injection, once four weeks) for 3 times before interferon treatment for 2 weeks. The levels of dendritic cells and IL-12, and the magnitudes of IFN-γ releasing induced by HBV-specific cytotoxic T lymphocyte were measured before and 12 weeks after treatment. The negative rate of HBV-DNA, HBsAg, serological conversion rate of HBeAg of the patients in the two groups were observed after 24 and 48 weeks. **Results** Finally 108 cases (55 in the treatment group and 53 in the control group) completed the course of treatment, and involved in the analysis of results. After 12 weeks of treatment, the IL-12 levels of serum and DCs amounts in both groups were significantly higher than those before treatment ($P < 0.001$). The DCs amounts, IL-12 levels of serum and the magnitudes of IFN-γ releasing induced by HBV-specific CTL were significantly different between two groups ($P < 0.001$). There were no significant differences of HBV-DNA negative rates and HBeAg seroconversion rates between the two groups after 24 and 48 weeks treatment. The negative rate of HBsAg was significantly higher in the treatment group than that in the control group after 48 weeks treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** It is found that hepatitis B vaccination could induce DC and CTL proliferation, promote cytokines secreting, and improve HBV-DNA negative rate in patients with chronic hepatitis B being treated with pegylated interferon.

Key words: chronic hepatitis B; antiviral therapy; pegylated interferon alpha; hepatitis B vaccination; virological response

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是我国的常见病,治疗主要包括干扰素-α和核苷(酸)类药物两类药物,但均有一定的局限性。干扰素-α(IFN-α)应答率仅有30%~40%,核苷(酸)类药物虽然有较强的抑制乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)的作用,但停药后易复发,需要长期服药,并且易产生耐药性^[1]。因此,慢性乙型肝炎至今仍然是一个难以治愈的疾病,开发更加有效的治疗措施势在必行。近年来有学者探索性地开展了树突状细胞(DC)联合细胞因子诱导杀伤细胞(CIK)治疗慢性乙型肝炎,试图通过细胞免疫治疗达到清除HBV,提高乙肝病毒e抗原(HBeAg)和乙肝病毒表面抗原(HBsAg)血清转换率,让患者通过较短的治疗时间实现功能治愈,达到停药的目的^[2]。但是由于DC和CIK细胞均不是机体针对HBV免疫应答反应特异性细胞,难以诱导特异性免疫应答,治疗效果有限。迄今未正式在临床推广应用,因此,亟需进一步探索提高机体对HBV特异性免疫应答的治疗方法。本研究采取随机对照研究方法,观察了大剂量乙肝疫苗于淋巴结分布区域多点皮下注射诱导HBV特异性DC和特异性细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)的表达对聚乙二醇干扰素-α(peg-IFN-α)治疗的HBeAg阳性的慢性乙型肝炎患者病毒学应答的影响,以期寻找有效的治疗方法。

1 资料与方法

1.1 实验设计

采用前瞻性、单中心、随机对照研究,遵照赫尔

辛基宣言和中国药物临床试验的原则,研究开始前得到原南京军区福州总医院伦理委员会批准[福总医伦审【2015】第(07)号],每例患者入组前均签署知情同意书。

1.2 一般资料

2016年1月—2019年1月南京军区福州总医院肝胆内科和福建医科大学孟超肝胆医院门诊及住院收治的120例初治HBeAg阳性CHB患者,符合中华医学会肝病学分会、感染病学分会2015年版《慢性乙型肝炎防治指南临床诊断标准》^[3]。

入组标准:HBV DNA $\geq 1 \times 10^5$ 拷贝/mL,丙氨酸基转移酶(ALT)大于正常值(ULN)上线2倍以上,年龄18~60岁,从未使用过核苷酸类似物及干扰素抗病毒药物治疗的HBeAg阳性CHB患者,均知情同意,并签署知情同意书。按照治疗方法的不同随机分为2组,疫苗诱导+peg-IFN-α联合治疗组(治疗组)60例和单用peg-IFN-α治疗组(对照组)60例。两组患者性别组成、平均年龄、ALT和HBV DNA水平比较无差异,具有可比性。

排除标准:合并其他病毒性肝炎、同时感染人类免疫缺陷病毒、自身免疫性肝炎、酒精性肝病、脂肪性肝病等因素引起的肝功能异常,排除自身免疫性疾病、甲状腺功能异常、焦虑抑郁倾向、血细胞减少、心律失常和肝硬化失代偿期的乙型肝炎患者及孕妇和哺乳期妇女。治疗期间及停药不足6个月的育龄期的患者全程避孕。

剔除标准:抗病毒治疗未滿12周退出的患者,不纳入分析,完成12周后的患者无论是否完成全程

治疗均纳入分析。

1.3 试验药品及试剂

1.3.1 药品 聚乙二醇干扰素- α (peg-IFN- α 2a),上海罗氏制药有限公司生产,规格180 μ g/支,产品批号J20140075、J20170077;重组人乙肝疫苗,艾美汉信疫苗(大连)有限公司生产,规格10 μ g:0.5 mL/支,产品批号201506053、201707122。

1.3.2 试剂与仪器 罗斯韦尔公园纪念学院(Roswell Park Memorial Institute, RPMI) 1640 细胞培养基、重组人粒细胞集落刺激因子(recombinant human G-CSF, rhGM-CSF)重组人白细胞介素-4(recombinant human interleukin-4, rhIL-4)购于Teprotech公司,白细胞介素-12(interleukin-12, IL-12)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购于晶美公司, γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ) ELISPOS 试剂盒购于U-Cytech公司。HBV DNA 荧光定量PCR试剂购于中山大学达安基因有限公司,HBsAg和HBeAg半定量检测试剂购于雅培公司;谷氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂购于罗氏公司。ABI-7500 PCR 荧光定量仪(美国应用生物系统公司),I2000全自动免疫发光仪(雅培公司),ImmunoSpot S6自动ELISPOT分析仪(美国Cellular Technology Limited公司),RobasE80全自动生化分析仪(罗氏公司)。

1.4 治疗方法

应用随机数字表法,按照1:1的比例将120例患者随机分为两组,每组60例。

治疗组(疫苗诱导+peg-IFN- α):乙肝疫苗多点注射,每次分别于双侧上肢三角肌和双下肢大腿上部内侧皮下各注射5 μ g,共20 μ g,1次/4周,共3次;2周后开始皮下注射peg-IFN- α 180 μ g/次,1次/7 d,总疗程50周(peg-IFN- α 治疗时间为48周)。对照组:皮下注射peg-IFN- α 180 μ g/次,1次/7 d,总疗程均48周。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 树突状细胞检测 两组患者在治疗前,治疗后第12周检测DC。采集CHB患者静脉血20 mL,2 h内用预热至37 $^{\circ}$ C的PBS溶液以1:1的比例稀释后,淋巴细胞分离液分离收集单个核细胞(PBMC),用含10%FBS的PBS离心洗涤细胞2次,按照Morse等^[4]分离培养DC的方法,以含20%FBS的RPMI1640悬浮沉淀细胞,调整细胞浓度至 $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$ /mL,于培养瓶中置于37 $^{\circ}$ C、5%的CO₂孵箱中温育2 h,所得贴壁细胞即单核细胞。贴壁细胞用预

热至37 $^{\circ}$ C的含20%FBS的RPMI1640轻洗细胞3次,弃掉废液,然后贴壁细胞继续培养,加入完全的RPMI1640于培养瓶中,按含重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)100 ng/mL、rhIL-4 100 ng/mL终浓度加入细胞因子,置于37 $^{\circ}$ C、5%的CO₂孵箱中培养,第2天半量换液1次,收取上清液(含rhGM-CSF 50 ng/mL、rhIL-4 50 ng/mL),于-20 $^{\circ}$ C冻存,留待检测IL-12水平。于培养第5天加TNF- α 100 ng/mL,第7天收集细胞计数。

1.5.2 IL-12的检测 取培养第7天DC上清液,严格按照试剂盒说明书操作,ELISA法检测IL-12水平。

1.5.3 HBV特异性CTL功能检测 按照U-Cytech公司IFN- γ ELISPOS试剂盒说明书进行操作。溶解包被抗体,预先包被于96孔聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,每孔加入 3×10^5 个PBMCs细胞,同时每孔分别加入s183-191抗原肽设复孔,并设不加任何抗原的空白对照和佳植物血凝素(PHA)的阳性对照,37 $^{\circ}$ C 5%CO₂孵育箱中培养20 h,洗涤后加入生物素标记二抗,37 $^{\circ}$ C孵育1 h,洗涤后加入辣根过氧化物酶(HRP)标记生物素抗体,37 $^{\circ}$ C孵育1 h,洗涤后再加入AEC显色底物,温室孵育30 min后,可见紫色斑点,其中1个斑点代表1个能够产生INF- γ 的CTL细胞,自动ELISPOT分析仪读取斑点数目。

1.5.4 病毒学相关指标 两组患者分别在治疗前,治疗后第24、48周时静脉采血,荧光定量PCR检测HBV DNA;HBsAg和HBeAg半定量检测采用免疫发光法,HBsAg小于0.05 IU/mL为阴性,大于250 IU/mL的未对样本进行稀释定量;采用全自动生化分析仪检测ALT,正常值上限(ULN)为50 U/L。

1.6 疗效评估

根据2015年版《慢性乙型肝炎防治指南抗病毒治疗推荐意见》^[3]。主要观察指标为血清HBV DNA转阴率、HBsAg血清转换率和HBsAg转阴率。次要观察指标为疫苗及药物的安全性。分别于治疗前及治疗后第24、48周统计分析上述指标的变化。

转阴率=HBsAg转阴人数/患者总人数

转换率=HBV抗原消失抗体出现的人数/患者总人数

1.7 不良反应

所有患者每4周做1次血细胞分析,每12周检测1次肝功能、甲状腺功能和心电图,观察并记录在治疗过程中出现的临床症状和其他不良反应。

1.8 统计学方法

采用SPSS 19.0软件对检测数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用 t 检验,计数

资料采用 χ^2 检验,非正态分布的计量资料用中位数(M)表示,秩和检验。 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料及基线情况

共入组120例CHB患者,12例患者因治疗过程中出现了不能耐受的不良反应或不愿意继续参加本研究分别在12周内退出,未完成试验设计要求的最短治疗时间,因此未纳入分析。最后纳入分析的共108例,其中治疗组55例、对照组53例。两组患者均为HBsAg阳性、HBsAg均 >250 IU/mL、HBV DNA高载量、ALT大于正常检测值下限2倍以上。符合我国2015年《慢性乙型肝炎防治指南》^[3]推荐的抗病毒治疗指征的。治疗前两组患者性别、年龄、HBV DNA及ALT水平基线特征一致,均无统计学差异($P>0.05$),见表1。

2.2 树突状细胞数量和功能变化

两组患者抗病毒治疗前,DC数量和IL-12分泌水平均处于较低的水平,两组比较没有差异。抗病毒治疗12周后检测DC数量和IL-12水平均有明显上升,与治疗前相比差异均具有统计学意义($P<0.001$),且治疗组上升更加显著,与对照组比较,DC数量($t=8.28$, $P=0.000$)和IL-12水平($t=4.56$, $P=0.000$)的差异均具有统计学意义。见表2。

2.3 细胞毒T淋巴细胞功能改变

抗病毒治疗前乙肝疫苗诱导组HBV抗原诱导的CTL分泌IFN- γ 反应率为67.27%(18/55),对照组为66.04%(18/53),两组比较无统计学差异($\chi^2=0.019$, $P=0.892$);HBcAg特异性抗原诱导的CTL分泌IFN- γ 反应强度,治疗前治疗组为56.11(0~768) SFU/ 10^6 PBMCs,对照组为52.83(0~789) SFU/ 10^6 PBMCs,两组比较差异也无统计学意义($Z=0.554$, $P>0.05$)。peg-IFN- $\alpha 2a$ 抗病毒治疗12周后检测HBcAg特异性抗原诱导的CTL细胞分泌IFN- γ 反应率,与治疗组比较差异无统计学意义(98.11% vs 100%, $\chi^2=1.04$, $P=0.306$),但治疗组的反应强度明显高于对照组[67.20(230~4 056) vs 41.32(0~2 654)],两组比较差异具有统计学意义($Z=4.294$, $P=0.000$)。

2.4 病毒学应答情况

两组患者抗病毒治疗后HBV DNA均逐渐下降,治疗组与对照组比较,HBV DNA转阴率在24周(49.06% vs 54.55%, $\chi^2=0.326$, $P=0.568$)、48周(62.26% vs 67.27%, $\chi^2=0.297$, $P=0.586$)时均无明显差异。HBsAg血清转换率在24周(28.30% vs 38.18%, $\chi^2=1.186$, $P=0.276$)和48周(45.45% vs 30.18%, $\chi^2=2.67$, $P=0.102$)时两组比较差异也均无统计学意义。但治疗组48周HBsAg转阴率明显高于对照组(12.72% vs 1.89%, $\chi^2=4.625$, $P=0.032$),两组比较差异有统计学意义。见表3。

表1 两组患者基线资料

Table 1 Baseline characteristics of two groups

组别	n/例		平均年龄/岁	ALT/(U·L ⁻¹)	HBV DNA/(1×10^7 ·mL ⁻¹)
	男	女			
对照	28	25	33.87 $\pm$ 7.19	229.74 $\pm$ 58.89	7.28 $\pm$ 6.90
治疗	29	26	33.75 $\pm$ 6.32	219.69 $\pm$ 52.75	6.89 $\pm$ 6.59

表2 两组患者治疗前后DC细胞数量和IL-12水平比较

Table 2 Comparison on DC number and IL-12 level before and after treatment between two groups

组别	n/例	观察时间	DC/($\times 10^5$ ·mL ⁻¹)	IL-12/(pg·mL ⁻¹)
对照	53	治疗前	2.46 $\pm$ 0.55	33.23 $\pm$ 5.40
		治疗后	3.50 $\pm$ 0.54*	39.69 $\pm$ 7.29*
治疗	55	治疗前	2.58 $\pm$ 0.69	33.65 $\pm$ 5.08
		治疗后	4.53 $\pm$ 0.74**	45.89 $\pm$ 6.84**

与同组治疗前比较: * $P<0.05$, 与对照组治疗后比较: ** $P<0.05$

* $P<0.05$ vs same group before treatment; ** $P<0.05$ vs control group after treatment

2.5 安全性分析

治疗组患者未出现与疫苗相关的不良反应。治疗过程中两组多数患者均出现了不同程度的感冒样症状,主要发生在peg-IFN- $\alpha 2a$ 治疗的初始阶段。血细胞减少也是常见的并发症,主要为粒细胞减少和血小板下降,主要发生在治疗4周以后,8周以后趋于稳定,多数患者不再继续下降。其中12例患者(对照组7例,治疗组5例)因严重血小板减少、甲状腺功能异常、反复发热等不良反应退出研究,停药后6~8周出现严重不良反应的患者各项实验室指标均自行恢复到peg-IFN- $\alpha 2a$ 治疗前的水平。上述各项不良反应,两组间比较无明显差异。

表3 抗病毒治疗24、48周两组患者病毒应答情况比较

Table 3 Comparison on viral response of antiviral therapy for 24 and 48 weeks between two groups

组别	n/例	时间/周	HBV DNA 转阴率/%	HBeAg 转换率/%	HBsAg 转阴率/%
对照	53	24	49.06	28.30	0.00
		48	62.26	30.18	1.89
治疗	55	24	54.55	38.18	0.00
		48	67.27	45.45	12.72 [#]

与对照组同期比较:[#] $P<0.05$ [#] $P<0.05$ vs control group at same time

3 讨论

慢性乙型肝炎治疗的目标是最大限度地抑制HBV复制,减轻肝细胞炎症坏死及肝纤维组织增生,延缓和减少肝功能衰竭、肝硬化失代偿,肝癌(HCC)及其他并发症的发生,从而改善患者的生命质量和延长其生存时间^[1]。在治疗过程中,对于部分适合的患者应尽可能追求CHB临床治愈(或功能性治愈),即停止治疗后仍保持HBsAg阴性(伴或不伴抗-HBs出现),检测不到HBV DNA,肝脏生化指标正常,肝脏组织病变改善^[1,5]。HBsAg阴转与肝功改善,组织病理改善以及患者的长期预后改善密切相关,是目前国内外最新指南推荐的理想治疗目标。然而,目前批准临床使用的两类抗乙肝病毒药物,核苷(酸)类似物和peg-IFN- α 单独使用临床治愈的作用有限。近年来,国内外学者^[6-8]采取核苷(酸)类药物与peg-IFN- α 序贯或联合的优化治疗方案可使部分优势人群获得良好的疗效。但是,临床上总体能达到优化治疗条件的CHB患者相对较少,大部分HBeAg阳性的CHB患者难以达到优化治疗的条件。因此,仍然需要探索新的,更加有效的CHB患者临床治愈的策略和方案。

peg-IFN- α 是目前寻求CHB功能治愈的关键药物,其主要是通过增强免疫细胞功能和促进细胞因子表达,诱导干扰素刺激基因(ISGs)经干扰素信号通路编码多种抗病毒蛋白等环节作用于HBV复制和转录等重要生物合成过程,从而发挥免疫调节和直接抗病毒作用。此外,干扰素还可通过增强HBV前基因组RNA(pgRNA)和核心颗粒降解,或通过cccDNA的表观遗传修饰来抑制HBV的转录,并减少病毒蛋白,如HBsAg的表达^[5]。但是,干扰素个体差异较大,单独使用仅能使较少患者达到满意的治疗终点,且不良反应较多。如何提高干扰素抗乙型肝炎病毒的应答率,使更多的患者达到满意的、理想的治疗终点,实现临床功能治愈是近年来慢性

乙型肝炎抗病毒治疗研究的热点之一。

乙型肝炎自然史和慢性化机制研究已经证实机体固有免疫和获得性免疫应答不足是HBV感染慢性化的重要机制,也是干扰素和核苷(酸)类药物抗病毒治疗应答不佳主要原因。而DC是固有免疫应答中最重要的抗原提呈细胞(APC),TCL即CD8⁺的T淋巴细胞是乙型肝炎获得性免疫应答的重要效应细胞。改善这两类细胞的功能,打破免疫耐受和HBV抗原对机体的免疫抑制作用,就有可能提高机体对HBV的清除能力和提高抗病毒药物的病毒学应答率。动物研究显示^[9]:与HBsAg共培养后的DC,更具有免疫性,注入HBV小鼠模型体内,可使HBsAg转阴,部分小鼠还出现抗-HBs。在对CHB患者的试验性治疗中,也证明其是安全有效的^[10]。注射HBsAg负载的DC疫苗后,所有志愿者都产生了抗-HBs。但在随后的临床试验研究中并不顺利,至今尚未治疗性疫苗上市。

本研究采用乙肝疫苗,在体表淋巴结分布区域多点注射,活化宿主免疫细胞,诱导DC和特异性CTL表达,以期提高聚乙二醇干扰素对慢性乙型肝炎的病毒应答率。研究结果显示:多点注射乙肝疫苗能够诱导CHB患者树突状细胞和HBV特异性CTL细胞表达,且其相关细胞因子的分泌增加,并能提高peg-IFN- α 治疗CHB患者的HBsAg转阴率。再次证实了通过调节主动免疫的方法能够改善高peg-IFN- α 治疗CHB病毒学应答率。但是,在本研究中患者的其他病毒学指标,HBV DNA转阴率和HBeAg的血清转换率,疫苗诱导组与聚乙二醇干扰素单药治疗组相比,虽然应答率也有增高的趋势,但差异没有统计学意义,这可能与样本量尚偏少有关。另外,乙肝疫苗经中国药监部门批准的在新生儿、儿童和成人均可以使用。安全性较好,在本研究中,所有患者均未出现与疫苗相关的不良反应。

上述结果提示采用乙肝疫苗诱导机体固有免疫和适应性免疫,促进DC和CTL等免疫细胞活化,提高抗乙肝病毒药物的病毒学应答是容易实现一种策略和方法,值得进一步扩大样本量,优化疫苗诱导辅助治疗时机和次数。验证HBV疫苗诱导特异性免疫在提高慢性乙型肝炎抗病毒疗效方面的作用和价值。

参考文献

- [1] 中华医学会感染病学分会,肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版) [J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(12): 2648-2669.
- [2] 王少扬,林涛发,刘海周,等. 自体细胞因子诱导的杀伤性淋巴细胞治疗慢性乙型肝炎患者临床观察 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(4): 530-533.
- [3] 中华医学会肝病学会,感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(12): 888-905.
- [4] Morse M A, Zhou L J, Tedder T F, et al. Generation of dendritic cells *in vitro* from peripheral blood mononuclear cells with granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor, interleukin-4, and tumor necrosis factor-alpha for use in cancer immunotherapy [J]. Ann Surg, 1997, 226(1): 6-16.
- [5] 中华医学会感染病学分会,肝病学会. 慢性乙型肝炎临床治愈(功能性治愈)专家共识 [J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(8): 594-603.
- [6] Ning Q, Han M, Sun Y, et al. Switching from entecavir to pegIFN alfa-2a in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised open-label trial (OSST trial) [J]. J Hepatol, 2014, 61(4): 777-784.
- [7] Hu P, Shang J, Zhang W, et al. HBsAg loss with peg-interferon alfa-2a in hepatitis B patients with partial response to nucleos(t)ide analog: new switch study [J]. J Clin Transl Hepatol, 2018, 6(1): 25-34.
- [8] 郑长涛,李东良,吴志贤,等. 替比夫定联合阿德福韦酯治疗青年高病毒载量HBeAg阳性慢性乙型肝炎的临床观察 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(4): 619-622.
- [9] Akbar F S M, Furukawa S, Hasebe A, et al. Production and efficacy of a dendritic cell-based therapeutic vaccine for murine chronic hepatitis B virus carrierer [J]. Int J Mol Med, 2004, 14: 295-299.
- [10] Akbar F S M, Furukawa S, Onji M, et al. Safety and efficacy of hepatitis B surface antigen-pulsed dendritic cells in human volunteers [J]. Hepatol Res, 2004, 29(3): 136-141.