

分类号_____

密级_____

U D C_____

编号_____

厦 门 大 学

博 士 后 研 究 工 作 报 告

戊型肝炎病毒自然感染及免疫加强后抗体衰减规律研究和
戊肝疫苗保护性抗体水平研究

苏 迎 盈

工作完成日期 2017 年 7 月

报告提交日期 2017 年 8 月

厦门大学
2017 年 8 月

戊型肝炎病毒自然感染及免疫加强后抗体衰减规律研究和
戊肝疫苗保护性抗体水平研究

Persistence of antibodies induced by natural hepatitis E virus infection with or
without hepatitis E vaccine boosting and the seroprotective antibody level of hepatitis
E

博 士 后 姓 名 苏迎盈

流动站（一级学科）名称 生物学

专 业（二级学科）名称 流行病与卫生统计学

研究工作起始时间 2015 年 8 月

研究工作期满时间 2017 年 8 月

厦 门 大 学

2017 年 8 月

厦门大学博士后研究工作报告

著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用博士后研究工作报告的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交该报告的纸质版和电子版,有权将该报告用于非赢利目的的少量复制并允许该报告进入学校图书馆被查阅,有权将该报告的内容编入有关数据库进行检索,有权将博士后研究工作报告的标题和摘要汇编出版。保密的博士后研究工作报告在解密后适用本规定。

本研究报告属于: 1、保密 (), 2、不保密 ()

纸本在 _____ 年解密后适用本授权书;

电子版在 _____ 年解密后适用本授权书。

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名: _____ 日期: _____ 年 _____ 月 _____ 日

导师签名: _____ 日期: _____ 年 _____ 月 _____ 日

摘要

自然感染获得的免疫力对于预防 HEV 的新发感染发挥着重要的作用，但自然感染获得的 HEV 抗体的衰减规律和持续时间尚不清楚。本研究基于戊型肝炎疫苗 III 期临床试验及其延续性监测中所采集的免后 5.5 年内的系列血清抗-HEV IgG 数据，将其分成三个数据集进行免疫持久性分析，数据集 A 为对照组基线 HEV IgG 阳性人群，7m 及之后至少一个时间点有抗-HEV IgG 定量检测结果，共纳入 2242 人；数据集 B 为对照组 7m 内 HEV 新发感染人群，7m 之后至少一个时间点有抗-HEV IgG 定量检测结果，共纳入 60 人；数据集 C 为疫苗组基线 HEV IgG 阳性戊肝疫苗免疫人群，7m 之后至少一个时间点有抗-HEV IgG 定量检测结果，共纳入 2031 人。采用数学建模的方式首次研究戊肝自然感染诱导的抗体及免前戊肝抗体阳性人群接种戊肝疫苗后产生的 HEV 抗体衰减规律和持续时间，以及戊型肝炎疫苗的保护性抗体水平。

研究结果显示，HEV 自然感染诱导的抗体呈线性衰减，线性混合效应模型预测 HEV 自然感染 14.5 年后人群抗-HEV IgG 平均水平会低于检测线，该人群中 50% 及 100% 的研究对象 14.5 年及 25 年后抗-HEV IgG 抗体阴转。自然感染人群经戊肝疫苗加强免疫后，抗体呈指数衰减，幂法则模型和优化幂法则模型预测该人群中 82.1% 及 99.4% 的研究对象在戊肝疫苗免后 30 年内抗-HEV IgG 抗体保持阳性。提示在该人群进行戊肝疫苗加强免疫后，可获得长期甚至终生的免疫力，极大的提升群体免疫力。

通过间接法计算戊肝疫苗保护性抗体水平，研究结果提示 12WU/mL 可能为戊肝疫苗的保护性抗体水平，但仍需进一步的研究证实。戊肝疫苗接种后，是否需要进一步 HEV IgG 定量检测，以及 7m 抗体低于 12WU/mL 人群是否需要加强免疫尚需进一步的研究。

关键词： 戊型肝炎病毒，持久性，疫苗，抗体水平，数学模型

Abstract

Naturally acquired anti-hepatitis E virus (HEV) immunity can protect against new HEV infection, although the long-term persistence of natural anti-HEV IgG remains unknown. We analyzed the serology data of a phase III clinical trial of the HEV 239 vaccine during a 67 month follow-up period and predicted long-term persistence with mathematical models. The serology data was grouped into three data sets. Data set A is composed of participants in the control group who were anti-HEV IgG seropositive at baseline and had valid antibody data for at least one time point between months 7 and 67. Data set B included participants in the control group who converted from seronegative at baseline to seropositive at month 7. Participants in the vaccine arm who were anti-HEV IgG positive at months 0 and 7 and had at least one valid antibody result after month 7 were assigned to Data set C. There were 2242, 60 and 2031 participants in Data sets A, B and C respectively.

The data showed that naturally acquired anti-HEV levels decrease steadily independently of the initial antibody level and that 50% of participants are expected to lose their antibodies after 14.5 years. After immunization with HEV vaccine booster, the power-law model and modified power-law model predicted that 82.1% or 99.4% of the participants would remain seropositive at 30 years post vaccination. In conclusion, our data indicated that herd immunity acquired from natural infection would decrease. Administration of HEV vaccine booster would provide life-long anti-HEV immunity and dramatically increase herd immunity.

Keywords: hepatitis E virus, persistence, vaccine, antibody level, mathematic model

目录

前言.....	1
研究目的及意义.....	1
材料与方法.....	2
一、 资料来源.....	2
二、 分析方法.....	3
研究结果.....	7
第一部分 HEV 自然感染诱导的免疫持久性分析.....	7
一、 研究人群的基本特征.....	7
二、 HEV 自然感染中基线抗体阳性人群免疫持久性分析.....	8
三、 HEV 自然感染中 0-7m 新发感染的人群免疫持久性.....	12
第二部分 戊肝疫苗免疫持久性分析.....	15
一、 研究人群的基本特征.....	15
二、 免前抗-HEV IgG 阳性人群戊肝疫苗免疫持久性分析.....	16
第三部分 戊型肝炎疫苗保护性抗体水平初步探索.....	21
讨论.....	29
参考文献.....	31
博士后期间承担的科研项目及科研成果.....	34
致谢.....	36

前言

戊型肝炎病毒 (hepatitis E virus, HEV) 感染可导致戊型病毒性肝炎 (戊肝), 其临床症状包括隐性感染, 急性病毒性肝炎、暴发性肝衰竭以及肝外症候群等, 在免疫缺陷人群中可能发展成慢性肝炎^[1]。HEV 感染多数呈自限性, 病死率大约 0.5%-4%^[2]。然而在孕妇中, 不仅可导致严重的肝脏疾病, 还可能会出现流产、早熟、低出生体重及围产儿死亡^[3], 且孕妇病死率可高达 20%^[4]。HEV 在全球 30 多个国家发生过数千例或者数万例大规模的流行^[5], 据 WHO 估计, 全球每年约 2000 万人感染 HEV, 导致约 300 万人发病及 5.66 万人死亡, 主要集中在发展中国家^[6]。在发达国家, 报告的本土戊肝病例越来越多^[2]。1986-88 年发生于我国新疆南部的戊肝爆发流行导致了 11 万余人发病, 700 余人死亡^[7]。我国近十年的卫生部传染病报告数据显示, 我国戊肝年死亡人数明显超过甲肝, 自 2012 年以来, 戊肝发病人数也已超过甲肝。

HEV 为 RNA 病毒, 感染人类的 HEV 可分为 4 种基因型, 即 1,2,3 和 4 型, HEV-1 和 HEV-2 的自然感染目前仅见于人类 (人源型), 而 HEV-3 和 HEV-4 的自然宿主还包括猪及多种野生哺乳动物 (人畜共患型)^[2]。HEV 只有一种血清型, 1-4 型 HEV 彼此能很好地交叉保护^[8]。

2012 年, 我国自主研发的世界上第一支重组戊型肝炎疫苗在中国上市^[9], 大规模的 III 期临床试验及其延续性监测数据显示该疫苗对 16 岁以上人群的 19 个月保护率为 100.0% (95%CI, 72.1-100.0), 54 个月的保护率为 86.8% (95%CI, 71.0-94.0)^[10, 11]。有研究表明, 不论是疫苗诱导的抗体还是 HEV 自然感染后产生的抗体, 均可保护 HEV 的新感染。抗-HEV IgG 在 0.077-1.0WU/mL 的范围时, 感染的相对危险度 (Relative risk, RR) 降至 0.58 (95%CI, 0.27-0.65), 当抗-HEV IgG 高于 1.0WU/mL 时, RR 降至 0.09(95%CI, 0.04-0.17)^[12]。

1988 年上海甲肝大爆发的经验已充分提示了人群免疫水平低下会显著提高急性肝炎爆发流行风险^[13]。在自然状态下，一般人群中 HEV 抗体阳性率较高，发展中国家一般人群 HEV 抗体阳性率在 30%-50% 之间，发达国家在 0%-20% 之间，多数为亚临床感染而获得的抗体，但抗体水平普遍较低^[14]。自然感染获得的 HEV 抗体的衰减规律和持续时间尚不清楚。既往数学模型预测结果显示，免前抗-HEV IgG 阴性人群接种 3 针戊肝疫苗后人群整体抗-HEV IgG 平均水平在 8~13 年后会降低至检测线（0.077WU/mL）以下^[15]。加强免疫可使 HEV 抗体阳性人群的平均抗体水平提高 50 倍^[12]，但能使抗体的持续时间延长多久也不得而知。除抗体阴性者外，抗体阳性者是否也有必要进行疫苗接种以改善群体免疫水平是制定戊肝防控免疫策略所关注的一个重要问题。为回答这一问题，亟需了解人群中自然获得的 HEV 抗体的衰减规律、持续时间，以及 HEV 抗体阳性人群免疫加强后的衰减规律和持续时间。

疫苗免疫应答的效果通常用 B 细胞分泌抗体的平均水平来评价^[16]，此外，疫苗的长期保护性与疫苗产生抗体的持久性和记忆性免疫细胞受到微量刺激产生的特异性应答有关^[17]。数学模型预测疫苗免疫持久性模型参数设立时一般考虑以下几个因素^[18-22]：①活化 B 细胞的衰减和增生；②记忆 B 细胞；③细胞介导的免疫应答；④个体特异性。目前研究使用较多的是线性模型^[23]、指数模型^[24]、幂法则模型^[25, 26]和优化幂法则模型^[25, 26]。在缺乏人群疫苗免疫后长期免疫原性数据的前提下，通过合理的建模获得的预测数据，可对政策的制定者有一定的指导意义。

疫苗的保护性抗体水平一直以来备受关注，疫苗保护性水平决定了疫苗是否有必要进行加强免疫以及在一些资源丰富的国家，个体接种疫苗后是否需要检测其免后抗体水平等^[27]。由于戊肝疫苗的保护率高，戊肝疫苗组的突破病例极少，因此尚未获得戊肝的保护性抗体水平。研究表明，疫苗免后最高的抗体水平可以预测疫苗对疾病的保护效果^[27]，本研究采用戊肝疫苗免后最高（7m）

时的抗体，通过简单的数理模型，探索性分析戊肝疫苗保护性抗体水平。

因此，在以数学模型成功模拟疫苗免疫抗体阴性人群的抗体衰减规律之后，本课题基于戊肝疫苗Ⅲ期临床试验及其延续性监测中所采集的免后 5.5 年系列血清抗体数据，分析 HEV 自然感染及戊肝抗体阳性人群接种戊肝疫苗后诱导的抗体衰减规律，并建立数学模型，预测抗体长期衰减规律及持续时间，以期明确戊肝疫苗对长期维持群体免疫水平的作用，同时采用戊肝疫苗免后最高（7m）时的抗体，通过简单的数理模型，探索性分析疫苗保护性抗体水平，为戊肝防控免疫策略的制定提供理论基础。

研究目的及意义

一、 研究目的

1. 阐明自然感染诱导的 HEV 抗体衰减规律，预测自然感染人群 HEV 抗体的持续时间。
2. 阐明戊肝抗体阳性人群加强免疫后抗体衰减规律，预测戊肝抗体人群加强免疫后的免疫持续时间。
3. 探索性分析戊肝保护性抗体水平，为是否需要加强免疫及加强免疫程序提供初步数据。

二、 研究意义

2012 年，我国自主研发的世界上第一支戊型肝炎疫苗在中国上市，大规模的 III 期临床试验数据显示该疫苗在接种后的 4.5 年内安全有效，但目前尚缺乏疫苗诱导的免疫应答在接种过后更加长期的保护效果的数据，自然感染人群是否有必要加强疫苗接种以改善群体免疫水平，是否是制定戊肝防控免疫策略所关注的一个重要问题。通过本研究，可全面阐述自然感染人群、戊肝抗体阳性加强免疫人群 HEV 抗体衰减规律，以期明确戊肝疫苗对长期维持群体免疫水平的作用。同时探索性分析戊肝保护性的抗体水平，为接种疫苗人群是否需要加强免疫及加强免疫程序提供初步数据，为完善戊肝疫苗的免疫策略提供宝贵的基础数据。

材料与方法

一、资料来源

2007年8月-2009年5月在江苏省完成了戊型肝炎疫苗III期临床试验，该研究在江苏东台县十一个镇最终入组共112604名合格志愿者，所有志愿者在盲态下被随机分配到戊型肝炎疫苗组（56302人）和安慰剂对照组（56302人），分别按照0,1,6m的免疫程序接种三针戊肝疫苗或乙肝疫苗，观察研究期（19月）内戊型肝炎的发病情况。2009年该研究结束后现场仍然保持盲态，继续开展戊肝III期临床试验延续观察，评价疫苗的中长期保护性、疫苗中长期免疫持久性以及疫苗的保护性抗体水平等。戊肝III期临床试验中，为评估戊肝疫苗免疫原性和免疫持久性，分别于接种前（0d）、全程免后1个月（7月）及19月采集安丰镇（11449名）志愿者和溱东镇（2645名）志愿者的免疫血清，该研究结束后2年，对2个镇的志愿者每年进行一次血清学随访（31月和43月），其后2个镇交替，每2年进行1次血清学随访（安丰67；溱东55），每人每次采集5ml静脉血。试验流程图如图1所示。

采用ELISA方法对戊肝特异性IgG抗体分别进行定性和定量检测，以世界卫生组织发布的戊型肝炎病毒感染血清参考品为定量参考品。

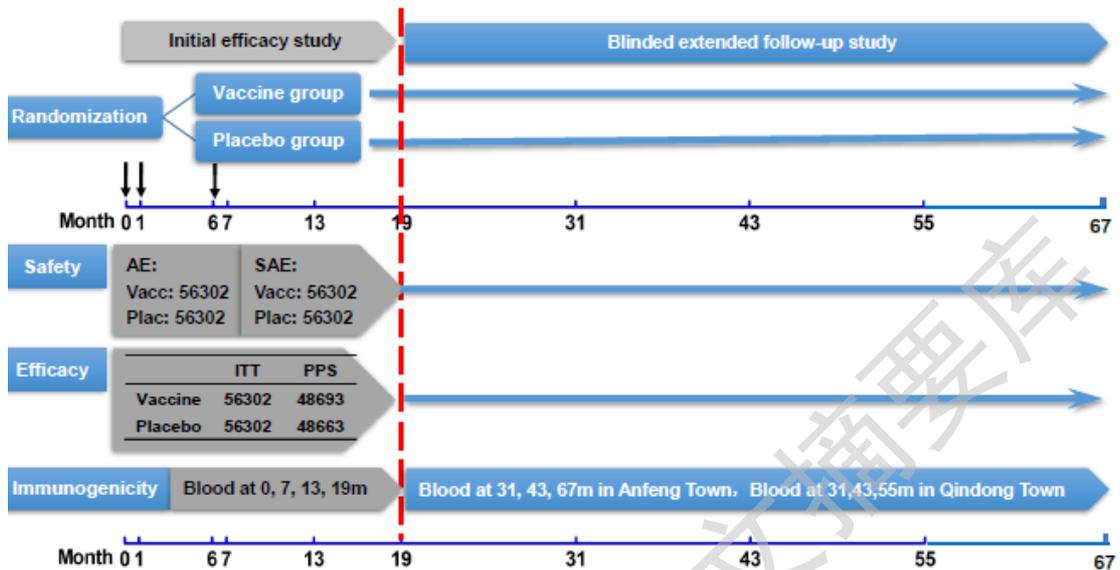


图 1 试验流程图

二、分析方法

(一) 免疫持久性分析

本研究采用安丰镇志愿者的 0-67 个月的血清结果数据作为建模数据，分成三个数据集进行免疫持久性分析，数据集入选标准如下：

数据集 A（基线 HEV IgG 阳性人群）：

- (1) 接种前（0d）血清抗-HEV IgG 阳性；
- (2) 接种乙肝；
- (3) 7m 及之后至少一个时间点有抗-HEV IgG 定量检测结果；
- (4) 未发生亚临床感染。

数据集 B（7 个月内新感染人群）：

- (1) 接种前（0d）血清抗-HEV IgG 阴性，7m 血清抗-HEV IgG 阳性；
- (2) 接种乙肝；
- (3) 7m 之后至少一个时间点有抗-HEV IgG 定量检测结果；
- (4) 未发生亚临床感染。

数据集 C（基线 HEV IgG 阳性戊肝疫苗免疫人群）：

- (1) 接种前（0d）血清抗-HEV IgG 阳性，7m 血清抗-HEV IgG 阳性；

- (2) 接种戊肝;
- (3) 7m 之后至少一个时间点有抗-HEV IgG 定量检测结果;
- (4) 未发生亚临床感染。

其中数据集 A 和 B 用于分析不同状态下的自然感染诱导的免疫持久性。数据集 C 用于戊肝抗体阳性人群加强疫苗后的免疫持久性分析。

1. 抗体衰减规律分析

通过分析研究对象 0m,7m,19m,31m,43m,67m 的血清阳性率及几何平均浓度 (Geometric mean concentrations, GMC) 来了解相应人群的抗体衰减规律。

2. 免疫持久性模型预测

本研究采用的数学模型主要有以下三种:

- (1) 幂法则模型 (Power-law model)

$$f(t) = k - \alpha \log(c + t)$$

参数意义: 1) t 为距离第一针接种的时间, 以月为单位; 2) f(t) 为时间 t 时 $\log_{10}(\text{GMC})$; 3) c 为任意常数, 一般设置为 0; 4) a 为 B 细胞的衰减率, 为随机效应; 5) k 为估计值, 为随机效应。

参数估计: K_0 、 a_0

- (2) 优化幂法则模型 (Modified Power-law model)

$$f(t) = k + \log[(1 - \pi)(c + t)^{-a} + \pi]$$

参数意义: 1) t 为距离第一针接种的时间, 以月为单位; 2) f(t) 为时间 t 时 $\log_{10}(\text{GMC})$; 3) c 为任意常数, 一般设置为 0; 4) a 为 B 细胞的衰减率, 为随机效应; 5) k 为估计值, 为随机效应; 6) π 表示新生抗体所占的比率, $0 \leq \pi \leq 1$

参数估计: K_0 、 a_0 、 π

- (3) 线性混合效应模型 (Linear mixed effects model)

$$f(t) = \beta_0 + \beta_1 t$$

参数意义: 1) t 为距离第一针接种的时间, 以月为单位; 2) f(t)

为时间 t 时 $\log_{10}(\text{GMC})$ ；3) 该模型假设体内产生的抗体以一次函数形式进行衰减，且以固定的速率衰减，即为 β_1

参数估计： β_0 、 β_1

为进一步评价所选模型对各个数据集的拟合情况，本研究选用赤池信息量准则 (Akaike information criterion, AIC) 及贝叶斯信息准则 (Bayesian Information Criterion BIC)，GMC 比值及阳性率差值三个指标评价模型的拟合优度。

免疫持久性分析的技术路线如图 2：

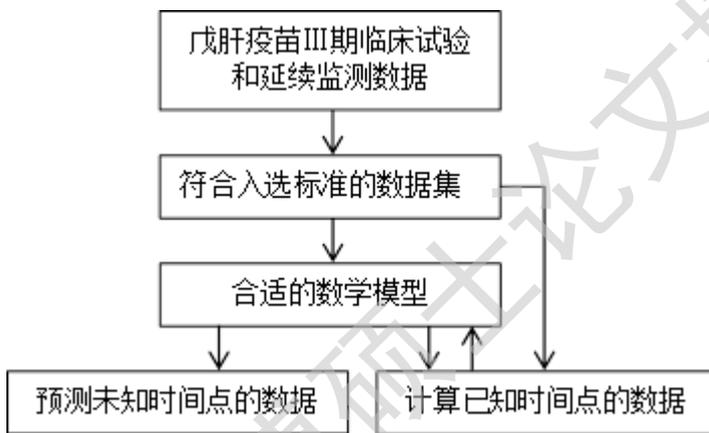


图 2 研究技术路线

(二) 戊型肝炎疫苗保护性抗体水平初步探索

由于戊肝疫苗的保护率高，戊肝疫苗组的突破病例极少，本研究采用间接计算法基于 III 期临床试验中 7-19m，7-54m 符合方案集 (Per-protocol Set, PPS) 数据初步探索戊肝疫苗保护性抗体水平。

研究假设：假设戊肝疫苗组所有戊肝病例均出现在 7m 时的 HEV IgG 低抗体水平组。低抗体组人年计算：利用免疫原性数据集数据，计算低抗体组人群所占的比例，PPS 集疫苗组总人年乘以免疫原性数据集中低抗体组人群所占的比例即为低抗体组人年。采用条件确切法计算^[28] 低抗体组的疫苗保护率。该方法考虑到每组受试者的随访时间，用于计算比率 (疫苗组和对照组事件发生率的

比值)的 95%CI。疫苗保护率等于 1 减去比率。低抗体水平界值 (cut-off level) 选定: 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 WU/mL。分别计算不同抗体水平界值下的低抗体组的疫苗保护率。

戊肝疫苗保护性抗体水平定义: 若某抗体水平界值下的低抗体组的疫苗保护率的 95%可信区间 (confidence interval, CI) 的下限>0%时, 该界值视为戊肝疫苗保护性抗体水平。

研究结果

第一部分 HEV 自然感染诱导的免疫持久性分析

一、研究人群的基本特征

安丰镇 11449 名志愿者中，对照组 5717 人。其中 2474 名（43.3%）志愿者免前抗-HEV IgG 阳性，平均年龄为 46.1 ± 10.5 岁，男性占 50.4%。依据数据集 A 的入选标准，最终纳入 2242 人分析 HEV 自然感染人群免疫持久性，平均年龄为 46.3 ± 10.3 岁，男性占 49.3%。依据数据集 B 的入选标准，最终纳入 60 人分析 7 个月内 HEV 新发感染的人群免疫持久性。（表 1，图 3）

表 1 HEV 自然感染人群的基本特征（对照组）

变量	原数据集		数据集 A		数据集 B	
	n	%	n	%	n	%
性别						
男	1247	50.4	1105	49.3	20	33.3
女	1227	49.6	1137	50.7	40	66.7
年龄	46.1 ± 10.5		46.3 ± 10.3		44.8 ± 10.8	
16-20	51	2.1	35	1.6	1	1.7
21-30	140	5.7	117	5.2	7	11.7
31-40	543	22.0	499	22.3	10	16.7
41-50	796	32.2	723	32.3	20	33.3
51-60	760	30.7	702	31.3	20	33.3
61-65	184	7.4	166	7.4	2	3.3
合计	2474	100.0	2242	100.0	60	100.0

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库