

- 4 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2013 版)[J]. 中国癌症杂志, 2013, 23(8): 637 - 693
 - 5 恶性肿瘤骨转移及骨相关疾病临床诊疗专家共识专家组. 恶性肿瘤骨转移及骨相关疾病临床诊疗专家共识[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2007: 11 - 12
 - 6 李少林, 王荣福. 核医学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 136 - 137
 - 7 中华医学会. 临床技术操作规范核医学分册[M]. 北京: 人民军医出版社, 2004: 88 - 91
 - 8 Van Poznak CH, Von Roenn JH, Temin S, *et al.* American society of clinical oncology clinical practice guideline update: recommendations on the role of bone - modifying agents in metastatic breast cancer[J]. J Oncol Pract, 2011, 7(2): 117 - 121
 - 9 乳腺癌骨转移和骨相关疾病临床诊疗专家组. 乳腺癌骨转移和骨相关疾病临床诊疗专家共识(2008 版)[J]. 中国肿瘤杂志, 2009(2): 156 - 159
 - 10 Gnant M. Role of bisphosphonates in postmenopausal women with breast cancer[J]. Cancer Treatment Review, 2014, 40(3): 476 - 484
 - 11 Mortimer J, Mendelsohn M. Improving the use of intravenous bisphosphonates in women with breast cancer metastatic to bone[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2014, 12(40): 51 - 52
 - 12 Kaiser T, Teufel I, Geiger K, *et al.* Bisphosphonates modulate vital functions of human osteoblasts and affect their interactions with breast-cancer cells[J]. Breast Cancer Res Treat, 2013, 140(1): 35 - 48
- (收稿日期: 2014 - 07 - 11)
(修回日期: 2014 - 09 - 04)

狂犬病疫苗 2 - 1 - 1 方案的初种与复种效果的动态观察

蒋学友 张 建 郑以山 王念跃 仲崇辉

摘 要 **目的** 观察狂犬病疫苗 2 - 1 - 1 接种方案的初种与复种免疫效果。**方法** 根据 3 年以前有无狂犬病疫苗接种史分两组进行实验研究: A 组: 无既往狂犬病疫苗接种史的 2 - 1 - 1 方案初种组; B 组: 有既往史的 2 - 1 - 1 方案复种组。观察指标包括狂犬病疫苗抗体效价和阳性率。**结果** 复种组人群在 7、21 天时狂犬病疫苗抗体效价和阳性率方面均高于初种组, 差异有统计学意义。45 天时两组间狂犬病疫苗抗体效价有统计学差异, 但是阳性率差异无统计学意义。**结论** 狂犬病疫苗复种组的免疫效果明显优于初种组, 复种者早期(7 天)即可出现有效浓度的抗狂犬病抗体, 因此从事狂犬病高暴露风险者接受暴露前免疫是非常必要的。

关键词 狂犬病疫苗 免疫效果 分析 实验研究

中图分类号 R535

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.023

Dynamic Observation on First - immunization and Re - immunization Effects of Rabies Vaccine 2 - 1 - 1 Regimen. Jiang Xueyou, Zhang Jian, Zheng Yishan, *et al.* Department of Emergency, The Second Affiliated Hospital of Southeast University, Jiangsu 210003, China

Abstract Objective To observe first - immunization and re - immunization effects of rabies vaccine 2 - 1 - 1 regimen. **Methods** According to the the past history of rabies vaccine inoculation before three years, the volunteers were divided into two groups for experimental research: group A first - immunization of 2 - 1 - 1 regimen without past history of rabies vaccine, group B re - immunization of 2 - 1 - 1 regimen with past history of rabies vaccine. The observation indexes included rabies neutralizing antibodies titer and positive rate. **Results** The rabies neutralizing antibodies titer and positive rate in group B were both statistically higher than those in group A on 7th and 21st day. There was statistical difference in rabies neutralizing antibodies titer, but wasn't statistical difference in positive rate positive between group A and group B on 45th day. **Conclusion** The re - immunization effect of rabies was significantly better than the first - immunization effect. The effective rabies neutralizing antibodies titer occurred earlier on 7th day in Re - immunization, so it was quite necessary to receive pre - exposure vaccination for the people engaged in the work with high exposure to rabies risk.

Key words Rabies vaccine; Immunization effect; Analysis; Experimental research

基金项目: 江苏省卫生厅科研基金资助项目(Y2012075)

作者单位: 210003 南京, 东南大学第二附属医院急诊科

通讯作者: 蒋学友, 电子信箱: jxueyou - 010@163.com

近年来随着宠物热的兴起,犬、猫等动物伤人事件增多,我国的狂犬病疫情也随之加剧,狂犬病人数仅次于印度而居世界第 2 位,2007 年我国新发狂犬病例数达 3300 例,其后每年新发狂犬病例数仍维持在 2000 例以上^[1,2]。我国成为全球最大的人用狂犬病疫苗市场,每年使用量约为(1200~1500)万人份,年直接费用约为(35~50)亿元^[3]。为了提高狂犬病暴露预防接种的依从性同时降低预防接种费用,许多国家从传统的 5 针法(0、3、7、14、28 天单侧上臂三角肌内各注射狂犬病疫苗 1 个剂量),改为 2-1-1 接种方案(0、7、21 天接种 3 次共 4 针疫苗,首次注射剂量加倍。),我国从 2011 年起推广国产狂犬病疫苗的 2-1-1 接种方案。目前关于狂犬病疫苗 2-1-1 接种效果的临床报道集中于初种效果方面的观察,未见对于复种效果这方面的临床观察,本试验希望通过对国产狂犬病疫苗 2-1-1 接种方案在初种与复种不同人群中的免疫效果观察比较,为人们选择狂犬病疫苗的预防接种提供更全面的临床参考。

对象与方法

1.1 对象:2013 年 5~9 月期间在笔者医院急诊科动物咬伤门诊接种人狂犬病疫苗的志愿者,试验方案经笔者医院医学伦理委员会讨论通过(东南大学第二附属医院医学伦理委员会批件号:2013LS-ky004)。入选条件为 18~60 岁成年人群,性别不限,身体健康,符合现行的《狂犬病暴露预防处置工作规范·2009 版》接种条件,即 3 年内无狂犬病疫苗接种史而应当全程接种疫苗,并且接受 2-1-1 接种方案的人群。签订知情同意书后入组观察免疫药效。

2. 方法:(1)试验分组:根据志愿者 3 年以前有无狂犬病疫苗接种史共分为 2 组,A 组:从无狂犬病疫苗接种史的初种 2-1-1 方案组,49 人;B 组:3 年内没有但是 3 年以前曾经有过狂犬病疫苗接种史的复种 2-1-1 方案组,24 人。两组年龄及性别比例,差异无统计学意义($P>0.05$)。人用狂犬病疫苗为辽宁成大生物股份有限公司生产,每个剂量为 0.5ml,

狂犬病疫苗效价应 ≥ 2.5 IU,产品批号分别为 201207225、201209301、201210325、201211334、201211341、201211343、201212355、201212367。(2)免疫效果动态检测方案:2 组接种者分别于 0、7、21、45 天每次接种狂犬病疫苗前静脉采血 2ml,3000r/min 离心 5min,取血清-20℃保存用以检测,所用试剂为宁波天润生物药业有限公司生产的人狂犬病病毒 IgG 抗体测定试剂盒(酶联免疫法,ELISA),产品批号:20130101。检测过程按说明书进行,酶标仪读取各个样品 A 值,样品 A 值 $\geq$ 阳性对照 A 值为阳性,样品 A 值<阳性对照 A 值为阴性,阳性对照血清中狂犬病病毒中和抗体为 0.5IU/ml,本试验对各组血清狂犬病病毒抗体的阳性率和 A 值同时进行数据分析以便观察 2-1-1 接种方案在初种与复种不同人群中的免疫效果,依据自愿原则,由于参与本实验的志愿者可以自由选择每个时间点是否采血检测,因此每个时间点采血的样本例数并不一定与初次(0 天)采血的例数相同,每个时间点的阳性率(%)=阳性样本例数/实际采血总例数 $\times 100\%$ 。

3. 统计学方法:SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析,血清人狂犬病病毒抗体的 A 值用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较用 t 检验,组内多时段应用方差分析。血清人狂犬病病毒抗体阳性率两组间及组内多时段比较应用卡方检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组人群血清狂犬病病毒抗体效价 A 值:2-1-1 接种方案中,在 0、7、21、45 天每个时间段血清狂犬病病毒抗体效价 A 值在初种组(A 组)、复种组(B 组)两组间都有统计学差异。组内每个时间段血清狂犬病病毒抗体效价 A 值逐渐升高,A 组的 0、7 天之间的 A 值轻度升高,差异无统计学意义($P>0.05$),21 及 45 天的 A 值都与 0、7 天的 A 值有统计学差异($P<0.05$),且 21、45 天两者间的 A 值也有统计学差异;B 组 7、21、45 天的 A 值与 0 天的 A 值差异均有统计学意义($P<0.05$),但是 7、21、45 天之间的 A 值无统计学差异($P<0.05$)。两组血清狂犬病病毒抗体的 A 值结果见表 1。

表 1 两组血清狂犬病病毒抗体的 A 值($\bar{x}\pm s$)

组别	0 天	7 天	21 天	45 天
A 组	0.031 $\pm$ 0.014	0.054 $\pm$ 0.056	0.720 $\pm$ 0.337 ^{▲*}	1.123 $\pm$ 0.442 ^{▲**}
B 组	0.631 $\pm$ 0.676 [△]	1.272 $\pm$ 0.579 ^{▲△}	1.665 $\pm$ 0.351 ^{▲△}	1.743 $\pm$ 0.317 ^{▲△}

与 0 天比较,▲ $P<0.05$,与 7 天比较,* $P<0.05$,与 21 天比较,# $P<0.05$;与 A 组比较,△ $P<0.05$

2. 血清狂犬病病毒抗体阳性率:2-1-1 接种方案中,A 组 0、7 天均无阳性,21 天的阳性率为 55.56%,45 天阳性率 93.94%,21、45 天的阳性率差异有统计学意义($P<0.05$)。B 组 0 天即有 41.67% 的阳性率,7 天时已有 78.95% 的阳性率,且与 0 天的阳性率有统计学

差异,21、45 天的均有 100% 阳性率,与 0、7 天的阳性率均有统计学意义。A 组、B 组两组间血清狂犬病病毒抗体阳性率在 0、7、21 天时均有统计学差异,45 天时组间差异无统计学意义($P>0.05$)。两组血清狂犬病病毒抗体的阳性率结果见表 2。

表 2 两组血清狂犬病病毒抗体的阳性率[阳性率(阳性数/总数)]

组别	0 天	7 天	21 天	45 天
A 组	0(0/49)	0(0/26)	55.56% (10/18) ^{▲*}	93.94% (31/33) ^{▲**}
B 组	41.67% (10/24) [△]	78.95% (15/19) ^{▲△}	100% (19/19) ^{▲*△}	100% (20/20) ^{▲*}

0、7、21、45 天每个时间点的样本总数以每个时间点实际采血的样本例数计数。与 0 天比较, [▲] $P < 0.05$, 与 7 天比较, ^{*} $P < 0.05$, 与 21 天比较, ^{**} $P < 0.05$; 与 A 组比较, [△] $P < 0.05$

3. 不良反应:根据每次采血时对志愿者的随访结果,本试验的两组狂犬病疫苗接种者不良反应为低热($\leq 38^{\circ}\text{C}$)伴轻微的全身肌酸不适,A、B 组分别有 2 人和 1 人,未发生其他不良反应,两组间不良反应比较,差异无统计学意义($P < 0.05$)。

讨 论

狂犬病是急性致死性传染病,病死率几乎 100%,虽然有救治存活的狂犬病例报道,但是此后该病例的救治方法用于别的狂犬病患者时并无效果^[4]。因此目前仍然认为狂犬病是不可救治的,但是狂犬病是可防、可控的,现在世界上许多国家已经消除了狂犬病^[5]。这与狂犬病疫苗的广泛接种有重要关系。目前国际上狂犬病疫苗接种有 5 针法,也有 4 针法(2-1-1 接种方案),两种免疫作用被认为是等效的^[6]。根据 WHO 推荐标准,血清狂犬病病毒中和抗体效价应达到 0.5IU/ml 以上,才能有效预防狂犬病^[7],未能达到 0.5IU/ml 以上者需加强免疫。快速荧光灶抑制试验(rapid fluorescent focus inhibition test, RFFIT)常被看作检测狂犬病病毒中和抗体的“金标准”,主要用于专业实验室检测,据报道 ELISA 检测狂犬病疫苗免疫前和免疫后的狂犬病病毒抗体敏感度和特异性与 RFFIT 一致^[8,9]。而且有报道 ELISA 检测狂犬病病毒抗体的结果与小鼠颅内接种及小鼠中和试验结果也具有一致性^[10]。ELISA 由于不需要接触感染性病毒,故安全性好,而且廉价、快速又易操作,故本试验选用 ELISA 检测法对本试验志愿者血清中狂犬病病毒中和抗体进行检测,用每孔样本读取的 A 值作为相对定量的指标间接体现血清狂犬病病毒中和抗体效价,用以动态监测临床免疫效果。

本试验显示狂犬病疫苗的初种组与复种两组人群在 0、7、21 天的血清狂犬病病毒抗体的阳性率和 A 值比较差异均有统计学意义,两组人群在 45 天时的阳性率比较差异无统计学意义,但是在 A 值方面差异仍有统计学意义。狂犬病疫苗复种组人群 7 天血清狂犬病病毒抗体效价的 A 值快速上升,A 值均数达 1.272 ± 0.579 ,阳性率高达 78.95%,抗体效价与

阳性率与 0 天时比较差异均有统计学意义,21、45 天的抗体效价的 A 值进一步升高,阳性率均为 100%;而初种组 7 天时血清狂犬病病毒抗体效价的 A 值上升缓慢,A 值均数为 0.054 ± 0.056 ,未出现抗体阳性结果,抗体效价与阳性率与 0 天时比较差异均无统计学意义,21、45 天阳性率分别为 55.56%、93.94%。本研究显示初种狂犬病疫苗的人群中,早期(7 天)的血清狂犬病病毒抗体虽然有升高,无一例达到阳性标准,这与有的文献报道有不同^[11]。但是也有研究显示早期(7 天)的血清狂犬病病毒抗体是阴性或即使出现阳性,但是阳性率很低^[12,13]。报道早期阳性率高的文献可能因为人群中包含既往有狂犬病疫苗接种史的比例较高却没有被剔除有关。由于初种狂犬病疫苗时早期(7 天)的血清狂犬病病毒抗体效价及阳性率较低,无法提供有效免疫保护,所以我国《狂犬病暴露预防处置工作规范(2009 版)》要求对于重度的狂犬病暴露人群初种狂犬病疫苗时,除了接种全程狂犬病疫苗主动免疫,还应该接种抗狂犬病血清(由于过敏等反应明显,现在较少使用)或人狂犬病免疫球蛋白的被动免疫以便早期清除狂犬病病毒的入侵,但是由于人狂犬病免疫球蛋白需要从接种狂犬病疫苗后的健康人群血液中提取,故资源紧缺且价格昂贵,往往无法及时获得,因此初种狂犬病疫苗者比复种者更容易面临狂犬病毒早期侵入的风险。这也提示我们对于从事狂犬病高暴露风险者(包括从事狂犬病研究的实验室工作人员、接触狂犬病病人的医护人员、兽医等)应当进行暴露前免疫,这样当出现狂犬病暴露后,及时复种狂犬病疫苗即可快速提供早期免疫保护,而不用担忧因人狂犬病免疫球蛋白的短缺而延误预防免疫,也节省了使用人狂犬病免疫球蛋白的高额费用。

综上所述,本研究通过对狂犬病疫苗 2-1-1 接种方案的不同人群接种效果的动态监测显示,复种组的免疫效果明显优于初种组,更容易提供有效的早期(7 天)免疫保护,因此建议从事狂犬病高暴露风险者进行暴露前免疫是非常必要的。由于本研究重点是狂犬病疫苗 2-1-1 方案的初种与复种效果的动

态观察,该方案的接种时间点是 0、7、21 天,没有 3 天的接种时间点,没办法对 0、3 天各接种一个剂量的对比研究。本课题后续研究工作将进行对含有 0、3 天疫苗接种点的 5 针法接种人群的初种与复种者免疫效果对比研究,从而为人们对狂犬病疫苗的接种效果提供更广泛的认识。

参考文献

- 1 Zhang J, Jin Z, Sun GQ, *et al.* Analysis of rabies in China: transmission dynamics and control[J]. PLoS One, 2011, 6(7): e20891
- 2 Harshal S, Sanjeev K, Rizwan SA, *et al.* Feasibility of sustainable provision of intradermal post exposure prophylaxis against rabies at primary care level – evidence from rural Haryana[J]. BMC Health Services Research, 2014, 14(1): 278
- 3 卫生部,公安部,农业部,国家食品药品监督管理局. 中国狂犬病防治现状[R]. 卫生部公报 2009. 11, 卫疾控发[2009]92 号[R]. 2009
- 4 Willoughby RE, Tieves KS, Hoffman GM, *et al.* Survival after Treatment of Rabies with Induction of Coma[J]. N Engl J Med, 2005, 352(24): 2508 – 2514
- 5 Yousaf MZ, Qasim M, Zia S, *et al.* Rabies molecular virology, diagnosis, prevention and treatment[J]. Virol J, 2012, 9(1): 50
- 6 Deborah JB. The role of vaccination in rabies prevention[J]. Curr Opin Virol, 2012, 2(3): 309 – 314
- 7 Henry W. Rabies Postexposure vaccination; are antibody responses ad-

- equate[J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(2): 206 – 208
- 8 Muhamuda K, Madhusudana SN, Ravi V. Development and evaluation of a competitive ELISA for estimation of rabies neutralizing antibodies after post – exposure rabies vaccination in humans[J]. Int J Infect Dis, 2007, 11(5): 441 – 445
- 9 Feyssaguet M, Dacheux L, Audry L, *et al.* Multicenter comparative study of a new ELISA, PLATELIA RABIES II, for the detection and titration of anti – rabies glycoprotein antibodies and comparison with the rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) on human samples from vaccinated and non – vaccinated people[J]. Vaccine, 2007, 25(12): 2244 – 2251
- 10 徐葛林, 吴杰, 吴泰才, 等. 多种方法对广西地区健康犬带狂犬病毒的调查[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(3): 108 – 109
- 11 Wang LY, Sun MP, Zhang XC, *et al.* Safety and immunogenicity of two freeze – dried Vero cell rabies vaccines for human use in post – exposure prophylaxis[J]. Vaccine, 2011, 29(15): 2679 – 2681
- 12 Yanagisawa N, Takayama N, Mannen K, *et al.* Immunogenicity of intradermal vaccination of Japanese rabies vaccine for preexposure immunization following WHO recommendation[J]. J Infect Chemother, 2012, 18(1): 66 – 68
- 13 Kulkarni PS, Sapru A, D'costa PM, *et al.* Safety and immunogenicity of a new purified vero cell rabies vaccine (PVRV) administered by intramuscular and intradermal routes in healthy volunteers[J]. Vaccine, 2013, 31(24): 2719 – 2722 (收稿日期: 2014 – 12 – 04) (修回日期: 2014 – 12 – 27)

KD 患儿血清对细胞活力及 NF – κ B 表达的影响和 PDTC 的干预

薛超超 李 丰 仇慧仙 陈 其 张园海

摘 要 目的 研究川崎病(KD)患儿血清对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)细胞活力及核转录因子 – κ B(NF – κ B)表达的影响,探讨 KD 及其并发症的发病机制。观察吡咯烷二硫氨基甲酸酯(PDTC)干预下 HUVEC 细胞活力及 NF – κ B 表达的变化,探讨 PDTC 的作用机制和潜在的临床应用价值。**方法** 根据不同的干预方法将培养的细胞分成 4 组:N 组:RPMI1640 培养基 + 正常儿童血清,K 组:RPMI1640 培养基 + KD 患儿血清,G 组:RPMI1640 培养基 + KD 患儿血清 + IVIG;P 组:RPMI1640 培养基 + KD 患儿血清 + PDTC。细胞培养 24h 后,MTT 法检测细胞活力,RT – PCR 法检测细胞内 NF – κ B p65 mRNA 的表达,Western blot 法检测细胞核内 NF – κ B p65 蛋白的合成。**结果** K 组 HUVEC 增殖受限,细胞活力较 N 组显著下降($P < 0.05$),NF – κ B p65 mRNA、NF – κ B p65 蛋白表达较 N 组显著升高($P < 0.05$);G 组与 P 组细胞活力较 K 组显著增强($P < 0.05$),NF – κ B p65 mRNA、NF – κ B p65 蛋白表达均较 K 组显著降低。**结论** KD 患儿血清能促使细胞内 NF – κ B 信号通路过度激活,导致细胞自身损伤,推测与 KD 的发生、发展密切相关。PDTC 能有效抑制细胞内 NF – κ B 信号通路,对细胞起保护作用,在 KD 的治疗上有潜在的临床价值。

关键词 川崎病 核因子 人脐静脉内皮细胞 吡咯烷二硫氨基甲酸酯

中图分类号 R72

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.024

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(201478482)

作者单位:325027 温州医科大学附属育英儿童医院

通讯作者:张园海,主任医师,电子信箱:xc414@126.com