

· 综述 ·

肠道病毒 71 型灭活疫苗临床试验的现状与展望

嵇红 毛群颖 王慎玉 朱凤才

肠道病毒 71 型 (enterovirus 71, EV71) 在 1969 年首次从美国加利福尼亚州患有中枢神经系统疾病的婴儿粪便标本中分离出来后 (BrCr 株, A 型)^[1], 美国、日本、保加利亚、匈牙利、澳大利亚、马来西亚、中国、新加坡、韩国、越南、柬埔寨等国家均曾报道过 EV71 感染引起的手足口病暴发流行^[2-3]。EV71 属于小 RNA 病毒, 只有一个血清型^[4], 其感染所致疾病临床表现复杂多样, 病情轻重不一, 包括手足口病、无菌性脑膜炎、脑炎、偏瘫、急性呼吸道症状和心肌炎等^[5]。EV71 感染是引起重症及死亡病例的主要病原体^[6-9]。手足口病的流行已成为我国及东南亚国家的重大公共卫生问题之一, 造成极大的经济及社会负担^[7-8, 10-13]。

目前, EV71 感染尚无特效的治疗药物, 疫苗可能成为最有效的预防措施, 而在各类 EV71 疫苗中, 灭活疫苗的研究进展最快。目前, 亚洲已有分别来自中国大陆、中国台湾、新加坡的五家机构和公司进入 EV71 灭活疫苗的临床试验阶段。

一、EV71 疫苗临床前研究情况

(一) EV71 疫苗免疫动物诱导产生中和抗体和相应的细胞免疫

大量研究表明, EV71 感染或疫苗免疫动物后产生的抗体具有中和病毒活性^[14-15]。EV71 疫苗免疫母鼠后, 母传抗体可对毒株攻击的乳鼠具有一定的保护作用; 在应用致死剂量毒株攻击乳鼠后的不同时间内被动免疫 EV71 中和抗体, 不同免疫剂量可使乳鼠获得不同的保护效果^[14, 16]。这些研究进展提供了 EV71 候选疫苗免疫效果的依据, 为 EV71 疫苗研发的成功奠定了一定的基础。

除中和抗体外, EV71 疫苗诱导的细胞免疫应答也具有免疫保护作用, 病毒样颗粒 (VLP) 疫苗免疫小鼠的脾细胞体外刺激可产生高水平的干扰素 (IFN)- γ 、白介素 (IL)-2 和 IL-4^[15]。在 VP1 区域发现细胞免疫表位点, 而在 VP2、VP3 区域也存在数个细胞免疫表位, 通过免疫记忆发挥抗病毒再次感染的作用。

评价疫苗有效性的主要指标应是疫苗接种后由 B 细胞

介导产生的中和抗体。在小鼠实验中证实, 缺乏 CD4⁺ T 细胞的小鼠抵抗 EV71 感染的能力与正常小鼠相当, 而 B 细胞缺乏的小鼠则比正常小鼠更容易受到 EV71 的感染^[17]。有研究表明, B 细胞介导的体液免疫对于预防及控制 EV71 感染和发病具有重要作用^[18]。

(二) 多种类型候选 EV71 疫苗的临床前研发情况

目前已研发的 EV71 疫苗主要包括全病毒灭活疫苗^[19]、EV71 VLP 疫苗^[15]、重组 VP1 蛋白疫苗 (亚单位疫苗)^[14]、VP1 DNA 疫苗^[20]、VP1 多肽疫苗、细菌或病毒载体表达的 VP1 疫苗^[21-22]、Vero 细胞培养的减毒活疫苗^[23], 以及 VP1 基因转入西红柿制备的转基因疫苗^[24]等。在众多候选疫苗中, 减毒活疫苗虽然能够诱导产生广泛的中和抗体反应, 但因疫苗本身很难做到完全减毒, 仍存在安全隐患; 重组疫苗和 DNA 疫苗则仍面临抗原表达水平相对较低的问题。相比之下, 灭活疫苗有较强的免疫原性和较好的安全性, 灭活疫苗能在小鼠中诱导广泛的中和反应, 能够保护小鼠和猴子耐受攻毒, 是较为理想的 EV71 候选疫苗, 其次则为 VLP 疫苗^[25-26]。

二、人群感染 EV71 产生中和抗体的流行状况及其作用

目前尚无 EV71 存在重复感染的报道。仅有少量报道显示, 在同 1 例手足口病病例中存在复发从而增加感染病程的情况, 主要是由于感染了不同肠道病毒血清型所致。潘浩等^[27]通过对某福利院首起暴发疫情研究结果显示, 3 例病例在首次暴发疫情为 EV71 感染, 间隔 2 个月后再次发病, 为柯萨奇病毒 A 组 16 型 (coxsackievirus A16, CVA16) 感染; Sutton-Hayes 等^[28]2006 年报告 1 例 15 岁病例在 3 周后再次发病的情况, 也是因为前后感染了不同的病毒株。

人群血清流行病学调查显示, 父母双方携带 EV71 抗体的血清阳性率与新生儿血清抗体阳性率相关^[29-31], 但新生儿虽然能够从母体获得 EV71 中和抗体, 该母传抗体的存在时间却是短暂的。新加坡、中国台湾、马来西亚、德国、中国大陆 (江苏、河南、广东、云南、湖南等) 血清流行病学研究结果均显示, 新生儿携带的 EV71 母传抗体会在出生 1 个月后迅速下降, 6 月龄至 2 岁儿童的血清抗 EV71 抗体阳性率最低 (低于 30%); 5 岁后血清阳性率的比例达到稳定的状态 (50% 以上), 之后抗 EV71 抗体水平则随着年龄的增加而下降^[29, 32-37]。江苏 975 名婴幼儿抗 EV71 母传抗体回顾性队列研究显示^[37], EV71 母传抗体水平在 7 月龄时显著下降, 并维持相对较低的水平, 12 月龄至 27~38 月龄期间, EV71 中和抗体水平显著上升; 观察期间手足口病累计发病密度为 5 080/10 万人年, 在 14 月龄后显著上升。Chang 等^[29]研究

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2014.09.017

基金项目: 国家科技重大专项 (2009ZX10004703)

作者单位: 210009 南京, 江苏省疾病预防控制中心疫苗临床评价所 (嵇红、朱凤才); 中国食品药品检定研究院 (毛群颖); 东南大学公共卫生学院 (王慎玉)

通信作者: 朱凤才, Email: jszfc@vip.sina.com

显示,流行前特定年龄 EV71 血清阳性率与肠道病毒相关的死亡率、严重病例发生率呈负相关。

高远征等^[38]研究表明,应用抗-EV71 阳性血浆联合小剂量人免疫球蛋白治疗重症手足口病,能显著缩短症状的改善时间。提示补充 EV71 中和抗体对 EV71 引起的中枢神经感染有一定的疗效。

上述研究表明,人群首次感染 EV71 后产生中和抗体可能预防 EV71 再次感染,6 月龄至 3 岁儿童缺乏 EV71 保护性抗体是这个年龄组高感染率和高病死率的主要原因,为 EV71 疫苗研制的必要性和目标人群的选择提供了科学依据,也为 EV71 疫苗成功研发提供了可行性依据。

三、EV71 病原的基因分型及其交叉免疫

EV71 病毒可根据 VP1 序列和 VP4 的变异情况,分为 3 个基因型(A、B 和 C 型)和 11 个基因亚型(BrCr、B1-B5 和 C1-C5 亚型)。1998 年以来,中国的 EV71 分离株多属于 C4 基因型^[39-40];中国台湾、日本、新加坡众多研究结果表明,EV71 不同基因型、亚型可在同一地区、同一时期共同流行,同一地区不同时间流行的 EV71 常发生基因型转换,不同基因型和亚型对于流行的“贡献”可能发生改变^[41-45],因此理想的 EV71 疫苗还应具有抗原谱广的特点。

中国医学科学院医学生物学研究所(简称昆明所)采用人二倍体细胞 KMB17 制备的 EV71 灭活疫苗对乳鼠模型和幼恒河猴模型进行保护力试验^[46],结果显示,疫苗能对同型病毒攻击动物提供 100% 的保护,并且对 C2、C4、A 型株(BrCr)的中和活性差异在 5 倍以内,显示出良好的免疫原性与广谱保护性。Mao 等^[47]研究结果表明:2 针次 C4 株 EV71 灭活疫苗接种后,92.5% (49/53) 的免疫前阴性受试者和 98.1% (52/53) 的免疫前阳性组受试者对 B4、B5、C2、C4 以及 C5 均产生了良好的交叉免疫,96.07% (49/51) 自然感染 EV71 婴幼儿对上述 5 种 EV71 基因型的中和活性差异在 4 倍以内。疫苗接种诱导产生的交叉免疫与自然感染产生的交叉免疫未表现出反应率的差别。Chou 等^[48]研究结果表明,超过 85% 接种 B4 基因型 EV71 疫苗的受试者产生对 EV71 的 B1、B5 和 C4A 基因型较强的交叉免疫,而仅有约 20% 的受试者产生对 C4B 和 CVA16 微弱的交叉免疫。这些结果显示,EV71 疫苗对 EV71 的不同基因型或亚型病毒有交叉免疫,对非 EV71 如 CVA16 无或仅有非常弱的交叉免疫。

此外,Zhu 等^[49]对 480 名脊髓灰质炎疫苗免疫史的婴幼儿在接种 EV71 疫苗后第 0、28 和 56 天的血液标本进行抗脊髓灰质炎病毒 I、II 和 III 型抗体水平检测后发现,婴幼儿常规接种口服脊髓灰质炎减毒活疫苗未对接种 EV71 疫苗的免疫应答水平产生干扰。

四、EV71 灭活疫苗的安全性、有效性与保护效果

目前,中国大陆 3 家生物制品公司,即北京微谷生物医药有限公司(简称北京微谷)、北京科兴生物制品有限公司(简称北京科兴)、昆明所,研发的 C4 株 EV71 灭活疫苗均已在 2011—2013 年期间完成了 I 期、II 期和 III 期临床试

验^[49-56];中国台湾^[57](中国台湾“国立”卫生研究院)B4 株 EV71 灭活疫苗以及新加坡(Invitrogen Pte. Ltd)研制的 EV71 灭活疫苗分别于 2011、2012 年陆续进入 I 期临床试验,详见表 1。

(一)EV71 疫苗的安全性

北京微谷研制的 EV71 疫苗的 I 期、II 期、III 期安全性数据均表明,该 EV71 灭活疫苗具有良好的安全性和耐受性^[49-50,54,56]。所观察到的绝大多数不良反应均为轻度或中度,并在疫苗组和安慰剂组之间呈现均衡分布,未观察到不良反应的发生随剂量升高而增多的剂量-反应关系,I 期、II 期临床试验中观察到部分受试者接种后出现了与疫苗接种无关的一过性血生化或尿常规变化,较为常见的局部不良反应为硬结或疼痛,全身不良反应则为发热。北京科兴研制的 EV71 疫苗 I 期、II 期临床试验安全性观察结果^[53,55],以及中国台湾“国立”卫生研究院研制的 EV71 疫苗的安全性观察数据与上述安全性观察结果类似^[57]。

在北京微谷研制疫苗的 I 期临床试验结果显示^[56]:13~60 月龄受试者不良反应的发生率低于 6~12 月龄受试者;该疫苗 II 期临床试验中观察到含铝佐剂的疫苗组注射部位的局部不良反应发生率高于无铝佐剂疫苗组,特别是含佐剂高剂量组 640 U 疫苗组硬结发生率高于无佐剂 640 U 疫苗组^[50],提示疫苗中添加铝佐剂可增加注射部位硬结等局部不良反应发生率。而北京科兴研制 EV71 疫苗的 I、II 期临床试验中,除 II 期临床试验中观察到首针接种后 200 U 剂量组中 12~35 月龄总体不良反应的发生率显著低于 6~11 月龄外,不同年龄组、不同剂量疫苗组与安慰剂组间不良反应发生率差异均无统计学意义^[53,55]。

(二)EV71 疫苗的免疫原性

EV71 疫苗为新型病毒疫苗,鉴于中和抗体曾成功地应用于诸如脊髓灰质炎疫苗、甲型肝炎疫苗的免疫学效果评价^[58-60],因此,针对 EV71 疫苗免疫原性的评价主要也采取中和抗体相关评价指标。

北京微谷和北京科兴研制的 EV71 疫苗在较少人群的 I 期临床结果显示,对于青少年中免疫前中和抗体阳性的受试者,1 针次免疫后即可产生较高水平的中和抗体,2 针次接种后则不再出现明显的免疫反应增强^[54-56],提示该人群仅需接种 1 针次即可;而对于免疫前阴性的婴幼儿受试者,第 2 针免疫之后则观察到了显著的免疫反应增强,则提示 3 岁以下的儿童应按照第 0、28 天接种 2 针次。因此,针对 EV71 疫苗的最佳目标人群,即 6~35 月龄儿童,第 0、28 天 2 针次的免疫接种程序应为初免最佳免疫程序。Cheng 等^[57]对中国台湾“国立”卫生研究院研制的 EV71 疫苗实施的 I 期临床试验结果与上述结果类似,即 20~60 岁人群接种 1 针次 5 μg EV71 抗原或 10 μg EV71 抗原,即均能产生良好的免疫原性。

北京微谷研制 EV71 疫苗在 1 200 名 6~35 月龄的婴幼儿中实施的 II 期临床试验结果显示,在免疫前抗体阴性的受试者中,3 个铝佐剂疫苗组免疫原性表现出一定的剂量-反应

表 1 不同企业研发的 EV71 灭活疫苗及其各期临床试验研究设计、研究人群、免疫程序和剂量分组

项目	北京微谷 生物制品有限公司 (中国大陆)	北京科兴 生物制品有限公司 (中国大陆)	昆明生物 制品研究所 (中国大陆)	“国立”卫生研究院 (中国台湾)	Invitrogen Pte. Ltd (新加坡)
受试疫苗					
细胞基质	Vero 细胞	Vero 细胞	KMB17 细胞	Vero 细胞	-
基因型	C4	C4	C4	B4	-
佐剂	氢氧化铝	氢氧化铝	氢氧化铝	磷酸铝 (AlPO ₄)	-
免疫程序	第 0、28 天	I 期: 第 0、14、28 天 或第 0、28、56 天; II、 III 期: 第 0、28 天	I 期: 第 0、28 天或第 0、14 天; II 期、III 期: 第 0~28 天	第 0、21 天	第 0、28 天
I 期临床试验					
研究人群	I a 期: 16~22 和 6~ 15 岁; I b 期: 13~60 和 6~12 月龄	18~49 岁、3~11 岁 和婴幼儿 6~35 月龄	18~49 岁成年人、3~ 11 岁儿童和 6~35 月 龄婴幼儿	20~60 岁	21~45 岁
试验设计	I a 期: 单中心、开放 式; I b 期: 单中心、 随机、双盲、安慰剂对 照	单中心、随机盲法、安 慰剂对照	单中心、随机盲法、安 慰剂对照	多中心、随机、开放	随机盲法、安慰剂对 照
剂量分组	I a 期: 含铝佐剂 160、320、640 U/0.5 ml; I b 期: 含铝佐剂 160、320、640 U/0.5 ml 和含铝佐剂的安 慰剂	含铝佐剂 100、200、 400 U/0.5 ml 和含铝 佐剂的安慰剂	含铝佐剂 160、320、 640、1 280 Eu/0.5 ml 和含铝佐剂的安慰剂	(5 μg EV71 抗原 + 150 μg 铝佐剂)/0.25 ml; (10 μg EV71 抗原 + 300 μg 铝佐剂)/ 0.5 ml	含铝佐剂低剂量 INV21 和高剂量 INV21
II 期临床试验					
研究人群	6~35 月龄	6~35 月龄	6 月龄~5 岁	未开展	未开展
试验设计	单中心、随机、双盲、 安慰剂对照	单中心、随机、双盲及 安慰剂对照	单中心、随机盲法、安 慰剂对照		
剂量分组	含铝佐剂 160、320、 640 U/0.5 ml EV71 疫苗, 不含佐剂 640 U/0.5 ml EV71 疫苗 及含铝佐剂安慰剂	含铝佐剂 100、200、 400 U/0.5 ml EV71 疫苗及含铝佐剂的安 慰剂	含铝佐剂 160、320、 640、1 280 Eu/0.5 ml EV71 疫苗及含铝佐 剂的安慰剂		
III 期临床试验					
研究人群	6~35 月龄	6~35 月龄	6~71 月龄	未开展	未开展
试验设计	多中心、随机、双盲、 安慰剂对照	多中心、随机、双盲、 安慰剂对照	单中心、随机盲法、安 慰剂对照		
剂量分组	含铝佐剂 320 U/0.5 ml EV71 疫苗、 含铝佐剂安慰剂	含铝佐剂 400 U/0.5 ml EV71 疫苗、 含铝佐剂安慰剂	含铝佐剂 100 U/0.5 ml (320 Eu/0.5 ml) EV71 疫苗、含铝 佐剂安慰剂		

注: EV71: 肠道病毒 71 型; “-” 文献暂未报道

关系,且与无佐剂疫苗相比,含佐剂疫苗能激发出更强的免疫应答^[49]。提示铝佐剂的添加能够有效增强疫苗的免疫原性。北京科兴研制 EV71 疫苗的 II 期临床试验^[53]亦显示类似剂量-反应关系。北京微谷^[50]、北京科兴^[51]和昆明所^[52]研制的 EV71 疫苗的免疫原性在 III 期大样本临床试验中得到了进一步的验证,与安慰剂组相比,2 针次 EV71 疫苗接种可引起中和抗体滴度的明显升高,疫苗组抗 EV71 中和抗体几何平均滴度 (GMT) 始终显著高于安慰剂组。

北京微谷所研制 EV71 疫苗接种后免疫原性结果显示,在首针接种后第 8 个月,尽管不同剂型、剂量疫苗组抗体阳转率仍维持与第 2 针接种后第 28 天几乎相同水平,但抗体滴度均呈现较大幅度的下降,GMT 从 1:210.3~1:1383.2 下降至 1:58.8~1:177.4^[49];北京科兴和昆明所所研制 EV71 疫苗的临床研究中亦观察到抗 EV71 中和抗体存在类似的衰减规律^[51-53]。在北京微谷 EV71 疫苗 II 期临床试验

建立的队列基础上开展的加强免疫研究于 2012 年实施^[61],共纳入 773 名接种 EV71 疫苗的受试者,结果提示,EV71 疫苗基础免疫后 1 年 1 针次加强免疫表现出良好免疫原性和安全性,加强免疫后第 28 天,4 个剂量、剂型的 EV71 疫苗 (160 U 含佐剂、320 U 含佐剂、640 U 含佐剂和 640 U 无佐剂组)均诱导了较强的免疫反应,GMT 从免疫前的 1:138.2~1:264.3 增高到了免疫后的 1:2214.8~1:4410.7,与初次免疫 2 针次后相比,GMT 增幅更大,而相较之下安慰剂组几乎未能诱导或仅诱导了极弱的免疫反应。

(三) EV71 疫苗的保护效果

2013 年 5 月,Zhu 等^[50]首次报道了 EV71 灭活疫苗 III 期临床试验的有效性评价,并探索了疫苗的免疫学替代终点。该研究对 9 846 名婴幼儿进行了免疫后 1 年的主动监测,结果提示试验疫苗对 EV71 感染所致手足口病的保护率为 90.0%,对 EV71 感染所致疾病 (包括手足口病、神经系统并

发症如脑炎、脑膜炎以及其他非特异性疾病)的保护率为 80.4%,对 EV71 感染所致手足口病住院病例或重症病例的保护率则为 100.0%,其保护率与其他的肠道病毒灭活疫苗(如灭活脊髓灰质炎病毒疫苗)相似^[62-63]。该项研究还应用灵敏度、特异度和约登指数等指标对免疫学替代终点进行了探索,研究者建议将中和抗体滴度 1:32 作为疫苗保护性的免疫学替代终点,为 EV71 所致疾病的保护性抗体水平的建立提供了首要证据。

2014 年,Zhu 等^[51]、Li 等^[52]分别报道了北京科兴和昆明所研制 EV71 灭活疫苗的有效性评价结果。北京科兴所研制 EV71 疫苗对 EV71 感染所致手足口病、疱疹性咽峡炎的保护率为 94.8%,对 EV71 感染所致住院病例和 EV71 感染所致重症病例的保护率均为 100.0%;昆明所研制的 EV71 疫苗对 EV71 感染所致手足口病的保护率为 97.3%。此外,Li 等^[53]的报道中还提出评价 EV71 疫苗的免疫学替代终点的中和抗体滴度应 $\geq 1:16$,与其于 2013 年报道的北京微谷研制 EV71 疫苗Ⅲ期临床试验结果相似。

五、EV71 灭活疫苗研发及应用需要面对的问题

(一)疫苗免疫持久性及保护性抗体水平的评价

中国大陆 3 家企业所研制 EV71 疫苗的Ⅲ期临床研究结果均显示 EV71 灭活疫苗具有良好的安全性、免疫原性及保护效果。但目前仍有一些问题尚未明确,如疫苗的长期免疫持久性如何等。此外,如果 EV71 疫苗获批上市并进行大规模接种,保持易感人群中的抗 EV71 中和抗体在一定水平,可改变易感人群积累的速度以及病毒流行的规律,使得自然感染减少甚至消失,从而导致目前状态下因自然感染而获得预存抗体从而不易感染的人群抗体水平下降,而变成新的易感人群。因此,加强免疫的剂量以及免疫时间点问题还需要进一步的探讨和优化。最后,对于免疫后无应答人群的比率、再次免疫后是否可以出现应答等问题也要高度关注。这些问题需要在疫苗上市后进行进一步的研究。

(二)EV71 进化重组可能对疫苗的影响

2008 年 Huang 等^[64]在中国台湾 EV71 流行时研究发现一个新的亚型——类 C2 亚型,该亚型可能由 C2 和 B3 亚型重组产生。使用 11 份感染 EV71 (B4、B5、C4、C5)病例的急性期和恢复期血清进行中和试验,结果表明,与其他亚型相比,中和血清对类 C2 亚型的病毒中和能力普遍较差,最大差别可达到 128 倍。我国大陆所使用的疫苗株均为 C4 亚型,目前研究表明其对其他亚型的病毒具有较好的交叉保护作用。但是 EV71 复制依靠依赖 RNA 的 RNA 聚合酶,缺乏校正功能,如果存在两种以上肠道病毒共同流行时,则可能发生病毒的基因重组,很可能会成为某一阶段的优势流行株。进化重组给 EV71 疫苗的保护效果提出了新的挑战,有必要对 EV71 流行基因型进行长期的监测,并对新的亚型进行交叉免疫研究。

(三)EV71 疫苗可能纳入国家扩大免疫规划(EPI)的研究

WHO 制定的《疫苗纳入指南:将疫苗纳入国家免疫规划

的决策与实施》^[65]中指出,将新的疫苗纳入国家免疫规划需多层面、多领域的证据支持,需综合疫苗所针对疾病负担、公共卫生优先权限、经济及财政预算、疫苗生产供应能力等多方面研究数据和调查信息的考虑。目前,中国大陆三家企业所研制 EV71 疫苗的临床评价已完成,其安全性、免疫原性和有效性也得到了较好的验证^[49-56];应通过国家疾病监测数据库分析^[13]、文献系统综述、血清流行病学研究、手足口病重症后遗症研究、疾病负担等研究,从操作层面和技术层面面对公共卫生优先事项进行全面评估。

(四)联合疫苗的研发及 EV71 疫苗与其他 EPI 疫苗的相互作用

手足口病可由多种病原引起,以往的研究表明,EV71 及 CVA16 感染为手足口病的常见病原体。而近年来的研究结果则显示,由其他肠道病毒感染引起的手足口病呈现逐渐上升的趋势,已经引起世界各国的关注和警惕,如 2007—2012 年 CVA6 所致的手足口病在新加坡、芬兰、中国台湾、美国、日本、法国、印度等国家和地区相继暴发^[66-67]。而 EV71 疫苗的Ⅲ期临床结果显示,EV71 C4 基因型疫苗对常与 EV71 同时流行并可导致手足口病的 CVA16 没有交叉保护作用^[48]。因此,尽管该试验疫苗针对 EV71 感染所致手足口病有较高的保护率,其对总体手足口病发病的预防作用有限,针对 EV71 与其他肠道病毒的联合疫苗的研发可能是未来研究的关注点。

此外,EV71 疫苗的目标接种人群为 6~35 月龄婴幼儿,而该人群需要进行多种类多剂次的扩大免疫规划疫苗的接种,这些疫苗与试验 EV71 疫苗的相互作用也仍需进一步的研究探讨。

参 考 文 献

- [1] Schmidt NJ, Lennette EH, Ho HH. An apparently new enterovirus isolated from patients with disease of the central nervous system [J]. J Infect Dis, 1974, 129(3):304-309.
- [2] Ooi MH, Wong SC, Lewthwaite P, et al. Clinical features, diagnosis, and management of enterovirus 71 [J]. Lancet Neurol, 2010, 9(11):1097-1105.
- [3] World Health Organization. Severe complications of hand, foot and mouth disease (HFMD) caused by EV-71 in Cambodia - conclusion of the joint investigation [EB/OL]. 2012-07-13. http://www.who.int/csr/don/2012_07_13/en/.
- [4] Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71 [J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10(11):778-790.
- [5] WHO. A Guide to clinical management and public health response for hand, foot and mouth disease (HFMD) [M]. Manila: WHO Western Pacific Region, 2011:25-30.
- [6] Komatsu H, Shimizu Y, Takeuchi Y, et al. Outbreak of severe neurologic involvement associated with enterovirus 71 infection [J]. Pediatr Neurol, 1999, 20(1):17-23.
- [7] Ho M, Chen ER, Hsu KH, et al. An epidemic of enterovirus 71 infection in Taiwan [J]. N Engl J Med, 1999, 341(13):929-935.
- [8] Ooi MH, Wong SC, Podin Y, et al. Human enterovirus 71 disease in Sarawak, Malaysia: a prospective clinical, virological, and molecular epidemiological study [J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(5):646-656.
- [9] Chan KP, Goh KT, Chong CY, et al. Epidemic hand, foot and

- mouth disease caused by human enterovirus 71, Singapore [J]. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9(1): 78-85.
- [10] 秦玉君, 张建军, 张静, 等. 山东省烟台市 1398 例手足口病患者经济负担及就诊情况调查 [J]. *中华流行病学杂志*, 2009, 30(12): 1319-1320.
- [11] 贺天锋, 杨天池, 易波, 等. 宁波市 2011 年手足口病经济负担估计 [J]. *上海预防医学*, 2012, 24(9): 476-478.
- [12] 刘涛. 山东省手足口病患者疾病经济负担及影响因素研究 [D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [13] Xing W, Liao Q, Viboud C, et al. Hand, foot, and mouth disease in China, 2008-12: an epidemiological study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(4): 308-318.
- [14] Wu CN, Lin YC, Fann C, et al. Protection against lethal enterovirus 71 infection in newborn mice by passive immunization with subunit VP1 vaccines and inactivated virus [J]. *Vaccine*, 2001, 20(5-6): 895-904.
- [15] Chung YC, Ho MS, Wu JC, et al. Immunization with virus-like particles of enterovirus 71 elicits potent immune responses and protects mice against lethal challenge [J]. *Vaccine*, 2008, 26(15): 1855-1862.
- [16] Yu CK, Chen CC, Chen CL, et al. Neutralizing antibody provided protection against enterovirus type 71 lethal challenge in neonatal mice [J]. *J Biomed Sci*, 2000, 7(6): 523-528.
- [17] Wang LC, Kao CM, Ling P, et al. CD4 T-cell-independent antibody response reduces enterovirus 71 lethality in mice by decreasing tissue viral loads [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012 (2012): 580696.
- [18] Lee MS, Chang LY. Development of enterovirus 71 vaccines [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2010, 9(2): 149-156.
- [19] Wu SC, Liu CC, Lian WC. Optimization of microcarrier cell culture process for the inactivated enterovirus type 71 vaccine development [J]. *Vaccine*, 2004, 22(29/30): 3858-3864.
- [20] Tung WS, Bakar SA, Sekawi Z, et al. DNA vaccine constructs against enterovirus 71 elicit immune response in mice [J]. *Genet Vaccines Ther*, 2007, 5(6): 1-13.
- [21] Chen HF, Chang MH, Chiang BL, et al. Oral immunization of mice using transgenic tomato fruit expressing VP1 protein from enterovirus 71 [J]. *Vaccine*, 2006, 24(15): 2944-2951.
- [22] Chiu CH, Chu C, He CC, et al. Protection of neonatal mice from lethal enterovirus 71 infection by maternal immunization with attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium expressing VP1 of enterovirus 71 [J]. *Microbes Infect*, 2006, 8(7): 1671-1678.
- [23] Arita M, Nagata N, Iwata N, et al. An attenuated strain of enterovirus 71 belonging to genotype a showed a broad spectrum of antigenicity with attenuated neurovirulence in cynomolgus monkeys [J]. *J Virol*, 2007, 81(17): 9386-9395.
- [24] Foo DG, Alonso S, Phoon MC, et al. Identification of neutralizing linear epitopes from the VP1 capsid protein of Enterovirus 71 using synthetic peptides [J]. *Virus Res*, 2007, 125(1): 61-68.
- [25] Zhang D, Lu J, Lu J. Enterovirus 71 vaccine: close but still far [J]. *Int J Infect Dis*, 2010, 14(9): e739-e743.
- [26] Xu J, Qian Y, Wang S, et al. EV71: an emerging infectious disease vaccine target in the Far East? [J]. *Vaccine*, 2010, 28(20): 3516-3521.
- [27] 潘浩, 朱叶飞, 祁贤, 等. 江苏省 2008 年某福利院手足口病暴发的流行病学和病原学特征研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2009, 30(4): 339-343.
- [28] Sutton-Hayes S, Weisse ME, Wilson NW, et al. A recurrent presentation of hand, foot, and mouth disease [J]. *Clin Pediatr*, 2006, 45(4): 373-376.
- [29] Chang LY, King CC, Hsu KH, et al. Risk factors of enterovirus 71 infection and associated hand, foot, and mouth disease/herpangina in children during an epidemic in Taiwan [J]. *Pediatrics*, 2002, 109(6): e88.
- [30] Luo ST, Chiang PS, Chao AS, et al. Enterovirus 71 maternal antibodies in infants, Taiwan [J]. *Emerg Infect Dis*, 2009, 15(4): 581-584.
- [31] Mao QY, Liao XY, Yu X, et al. Dynamic change of mother-source neutralizing antibodies against enterovirus 71 and coxsackievirus A16 in infants [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123(13): 1679-1684.
- [32] Ooi EE, Phoon MC, Ishak B, et al. Seroepidemiology of human enterovirus 71, Singapore [J]. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8(9): 995-997.
- [33] Rabenau HF, Richter M, Doerr HW. Hand, foot and mouth disease: seroprevalence of Coxsackie A16 and Enterovirus 71 in Germany [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2010, 199(1): 45-51.
- [34] Zhu Z, Zhu S, Guo X, et al. Retrospective seroepidemiology indicated that human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 circulated widely in central and southern China before large-scale outbreaks from 2008 [J]. *Virol J*, 2010, 7(1): 300-305.
- [35] Ji H, Li L, Liu Y, et al. Seroepidemiology of human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 in Jiangsu province, China [J]. *Virol J*, 2012, 9: 248.
- [36] Li W, Yi L, Su J, et al. Seroepidemiology of human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 among children in Guangdong province, China [J]. *BMC Infect Dis*, 2013, 13(1): 322.
- [37] Zhu FC, Liang ZL, Meng FY, et al. Retrospective study of the incidence of HFMD and seroepidemiology of antibodies against EV71 and Cox A16 in prenatal women and their infants [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37206.
- [38] 高远征, 贾素华, 李翠萍, 等. 抗-EV71 阳性血浆治疗重症手足口病的临床观察 [J]. *中华实验和临床感染病杂志 (电子版)*, 2012, 6(6): 84-87.
- [39] Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71 [J]. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10(11): 778-790.
- [40] Zhang Y, Tan X, Cui A, et al. Complete genome analysis of the c4 subgenotype strains of enterovirus 71: predominant recombination c4 viruses persistently circulating in China for 14 years [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56341.
- [41] Tan X, Huang X, Zhu S, et al. The persistent circulation of enterovirus 71 in People's Republic of China: causing emerging nationwide epidemics since 2008. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25662.
- [42] Wang JR, Tuan YC, Tsai HP, et al. Change of major genotype of enterovirus 71 in outbreaks of hand-foot-and-mouth disease in Taiwan between 1998 and 2000 [J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(1): 10-15.
- [43] Huang YP, Lin TL, Kuo CY, et al. The circulation of subgenogroups B5 and C5 of enterovirus 71 in Taiwan from 2006 to 2007 [J]. *Virus Res*, 2008, 137(2): 206-212.
- [44] McMinn P, Lindsay K, Perera D, et al. Phylogenetic analysis of enterovirus 71 strains isolated during linked epidemics in Malaysia, Singapore, and Western Australia [J]. *J Virol*, 2001, 75(16): 7732-7738.
- [45] Cardosa MJ, Perera D, Brown BA, et al. Molecular epidemiology of human enterovirus 71 strains and recent outbreaks in the Asia-Pacific region: comparative analysis of the VP1 and VP4 genes [J]. *Emerg Infect Dis*, 2003, 9(4): 461-468.
- [46] Dong C, Liu L, Zhao H, et al. Immunoprotection elicited by an enterovirus type 71 experimental inactivated vaccine in mice and rhesus monkeys [J]. *Vaccine*, 2011, 29(37): 6269-6275.
- [47] Mao Q, Cheng T, Zhu F, et al. The Cross-Neutralizing Activity of Enterovirus 71 Subgenotype C4 Vaccines in Healthy Chinese Infants and Children [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79599.
- [48] Chou AH, Liu CC, Chang JY, et al. Formalin-Inactivated EV71 Vaccine Candidate Induced Cross-Neutralizing Antibody against Subgenotypes B1, B4, B5 and C4A in Adult Volunteers [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79783.

- [49] Zhu FC, Liang ZL, Li XL, et al. Immunogenicity and safety of an enterovirus 71 vaccine in healthy Chinese children and infants: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 clinical trial [J]. *Lancet*, 2013, 381 (9871): 1037-1045.
- [50] Zhu FC, Meng FY, Li JX, et al. Efficacy, safety, and immunology of an inactivated alum-adsorbed enterovirus 71 vaccine in children in China: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2013, 381 (9882): 2024-2032.
- [51] Zhu FC, Xu WB, Xia JL, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(9): 818-828.
- [52] Li R, Liu L, Mo Z, et al. An inactivated enterovirus 71 vaccine in healthy children [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(9): 829-837.
- [53] Li YP, Liang ZL, Xia JL, et al. Immunogenicity, Safety, and Immune Persistence of a Novel Inactivated Human Enterovirus 71 Vaccine: A Phase II, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial [J]. *J Infect Dis*, 2014, 209(1): 46-55.
- [54] Meng FY, Li JX, Li XL, et al. Tolerability and immunogenicity of an inactivated enterovirus 71 vaccine in Chinese healthy adults and children: an open label, phase I clinical trial [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2012, 8(5): 668-674.
- [55] Li YP, Liang ZL, Gao Q, et al. Safety and immunogenicity of a novel human Enterovirus 71 (EV71) vaccine: a randomized, placebo-controlled, double-blind, Phase I clinical trial [J]. *Vaccine*, 2012, 30(22): 3295-3303.
- [56] Zhu FC, Wang JZ, Li XL, et al. Reactogenicity and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in Chinese healthy children and infants [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2012, 31(11): 1158-1165.
- [57] Cheng A, Fung CP, Liu CC, et al. A Phase I, randomized, open-label study to evaluate the safety and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine [J]. *Vaccine*, 2013, 31(20): 2471-2476.
- [58] Clemens R, Safary A, Hepburn A, et al. Clinical experience with an inactivated hepatitis A vaccine [J]. *J Infect Dis*, 1995, 171 (Suppl 1): S44-S49.
- [59] Faden H. Poliovirus vaccination: a trilogy [J]. *J Infect Dis*, 1993, 168(1): 25-28.
- [60] Treanor JJ, Campbell JD, Zangwill KM, et al. Safety and immunogenicity of an inactivated subvirion influenza A (H5N1) vaccine [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(13): 1343-1351.
- [61] Shenyu W, Jingxin L, Zhenglun L, et al. A booster dose of an inactivated enterovirus 71 vaccine in Chinese young children: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial [J]. *J Infect Diseases*, 2014, In press.
- [62] Robertson SE, Drucker JA, Fabre-Teste B, et al. Clinical efficacy of a new, enhanced-potency, inactivated poliovirus vaccine [J]. *Lancet*, 1988, 331(8591): 897-899.
- [63] World Health Organization. Immunological basis for immunization/module 6: poliomyelitis [R]. Geneva: WHO, 1993.
- [64] Huang YP, Lin TL, Hsu LC, et al. Genetic diversity and C2-like subgenogroup strains of enterovirus 71, Taiwan, 2008 [J]. *Virology*, 2010, 7(277): 277.
- [65] World Health Organization. Vaccine introduction guidelines. Adding a vaccine to a national immunization programme: decision and implementation [EB/OL]. [2014-04-20]. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69179/1/WHO_IVB_05.18.pdf?ua=1.
- [66] Fujimoto T, Iizuka S, Enomoto M, et al. Hand, foot, and mouth disease caused by coxsackievirus A6, Japan, 2011 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(2): 337-339.
- [67] Flett K, Youngster I, Huang J, et al. Hand, foot, and mouth disease caused by coxsackievirus A6 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(10): 1702-1704.

(收稿日期:2014-04-30)

(本文编辑:吕相征)

新型毒品滥用状况及其对艾滋病流行的影响

王蓉蓉 何纳

近年来,我国以冰毒、摇头丸和 K 粉等为代表的新型毒品滥用越来越严重。新型毒品滥用不仅可以使滥用者出现依赖症状及精神错乱等异常行为,还会造成艾滋病传播等公共卫生问题及违法犯罪等严重社会问题^[1-2]。笔者对新型毒品的类型、滥用现状及其对艾滋病流行的潜在影响进行了综述。

一、新型毒品种类

1. 新型毒品定义:《中华人民共和国禁毒法》规定,毒品是指鸦片、海洛因、甲基苯丙胺(冰毒)、吗啡、大麻、可卡因,

以及国家规定管制的其他能够使人形成瘾癖的麻醉药品和精神药品^[3]。相对于海洛因、鸦片等传统毒品,冰毒(即甲基苯丙胺)、摇头丸(即亚甲二氧基甲基苯丙胺)和 K 粉(即氯胺酮)等精神药物被滥用较晚,因此在我国俗称为新型毒品。因其均为化学合成,故在国外又被称为合成毒品。其特点是直接作用于中枢神经系统,能使人出现中枢兴奋、抑制或幻觉等症状,长期连续使用能使人产生依赖性^[4]。新型毒品常在夜总会、歌舞厅等娱乐场所所谓的休闲、娱乐等目的被滥用,故又被称为俱乐部药、舞会药、休闲药等^[2,5]。

2. 新型毒品种类:根据药理作用和毒理作用,新型毒品可以分为以下 4 种类型^[2,4,5]:第一类是中枢兴奋剂,代表物质包括冰毒等苯丙胺类兴奋剂。冰毒又名甲基苯丙胺,外观为纯白结晶体。冰毒对人体中枢神经系统具有极强的刺激作用,且毒性强烈。冰毒的精神依赖性很强,吸食后会产生强烈的生理兴奋,大量消耗人的体力和降低免疫功能。还会造成精神障碍,表现出妄想、好斗、错觉,从而引发暴力行为。

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2014.09.018

基金项目:国家科技重大专项(2012ZX10001001-004);上海市卫生系统优秀学科带头人项目(XBR2011043)

作者单位:200032 上海,复旦大学公共卫生学院(王蓉蓉、何纳);国家卫生与计划生育委员会疾病预防控制中心(王蓉蓉)

通信作者:何纳,Email: nhe@shmu.edu.cn