

·成果简介·

预防医学国家杰出青年科学基金和 重点项目部分结题成果综述

崔凤梅¹ 丁艳华² 张作文³

(1 苏州大学放射医学与公共卫生学院, 苏州 215123;

2 吉林大学第一附属医院, 长春 130021;

3 国家自然科学基金委员会生命科学部, 北京 100085)

[关键词] 科学基金, 预防医学, 国家杰出青年科学基金, 重点项目, 成果

国家杰出青年科学基金项目 and 重点项目是国家自然科学基金资助体系中的重要层次之一, 在学科发展、人才培养和创新研究等方面发挥着重要作用。多年来, 预防医学领域的国家杰出青年科学基金项目和重点项目坚持以国家需求型研究为本, 以解决公共卫生问题为要, 以促进学科发展为基, 以人才培养和创新研究为责, 很好地诠释了国家自然科学基金资助项目的内涵。预防医学学科 2006 年底结题的 3 个国家杰出青年科学基金项目和 3 个重点项目也充分体现了这一内涵, 并在研究成果中得到归纳和升华, 现将有关研究成果综述如下。

1 对沙尘暴的研究加深了公众对其潜在健康影响的认识

沙尘天气包括沙尘暴是我国北方地区多发性恶劣天气, 每年春季更为严重。而每当这种恶劣天气大范围发生以后, 各种媒体报道时总会提醒大家, 沙尘天气对居民健康“可能”有不良影响, 但这种“可能”到底有多大, 因为从未做过系统研究, 也就没有科学的结论, 只能通过猜想来推论。因此, 研究这个问题不但可以解决环境医学的科学谜团, 也能解答社会关心的公众谜团。由山西大学孟紫强教授承担的重点项目“沙尘暴细颗粒物的理化特性及其对人体健康的影响”(项目批准号:30230310)对此问题进行了较为系统的研究, 对沙尘天气的健康危害给出了科学的答案。

该项目选取北京、甘肃武威、内蒙古包头为现场, 进行了沙尘暴流行病学研究^[1]。发现沙尘天气

(包括沙尘暴)对健康的影响有三种类型, 一是沙尘事件当日对居民呼吸系统健康的不利影响(称为急性效应);二是沙尘事件之后 1—6 天可见呼吸和循环系统不同疾病日门诊和日入院人数增高(称为滞后效应);三是长年接触沙尘天气可引起长期累积效应, 使居民多种疾病患病率增高, 甚至可能引起尘肺。研究人员把沙尘天气包括沙尘暴的上述效应简称为“沙尘天气三效应”(即急性效应, 滞后效应及长期累积效应)。

对沙尘暴细颗粒物的毒理学研究发现, 沙尘暴颗粒 PM_{2.5} 对大鼠肺泡巨噬细胞、肺细胞 DNA 有损伤作用, 且呈现显著的剂量依赖关系^[2];沙尘暴和正常大气细颗粒 PM_{2.5} 均可使大鼠肺、心、肝组织产生不同程度的氧化损伤作用^[3];沙尘暴 PM_{2.5} 可引起人淋巴细胞的遗传损伤, 诱发染色体畸变和微核发生, 且存在剂量-效应关系^[4,5]。这些结果提示, 一般被公众认为无害的沙尘天气的普通沙尘或沙土颗粒物, 对人和哺乳动物细胞的毒性作用很强, 甚至与公认有害的大气污染细颗粒物的毒性作用相似。

这些研究结果揭示了沙尘天气的健康危害之谜, 指出沙尘颗粒物是危害健康的主要因素, 填补了沙尘天气医学研究的空白, 对沙尘天气的健康危害有了较为明确的科学结论和认识, 提示我们要关注北方地区, 尤其是沙尘天气频发的西北地区群众的健康问题。

本文于 2007 年 8 月 30 日收到。

2 对乙型肝炎的传播途径和发病机理的新见解

我国是乙型肝炎大国,慢性乙型肝炎患者和乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)携带者多达一亿多人,对乙肝的防治是传染病学研究的重要内容,也是亟待解决的公共卫生问题。

在我国,HBV传播是以垂直传播为主,其中宫内感染,即病毒经胎盘传播给胎儿引起的感染尤其棘手。用乙肝疫苗进行预防接种是目前最有效的控制乙肝流行的手段,而宫内感染的新生儿出生后用乙肝疫苗和高效价免疫球蛋白却往往不能有效地阻断其传播。因此,研究宫内传播的关键环节、具体机制显得尤为重要。中国人民解放军第四军医大学徐德忠教授承担的重点项目“乙型肝炎的宿主易感性及宫内感染机制研究”(项目批准号:30230320)对此进行了探讨。

该项目对宫内感染率和状况所进行的调查结果发现^[6],在孕早期,HBsAg(HBV表面抗原)阳性孕妇绒毛组织的HBsAg/HBcAg(HBV核心抗原)阳性率为32%。在胎盘组织的四层细胞:蜕膜(DC)、滋养层(TC)、间质(VMC)和绒毛毛细血管内皮细胞(VCEC)中,前三层均受到感染,表明胚胎发育早期HBV就可感染绒毛组织。这一结果,国内外均未见同类报道。在孕中期,收集了5例HBsAg阳性孕妇的引产胎儿,免疫组化和HBV DNA原位杂交研究发现:在胎盘组织,4例HBsAg,HBcAg和HBV DNA阳性,且感染已波及胎儿毛细血管内皮细胞。这一结果提示孕中期胎盘感染率很高,且已突破胎盘屏障,故既往关于宫内传播主要发生的时间在孕晚期的推论应延伸至孕中期。为了验证宫内感染的发生过程和机制,课题组还建立了HBV感染滋养层细胞模型及HBV急性感染小鼠模型,并进行了相关的探讨和研究^[7,8]。

对宫内感染的危险因素所进行的病例对照研究结果显示,宫内传播主要发生在孕中、晚期;母亲HBeAg、HBV DNA阳性为宫内传播的主要危险因素;孕中期性生活与宫内感染有关,且孕中期性生活次数与宫内感染呈正相关,具剂量效应关系^[9,10]。这一发现对降低宫内感染具有重要意义,可据此指导HBV携带者的孕妇通过控制孕中期性生活来控制宫内感染。根据人群特异危险度估计,完全控制孕中期性生活,可以控制HBsAg阳性孕妇所有宫内感染的45%左右。

为了深入揭示宫内感染的发生,该项目还进行

了宫内感染易感性的研究。对18例宫内感染新生儿及36例非宫内感染新生儿HLA-DRB区等位基因进行的检测结果发现,DRB1*08的OR值为4.38,P值为0.094;DRB1*12的OR值为3.14,P值为0.0660。这两个等位基因位点可能与宫内感染易感性相关。

乙肝可表现多种临床类型,其中重型肝炎是病毒性肝炎中最危重的一种,症状严重,进展快,病死率高,成为乙肝防治的难点。国家杰出青年科学基金项目获得者华中科技大学宁琴教授(项目批准号:30225040)选取重症病毒性肝炎为研究方向,围绕纤维介素在重型肝炎发病中的作用与意义,深入探讨了病毒性重型肝炎肝细胞坏死的分子发病机制,为从分子水平治疗重型肝炎提供了有效的作用靶点和理论依据。

该项目应用mfgl2基因敲除小鼠模型以及重型肝炎患者外周血单核细胞(PBMC)及肝组织开展了系统研究,证明mfgl2/hfgl2基因及其所介导的免疫凝血机制在鼠/人病毒性重型肝炎肝细胞坏死的发病机制中发挥重要作用;发现MHV3病毒核心蛋白、转录因子HNF4及其传导途径参与了mfgl2基因的转录激活;同时在人类重型肝炎患者中,HBV核心蛋白及X蛋白通过转录因子cEts2对hfgl2基因的激活而发挥重要作用,阐明了重型肝炎fgl2基因高度表达的分子机制^[11,12]。这一系列研究结果为从分子水平治疗重型肝炎提供了一个有效的作用靶点和理论依据。在此基础上,应用antisense RNA和dsRNA等基因治疗方法成功地干预了fgl2基因的表达,结果表明这一治疗措施能提高重型肝炎小鼠存活率,并且在组织病理学上得到明显改善^[13]。这一令人欣慰的研究成果为探索重型肝炎的基因治疗提供了理论和实践依据。

慢性乙型肝炎的治疗主要采用抗病毒、免疫调节和改善肝功能等综合措施,其中抗病毒治疗可以抑制HBV复制,从而阻止病变的进展。常用的抗病毒治疗药物有干扰素、核苷类似物和其他抗病毒药物,其中核苷类似物因其口服方便、副作用小、抑制HBV作用迅速等优点,在临床上得到了广泛的应用,代表药物是拉米夫定和阿德福韦。但在治疗中也面临着一个棘手的问题,即耐药性。另一项国家杰出青年科学基金项目获得者南方医科大学侯金林教授(项目批准号:30225042)对拉米夫定和阿德福韦耐药的临床及分子病毒学特点进行了研究。

研究发现,在247例拉米夫定治疗病例血清标

本中,42例感染有拉米夫定耐药变异(YMDD变异)株。经过一系列相关分析后,研究人员总结出了我国拉米夫定耐药发生的规律及其特点^[14],即治疗前HBeAg阳性和HBV DNA水平超过 7.5×10^6 copies/ml者发生YMDD变异的时间较短,YMDD变异出现后ALT水平的上升在HBeAg阳性患者中较明显,而出现YMDD变异后,B基因型患者HBV DNA水平上升较C基因型患者更高。为研究阿德福韦的耐药问题,该项目在国内率先建立了检测耐阿德福韦突变(rtN236T)的PCR-RFLP方法并开展了其临床应用研究,成功构建了rtN236T突变株,PCR-RFLP方法可以特异地检测出rtN236T突变并能检测到弱势的突变株。这些研究对指导临床用药及耐药后的治疗具有重要的学术价值。

由于HBV可分为A、B、C、D、E、F、G7个基因型,不同的地区流行不同的基因型,而我国尚缺乏基因型分布的系统流行病学调查,因此该项目也对此进行了深入探讨。课题组建立了一种新的基因分型方法,即设计限制性内切酶BsrI、StyI、DpnI和HpaII来鉴别HBV A-F基因型,经与国外建立的前S区PCR-RFLP基因分型方法相比,结果一致^[15]。但该课题建立的分型法不但克服了国外PCR-RFLP方法学存在的参考序列少、代表性略差和酶切图谱复杂等缺点,而且灵敏度高、特异性强,酶切图谱简明单一,易于识别,对于以B、C基因型为主的我国,一步法即可鉴别出90%以上的标本。因此该分型法对于亚洲、特别是我国HBV基因型的鉴别具有非常明显的优势。应用这种新的基因分型方法首次进行了我国HBV基因型分布的流行病学调查,发现南北地区基因型分布存在差异,同时还发现在我国部分地区普遍存在基因型间重组的现象,特别是某些地区C/D重组体感染者的比例可高达55%^[16]。对我国HBV基因亚型的分布情况进行深入的调查后发现,在我国流行的B基因型全部为Ba亚型,未发现Bj亚型的存在,C基因型中C1亚型占29%,C2亚型占71%,未发现其他C基因亚型。在此基础上,研究人员还完成了西北部分少数民族地区基因型分析,发现在不同的少数民族人群HBV的感染有不同的基因型,比如在新疆维吾尔族人群中,HBV的感染以D基因型为主,约占50%,其余为C型和B型;而在宁夏的回族人群中,HBV的感染则以C基因型为主。这些HBV基因型方面的丰富研究资料,填补了我国HBV基因分型流行病学研究的空白,将为乙型肝炎

炎的群防群治提供理论依据和指导。

3 碘过量对人群健康的潜在危害研究解决了一个重要的公共卫生问题

碘是甲状腺合成甲状腺激素所必需的微量元素,足够和适宜的碘摄入量是维持正常甲状腺功能、体格及脑发育的先决条件。但碘缺乏和碘过量都会对人类健康造成危害。

碘缺乏病(Iodine Deficiency Disorders, IDD)是全球性的公共卫生问题,是由于人类生存环境中缺少人体必需的微量元素碘所造成的一组疾病,缺碘导致地方性甲状腺肿和地方性克汀病,还可能造成流产,死胎、新生儿死亡率增高,也是世界上导致智力障碍的重要原因。中国是受IDD危害最严重的国家之一。1995年开始,我国推行了全民食盐加碘(USI),在消除IDD上发挥了重大作用。发达国家实施碘盐已有近百年的历史,已证实补碘后的5—10年内会带来一定的副作用,包括一过性的碘性甲亢、自身免疫性甲状腺疾病发病的危险性升高等等。随着我国USI的实施,是否也会带来人群碘营养偏高,继而是否对人类健康产生影响,特别是隐性的、亚临床的或远期的潜在性危害,均所知甚少。天津医科大学陈祖培教授承担的重点项目“必需微量元素过量(碘过量)对健康影响的研究(项目批准号:30230330)”在流行病学和发病机理研究的基础上,科学地回答了人们关心的问题,提出了指导不同碘营养水平人群进行科学补碘的原则和策略。

对全民食盐加碘对甲状腺疾病谱影响的调查发现,食盐加碘对消除以智力发育障碍为主要危害的碘缺乏病是必要的,但不宜补碘过多^[17];实施食盐加碘后使儿童尿碘水平保持在 $300 \mu\text{g/L}$ 以下是适宜的、安全的。现行食盐加碘量可能诱发了社区人群甲状腺疾病住院增加,对健康产生了以甲亢发病率增高为主的负面影响,而且对我国本就不充足的碘资源来讲也是浪费,因此有下调碘盐浓度的余地。

对碘酸钾(碘的添加剂是碘酸钾)的毒理学研究结果表明,目前食盐加碘所用的碘酸钾的量是安全和有效的,不会对人体产生不利影响。碘酸钾最大无作用剂量为碘推荐摄入量的100倍以上,因此目前食盐加碘酸钾补碘是安全的^[18]。

碘过量对脑发育影响的实验研究表明,一般碘摄入过多不会影响下一代的脑发育,只有长期特别大剂量碘的摄入(大于生理需要量的50倍以上)才会导致脑发育落后。即使如此,碘缺乏所导致的脑

发育落后要远比碘过量严重的多^[19]。

碘过量对免疫系统和自身免疫性甲状腺疾病形成的影响研究发现,过量碘的摄入会诱发或加重自身免疫性甲状腺疾病,并使其治疗变得困难;对有自身免疫性甲状腺疾病或对过量碘敏感的个体,其作用尤其明显^[20]。

上述研究结果证实:我国为消除碘缺乏危害,保护下一代的正常脑发育而实施的食盐加碘策略是正确的;碘缺乏对健康的危害作用要远大于碘过量。此外,研究也提示我们,尽管目前碘盐浓度是可接受的,但有必要下调。除碘过量地区应停供碘盐外,还应关注少数对碘敏感个体的需求。在此基础上,课题组建议改变目前全国统一浓度的食盐加碘的做法,应根据各地人群碘营养实际状况因地制宜地制订碘盐浓度。

这些结论排除了人们的担心,科学地回答了公众关心的一个重要公共卫生问题。

4 疟疾疫苗的研究为控制疟疾的流行奠定了科学基础

疟疾又名打摆子,是由疟原虫经按蚊叮咬传播的一种严重威胁人类健康的传染病。临床上以周期性定时性发作的寒战、高热、出汗退热,以及贫血和脾大为特点。要控制和预防疟疾,必须针对疟疾流行的三个基本环节采取综合性防治措施,包括管理传染源,切断传播途径,保护易感者等。其中保护易感者的方法有药物预防和自动免疫两种,自动免疫即使用疟疾疫苗。由于疟原虫抗药性的产生和扩散,使得疟疾的药物防治陷入了困境,因此研究有效的疟疾疫苗控制疟疾流行受到了全球的广泛关注。基于此,国家杰出青年科学基金项目获得者中国人民解放军第二军医大学潘卫庆教授(项目批准号:30225041)开展了疟疾免疫学、疟疾疫苗的基础研究,取得了显著成果。

该项目首先对前期研制的由 AMA-1(Ⅲ)和 MSP1-19 两个抗原组成的 PfCP-2.9 疫苗进行了抑制性抗体的特异性研究^[21]。体外抑制试验结果显示:两种抗原特异的抗体均能有效地抑制疟原虫体外生长,而该疫苗的免疫作用来自两个抗原特异抗体的联合作用。

在完成了一系列前期研究后,经国家食品药品监督管理局批准,PfCP-2.9 疫苗进入了 I 期临床试验。安全性结果显示:该疫苗在人体是安全的,无任何受试者因严重副反应而终止试验。免疫学结果显

示:所有疫苗受试者在第 1 次免疫接种后即可检测到 PfCP-2.9 抗体,滴度均大于 1:500,60% 受试者通过加强免疫滴度可超过 1:10 000。PfCP-2.9 抗原与天然获得抗体的免疫反应性分析结果显示:恶性疟疾病人的血清与 PfCP-2.9 抗原的免疫反应性可达到 98%。同时该疫苗已经世界卫生组织批准,正在进行 I 期临床试验。

疟疾疫苗研制是个长期目标,进入临床试验的疟疾疫苗仍存在失败的风险。此外,即使进入临床试验的疟疾疫苗能取得成功并应用于疟疾预防,但这类疟疾疫苗仍需要不断完善以提高保护效力。基于这样的思路,在 PfCP-2.9 疫苗进入临床试验同时,课题组又着手构建多价多期联合疟疾疫苗的工作。因为疟原虫在人体内经历多个发育繁殖时期,且各期的抗原具有期特异性。此外,疟原虫还存在严重的抗原变异和多种机制的免疫逃避。因此,需要联合各期抗原,研制多价多期疫苗,从不同时期不同途径阻断疟原虫生长。该项目在这方面也做了一些探索,进行了重组 EBA175-IIF2 蛋白与 PfCP-2.9 联合免疫、PfCP-TCL 与 PfCP-2.9 联合免疫等研究^[22],试验结果将为多价多期疫苗的研制打下坚实的基础。

值得再次提起的是,在该项目的资助下,我国第一个自主研发的疟疾疫苗获得了我国、美国和欧盟的 3 项专利。经国家食品药品监督管理局批准,目前已进入 II 期临床试验;经世界卫生组织批准,正在进行 I 期临床试验。相信在不久的将来,该疫苗将为疟疾的防治做出重要贡献。

参 考 文 献

- [1] 刘英,李保东,彭瑞玲等.内蒙古扬沙天气与人群健康效应关系的初步研究.卫生研究,2006;35(3):276—278.
- [2] Geng H, Meng Z, Zhang Q. In vitro responses of rat alveolar macrophages to particle suspensions and water-soluble components of dust storm PM(2.5). Toxicol in Vitro, 2006, 20(5): 575—584.
- [3] Ziqiang Meng, Quanxi Zhang. Oxidative damage of dust storm fine particles instillation on lungs, hearts and livers of rats. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2006, 22: 277—282.
- [4] Aili Wei, Ziqiang Meng. Evaluation of micronucleus induction of sand dust storm fine particles(PM2.5) in human blood lymphocytes. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2006, 22:292—297.
- [5] Wei A, Meng Z. Induction of chromosome aberrations cultured human lymphocytes treated with sand dust storm fine particles (PM2.5). Toxicol Lett, 2006, 166(1):37—43.
- [6] 常文辉,徐德忠,闫永平等.乙型肝炎表面抗原阳性孕妇妊娠早期绒毛细胞乙型肝炎病毒感染状况的研究.中华妇产科杂志,2005,40(6):376—379.

- [7] 赵艳芳, 闫永平, 苏海霞等. HBV 全基因组克隆转染细胞系的建立. 第四军医大学学报, 2006, 27(12):1130—1133.
- [8] 雷小英, 闫永平, 徐德忠等. HBV 转基因小鼠孕前期及孕期应用乙肝疫苗的实验研究. 第四军医大学学报, 2003, 24(24):2243—2246.
- [9] Shao ZJ, Xu DZ, Xu JQ et al. Maternal hepatitis B virus (HBV) DNA positivity and sexual intercourse are associated with HBV intrauterine transmission in China; a prospective case-control study. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22(2): 165—170.
- [10] 李立明, 詹思延主编. 乙肝病毒宫内传播危险因素及其机制的研究. 流行病学研究实例. 北京: 人民卫生出版社, 2006, 169—181.
- [11] 陈悦, 宁琴, 王宝菊等. 重型乙型肝炎患者肝组织中中人纤维介素基因的表达及意义. 中华医学杂志. 2003, 83(6): 446—450.
- [12] Marsden PA, Ning Q, Fung LS et al. The Fg12/fibroleukin prothrombinase contributes to immunologically mediated thrombosis in experimental and human viral hepatitis. *J Clin Invest*, 2003, 112(1):58—66.
- [13] Qin Ning, Chuanlong Zhu, Yi Sun et al. An antisense RNA to a novel gene fg12 and its therapeutic effects in vitro and in vivo in fulminant viral hepatitis in mice. *Gastroenterology*, 2004, 126(4, Suppl. 2):A705.
- [14] Sun J, Wang Z, Ma S et al. Clinical and virological characteristics of lamivudine resistance in chronic hepatitis B patients: a single center experience. *J Med Virol*. 2005, 75(3):391—398.
- [15] Zeng GB, Wen SJ, Wang ZH. A novel hepatitis B virus genotyping system by using restriction fragment length polymorphism patterns of S gene amplicons. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(21):3132—3136.
- [16] Zeng G, Wang Z, Wen S et al. Geographic distribution, virologic and clinical characteristics of hepatitis B virus genotypes in China. *J Viral Hepat*, 2005, 12(6):609—617.
- [17] Qian M, Wang D, Watkins WE et al. The effects of iodine on intelligence in Children: a meta-analysis of studies conducted in China. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2005, 14(1):32—42.
- [18] 陈骁熠, 孙秀发, 庞红等. 碘酸钾的急性毒性和致突变性. 毒理学杂志, 2005, 19(2):129—131.
- [19] Yang XF, Xu J, Hou XH et al. Developmental toxic effects of chronic exposure to high doses of iodine in the mouse. *Reprod Toxicol*, 2006, 22(4):725—730.
- [20] 孙富军, 赵树君, 田恩江等. 碘对易感性不同大鼠诱发自身免疫性甲状腺炎的影响. 中国地方病学杂志, 2005, 24(3): 251—254.
- [21] Pan W, Huang D, Zhang Q et al. Fusion of two malaria vaccine candidate enhances product yield, immunogenicity, and antibody-mediated inhibition of parasite growth in vitro. *J Immunol*, 2004, 172(10):6167—6174.
- [22] Zhang D and Pan W. Evaluation of three *Pichia pastoris*-expressed *Plasmodium falciparum* merozoite proteins as a combination vaccine against infection with blood-stage parasites. *Infect Immun*, 2005, 73(10):6530—6536.

SUMMARIZATION OF RESULTS OF NATIONAL SCIENCE FUND FOR DISTINGUISHED YOUNG SCHOLARS AND KEY PROJECTS ENDED IN 2006 IN PREVENTIVE MEDICINE

Cui Fengmei¹ Ding Yanhua² Zhang Zuowen^{3*}

(1 *Soochow University, Suzhou 215123*; 2 *Jilin University, Changchun 130021*;

3 *Department of Life Science, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085*)

Key words Science foundation, Preventive medicine, National Natural Science Fund for Distinguished Young Scholars, Key projects, Results

·资料·信息·

欢迎订阅《2008年度国家自然科学基金项目指南》

《2008年度国家自然科学基金项目指南》将充分体现国家自然科学基金委员会对新的一年科学基金资助工作的指导思想、最新资助政策和管理办法, 公布2008年度各类基金资助项目的优先资助和重点资助领域, 并附有申请代码。是指导申请国家自然科学基金的重要依据。

《2008年度国家自然科学基金项目指南》(约26万字, 定价25元, 免收邮费) 将于2007年12月中旬出

版发行。订购者请与科学基金杂志社办公室联系。

联系人: 科学基金杂志社办公室 刘俐 程宇

通信地址: 北京市8610信箱杂志社办公室

邮政编码: 100085

联系电话: 62327204

国家自然科学基金委员会
科学基金杂志社