

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.02.003

KIR 基因多态性与乙型肝炎病毒疫苗免疫应答的关联研究^{*}

于 森, 卢志明, 路 超[△], 沈亚娟, 成士清, 高 琦, 潘翠翠, 张 凤, 朱 洁, 兰庆站
(山东大学附属省立医院临床检验部, 济南 250000)

摘要:目的 通过基因多态性研究杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)基因在乙型肝炎病毒(HBV)疫苗无应答者和强应答者的多态性表现。方法 180 例标本包括 80 例对 HBV 疫苗无应答者(无应答组)和 100 例强应答者(强应答组)。采用序列特异性引物聚合酶链式反应(PCR-SSP)方法研究 KIR 基因的多态性, 分析 KIR 基因多态性与 HBV 疫苗抗体产生或清除的关联性。结果 无应答组 KIR2DS2 和 KIR2DS3 基因的阳性率较强应答组降低($P=0.037, 0.032$), 而 KIR2DL5 基因的阳性率增高($P=0.008$), 差异均有统计学意义($P<0.05$); 基因型 B/B 在无应答组的频率比强应答组增高($P=0.007, 0.024$)。结论 抑制性基因 KIR2DL5 可能导致机体对疫苗的免疫耐受, 机体免疫状态是决定 HBV 疫苗抗体产生或清除的主要因素。

关键词: 杀伤细胞免疫球蛋白样受体; 多态性; 乙型肝炎疫苗; 无应答; 强应答

中图法分类号: R446.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)02-0153-05

Correlation between KIR gene polymorphism and immune response of hepatitis B vaccine^{*}

YU Miao, LU Zhiming, LU Chao[△], SHEN Yajuan, CHENG Shiqing, GAO Qi,
PAN Cuicui, ZHANG Feng, ZHU Jie, LAN Qingzhan

(Department of Clinical Laboratory, Provincial Hospital Affiliated to Shandong
University, Jinan, Shandong 250000, China)

Abstract: **Objective** To investigate whether killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) gene polymorphisms associated with the different response of recombinant hepatitis B vaccine. **Methods** The 180 subjects analyzed in our study comprised 80 subjects with no response to hepatitis B vaccine (NR group) and 100 subjects with strong responder (SR group) recruited from Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University from 2015 to 2017. The informed consents were obtained from all subjects. The ethical approval for the study was given by the Hospital Ethics Committee. PCR-SSP was performed to detect the presence of KIR genes. **Results** All tested KIR genes were present in the two groups. The frequency of KIR2DL5 was significantly higher in NR group ($P=0.008$), the frequencies of KIR2DS2 and KIR2DS3 were decreased compared with these of SR group ($P=0.037, 0.032$). The frequencies of genotype B/B were significantly higher in NR group ($P=0.007, 0.024$). **Conclusion** KIR2DL5 may lead to the immune tolerance of the body to the vaccine. The immune status may affect the prognosis and outcome of the response to vaccine.

Key words: killing cell immunoglobulin-like receptor; polymorphism; hepatitis B vaccine; no response; strong response

乙型肝炎病毒(HBV)是全球最常见的病毒性疾病之一, 尤其在中国, 其造成很多肝脏疾病患者^[1-2]。相关研究表明, 全世界慢性 HBV 感染者约为 3.5 亿, 中国是 HBV 感染的高发地区, 因此较好的阻断方法是注射基因工程疫苗。目前, HBV 疫苗产量不断扩大及自我保护意识不断提高, 部分 HBV 疫苗已开始应用于成人免疫^[3]。疫苗主要成分是不存在感染和致病可能的 HBV 表面抗原, 不含病毒遗传物质, 但仍有免疫原性, 可以刺激机体产生保护性抗体^[4]。HBV 接种效果已得到国内外学者的一致肯定。虽然国产

HBV 血源疫苗免疫后的安全性、免疫原性、近期和中长期预防效果均十分良好, 但随免疫后时间的延长, 预防效果逐年下降。目前, 明确 HBV 疫苗远期预防效果和是否需要加强免疫是研究的重点^[5]。

杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)属于免疫球蛋白超家族, 在机体的免疫调节中发挥重要的功能^[6]。HBV 的感染、发生、发展及转归与机体免疫系统的变化密切相关。免疫细胞主要通过其表面的激活性和抑制性受体来执行“自己”和“非己”的识别。该受体是一组特异性识别人类主要组织相容性抗原 I 类分

^{*} 基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(ZR2017BH112)。

作者简介: 于森, 女, 主管技师, 主要从事临床免疫及临床生化研究。 [△] 通信作者, E-mail: luchao200906@163.com。

子的受体,在免疫细胞表面表达,同时免疫细胞发挥效应功能,起到非常重要的免疫调节作用^[7]。位于人类染色体 19q13.42,存在编码 KIR 的基因,在结构和功能上的多样性是其特点。KIR 的单倍型 A 含有 1 个激活性和 4 个抑制性 KIR 基因,激活性 KIR 基因为 KIR2DS4,抑制性 KIR 基因还包括 KIR2DL1、KIR2DL3、KIR3DL1、KIR3DL2;KIR 的单倍型 B 包含 KIR2DL5、KIR2DS1、KIR2DS2、KIR2DS3、KIR2DS5、KIR3DS1 等不同组合的基因^[8]。继 HLA 系统后,KIR 基因的多态性是又一被发现在机体对病毒等生物致病因素的免疫中,具有决定性作用的基因,可广泛地参与免疫调节,其在免疫的作用也越来越被临床重视,是近年来分子免疫学领域研究的热点^[9]。

本研究前期报道,KIR2DS2 和 KIR2DS3 是 HBV 易感基因。保护基因则可能是 KIR2DS1、KIR3DS1、KIR2DL5,有可能会促进机体清除 HBV,因此推测,KIR 基因型和单倍型可能与 HBV 的持续感染或清除有关^[10]。目前,关于 KIR 的多态性与 HBV 疫苗产生抗体之间的关系及机制的研究报道较少,现探讨采用序列特异性引物聚合酶链式反应(PCR-SSP)方法分析 80 例对 HBV 疫苗无应答者、100 例强应答者的 KIR 基因的多态性,研究 KIR 基因多态性与 HBV 疫苗抗体产生或清除的关联性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究人群包括 80 例 HBV 疫苗无应答者、100 例强应答者。按照随机整群抽样原则,2 组均来自 2015—2017 年山东大学附属省立医院查体随机无血缘关系的健康汉族个体。研究对象在进行标本采集前均已被告知,并签署相关知情同意书,医院伦理委员会批准本研究方案。纳入标准:选取已接种(0、1、6 个月,10 微克/次)标准全程重组酵母 HBV 疫苗的体检者共 180 例,于接种最后 1 针之后的第 12 周对该人群静脉采血 2 管,其中 1 管 3 mL,EDTA-K2 抗凝,另 1 支促凝管 5 mL,检测 HBV 表面抗原(HBsAg)、表面抗体(抗-HBs)、e 抗原(HBeAg)、e 抗体(HBeAb)、核心抗体(HBcAb)。选择抗-HBs S/N<10、其他指标阴性且经 PCR 检测 HBV DNA 为阴性、无现患肝病、无既往肝病史的汉族人作为无应答组,共计 80 例,男 35 例,女 45 例,平均年龄(36.08±5.91)岁。选择抗-HBs S/N≥1 000、其他指标阴性、无现患肝病、无既往肝病史者 100 例作为强应答组,男 50 例,女 50 例,平均年龄(42.54±8.01)岁。

1.2 仪器与试剂 Roche combas 601 电化学发光分析仪, GeneAmp 9700 扩增仪(Applied Biosystems),电热恒温水浴箱,紫外分光光度计,Minispin 台式高速室温离心机,DYY-6C 型电泳仪,DYCP-34A 电泳槽,Alphamager™2200 生物图像分析仪。HBV 5 个项目的检测采用 Roche 公司生产的电化学发光检测

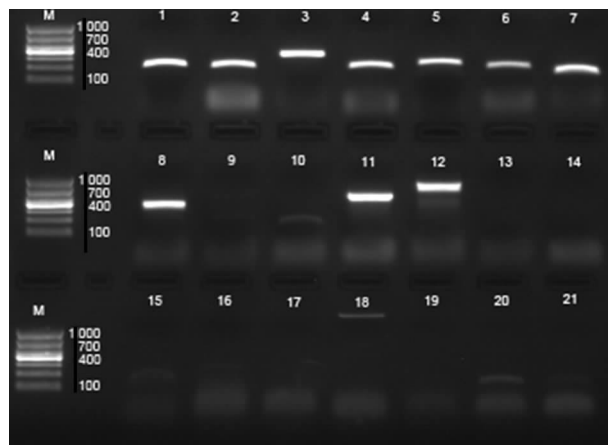
试剂盒,DP-318DNA 提取试剂盒(天根生化有限公司),标准琼脂糖(Biowest),100 bP DNA Ladder Plus(生工生物技术有限公司)等。

1.3 方法 调查内容包括接种的相关因素(时间、地点、次数、部位、接种后反应等);相关的感染因素(既往是否有过输液或输入过血制品、餐具平时有无经常消毒等);相关的机体因素(包括年龄、性别、体质量等);相关的遗传因素(近亲属有无 HBV 患者、家庭成员接种疫苗情况等);其他相关因素(饮食、药物、锻炼等)等。采用外周血 DNA 提取试剂盒按照操作说明进行标本基因组 DNA 提取,使用 PCR-SSP 方法进行 KIR 基因分型,检测 5 个抑制性基因包括 2DL1、2DL2、2DL3、2DL5、3DL1,6 个活化性的基因包括 2DS1、2DS2、2DS3、2DS4、2DS5、3DS1、1D。引物根据文献^[11]进行设计。应用 GeneAmp 9700 扩增仪进行产物的扩增,然后行琼脂糖凝胶电泳(1.5%),采用分析仪进行凝胶电泳图像的分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件包进行数据分析。基因出现频率 Pf(%)=阳性基因数/研究组总例数;KIR 基因频率(GF)= $1-\sqrt{(1-pf)}$;基因型频率=基因型阳性例数/研究组总例数;单倍型频率=单倍型阳性例数(n)/2N。计数资料组间比较采用 χ^2 检验和四格表 Fisher 确切概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因组 DNA 纯度和浓度的鉴定 本研究提取的基因组 DNA 均符合实验要求(浓度为 0.2~0.4 $\mu\text{g/mL}$,OD260/OD280 为 1.6~1.8)。



注:M 表示标记物;1~2 表示 KIR3DL1;3~4 表示 KIR3DS1;5~6 表示 KIR2DL5;7~8 表示 KIR2DL1;9~10 表示 KIR2DL2;11~12 表示 KIR2DL3;13~14 表示 KIR2DS2;15~16 表示 KIR2DS3;17~18 表示 KIR2DS4;19 表示 KIR2DS5;20~21 表示 KIR2DS1

图 1 1 例标本扩增产物琼脂糖凝胶电泳图

2.2 KIR 基因表型频率及基因频率比较 2 组都可以检出 KIR 基因,电泳后的条带较为清晰。无应答组 KIR2DS2 和 KIR2DS3 基因的阳性率较强应答组降低($P=0.037,0.032$),而 KIR2DL5 基因的阳性率增

高($P=0.008$)。其他 KIR 基因位点频率在 2 组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 1、2 和表 1。

表 1 2 组 KIR 基因表型频率和基因频率结果比较						
KIR	无应答($n=80$)		强应答($n=100$)		OR(95%CI)	P
	Pf(%)	gf	Pf(%)	gf		
2DL1	90.0	0.68	93	0.74	0.677(0.235~1.955)	0.469
2DL2	77.5	0.53	67	0.43	1.697(0.868~3.316)	0.120
2DL3	92.5	0.73	89	0.67	1.524(0.538~4.319)	0.425
2DL5	45.0	0.26	26	0.14	2.329(1.243~4.361)	0.008
3DL1	100.0	1.00	96	0.80	1.042(1.001~1.084)	0.130
2DS1	30.0	0.16	25	0.13	1.286(0.666~2.484)	0.454
2DS2	15.0	0.08	28	0.15	0.454(0.214~0.964)	0.037
2DS3	16.3	0.08	30	0.16	0.453(0.218~0.941)	0.032
2DS4	80.0	0.55	72	0.47	1.556(0.772~3.134)	0.215
2DS5	10.0	0.05	13	0.07	0.744(0.292~1.893)	0.533
3DS1	32.5	0.18	29	0.16	1.179(0.624~2.228)	0.612
1D	25.0	0.13	27	0.15	0.901(0.460~1.764)	0.761

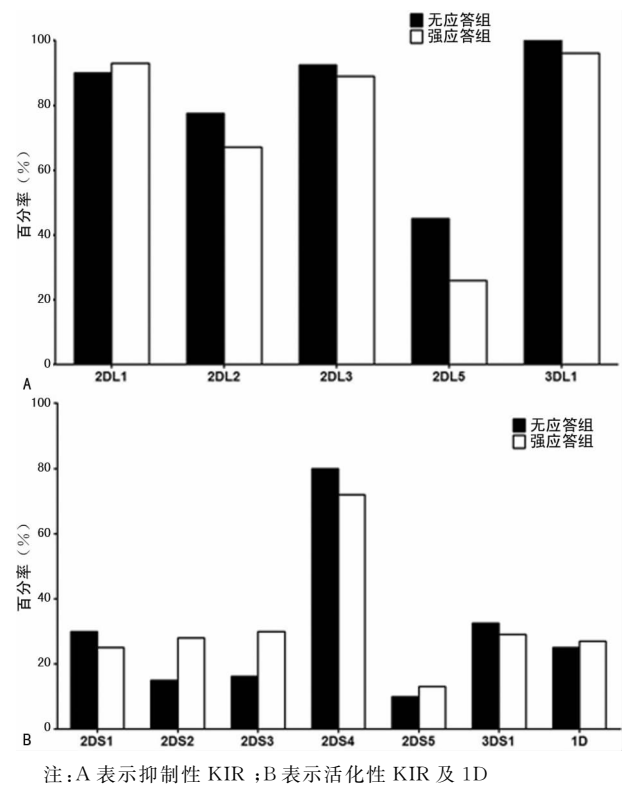


图 2 2 组之间 KIR 表型频率的比较

2.3 KIR 基因单倍型及基因型分析 单倍型 B 在无应答组的频率较强应答组增高($P=0.049$)，而单倍型 A 的频率稍低，2 组差异有统计学意义($P<0.05$)。根据 KIR 基因所对应的特异性条带的有无而判定基因型。KIR 单倍型可分为 A 与 B 2 个单倍型，两者可组成 A/A、B/B、A/B 3 种基因型。基因型 B/B 在无应答组的频率较强应答组增高，差异有统计学意义($P=0.024$)，而 A/B、A/A 在两者的频率差异无统计

学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 2 组 KIR 基因型频率结果比较				
类型	无应答组 [$n=80, n(\%)$]	强应答组 [$n=100, n(\%)$]	OR(95%CI)	P
A/A	29(36)	42(42)	0.785(0.429~1.437)	0.433
B/B	28(35)	20(20)	2.154(1.100~4.216)	0.024
A/B	23(29)	38(38)	0.659(0.350~1.237)	0.193

3 讨 论

接种 HBV 疫苗是预防和控制 HBV 流行暴发较为有效的手段，具有重要的意义^[12]。但相关学者发现，HBV 疫苗应用过程中仍存在某些问题，特别是疫苗的保护持续时间，以及接种后无或弱应答的原因及处理措施等。疫苗本身因素、机体因素、接种因素等都可导致 HBV 疫苗接种后无或弱应答现象的发生，该现象原因极其复杂^[13-14]。本研究结果表明，无应答组 KIR2DS2 和 KIR2DS3 基因的阳性率较强应答组降低($P<0.05$)，单倍型 B 及基因型 B/B 在无应答组的频率增高($P<0.05$)，提示 KIR 基因可能通过转导抑制性的信号调节免疫细胞介导的免疫应答，使无应答者体内的免疫应答发生免疫耐受，因而不能介导正常的免疫应答。

疫苗本身、环境、遗传等因素的相互作用可能会导致接种 HBV 疫苗不产生抗体现象的发生^[15]。来源不同的重组 HBV 疫苗抗原表达系统、糖基化程度、表面蛋白结构不同，其抗-HBs 的阳转率也不同。抗原必须有一定的含量才能刺激机体引起免疫应答，疫苗含抗原蛋白多，其抗原性越强，疫苗的剂量大，抗-HBs 阳转率也高，维持时间也长^[16]。但并不是剂量越高免疫效果越好，过高剂量与过低剂量都可引起免疫耐受而导致无、弱应答。疫苗接种后不产生抗体的可能原因：检测方法的局限性；机体迟缓的免疫应答反应或免疫耐受；HBV 病毒隐匿性感染者等，与相关报道相似^[17-18]。本研究推测，个体免疫遗传因素可能是接种疫苗后无或弱应答的一个关键因素。本研究结果显示，与强应答组比较，无应答组体内呈现某些活化性 KIR 基因的低表达，致使活化性受体减少，这种活化性和抑制性 KIR 基因的失衡导致了机体免疫细胞被抑制，传递活化性信号减弱，有可能引起某种程度的免疫耐受。

依据细胞外 Ig 样结构域的数目(2 或 3)，KIR 可分为 KIR2D 和 KIR3D，根据细胞内肽链的长短和有无免疫受体酪氨酸抑制基序(ITIM)，KIR 可分为抑制性(L) KIR 和活化性(S) KIR。抑制性 KIR 可传递带有抑制性的信号，活化性 KIR 则传递带有活化性信号。目前，KIR 基因及其配体与多种疾病遗传易感性的关系引起重点关注，如 1 型糖尿病、血管炎、类风湿关节炎、HBV、丙型肝炎等。遗传基因型在某些程

度上决定机体对 HBV 疫苗的免疫应答水平,特别是某些特定基因型者接种 HBV 疫苗后不出现保护性的抗体。近年来,大部分同 HBV 疫苗反应相联系的分子生物学和细胞生物学研究大都集中在 HLA 上^[19-21]。HLA 分子可呈递抗原(外源性和内源性抗原)到 CD4⁺T 淋巴细胞和 CD8⁺ 细胞毒性 T 淋巴细胞,因此启动体液免疫和细胞免疫,以至于可能控制着机体对 HBV 疫苗的免疫应答。除了 HLA, KIR 基因是又一个被发现的广泛参与免疫调节、具有高度多态性的关键基因,其可与靶细胞表面的人白细胞抗原 I 类分子相结合,转导激活性或抑制性的信号。本研究结果表明,HBV 疫苗无应答者存在较高频率的 KIR2DS2 和 KIR2DS3,推测其可能与无应答密切相关,且 KIR2DL5 基因发挥了抑制功能。KIR2DS3 是具有短的胞内段的激活性受体,归属于 KIR 单元型 B, DAP12 具有免疫酪氨酸激活基序,两者相偶联传达激活信号。本研究 KIR2DS3 的频率无应答组较强应答组的频率低,推测这可能会增加疫苗免疫耐受的概率。或许可解释在强应答者机体内,当抑制性受体与其配体不能有效地紧密结合时,较多的活化性 KIR 通过免疫细胞(NK、T 细胞)传递更多的激活性信号^[22-23]。KIR2DL5 胞浆区含有 2 个 ITIM 且可转导抑制性信号,因而抑制免疫细胞活性,致细胞不能识别相关信号,诱导免疫耐受,这可能是降低机体免疫反应的重要因素。因此,根据文献^[22]推测,KIR 基因的多态性决定着机体对病毒等生物致病因素的免疫能力,活化或抑制 KIR 基因比例的失衡可能会致使免疫细胞功能过度活化或低下,因此保持适当的两者比例是维持自身免疫水平平衡的遗传学基础。

临床对 HBV 疫苗无应答或弱应答者,最好采取增加接种的剂量、增加接种次数、试用免疫调节剂等提高疫苗的免疫应答率^[24-26]。本研究结果表明,接种 HBV 疫苗后不同的免疫应答反应与 KIR 基因的多态性有关,但由于 KIR 在不同人群的分布不同,符合条件的标本比较难收集,导致收集的标本量较小,要揭示 KIR 基因在 HBV 疫苗应答中的作用,需要更深入地进一步探讨证实。但本课题的研究是可行的,因为本课题组首次报道了 KIR 与 HBV 疫苗无应答的关联性,因此推测,KIR 基因家族有可能参与了机体对抗疫苗免疫应答的过程。

KIR 基因多态性分析有可能为研究疫苗的开发机制带来新的思路。本研究采用 PCR-SSP 方法分析 80 例对 HBV 疫苗无应答者和 100 例强应答者的 KIR 基因的多态性,探讨 KIR 基因多态性与 HBV 疫苗抗体产生或清除的相关性。HBV 疫苗无应答与遗传因素关系的研究,各机构研究结果的差异提示不同的种族和地区的人群可能有不同的基因调控着无应答的发生。这不但对更深入地了解无或弱应答者的

遗传背景提供帮助,还可为高危人群的预防、诊断、干预提供强大的理论支持,具有较大的理论意义和潜在的应用前景,为今后进一步研究及开发重组疫苗等相关研究提供数据和技术参考平台。

参考文献

- [1] TU T, BUDZINSKA M A, SHACKEL N A, et al. HBV DNA Integration; molecular mechanisms and clinical implications[J]. *Viruses*, 2017, 9(4): 75.
- [2] YANG Y, HAN Q, HOU Z, et al. Exosomes mediate hepatitis B virus (HBV) transmission and NK-cell dysfunction[J]. *Cell Mol Immunol*, 2017, 14(5): 465-475.
- [3] 庄辉. 预防乙型肝炎病毒母婴传播中值得注意的几个问题[J]. *中华肝脏病杂志*, 2016, 24(12): 881-884.
- [4] 邓秋云. 成人乙肝疫苗接种及免疫效果概述[J]. *现代预防医学*, 2017, 44(14): 2134-2138.
- [5] 李燕婷, 黎健, 周建军, 等. 血源性乙肝疫苗远期免疫效果研究[J]. *环境与职业医学*, 2011, 28(8): 453-456.
- [6] JIANG L, SU P, YANG T, et al. Diversity of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Drung Chinese[J]. *HLA*, 2017, 89(1): 144-148.
- [7] MOHAMMADEBRAHIM H, KAMALISARVESTANI E, MAHMOUDI M, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genes and their HLA ligands with susceptibility to Behet's disease[J]. *Scand J Rheumatol*, 2017, 76(18): 736-741.
- [8] TORRES A, WESTOVER J, BENSON M, et al. A killer immunoglobulin-like receptor gene-content haplotype and a cognate human leukocyte antigen ligand are associated with autism[J]. *Autism-Open Access*, 2016, 6(2): 1123-1128.
- [9] LING H L, MA S J, TAN H Z. Association between killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) Polymorphisms and systemic lupus erythematosus (SLE) in populations[J]. *Medicine*, 2017, 96(10): e6166.
- [10] ZHI M L, YU L J, ZHAO L F, et al. Polymorphisms of killer cell immunoglobulin-like receptor gene: Possible association with susceptibility to or clearance of hepatitis B virus infection in Chinese Han Population[J]. *Croat Med J*, 2007, 48(10): 800-806.
- [11] MARTIN M P, NELSON G, LEE J H, et al. Cutting edge: susceptibility to psoriatic arthritis: influence of activating killer Ig-like receptor genes in the absence of specific HLA-C alleles[J]. *J Immunol*, 2002, 169(18): 2818-2822.
- [12] MICHAEL G, DANA B, DEBBY H, et al. Editor's choice: antibody levels and protection after hepatitis B vaccine; results of a 30-Year follow-up study and response to a booster, dose[J]. *J Infect Dis*, 2016, 214(1): 16-22.
- [13] NELSON N P, EASTERBROOK P J, MCMAHON B J. Epidemiology of hepatitis B virus infection and impact of

- vaccination on disease[J]. Clin Liver Dis, 2016, 20(4): 607-628.
- [14] MACFARLANE C E. A comparison of the predictors of hepatitis B vaccination acceptance amongst health care and public safety workers in Australia[J]. BMC Palliat Care, 2017, 6(1): 6-11.
- [15] CHILDS L, ROESEL S, TOHME R A. Status and progress of hepatitis B control through vaccination in the south-east Asia region, 1992 — 2015[J]. Vaccine, 2018, 36(1): 6-9.
- [16] ZHENG H, WANG F, ZHANG G, et al. Sero-prevalence of hepatitis B virus and effectiveness of hepatitis B vaccination among 1 — 29 year olds in impoverished and non-impoverished counties of China[J]. Chinese J Vaccines Immun, 2018, 76(10): 819-922.
- [17] KISHINO H, TAKAHASHI K, SAWATA M, et al. Immunogenicity, safety, and tolerability of a recombinant hepatitis B vaccine manufactured by a modified process in healthy young Japanese adults[J]. Hum Vaccines Immunother, 2018, 49(21): 119-123.
- [18] JUNQUEIRA A L, TAVARES V R, MARTINS R M, et al. Presence of maternal anti-HBs antibodies does not influence hepatitis B vaccine response in Brazilian neonates[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2011, 106(1): 113-116.
- [19] SEKINE T, MARIN D, CAO K, et al. Specific combinations of donor and recipient KIR-HLA genotypes Predict for large differences in outcome after cord blood transplantation[J]. Blood, 2016, 128(2): 297.
- [20] XU B, ZHU D, BI Y, et al. Minimal association of alleles of human leukocyte antigen class II gene and long-term antibody response to hepatitis B vaccine vaccinated during infancy[J]. Vaccine, 2017, 35(18): 2457-2463.
- [21] YUKIMASA N, KOHAMA S, OBOSHIB W, et al. Genetic factors of low-responsiveness to hepatitis B virus vaccine confirms the importance of human leukocyte antigen class II types in a Japanese young adult population[J]. Acta Medica Okayama, 2017, 71(5): 433-436.
- [22] BABOR F, MANSER A, SCHONBERG K, et al. Lack of association between KIR genes and acute lymphoblastic leukemia in children[J]. Blood, 2017, 120(13): 895-906.
- [23] CLAUSEN J, BOHM A, STRABL I, et al. HLA-C KIR-ligands determine the impact of anti-thymocyte globulin (ATG) on graft versus host and graft versus leukemia effects following hematopoietic stem cell transplantation[J]. Biomedicine, 2017, 5(2): 191-195.
- [24] ZENG Y, ZHANG J K, TANG Y, et al. Safety evaluation of 10 µg recombinant hepatitis B vaccine (saccharomyces cerevisiae yeast) based on the results of a Phase of IV clinical trial[J]. Chinese J Prev Med, 2017, 51(12): 1121-1125.
- [25] HUZAIR F, STURDY S. Biotechnology and the transformation of vaccine innovation: The case of the hepatitis B vaccines 1968 — 2000[J]. Studies in History & Philosophy of Science Part C Studies in History & Philosophy of Biological & Biomedical Sciences, 2017, 64(10): 11-21.
- [26] JING W, HE Y, JIN D, et al. No response to hepatitis B vaccine in infants born to HBsAg(+) mothers is associated to the transplacental transfer of HBsAg[J]. Scand J Infect Dis, 2017, 49(8): 576-583.

(收稿日期: 2018-05-30 修回日期: 2018-08-29)

(上接第 152 页)

- 者放疗副作用的效果观察[J]. 中国伤残医学, 2014, 36(6): 343-344.
- [2] 王跃建, 邓燕明, 虞幼军, 等. 鼻咽癌诊断与治疗[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [3] NICHOLS K 著. 刘晓虹, 吴菁, 译. 临床心理护理指南[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 5-80.
- [4] 王瑞芝, 樊锐太, 尤庆山, 等. 肿瘤放射治疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 122-123.
- [5] 韦惠云, 黄明宜. 分级心理护理研究进展[J]. 中国继续医学教育, 2015, 7(25): 216-217.
- [6] 刘贤臣. 匹兹堡睡眠质量指数(Pmsburgh sleep Quality Index), PSQI[J]. 中国心理卫生杂志, 1999, 15(增刊): 375-378.
- [7] 殷蔚伯, 余子豪, 徐国镇, 等. 肿瘤放射治疗学[M]. 4 版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 1353-1374.
- [8] AARONSON N K, AHMEDSAI S, BERGMAN B, et al. The European organization for research and treatment of cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology[J]. J Natl Cancer Inst, 1993, 32(85): 365-369.
- [9] 李芳莲, 范丽萍, 马茹, 等. 分级心理护理在喉癌病人围手术期护理中的应用[J]. 护理研究, 2016, 30(1): 172-174.
- [10] 蔺波, 姚海霞, 曹晓琳. 延伸护理对鼻咽癌放疗病人自我管理效能感的影响[J]. 全科护理, 2015, 13(3): 260-262.
- [11] 邹莉, 郭旗. 心理干预对鼻咽癌患者焦虑抑郁症状影响的 Meta 分析[J]. 中国老年保健医学, 2013, 11(2): 27-29.
- [12] 廖美莲, 杨秋花, 曾海梅. 健康教育对鼻咽癌患者依从性的影响[J]. 中华现代护理杂志, 2008, 5(16): 1510-1511.
- [13] 许容芳, 陆勤美. 58 例鼻咽癌调强放疗期间的护理干预及效果评价[J]. 实用临床医药杂志, 2010, 14(4): 13-14.
- [14] 李艺, 柴守霞. 全方位护理干预在减少老年鼻咽癌放射性口腔炎中的应用[J]. 实用临床医药杂志, 2010, 14(22): 12-13.

(收稿日期: 2018-06-12 修回日期: 2018-08-29)