

Construction of a Mouse Model of Viral Liver Injury by rAAV8-1.3HBV

Chao Kang, Jinxin Wang, Hui Huang*

Beijing Handian Research Institute, Beijing
Email: *HuangHui@handian.com

Received: Sep. 2nd, 2019; accepted: Sep. 17th, 2019; published: Sep. 24th, 2019

Abstract

Purpose: To infect mice with liver-tropic recombinant adeno-associated virus type 8 (rAAV8) vector carrying C genotype (adr subtype) 1.3 copies of Hepatitis B virus (HBV) to create a mouse model for HBV-induced liver injury. **Methods:** First, rAAV8-1.3HBV was injected into the tail vein of 78 C57BL/6 mice. Quantitative detections of HBV DNA, HBeAg and HBsAg in serum showed that a mouse model of HBV continuous replication was established. Serological examinations for AST, ALT activity values and liver tissue staining of the satellite animals were performed at 8 weeks, 12 weeks, 16 weeks, 20 weeks, and 24 weeks following virus administration. Finally, a mouse model of viral liver injury with sustained replication of HBV was established. **Results:** After injection of rAAV8-1.3HBV in C57BL/6 mice, stable expression of HBV was detected in the serum of mice during the period from 8 weeks to 24 weeks, and the pathological results revealed by HE staining at 20 and 24 weeks showed visible lesions, foci, and lymphoid cells in hepatic lobules in the liver tissue accompanied by inflammation and monocyte invasion. There was a relatively high count with a wide distribution range of invasive cells in the hepatic lobules. Compared with the control group, the degree and total range of lesions were significantly elevated. **Conclusion:** The mouse model of HBV viral liver injury was successfully established by *in vivo* administration of rAAV8 into C57BL/6 mice. The created model showed the characteristics of the gradual development of liver injury suggestive of hepatic infection during the 20 weeks following virus administration. Therefore, this model may be used to study virus infection induced liver injury.

Keywords

rAAV8-1.3HBV, HBV, Viral Liver Injury, Hepatitis B Virus

rAAV8-1.3HBV构建小鼠病毒性肝损伤模型研究

康 超, 王金鑫, 黄 卉*

*通讯作者。

北京汉典制药有限公司企业技术中心, 北京
Email: HuangHui@handian.com

收稿日期: 2019年9月2日; 录用日期: 2019年9月17日; 发布日期: 2019年9月24日

摘要

目的: 用高嗜肝性的重组8型腺相关病毒载体携带C基因型(adr亚型) 1.3拷贝乙型肝炎病毒, 建立HBV持续复制的小鼠病毒性肝损伤模型。**方法:** 将rAAV8-1.3HBV经尾静脉注射到78只C57BL/6小鼠体内, 通过定量检测血清中HBV DNA、HBeAg、HBsAg含量, 同时检测血清学AST、ALT活力值以及病毒注射后8周、12周、16周、20周、24周时取实验组动物肝脏做HE染色分析, 最终建立HBV持续复制的小鼠病毒性肝损伤模型。**结果:** C57BL/6小鼠注射rAAV8-1.3HBV后, 8周至24周小鼠血清中可检测出稳定表达的HBV, 且20周和24周HE染色病理结果显示肝组织内可见肝小叶内点状、灶状以淋巴、单核细胞为主的炎细胞浸润, 肝小叶内的炎性浸润灶数量较多, 分布范围较广, 与对照组相比, 病变程度及累计范围明显加重。**结论:** 利用rAAV8体内转导C57BL/6小鼠, 成功地建立了HBV病毒性肝损伤小鼠模型, 此模型在病毒注射20周后逐渐出现病毒性肝损伤特征, 可用于病毒性肝损伤的研究。

关键词

rAAV8-1.3HBV, HBV, 病毒性肝损伤, 乙型病毒性肝炎

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

乙型病毒性肝炎(viral hepatitis type B), 简称乙型肝炎, 是由乙型肝炎病毒(HBV)感染引起的以肝脏炎性病变为主的一种传染病, 并且该病与肝硬化和肝细胞癌的发生密切相关, 严重威胁着人们的生活与健康[1]。近年来, 乙型肝炎发病率呈明显增长趋势, 据世界卫生组织报道, 全球约 20 亿人曾感染过 HBV, 每年约有 100 万人死于 HBV 感染所致的肝衰竭、肝硬化和原发性肝细胞癌等。其发病机制与病毒感染、免疫调节紊乱有关, 以肝细胞损伤为主要特征。

目前大部分学者认为, 乙型肝炎是由乙型肝炎病毒引起的一种免疫相关性疾病, 机体感染 HBV 后的肝细胞损伤并非其在肝细胞内复制繁殖直接作用的结果, 而是一系列宿主免疫反应引起肝细胞的病理性免疫反应, 最终造成肝细胞的损害[2] [3]。所以, 在现代研究中, 大部分学者选用免疫性肝损伤动物模型作为病毒性肝炎的常用模型。本研究是将 rAAV8-1.3HBV 病毒经尾静脉注射到 C57BL/6 小鼠体内[4] [5], 结合血液学及病理检测方法动态观察小鼠肝脏组织的病理变化, 以期建立一个 HBV 感染引起的病毒性肝损伤模型, 为进一步研究乙肝病毒的致病机制和药物筛选奠定模型基础。

2. 材料

4~6 周龄雄性 C57BL/6 小鼠, 114 只, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 生产许可证: SCXK(京)2016-0006; 实验动物寄养于北京维通达生物技术有限公司, 实验动物使用许可证: SYXK(京)2014-0015, 动物伦理审查编号: VTD-SY-201805。

rAAV8-1.3HBV (adr 亚型)购自北京五加和分子医学研究所有限公司(规格: $1E+12$ vg), 货号: AMV-001。
乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)定量测定试剂盒(PCR-荧光探针法), 湖南圣湘, 货号 2016029;
乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)测定试剂盒(电化学发光法), 罗氏, 货号 04687787190;
乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)测定试剂盒(电化学发光法), 罗氏, 货号 11820583122;
谷草转氨酶(AST)检测试剂盒(比色法), 罗氏, 货号 05850819190;
谷丙转氨酶(ALT)检测试剂盒(IFCC 法), 罗氏, 货号 05850797190。

3. 实验方法

3.1. 分组及模型建立

将 114 只 C57BL/6 小鼠随机分成模型组 78 只和正常组 36 只, 将 rAAV8-1.3HBV (adr 型, 1×10^{12} vg/mL) 病毒经尾静脉注射至模型组 78 只 C57BL/6 小鼠体内, 同时经尾静脉注射生理盐水(1×10^{12} vg/mL)至正常组 36 只 C57BL/6 小鼠体内, 建立 HBV 持续感染病毒性肝损伤模型。

3.2. 血生化指标检测

注射病毒 1 d、3 d、1 w、2 w、4 w、6 w、8 w、10 w、12 w、16 w、20 w、24 w 后, 每笼随机选取 1 只小鼠, 经眼眶取血约 0.1~0.2 ml, 分离血清后, 吸取 25 μ L 用 PBS 溶液稀释 20 倍, 选用 PCR-荧光探针法定量检测血清中 HBV DNA 含量, 电化学发光法定量检测血清中 HBeAg、HBsAg 含量; 病毒注射 3 w、5 w、9 w、11 w、15 w、20 w、24 w 后, 每笼随机选取 1 只小鼠, 眼眶取血约 0.1~0.2 ml, 分离血清后, 吸取 25 μ L 用 PBS 溶液稀释 4 倍, 选用电化学发光法检测血清中 AST、ALT 活力值。

3.3. 肝组织病理分析

病毒注射 8 w、12 w、16 w、20 w、24 w 后随机挑选模型组与正常组各 3 只动物取肝组织进行 HE 病理检测。取小鼠肝脏组织固定于 4% 多聚甲醛中, 石蜡包埋, 经脱水后切片进行 HE 染色, 观察肝脏组织病变情况。

3.4. 数据分析

所有实验结果以“平均值 \pm 标准误差”表示。对肝功指标原始数据进行统计分析; 正常组与模型组之间方差齐性检验采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)方法进行分析; 方差齐性检验采用非参数检验分析。当 P 值小于 0.05 认为差异具有显著性。所有的数据使用 SPSS 22.0 软件进行分析。

4. 实验结果

4.1. 血生化指标结果

4.1.1. 病毒血清学结果

病毒注射后第 1 天开始在血清中检测到 HBV DNA 的表达, 并持续到第 24 周均为阳性。HBV-DNA 表达水平呈现出一个先下降再上升然后趋于平稳表达的过程, 第 1 天时最高, 然后逐渐开始下降, 6 w 后维持较稳定表达水平(图 1(A))。

病毒注射后第 1 天开始在血清中检测到 HBsAg 的表达, 并持续到第 24 周均为阳性。HBsAg 呈现出先上升再下降然后上升最终趋于平稳表达的过程, 注射 2 周时降至最低, 6 周后维持较高表达水平(图 1(B))。

病毒注射后第 1 天开始在血清中检测到 HBeAg 的表达, 并持续到第 24 周均为阳性。HBeAg 出现先上升再趋于平稳再下降表达的过程, 注射 2 周后维持较高表达水平, 但注射 12 w 后逐渐下降(图 1(C))。

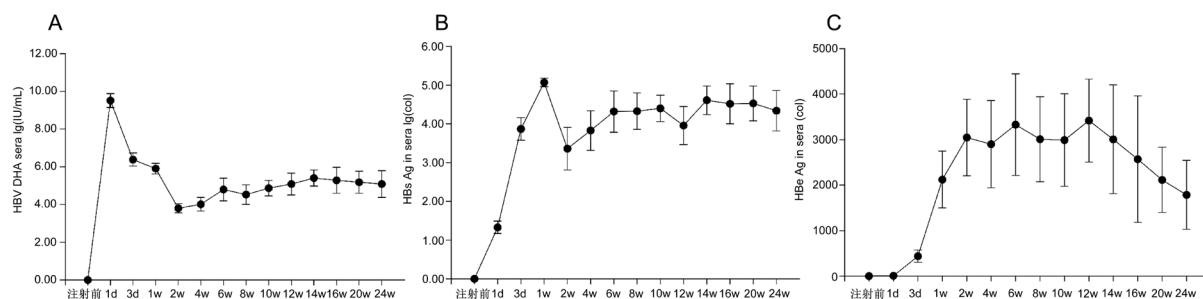


Figure 1. Virus serology as a function of the modeling cycle

图 1. 病毒血清学随建模周期的变化

4.1.2. 肝功血清学结果

病毒注射后第 3 周开始, 检测血清中肝功 ALT、AST 活力值, 结果显示: 模型组 ALT、AST 活力值持续高于正常组(图 2(A)、图 2(B))。模型组与正常组比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

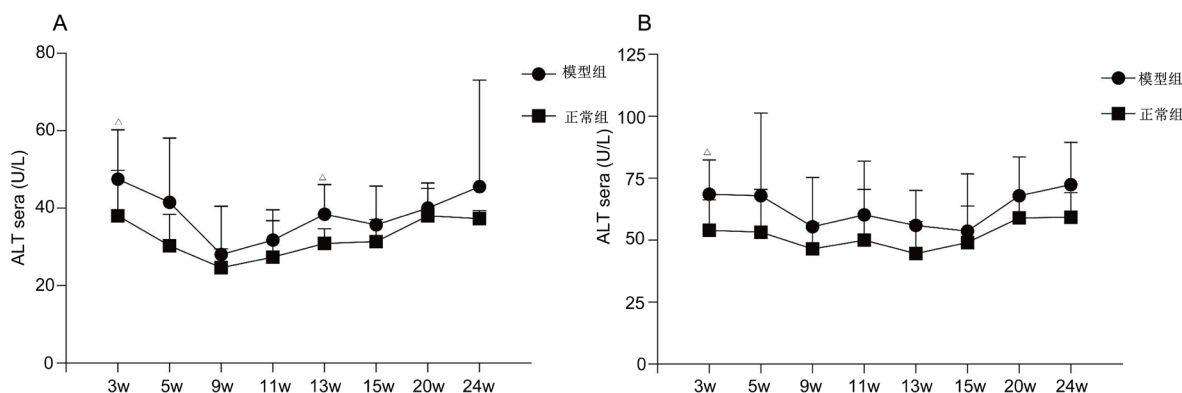


Figure 2. Changes in serum liver function with modeling cycle

图 2. 血清肝功随建模周期的变化

4.2. 小鼠肝脏病理分析结果

病毒注射 20 周、24 周后, 模型组小鼠肝组织内均可见肝小叶内点状、灶状以淋巴、单核细胞为主的炎细胞浸润, 与对照组相比, 病变程度及累计范围明显加重, 考虑为与病毒注射有关的肝脏病变(图 3)。

5. 讨论

本研究通过注射 rAAV-1.3HBV (adr 型)病毒, 持续检测病毒及肝功指标发现, 病毒注射后 24 周内能持续表达病毒学相关指标, 且肝功指标在模型组也表现为异常, 病理检测显示病毒注射 20 周后, 小鼠肝组织中出现与病毒有关的炎细胞浸润等病理变化。综上所述, 通过 24 周的实验观察, 成功建立了持续感染且肝功异常的小鼠病毒性肝损伤模型。

rAAV-1.3HBV (adr 型)病毒(GenBank accession number: KX449554), 产品巧妙结合了含重复区的 HBV 基因组可在小鼠肝脏中复制的特点以及 AAV8 嗜肝细胞的特性, 能够很好地在小鼠中模拟 HBV 持续性感染状态。多数学者只是应用此病毒研究抗病毒药物, 本次实验更进一步的研究病毒感染后肝脏损伤的病理情况, 能够更好的模仿临床乙肝患者肝脏损伤状况。

肝损伤的动物模型主要包括化学性肝损伤、药物性肝损伤以及免疫性肝损伤[6] [7], 其中免疫性肝损伤模型在现代研究中认为与人感染 HBV 造成的肝损伤最为接近, 多数研究者采用小鼠尾静脉注射刀豆蛋

白 A (Concanavalin A, ConA) 建立免疫性肝损伤小鼠模型, 其特点是通过刺激 Kupffer 细胞分泌 IL-1、IL-6、TNF- α 等多种炎性细胞因子, 激活 CD4 + T 细胞, 最终引发炎症反应, 诱导肝细胞损伤[8], 但该模型并没有 HBV 持续复制因素的参与, 造成缺乏持续的肝损伤过程, 无法完全模拟病毒感染引起的肝损伤的整个过程, 建立一个更加接近临床病理过程的模型, 对 HBV 的感染以及免疫调节类护肝药物的研发有着重要的意义。

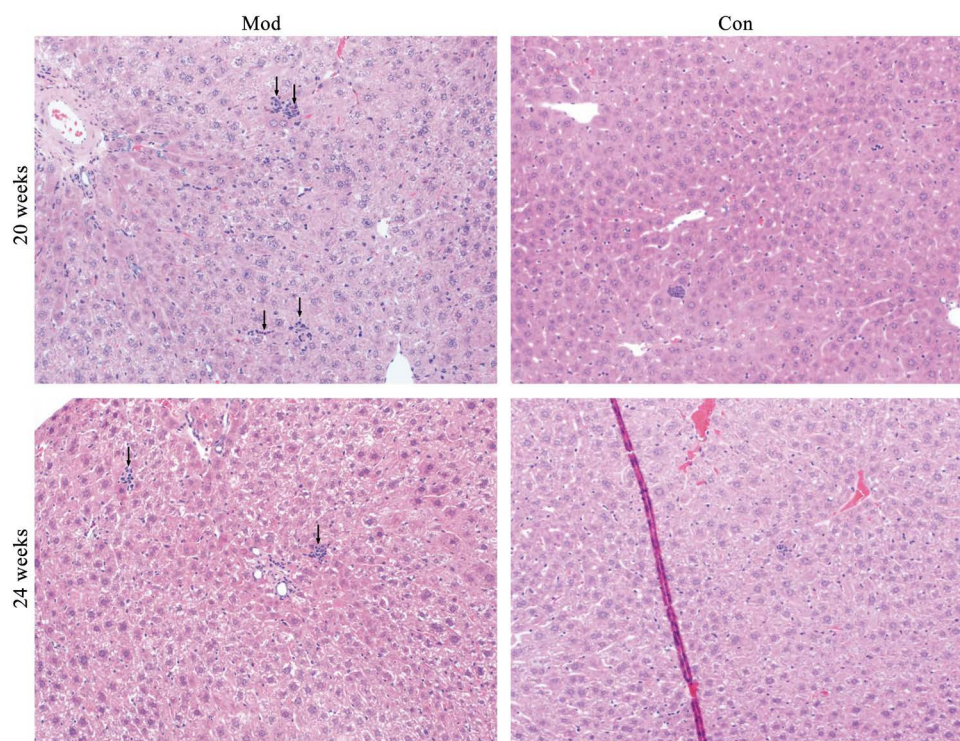


Figure 3. HE staining 10X
图 3. HE 染色 10X

6. 结论

在乙肝病毒感染引起的肝损伤研究过程中, 理想的动物模型应该具备病毒持续感染诱发的肝脏病理变化, 满足乙肝病毒感染并伴有肝损伤的模型非常难于建立, 导致治疗乙肝病毒性肝损伤药物研究陷入困境, 若能成功建立病毒性肝损伤模型可以帮助我们更进一步了解病毒感染与肝脏损伤的关系, 也可以很大程度上帮助免疫调节类护肝药物的开发。

参考文献

- [1] 陆玉蕾. 肝脏 TCR $\gamma\delta$ ⁺ CD3⁺ CD4⁺CD8⁻T 细胞在小鼠病毒性肝炎中的作用及其作用机制[D]: [博士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2012.
- [2] Rehermann, B. and Nascimbeni, M. (2005) Immunology of Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus Infection. *Nature Reviews Immunology*, **5**, 215-229. <https://doi.org/10.1038/nri1573>
- [3] Chen, J. and Yuan, Z. (2014) Interplay between Hepatitis B Virus and the Innate Immune Responses: Implications for New Therapeutic Strategies. *Virologica Sinica*, **29**, 17-24. <https://doi.org/10.1007/s12250-014-3412-3>
- [4] 董小岩, 尉迟捷, 王刚, 田文洪, 陆月, 张风卫, 王文, 王岳, 谭文杰, 吴小兵. 高嗜肝性 8 型重组腺相关病毒体内转导法制备乙型肝炎病毒持续感染小鼠模型[J]. 病毒学报, 2010, 26(6): 425-431.

- [5] 王国婧, 王刚, 董小岩, 田文洪, 尉迟捷, 魏国超, 孟红, 吴小兵. 用重组 8 型腺相关病毒载体介导的乙型肝炎病毒持续感染小鼠模型评价核苷类似物的抗病毒效果[J]. 生物工程学报, 2013, 29(1): 95-106.
- [6] 吕超, 石清兰, 覃倩, 周玲瑶, 周小博, 易鑫宇, 毛德文. 小鼠实验性肝损伤模型的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(1): 107-113.
- [7] 张倩, 刘江宁, 秦川. 乙型病毒性肝炎动物模型的比较分析[J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(6): 72-76.
- [8] Chen, K., Li, J., Wang, J., *et al.* (2014) 15-Deoxy- γ 12, 14-Prostaglandin J2 Reduces Liver Impairment in a Model of ConA-Induced Acute Hepatic Inflammation by Activation of PPAR γ and Reduction in NF- κ B Activity. *PPAR Research*, 2014, 215631. <https://doi.org/10.1155/2014/215631>

附录

HBV-DNA(IU/mL):

Group	注射后 1 d	注射后 3 d	注射后 1 w	注射后 2 w	注射后 4 w	注射后 6 w	注射后 8 w	注射后 10 w	注射后 12 w	注射后 14 w	注射后 16 w	注射后 20 w	注射后 24 w
	1.24×10^{10}	5.88×10^6	9.36×10^5	5.18×10^3	8.58×10^3	3.94×10^3	5.48×10^3	1.93×10^5	5.74×10^5	6.76×10^5	1.61×10^4	1.57×10^4	5.18×10^3
	1.69×10^{10}	2.98×10^6	9.60×10^5	5.06×10^3	8.12×10^3	2.76×10^5	2.62×10^4	6.00×10^4	6.54×10^4	1.08×10^5	1.27×10^6	1.06×10^6	2.70×10^4
	4.42×10^9	3.16×10^6	1.61×10^6	$<2.00 \times 10^3$	5.98×10^4	2.82×10^5	2.80×10^4	1.44×10^5	2.10×10^5	6.18×10^5	4.48×10^4	5.18×10^4	4.20×10^5
	4.92×10^9	2.06×10^6	1.84×10^6	$<2.00 \times 10^3$	2.24×10^4	6.44×10^4	7.62×10^3	3.60×10^5	6.12×10^5	8.80×10^5	5.82×10^5	2.40×10^5	1.23×10^6
	1.42×10^{10}	3.70×10^6	1.42×10^6	1.03×10^4	2.72×10^4	5.58×10^4	1.08×10^4	1.13×10^5	4.16×10^5	1.09×10^6	1.64×10^4	7.10×10^5	4.40×10^5
	5.90×10^9	4.26×10^6	1.31×10^6	7.00×10^3	1.26×10^4	3.30×10^4	1.50×10^4	8.62×10^3	3.34×10^4	2.18×10^5	5.54×10^5	9.28×10^5	4.50×10^5
	2.72×10^9	2.84×10^6	1.52×10^6	7.98×10^3	7.04×10^3	6.36×10^4	4.48×10^3	4.62×10^4	1.12×10^5	5.66×10^5	1.44×10^5	1.59×10^5	1.17×10^5
	3.58×10^9	2.16×10^6	2.80×10^5	$<2.00 \times 10^3$	2.40×10^3	3.44×10^4	2.96×10^4	1.11×10^5	1.45×10^5	1.71×10^5	2.52×10^6	4.12×10^5	4.44×10^4
	4.36×10^9	5.18×10^6	4.78×10^5	6.84×10^3	2.42×10^3	1.06×10^5	6.26×10^4	1.08×10^5	4.94×10^4	2.92×10^5	5.64×10^5	5.20×10^4	1.91×10^5
	3.22×10^9	2.58×10^6	8.38×10^5	7.58×10^3	9.06×10^3	6.64×10^4	4.76×10^4	1.95×10^5	3.06×10^5	2.66×10^5	1.63×10^6	7.10×10^4	5.90×10^4
	3.00×10^9	4.08×10^6	6.00×10^5	7.84×10^3	8.74×10^3	7.92×10^3	1.35×10^4	1.87×10^4	4.66×10^4	1.64×10^5	6.18×10^4	3.50×10^5	
	2.56×10^9	1.86×10^6	7.16×10^5	$<2.00 \times 10^3$	6.34×10^3	1.62×10^4	9.26×10^4	8.10×10^4	1.54×10^4	3.06×10^5	6.60×10^4	6.46×10^4	
	4.72×10^8	3.48×10^5	6.26×10^5	$<2.00 \times 10^3$	5.36×10^3	6.62×10^5	3.84×10^3	4.12×10^4	1.84×10^5	4.56×10^4	3.00×10^5	3.70×10^4	
	7.34×10^8	8.02×10^5	4.96×10^5	5.14×10^3	3.06×10^4	$<2.00 \times 10^3$	$<2.00 \times 10^3$	5.30×10^4	7.02×10^5	4.18×10^4	4.12×10^4		
	1.00×10^9	1.62×10^6	2.48×10^6	2.70×10^3	1.14×10^4	7.36×10^5	2.70×10^4	4.74×10^4	7.68×10^3	2.32×10^5	1.64×10^5		
	1.70×10^9	6.58×10^5	1.28×10^6	$<2.00 \times 10^3$	5.12×10^4	6.58×10^5	4.86×10^4		1.99×10^5		3.28×10^5		
模型组	6.00×10^9	1.21×10^7	9.70×10^5	2.28×10^3	3.32×10^4	$<2.00 \times 10^3$	3.10×10^4						
	7.70×10^9	2.98×10^6	7.72×10^5	2.16×10^4	1.81×10^4	4.10×10^4	5.92×10^4						
	5.40×10^9	2.68×10^6	1.32×10^5	1.73×10^4	7.08×10^3	1.32×10^4	5.86×10^4						
	2.66×10^9	1.19×10^6	1.05×10^6	$<2.00 \times 10^3$	6.18×10^3	3.70×10^4	2.54×10^4						
	2.22×10^9	3.64×10^6	1.39×10^6	3.94×10^3	7.48×10^3	2.46×10^5	5.98×10^4						
	3.98×10^9	6.38×10^5	8.90×10^5	6.74×10^3	1.07×10^4	1.48×10^4	8.00×10^4						
	3.44×10^9	7.02×10^6	5.98×10^5	$<2.00 \times 10^3$	5.00×10^3	5.10×10^4	1.30×10^4						
	2.60×10^9	4.56×10^6	6.60×10^5	$<2.00 \times 10^3$	1.06×10^4	5.30×10^4	4.92×10^3						
	3.12×10^9	2.02×10^6	8.84×10^5	4.04×10^3	8.18×10^3	3.98×10^4	5.00×10^4						
	1.09×10^9	2.32×10^6	3.30×10^5	7.66×10^3	5.76×10^3	6.98×10^4	1.56×10^4						
							4.82×10^4						
							5.52×10^3						
							3.24×10^4						
							4.38×10^4						
							6.16×10^4						
							1.65×10^4						
							1.33×10^4						
							2.56×10^4						

Continued

模型组

1.01×10^5
 9.38×10^3
 2.28×10^4
 9.78×10^3
 3.36×10^4
 1.57×10^4
 3.98×10^3
 2.16×10^5
 7.52×10^5
 4.96×10^4
 6.88×10^4
 9.30×10^4
 1.23×10^5
 1.21×10^5
 5.52×10^4
 3.88×10^5
 1.94×10^5
 9.32×10^5
 2.06×10^4
 1.46×10^4
 5.50×10^3
 5.44×10^3
 3.24×10^4
 2.24×10^4
 2.66×10^4
 2.32×10^4
 2.62×10^5
 3.34×10^4
 7.98×10^4
 1.04×10^4
 3.12×10^4
 1.96×10^4
 2.96×10^5
 2.38×10^4
 $<2.00 \times 10^3$
 2.44×10^5
 2.22×10^4
 1.30×10^4
 5.74×10^4
 4.50×10^4
 8.24×10^4
 1.75×10^4
 4.18×10^4
 1.66×10^5

HBeAg(COI):

Group	注射后 1 d	注射后 3 d	注射后 1 w	注射后 2 w	注射后 4 w	注射后 6 w	注射后 8 w	注射后 10 w	注射后 12 w	注射后 14 w	注射后 16 w	注射后 20 w	注射后 24 w
	4.8	293.6	2512	1885.2	2852	1848.2	1623.6	2476	2802	2658	1485.8	1164.4	566.8
	4.2	502	2888	1955.2	1227.8	3432	2684	3510	3388	3440	2382	2512	1620.6
	19.6	533	1950.6	3330	4160	4044	2968	3230	3834	4548	2474	2050	2248
	20	789.6	3282	4376	3570	4588	1547.4	4522	5122	5340	1701.6	1681.6	3052
	7.2	359.4	1405.2	2316	2040	2330	1691.2	4128	4316	4028	1632.2	2922	2648
	5.2	362.6	1931.2	3422	3754	3152	3068	3370	1979.6	3342	3166	3280	1258.8
	4.4	511.6	2162	4028	3402	2266	3224	2774	2820	2914	4218	3054	2152
	5.2	490.2	1713.4	1876.8	1482.6	2710	3656	3194	3454	3816	6818	1751	1047.8
	7.6	327.8	2634	2224	3382	2270	3514	4376	4070	3990	3628	2632	1836.4
	11.6	490.4	1328	3140	3284	3794	3276	2304	2292	2254	2134	1097.6	1421
	8	419.2	1968.2	2986	3032	2454	3864	2714	2732	2370	2534	2172	
	6	450.6	2064	2852	3152	3464	3408	1784.6	2374	1885	1400.2	1606.8	
	15.2	535.4	2938	4290	4546	5240	2100	1150.6	2876	1198.4	2380	1560	
	19	621.2	1723.8	2642	2764	2666	2.4	1531	4482	1581.2	1787.2		
	16.6	524.2	3188	3884	3550	4872	2018	3778	4380	1739.6	1674		
	18.8	613.6	2894	4152	4062	5476	4896		3766		1712		
	4.2	364.4	1696.4	2368	2588	2498	1769.2						
	3.8	348.2	2222	3052	2030	2332	2928						
	4.2	185.6	1730.4	3928	1703.4	2242	3942						
模型 组	6.8	546.4	2454	2298	3072	3466	3058						
	8.8	543.4	1637.8	3366	3422	4324	2116						
	9.6	312	1244.8	1887.8	2652	1657.6	2802						
	5	311	1256.8	2418	1837.6	2270	2370						
	7.2	312	1812.4	2466	1638.8	4048	1273.8						
	6.8	378	2998	4170	4486	4480	3410						
	10.6	255.4	1530.2	3832	1648	4568	2214						
													3192
													3136
													4008
													2530
													2454
													3470
													3904
													2962
													2562
													3362
													4404
													4242
													3516

Continued

	3008
	2614
	5284
	5308
	3994
	3382
	4056
	3478
	4730
	2502
	2670
	2316
	3202
	2212
	3032
	1720
	1836.8
	3092
	2802
模型	1845
组	2542
	3882
	3826
	2876
	3758
	1519.6
	2620
	2822
	1641
	2.4
	3386
	2256
	1589.6
	4358
	2490
	4662
	3548
	1640.8
	2970

HBsAg(COI):

Group	注射后 1 d	注射后 3 d	注射后 1 w	注射后 2 w	注射后 4 w	注射后 6 w	注射后 8 w	注射后 10 w	注射后 12 w	注射后 14 w	注射后 16 w	注射后 20 w	注射后 24 w
	21	7336	133,440	570.4	6916	3300	3380	54,860	28,300	136,160	5964	4074	2970
	17.6	10,702	123,540	2246	2830	43,620	45,120	18,904	4276	20,600	158,920	116,240	37,580
	70.2	7956	135,360	2542	37,940	105,920	34,020	37,120	8156	67,200	15,942	24,320	54,600
	26.4	24,700	170,120	1766.8	7184	20,660	2566	123,900	33,860	145,300	92,620	86,540	86,800
	17.4	2926	106,060	9840	20,040	11,162	3652	51,440	19,254	101,900	17,092	91,620	106,080
	17	4146	87,620	6012	23,620	39,460	31,560	12,382	3118	59,340	92,240	89,640	47,420
	18	13,714	122,700	7292	10,252	8676	17,890	42,500	4138	58,740	36,680	55,580	12,852
	17.6	14,044	93,220	157.2	107.8	8544	71,300	24,840	8362	39,360	198,760	60,420	6526
	18.6	8638	147,500	2442	5850	26,840	53,120	36,900	10,856	72,420	103,200	9750	9084
	19.6	12,134	107,800	6616	13,100	55,600	43,880	38,520	10,966	32,380	91,120	14,858	12,310
	17.8	7874	107,880	2386	5212	2866	49,720	7836	2824	10,152	6024	30,080	
	17.6	6484	116,500	2150	8310	16,114	29,840	11,840	2220	30,860	13,122	11,510	
	29.4	2208	163,420	415.8	11,520	128,660	5132	9092	9226	10,990	22,580	54,740	
	52.8	16,884	116,560	1436.8	16,506	2328	18.6	11,492	113,800	13,668	7154		
	30.2	10,968	161,600	1065.6	4728	144,500	37,240	21,440	21,020	39,360	15,484		
	27	12,244	172,940	3090	45,000	156,920	101,320		1771.8		61,860		
	15.8	5134	116,620	846.4	8740	11,214	23,180						
	15	6060	145,600	55380	8024	13,226	45,960						
	18	1265.2	91,920	34360	1201.6	4180	53,840						
模型组	17.4	12,230	128,820	1064.6	6116	22,520	51,400						
	17.2	9834	115,840	1626.6	11,824	76,860	36,440						
	18.4	5168	79,260	1229.8	4460	5962	62,220						
	24	5646	67,140	769	2232	15,682	18,424						
	17.4	8924	122,360	1017.4	5464	46,520	716.2						
	16.8	9216	151,220	3418	6438	26,060	48,960						
	21.2	3744	66,600	4438	3816	30,740	14,502						
													19,902
													10,844
													16,780
													26,720
													10,850
													8206
													29,100
													18,902
													28,220
													39,660
													23,240
													23,180
													25,080

Continued

	51,520
	3320
	126,620
	168,880
	16,800
	35,180
	42,080
	89,940
	116,100
	29,980
	55,200
	91,920
	98,180
	13,298
	7014
	3076
	3454
	5730
	24,020
模型组	9498
	2940
	53,040
	25,940
	45,640
	36,880
	5824
	13,342
	31,080
	5686
	19
	91,700
	9348
	5936
	28,320
	8720
	46,100
	12,074
	12,882
	10,982

ALT(U/L):

Group	注射后 3 W	注射后 5 W	注射后 7 w	注射后 9 w	注射后 11 w	注射后 13 w	注射后 15 w	注射后 20 w	注射后 24 w
	48	28	24	24	20	40	28	40	28
	36	20	28	24	36	40	28	28	44
	44	48	20	32	32	44	36	44	40
	36	48	20	24	32	36	52	40	56
	40	28	28	24	32	36	36	44	28
	52	60	24	20	36	28	32	52	40
	44	36	<20	28	28	48	40	32	36
	48	36	32	32	32	48	44	40	120
	36	28	36	28	28	36	28	32	28
	40	64	24	20	52	56	28	40	36
	50	44	40	24	24	32	36	40	
	44	28	28	24	32	32	28	40	
	48	28	20	20	40	36	28	48	
	44	60	28	72	36	32	36		
	32	48	20	32	28	32	36		
	52	40	28	20	20		32		
	52	28	20				44		
	36	36	28				36		
	44	36	24				32		
	76	36	40				44		
	84	36	28				72		
模型组	40	44	20				48		
	44	100	20				28		
	36	56	24				32		
	56	28	20				28		
	72	36	<20				24		
							36		
							48		
							32		
							64		
							40		
							36		
							40		
							32		
							44		
							28		
							32		
							28		
							32		
							28		
							24		
							32		
							24		

Continued

	68	28	32	32	36	36	20	40	36
	44	28	44	20	20	28	20	44	36
	36	28	28	24	28	36	32	80	36
	32	28	40	28	44	28	28	36	40
	20	32	36	28	20	28	32	44	40
	36	24	36	20	<20	32	32	32	36
	36	28	36	20	24	28	28	44	
	36	24	36	<20	20		32	24	
	28	24	44				120	40	
	36	28	28				40		
正常组	36	40	28				28		
	48	52	48				108		
							32		
							32		
							36		
							36		
							32		
							28		
							32		
							32		
							44		

[6]

AST(U/L):

Group	注射后 3 w	注射后 5 w	注射后 7 w	注射后 9 w	注射后 11 w	注射后 13 w	注射后 15 w	注射后 20 w	注射后 24 w
	92	44	40	56	52	64	60	76	84
	56	48	68	40	52	52	28	48	108
	68	80	52	40	44	48	64	88	60
	44	56	44	44	68	56	60	92	64
	60	56	68	48	40	36	48	60	76
	64	88	56	40	84	48	52	60	56
	52	64	28	60	52	52	44	76	56
	72	72	56	56	72	88	52	56	84
模型组	48	56	72	116	44	52	68	44	56
	60	176	52	60	52	52	60	68	80
	80	52	72	36	48	44	36	56	
	60	52	52	52	120	84	68	72	
	56	44	52	56	60	44	28	88	
	72	60	80	84	88	56	48		
	60	88	56	56	40	64	40		
	68	56	52	44	48		52		
	92	56	72				36		

Continued

	64	76	56					48	
	80	68	64					52	
	88	52	52					60	
	92	48	48					72	
	64	56	52					72	
	64	168	60					44	
	64	68	48					44	
	76	44	44					44	
	88	40	44					44	
								36	
								36	
								40	
								164	
模型组								52	
								44	
								92	
								56	
								64	
								44	
								32	
								44	
								28	
								60	
								52	
								40	
								100	
	108	48	64	64	84	64	24	56	60
	56	48	92	44	40	60	28	64	64
	60	36	100	44	44	36	40	64	52
	52	60	92	60	80	36	84	56	48
	20	44	60	48	36	36	48	72	76
	52	36	76	40	28	48	44	56	56
	60	44	76	36	40	32	32	72	
	44	48	80	36	48		52	48	
正常组	40	40	96				52	48	
	48	72	60				40		
	44	72	80				44		
	64	92	108				76		
							56		
							68		
							44		
							44		

Continued

56
44
40
60
56
