

狂犬病毒内部蛋白和细胞因子的免疫学进展

张德礼 白泉阳* 高显明 高步先

(北京军区后勤部卫生防疫队 北京军区兽医防治中心病毒基因工程研究室, 北京 100071)

狂犬病毒是弹状病毒科狂犬病毒属的典型种, 具有脂蛋白包膜, 包膜内囊有螺旋对称的核衣壳, 其核酸是单股不分节段的负链 RNA。狂犬病毒具有 5 种结构蛋白: 糖蛋白(G)、膜蛋白(M)、大蛋白(L)、微小磷酸化蛋白(NS)和核蛋白(N)^[1]。狂犬病毒的核酸组成和 5 种蛋白(G、M、L、NS、N)已被完全阐明, 狂犬病毒核糖核蛋白(RNP)由狂犬病毒 RNA 和内部蛋白(即 L、N、NS 蛋白)构成, 除 L 蛋白外, 编码所有蛋白的基因均被克隆^[1]。过去研究已证实, 狂犬病毒包膜 G 蛋白是能诱生中和抗体并

具有保护动物抵抗街毒株攻击的病毒多肽^[2], 它决定病毒的毒力和免疫原性, 是制备疫苗的重要成分。狂犬病毒糖蛋白(G)已在痘苗、浣熊痘、鸡痘、金丝雀痘病毒和人类腺病毒中获得表达^[3]。用这些重组体接种小鼠或靶动物(犬和猫等), 已诱生抵抗致死性狂犬病毒攻击的保护性。并且以前认为, 唯有 G 蛋白是能诱生中和抗体(VNAb)并提供抗狂犬病保护性免疫的

* 内蒙古哲里木畜牧学院兽医系 028000

1994-10-30 收稿

抗原^[4]。新近的研究表明,除狂犬病毒 G 蛋白能诱生抗脑内、外途径攻击外,狂犬病毒内部的 RNP 或 N 蛋白在诱生保护性免疫方面也起重要作用^[5~9]。狂犬病毒 RNP 或 N 蛋白注射动物产生抗外周攻击保护力,诱生大量特异性辅助 T 细胞(Th),在诱生抗狂犬病免疫保护上起决定性作用^[3,5~8,10]。除体液免疫外,细胞介导免疫(CMI)及白细胞介素-2(IL-2)在狂犬病免疫保护上起更重要的作用^[10~13],这是因为狂犬病毒具有嗜神经性,而 VNAb 不能进入神经组织发挥作用,只有 CMI 能在细胞内发挥抗病毒免疫作用的特性决定的^[13~14]。

1 狂犬病毒核糖核蛋白(RNP)和核蛋白(N)的免疫学作用

1.1 狂犬病毒 RNP 的免疫保护作用:

Dietzschold 等^[15]研究测试了狂犬病毒 RNP 诱导动物产生抗狂犬病毒或狂犬相关病毒致死量攻击的保护性免疫应答能力。结果表明,单纯使用只包含狂犬病毒变异株(在 G 蛋白抗原结构上有多处变异)的 RNP 或糖蛋白的脂质体(Liposome)不能诱导产生抗狂犬病毒致死量脑内攻击的保护力或只诱生微弱的保护力。而用同时包含狂犬病毒 RNP 和一级结构变异性 G 蛋白的脂质体作抗原则诱导产生了良好的保护性免疫应答,此保护力与狂犬病毒灭活疫苗诱导产生的抗狂犬病毒脑内致死量攻击的保护力相当。

Dietzschold 等^[15]还单独使用狂犬病毒 RNP 免疫豚鼠和小鼠,结果均诱导产生了抗同源或异源狂犬病毒株致死性外周攻击的保护力。Dietzschold 等^[15]用 RNP 免疫小鼠后再免疫接种同源或异源狂犬病毒,结果明显增强并加快了动物产生 VNAb 应答,说明狂犬病毒内部蛋白可能通过诱导辅助性 T 细胞(Th)激活 B 细胞。为此,Ertl 等^[11]用携带狂犬病毒 RNP 的 Th 细胞免疫显性表位的合成肽诱导产生特异性 Th 细胞,研究狂犬病毒内部蛋白的 Th 细胞免疫应答。结果表明,N 蛋白是 Th 细胞的主要靶抗原,Th 细胞参与狂犬病毒及其相关病毒之间的交叉反应。通过对狂犬病毒诱

导的淋巴细胞在对抗原应答时所分泌的淋巴因子的测定,体外检测了 Th 细胞。关于 N 蛋白的免疫表位,采用一套序列相互重叠的合成肽作了 Th 细胞反应性位点和主要组织相容性复合物(MHC)限制性研究,发现 394~408 区段、404~418 区段和 21~35 区段是 Th 细胞的主要表位,既可以在体内诱导产生特异性 Th 细胞,亦表现相应的体外免疫反应性,而且分别受 MHC 系统 H-2^k、H-2^a、H-2^b 单型的限制。同时也存在一些次要的 Th 表位。氨基酸序列分析表明,上述三区是亲水区段。在体内测定了抗原性多肽对狂犬病毒特异性 T 细胞的刺激作用。给小鼠接种具有 Th 细胞免疫显性表位的多肽后再免疫接种灭活狂犬病毒,结果加速并提高了 VNAb 应答,这与 Dietzschold 等的实验结果相吻合。Dietzschold 等^[15]证明,狂犬病毒 RNP 能诱导小鼠和浣熊产生抗肌肉内攻击的免疫保护性,并且能提供抗异源狂犬病毒感染的交叉免疫保护性,无论用 ERA 株狂犬病毒还是 Mok 株狂犬相关病毒制备的 RNP 经腹内给小鼠接种一剂均产生 80%~90%抗 CVS-24 株狂犬病毒脑外致死性攻击的保护率,经腹膜内给小鼠接种 Mok 株狂犬病毒 RNP 或 ERA 株狂犬病毒 RNP 即产生抗 Duvenhage 株狂犬相关病毒攻击的坚强保护力,这与后来 Tollis 等^[5]得出狂犬病毒 RNP 能刺激猴在免疫一剂 HDCV 后产生滴价高、持续期长的 VNAb 应答,也能诱生保护性免疫的实验结果亦十分吻合。Dietzschold 等^[16]认为,狂犬病毒 RNP 诱生抗狂犬病保护力,它是由种种免疫因子,包括抗体、淋巴细胞和单核因子(Monokines)等参与的复杂的相互作用介导的。狂犬病毒 RNP 是能诱生在不同狂犬病毒和狂犬相关病毒间起交叉反应的 Th 细胞的主要抗原。识别内部抗原结构可能是上述 Th 细胞促进 VNAb 产生的一种机制。先用狂犬病毒 RNP 激发后,用疫苗加强免疫组小鼠比不用 RNP 激发,而仅用疫苗免疫的对照组小鼠产生的 VNAb 效价高 10 倍^[15],此实验结果可支持前面免疫接种

可能性机制这一假说。除 Th 细胞外, RNP 特异性抗体对抗狂犬病毒感染的保护性免疫应答也起作用^[16]。狂犬病毒 RNP 能诱生种种免疫因子, 因而成为经济有效的人类接触狂犬病前预防用疫苗研制上关注的焦点, 特别是在狂犬病仍是主要公共卫生问题的国家。我国亦应积极开展这方面的工作。

1.2 狂犬病毒 RNP 在猴体的免疫保护实验效果: 要将狂犬病毒 RNP 或 RNP 重组 DNA 疫苗用于人类, 就需事先证明这类疫苗对灵长类模型动物有效。为此, Tollis 等^[5]在猴体内研究了狂犬病毒 RNP 诱生抗狂犬病毒保护性免疫及诱生 VNAb 的能力与激发免疫作用 (Priming effect)。恒河猴经两次接种狂犬病毒 RNP 后产生强烈的抗 RNP 免疫应答, 并能抵抗致死量狂犬病街毒的攻击而不受感染。值得指出的是, RNP 免疫猴无一只产生 VNAb, 即使攻毒后也未产生。但在攻毒前产生了高滴度的抗 RNP 血清抗体, 这些特异性 RNP 抗体可能促进了狂犬病毒 RNP 通过 Fc 受体与吞噬细胞粘着, 进而感染病毒刺激吞噬细胞产生能抑制病毒复制的单核因子^[5]。业已发现, RNP 免疫小鼠比对照小鼠在用狂犬病毒攻击后产生的 γ 干扰素滴价显著地高^[16]。猴子先接种 RNP 再免疫一剂狂犬病毒人二倍体细胞疫苗 (HDCV) 后所产生的 VNAb 滴度, 与未接种 RNP 而经两次 (每次一剂) 接种 HDCV 疫苗后产生的 VNAb 滴度相当, 这实际预示 RNP 可用于人类狂犬病的免疫预防。在城市狂犬病呈地方病的地区, 比如东南亚, 所有人群都应接种 RNP。在接触狂犬病毒的情况下, 这些 RNP 激发免疫者, 再接种单剂 HDCV, 足以保护不受狂犬病感染。已经确定, 接触狂犬病毒到接触后治疗的时间间隔长短, 是预防致死性狂犬病毒感染成败的关键, 但对接触前免疫过 RNP 的人来说间隔时间长短就没那么重要了。Tollis 等用狂犬病毒 RNP 免疫猴子所获资料提示, RNP 既可作为人接触前预防用疫苗, 又可用作激发抗原的引物 (Antigen Priming)。然而, 来自狂犬病毒感染培养组织的

RNP 疫苗可能因价格高而不宜生产^[5]。

1.3 狂犬病毒 N 蛋白的免疫保护作用: Dietschold 等^[15]指出, 狂犬病毒 N 蛋白也是一种有效的保护性抗原。Ertl 等^[1]研究表明, N 蛋白是诱导功能性 B 细胞和 Th 细胞的良好抗原。Reid-Sandan 等^[17]和 Prehaud 等^[18]分别在杆状病毒昆虫细胞培养系统中表达了 CVS 株狂犬病毒磷酸化的 N 蛋白。Fu 等^[19]对此 N 蛋白免疫原性的定量研究表明, 该重组蛋白不仅具有抗体结合位点和 B 细胞表位, 而且可以有效地诱导产生特异性 Th 细胞。Sumner 等^[20]构建的狂犬病毒 N 蛋白重组痘苗病毒载体活疫苗, 已证实能使实验小鼠获得良好保护。Lodmell 等^[7]研究表明, 表达狂犬病毒 N 蛋白的浣熊痘病毒重组体, 能保护小鼠抵抗致死性狂犬病毒感染。Fekadu 等^[8]研究表明, 先用表达狂犬病毒核蛋白的痘苗病毒重组体免疫接种后, 经狂犬病街毒攻击的狗发病但恢复健康。Ferguson 等^[6]报道, 有些学者将狂犬病毒糖蛋白 (G) 亚单位组成免疫刺激复合物 (ISCOM), 或与脂质体 (Liposome) 组成免疫微体 (Immunosome), 虽然这两种方法在小鼠 (前者还在狗) 诱导保护性中和抗体都很有效, 但脂质体中同时加入狂犬病毒 N 蛋白及 G 蛋白后, 其保护水平与狂犬病全病毒疫苗的相似。Ferguson 等^[6]也报道, 尽管只含狂犬毒 N 蛋白的脂质体不能使小鼠和浣熊抵抗脑内途径狂犬病毒攻击, 但却能使它们抵抗狂犬病毒经外周肌肉途径的攻击, 可能 T 细胞免疫起了保护作用。这些结果确立了狂犬病毒 N 蛋白的保护性免疫原性地位。在不同狂犬固定毒和街毒株间, G 蛋白表现出高度的抗原变异性, 而 N 蛋白抗原比 G 蛋白抗原保守, 这已用单克隆抗体检测得到证实^[13], 故 N 蛋白可能更适于构建亚单位疫苗或合成肽疫苗。1988 年世界卫生组织认可 N 蛋白的亚单位疫苗用于人兽预防狂犬病^[21]。

1.4 狂犬病毒重组 N 蛋白用作疫苗的潜力: 令人振奋的是, 狂犬病毒 RNP 复合物中主要蛋白——N 蛋白的抗原性和免疫原性与 RNP

的相似,已研制出可大量生产N蛋白的体系,如杆状病毒昆虫细胞培养表达系统等,且所生产的N蛋白易于纯化精制;用生物工程技术生产的这些N蛋白可能成为价格低廉的人兽大规模免疫用有效疫苗^[5]。Fu等^[19]将ERA株狂犬病毒N基因的cDNA克隆入草地贪夜蛾Sfa昆虫细胞培养系统中。重组细胞大量产生N蛋白。纯化的N蛋白能与32种能识别天然狂犬病毒RNP的单克隆抗体(McAb)中的31种反应,能够诱生病毒特异性细胞毒T淋巴细胞(CTL)。免疫接种此纯化的N蛋白后,保护了小鼠免遭致死量狂犬病毒的攻击。实验结果表明,可用此重组的N蛋白制备一种有效而经济的疫苗,用于人和动物抗狂犬病的大规模免疫接种。与重组G蛋白相比,狂犬病毒N蛋白至少有三大优点:(1)真核表达系统产生的G蛋白是一种膜结合蛋白,除非采用痘苗病毒体系活疫苗,否则在重组蛋白的提纯过程中,去污剂的存在会影响到疫苗的实用性,而重组N蛋白则可避免这一问题;(2)与G蛋白相比,N蛋白的一级结构是高度保守的,因而可望采用一种重组N蛋白诱导针对各种不同的狂犬病毒乃至狂犬相关病毒的保护性免疫;(3)狂犬病毒特异性T细胞中,除了占绝大多数的Th细胞外,还有CD8⁺的CTL细胞,它们大都表现对N蛋白的特异性反应,可以溶解狂犬病毒,杀伤和溶解狂犬病毒感染的细胞。同时,N蛋白第11~25位氨基酸区段合成肽可促进T细胞增殖,表明N蛋白是诱导狂犬病毒细胞免疫的主要成份之一^[15,22]。Celis等^[23]研究指出,N蛋白和G蛋白都能刺激机体细胞免疫和干扰素产生。

2 狂犬病毒白细胞介素-2(IL-2)的免疫学作用

狂犬病疫苗免疫人外周血淋巴细胞(PBL)分泌IL-2,IL-2在狂犬病疫苗接种后对机体免疫系统发挥调节作用,具有增强狂犬病疫苗保护力的佐剂效能,IL-2在狂犬病免疫保护和免疫检定上起重要作用,细胞介导免疫(CMI)居主导地位,体外IL-2诱生水平是检

定狂犬病疫苗免疫原性与保护效力,及评价机体免疫状况——CMI水平的简易科学新指标,最近才逐渐有所了解^[10,11,24~26]。

2.1 狂犬病毒IL-2的免疫保护作用及机制: Perrin等^[10]通过测定注射疫苗前接触狂犬病和未接触狂犬病者,在注射疫苗后产生IL-2来研究人狂犬病免疫接种诱生的CMI。检测了35名志愿者的PBL,在体外经不同狂犬病毒和狂犬相关病毒刺激后产生IL-2应答的水平,并比较不同血清型病毒的IL-2应答和抗体应答之间的关系。无论用PM株或PV株狂犬病毒制备的灭活纯化狂犬病毒(IPRV)进行刺激,都有85%以上志愿者的PBL产生IL-2。用欧洲蝙蝠狂犬病毒(EBL)和Mok狂犬相关病毒株制备的IPRV进行刺激,也分别有65%和45%志愿者的PBL产生IL-2。尚未发现PBL分泌IL-2与VNA水平间存在相关关系。用PV,EBL或Mok病毒制备的RNP进行刺激,分别有50%,25%和35%志愿者的PBL产生IL-2。通过检测大量狂犬病疫苗接种者的特异性T细胞活性取得的结果表明:抗狂犬病毒和抗狂犬相关病毒的T细胞免疫应答之间有重要交叉反应。因此,通过测定IL-2产生的水平,可评估人狂犬病疫苗接种诱生CMI和T细胞记忆反应的能力^[10]。但研究表明,IL-2和VNA的诱生途径不同,并有各自的调节机制^[10]。PV株和PM株狂犬病毒疫苗诱生的T细胞免疫应答,不足以保护动物抵抗Mok血清型病毒的脑内攻击。因此,不能认定PV株和PM株狂犬病毒疫苗可保护人类抵抗Mok病毒感染^[10]。

包括VNA和CD8⁺CTL细胞在内的体液免疫和CMI,均能为免疫接种者提供抵抗狂犬病的保护效力^[11]。除这些因子外,最近用人和小鼠研究了狂犬病毒特异性T淋巴细胞产生情况,结果表明:CD4⁺Th细胞通过释放可溶性因子,如 γ 干扰素或IL-2等,直接或间接地对T(包括CTL)和B细胞起辅助作用^[11]。在受II群MHC生成细胞提呈的抗原刺激后,Th细胞即合成 γ 干扰素和IL-2^[9]。IL-2可使

激活的 T 细胞增生,促进激活的未成熟 B 细胞增生,增强自然杀伤细胞(NK)活性^[11, 25]。除其调节作用外, Th 细胞还具有细胞毒性^[11],能杀伤表达 II 群 MHC 的狂犬病抗原生成细胞,能抵抗感染细胞表达狂犬病毒抗原和 II 群 MHC 分子^[10~11]。

现已证明, IL-2 在包括免疫应答的生物学协同反应中起核心作用^[24]。Nunberg 等^[24]研究了免疫接种 IL-2, 能否起佐剂效能,以增强机体对狂犬病疫苗免疫原的免疫应答能力。他们采用 NIH(美国国家卫生研究院)法检测狂犬病疫苗效力,用狂犬病强毒攻击小鼠后计算健活率,研究发现 IL-2 与灭活狂犬病毒逐日系统合并接种,能使远交系小鼠的免疫保护效力至少增大 25 倍。免疫力的提高,不是由于 IL-2 有治疗作用,而是反映了其特别的佐剂效能。按 $0.03 \sim 0.10 \mu\text{g} / \text{g}$ ($1 \sim 3 \times 10^5$ 单位 / kg) 剂量接种 IL-2, 可最大限度地辅助疫苗发挥强大的保护作用,此剂量正好低于毒性剂量。虽然免疫接种诱生了狂犬病 VNAb, 而 VNAb 可能起一定保护作用,但他们的研究是在 VNAb 滴价增加极小的情况下, IL-2 大大提高了狂犬病疫苗保护力。另外 Dietzschold 等^[15]用狂犬病毒 RNP 配制疫苗进行免疫接种,在缺乏可测到水平 VNAb 情况下,就能获得抗狂犬病毒脑外攻击的保护力。Dietzschold 等^[27]也曾阐明,狂犬病毒疫苗接种后 VNAb 滴度与保护力之间缺乏相关性。所以 Nunberg 等^[24]认定,小鼠免疫保护力的增强与 VNAb 效价增大无关, IL-2 增强了免疫接种小鼠所产生的 CMI 应答。此外, Nunberg 等^[28]还初步研究表明,将 IL-2 与猪 PK-2A 细胞培养 SAD 株狂犬病弱毒疫苗逐日系统接种,也能增强疫苗免疫保护力。由此可见, IL-2 具有增强狂犬病疫苗保护力的佐剂效能。

研究已经表明, IL-2 在机体内表现佐剂活性,外源 IL-2 可作为狂犬病疫苗佐剂^[24, 25],单纯注射 IL-2 就能保护动物抵抗致死量狂犬病野毒株攻击^[29];在体外 IL-2 能提高狂犬病毒

特异性 CTL 细胞的传代代次^[10];大量狂犬病疫苗免疫人的 PBL,在体外经不同狂犬病毒和其相关病毒的 IPRV 或 RNP 刺激后,产生 IL-2 应答^[10]。由此看来, IL-2 在狂犬病免疫保护上有重要作用。

2.2 IL-2 诱生水平用于检定狂犬病疫苗保护力的依据及优势:最近研究证明,体外 IL-2 诱生水平测定,可用于狂犬病疫苗效力检定及机体免疫状况评价^[10, 11]。原因有三方面:(1)采用抗 CD4 和抗 CD8 单克隆抗体测定与狂犬病抗原诱生 IL-2 有关淋巴细胞的表型(Phenotype),结果仅抗 CD4 抗体抑制 IL-2 产生,而抗 CD8 抗体不抑制 IL-2 产生,这就清楚表明,只有 $\text{CD4}^+\text{CD8}^-$ 淋巴细胞能分泌产生 IL-2^[9]。Perrin 等研究表明,狂犬病感染抑制 IL-2 产生^[29],免疫小鼠 $\text{CD4}^+\text{CD8}^-$ 淋巴细胞能反映狂犬病疫苗诱生 CMI,给小鼠注射不同分子构型狂犬病毒糖蛋白的保护活性(NIH 试验测定)与免疫小鼠淋巴细胞在体外受特异性刺激后所产生的 IL-2 水平呈平行关系^[30],故体外 IL-2 产生是研究狂犬病疫苗免疫原性(据狂犬病毒糖蛋白构型不同检定)的一条新途径;(2)上文已述及, Perrin 等^[10]研究表明, IL-2 产生水平,可用于研究评估狂犬病免疫接种诱导人产生 CMI 和 T 细胞记忆反应的能力;(3) Joffret 等^[11]通过杂交小鼠(BALB / cXC3H) $\text{CD4}^+\text{CD8}^-$ 淋巴细胞分泌 IL-2 水平评价来测定不同狂犬病疫苗保护力。各种狂犬病疫苗免疫小鼠的淋巴细胞,在体外经不同狂犬病毒和狂犬相关病毒株制备抗原刺激后, IL-2 的产生情况均作了测定,研究结果证实 IL-2 产生水平稳定,具有特异性和重复性(IL-2 指数值 26.2 ± 15.9),并与接触狂犬病前 NIH 试验测定的疫苗保护活性相关^[11]。比如,为研究 IL-2 产生与保护活性之间的相关性,检测 PV-Paris / BHK 株制备 13 种不同狂犬病毒灭活剂诱生的 IL-2 和保护活性,测定每种制剂的保护活性并校正到 $0.5 \mu\text{g}$ 病毒蛋白,结果证明这种保护活性与 IL-2 指数值(代表所产生 IL-2 的活性)相关

(相关系数 $\gamma = 0.72$)^[11]。此外,同类试验亦得出 IL-2 指数值与相应灭活病毒的保护活性呈平行关系的结果^[11,26]。上述结果证明,IL-2 产生能反映狂犬病疫苗保护力,体外 IL-2 产生水平可用于检定狂犬病疫苗保护力^[11]。

体外刺激 IL-2 产生,看来是评估人 CMI 应答的一种便利方法^[10,11]。IL-2 检测比增生试验优点多。IL-2 的产生,不仅反映 CD4⁺CD8⁻淋巴细胞活性(增生试验主要包括此种细胞)^[10],而且也反映 IL-2 受体生成细胞活性^[11],可避免增生试验中由于 B 细胞和/或其它 T 细胞增生,而过高估价 CMI 水平的可能性。此外,IPRV 免疫小鼠及免疫人的 T 细胞受狂犬病毒 RNP 刺激后,能诱生 IL-2^[11]。由此看来,测定 IL-2 能提供更多有关免疫原性的信息,且具有特异性,而增生试验缺乏针对 PBL 的特异性。并且,IL-2 的产生既可用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定,又可用非放射标记化合物的比色法作测定^[11]。所以,机体 PBL 在体外受特异性抗原刺激后的 IL-2 产生水平,可简便易行地用来评估狂犬病免疫接种者产生 CMI 和 T 细胞记忆反应的能力^[10]。这就为检定狂犬病疫苗免疫原性及保护力提供了新的简易科学指标^[11]。Joffret 等^[11]所获研究结果预示,IL-2 产生水平测定可标志狂犬病疫苗保护力,故可与 VNAb 和糖蛋白含量分析一并使用。因此,除需测定糖蛋白含量和 VNAb 外,可以 IL-2 测定替代 NIH 试验来评价狂犬病疫苗保护力^[11]。

3 狂犬病细胞免疫保护重要地位的确立及对防治的指导作用

狂犬病毒 RNP、N 蛋白和 IL-2 的免疫学作用的确立,奠定了 CMI 在狂犬病免疫保护上的重要地位,是近年来狂犬病免疫学领域的重大突破。应贤平等^[31]用免疫印迹技术检测狂犬病毒免疫血清抗体时发现,无 G 蛋白抗体而 N 蛋白抗体滴度很高,表明 N 蛋白有一定产生 VNAb 的能力;无 N 蛋白则血清效价偏低,预示 N 蛋白在抗体产生过程中对 G 蛋白可能有促进作用。方正强等^[32]对 15 例病人的

体液和细胞免疫学实验检测结果表明,狂犬病人在整个发病过程中,不但有体液免疫参加,而且有 CMI 参与。当狂犬病毒进入机体以后,除主要侵害神经系统以外,对淋巴组织也有较明显的影响,尤其是 T 细胞,而对 B 细胞影响较小。这和有些研究者的观察结果,VNAb 水平不低,而病人未能免于死亡的现象相吻合。因此,在紧急防治和治疗狂犬病时,不但要考虑提高特异性的 VNAb 水平,而且要设法改善 T 细胞的功能,调节白细胞介素、干扰素和调理素等其它成份。狂犬病免疫主要有 CMI、IL-2、干扰素和体液免疫参与。这就为进一步发展狂犬病疫苗指明了研究方向。

参 考 文 献

- [1] Ertl HCJ, Dietzschold B, Gore M, *et al.* J Virol, 1989, 63(7): 2885~2892.
- [2] 张德礼,李六金,朱关福,等. 科技开发动态, 1995, (3): 7~32.
Xiang ZQ, Spitalnik S, Tran M, *et al.* Virol, 1994, 199: 132~140.
- [3] 张德礼. 生物工程进展, 1992, 12(4): 45~49.
- [4] 张德礼,朱关福. 生物学通报, 1994, 29(7): 4~6.
- [5] Tollis M, Dietzschold B, Volia CB, *et al.* Vaccine, 1991, 9(2): 134~136.
- [6] Ferguson M, Trend Biotech, 1991, 9(1): 7~11.
- [7] Lodmell DL, Sumner JW, Esposito JJ, *et al.* J Virol, 1991, 65(6): 3400~3405.
- [8] Fekadu M, Sumner JW, Shaddock JH, *et al.* J Virol, 1992, 66(5): 2601~2604.
- [9] Larson JK, Wunner WH, Ertl HCJ, *et al.* Virus Research, 1992, 23: 73~88.
- [10] Perrin P, Joffret ML, Zanetti C, *et al.* Vaccine, 1991, 9(8): 549~558.
- [11] Joffret ML, Zanetti C, Morgeaux S, *et al.* Biologicals, 1991, 19(2): 113~123.
- [12] Taylor J, Trimarchi C, Weinberg R, *et al.* Vaccine, 1991, 9(3): 190~193.
- [13] Wilde H, Chutivongse S, Tepsumethanon W, *et al.* Rev Infect Dis, 1991, 13(4): 644~652.
- [14] Wunner WH, Larson JK, Dietzschold B, *et al.* Rev Infect Dis, 1988, 10: S771~S784.
- [15] Dietzschold B, Wang H, Rupprecht CE, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1987, 84(24): 9165~9169.
- [16] Dietzschold B. In: Genetics and Pathogenicity of Negative Strand Viruses (Eds Mahy BWJ and Kalakowsky D) Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, 1989, 295~309.

- [17] Reid-Sandan FL, Sumner JW, Smith JS, *et al.* J Clin Microbiol, 1990, **28**(5): 858~863.
- [18] Prehaud C, Harris RD, Fulop V, *et al.* Virol, 1990, **178**(2): 486~497.
- [19] Fu ZF, Dietzschold B, Schumacher CL, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1991, **88**(5): 2001~2005.
- [20] Sumner JW, Fekadu M, Shaddock JH, *et al.* Virol, 1991, **183**(2): 703~710.
- [21] Barth R. Vaccine, 1988, **6**: 369.
- [22] Celis E. Hybridoma, 1989, **8**: 263.
- [23] Celis E, Miller RW, Wiktor TJ, *et al.* J Immunol, 1986, **136**: 692~697.
- [24] Nunberg J, Doyle MV, York SM, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1989, **86**(11): 4240~4243.
- [25] Heath AW. Vaccine, 1992, **10**(7): 427~432.
- [26] Perrin P. Biologicals, 1990, **18**: 321.
- [27] Dietzschold B, Tollis M, Rupprecht CE, *et al.* J Infect Dis, 1987, **156**: 815.
- [28] Nunberg JH. In Vaccines 88, eds. Gin Sberg H. (Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, New York), 1988, 247~251.
- [29] Perrin P, Joffret ML, Leclerc C, *et al.* Immunobiology, 1988, **177**: 199.
- [30] Perrin P, Joffret ML, Oth D, *et al.* Vaccine, 1988, **6**: 331.
- [31] 应贤平, 曾蓉芳, 焦永真, 等. 中国人兽共患病杂志, 1989, **5**(6): 5~6.
- [32] 方正强, 左大玫. 中国人兽共患病杂志, 1989, **5**(6): 66.