

口蹄疫新型疫苗研究进展

曹轶梅^{1,2} 卢曾军^{1,2} 田飞鹏^{1,2} 刘在新^{1,2*}

(1. 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室 国家口蹄疫参考实验室
甘肃 兰州 730046)

(2. 农业部畜禽病毒学重点开放实验室 甘肃 兰州 730046)

摘要: 口蹄疫(FMD)是一种严重威胁畜牧业发展的重要传染病,目前世界上许多国家和地区都有该病的流行与发生。其控制措施主要是疫苗免疫,虽然传统疫苗在该病的防控中起了重要的作用,但也存在着诸多的缺点。因此研制新型的 FMD 疫苗是今后的发展方向。本文结合实验室在 FMD 新型疫苗研究方面所开展的探索性研究工作,综述了国内外在 FMD 基因工程弱毒苗或灭活苗、蛋白质和合成肽疫苗、空衣壳疫苗、细胞因子增强型疫苗等研究领域所取得的进展。

关键词: 口蹄疫, 传统疫苗, 新型疫苗

Recent Advances of New-type Foot-and-mouth Disease Vaccines

CAO Yi-Mei^{1,2} LU Zeng-Jun^{1,2} TIAN Fei-Peng^{1,2} LIU Zai-Xin^{1,2*}

(1. Lanzhou Veterinary Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, State Key Laboratory of Veterinary Etiological biology, National Foot-and-Mouth Disease Reference Laboratory, Lanzhou, Gansu 730046, China)

(2. Key Laboratory of Animal Virology of Ministry of Agriculture, Lanzhou, Gansu 730046, China)

Abstract: Foot-and-mouth disease is a devastating disease of livestock that has had a significant impact on world economies and prevailed in many countries and areas throughout the world. Although the traditional inactivated vaccine is effective, there are a number of concerns with its use. So many researchers have attempted to develop new vaccines that may provide additional tools to help control FMD in future. In this paper, based on the research work in our lab, we reviewed the international research progress on the new-type vaccines of FMD including genetically engineered live-attenuated or inactivated vaccines, protein and synthetic peptide vaccines, empty capsid vaccines, and cytokine-enhanced vaccines.

Keywords: Foot-and-mouth disease, Traditional vaccine, New-type vaccines

虽然传统的细胞培养来源的灭活苗很有效,但当口蹄疫 (Foot-and-mouth disease, FMD) 在无病国家爆发时,使用该疫苗仍然存在许多问题。这主要包括很难区分灭活苗免疫动物和感染动物、在无

FMD 国家爆发该病时不能产生迅速的保护、接种这种疫苗不能阻断形成病毒携带状态、疫苗生产需要严格的病毒防范设施等。虽然这种严格的防范设施有着很好的安全记录,但 2007 年 8 月在英国

基金项目: 国家 973 计划项目(No. 2005CB523201); 国家“十一五”科技支撑计划项目(No. 2006BAD06A03)

* 通讯作者: Tel: 86-931-8342587; ✉ liuke@public.lz.gs.cn

收稿日期: 2009-04-27; 接受日期: 2009-06-30

Pirbright 具有高防范设施的实验室附近的农场爆发了 FMD, 引起此次爆发的毒株来源于该区的疫苗制造厂和动物卫生研究所^[1]。这次 FMD 的爆发促使人们进一步考察疫苗制造过程的安全性问题。而在美国联邦法只允许在梅岛的实验室从事感染性口蹄疫病毒(Foot-and-mouth disease virus, FMDV)的实验研究, 而且, 美国没有 FMD 的疫苗生产厂, 主要是担心病毒的逃逸。由于灭活疫苗存在诸多问题, 人们研制更加安全高效的 FMD 疫苗的步伐从未停止过。

1 基因工程弱毒苗或灭活苗

制备 FMD 减毒活疫苗最古典的方法是在非易感动物或者是细胞中连续传代。减毒株可通过在非易感动物中连续传代获得, 如小鼠、兔子以及鸡胚等, 直到其毒力对易感动物牛等很弱为止。尽管减毒活疫苗在某些情况下能刺激机体产生保护性免疫, 但在试验中发现对一些动物是弱毒, 而对另一些易感动物又是强毒, 且很难获得一株既是弱毒又具有免疫原性的毒株。另外, 减毒活疫苗最大的问题就是毒力返祖的问题。

随着重组 DNA 技术的出现和 FMDV 全长感染性 cDNA 克隆的构建, 使得通过基因工程的手段研制致弱的基因工程疫苗毒株成为可能^[2,3], 这种制造弱毒的方法与传统方法相比, 其优点在于大大降低了毒力返祖的危险。通过缺失 FMDV VP1 蛋白的受体结合位点序列构建的基因工程病毒, 对牛和猪没有致病性; 将这种缺失病毒制成油佐剂苗, 接种乳鼠或者猪和牛, 都不引起动物发病, 但能产生 FMDV 特异性中和抗体, 用同源病毒攻毒后都能获得保护^[2]。以 A 型 FMDV 感染性克隆为基础, 将 A 型 FMDV VP1 蛋白的 G-H 环用 O 型或 C 型的同源区替代^[4]。这种嵌合病毒化学灭活后用作疫苗, 可诱导豚鼠产生既能中和 A 型又能中和 O 型或 C 型病毒的中和抗体。用这种灭活的嵌合疫苗免疫猪, 用 A 型病毒攻毒可获得完全保护, 用 C 型病毒攻毒可获得部分保护。

用 A12 病毒株构建的一个缺失 L 蛋白的全长感染性克隆^[3], 证明 L 蛋白对病毒的复制是非必需的, 这种无前导蛋白的病毒可以感染 BHK-21 细胞, 但是病毒增殖速度和滴度下降。随后的研究表明, 无前导蛋白的病毒对牛和猪都是弱毒, 可以作为弱毒

疫苗的候选毒株^[5,6]。用这种病毒免疫牛和猪, 都能产生较高的中和抗体, 但不产生临床症状。对免疫牛和猪进行攻毒, 结果与未免疫动物相比, 症状减轻, 发病推迟; 但免疫动物没有获得完全保护。这些结果表明通过缺失特定区域来设计弱毒疫苗毒株是可能的, 但亦存在很大困难, 因为设计的病毒既不能引起临床症状, 又要能复制以刺激产生保护性免疫应答。随后, 以 O 型 FMDV 的衣壳编码区替代 A12 株的衣壳编码区所构建的一株无前导蛋白的重组病毒对牛没有致病性, 但对猪有轻微的致病性, 且能够传播给同居的健康动物^[7]。由此可见, 虽然 L 蛋白是主要的毒力因子, 但 FMDV 基因组中还有许多区域与致病性有关, 为了研制有用的致弱毒株, 有必要对所有与致病性有关的因素进行更全面的研究。

然而, 毒力减弱的 FMDV, 包括无前导蛋白的病毒和缺失或改变了细胞结合位点的基因工程病毒可用作制备传统灭活苗的抗原^[2,5]。应用这种减毒株而不是高致病性的田间毒株作为疫苗生产的抗原, 可降低病毒逃逸或者灭活不彻底而引起的危险性。而且应用嵌合技术可以将那些很难培养的病毒的衣壳编码区插入到其他病毒骨架, 从而为传统灭活苗的制备生产种子毒^[8]。

2 蛋白质和合成肽疫苗

对 FMDV 衣壳蛋白进行酶切分析发现病毒表面的 1D 蛋白对胰蛋白酶敏感^[9], 给动物接种 1D 蛋白可诱导产生中和抗体, 攻毒后免疫猪可获得免疫保护^[10]。有研究者用化学合成 1D 和含 T 细胞表位的肽段, 可以诱导免疫动物产生高滴度的 1D 肽抗体^[11]。还有人用病毒载体、裸 DNA 质粒、转基因植物, 或者用表达 1D 编码区的重组病毒感染的植物来研制 FMDV 疫苗^[12-15]。在有些情况下, 这些免疫原虽然能诱导产生中和性抗体, 但不能使动物获得攻毒保护, 或者要多次免疫才能获得保护^[10]。用这些方法制备的疫苗只表现出了病毒衣壳上连续区域内有限数量的抗原表位, 而 FMDV 衣壳上有些抗原表位是不连续的^[9]。由于 FMDV 的变异性和准种特征^[16], 用有限的连续抗原表位对动物进行免疫可造成抗原变异株的免疫逃避, 如果免疫动物接触到感染性的病毒, 就会引起 FMD 爆发。因此, 要生产有效的 FMD 合成肽疫苗, 似乎还要用新技术构建能

展现不连续表位的肽, 以及包含了多表位的肽。

3 空衣壳亚单位疫苗

近年来, 在 FMD 新型疫苗的研究方面, 似乎更多关注 FMDV 空衣壳亚单位疫苗的研究。空衣壳缺乏病毒 RNA, 是多数小 RNA 病毒在感染过程中产生的, 空衣壳具有完整病毒粒子所具有的全部蛋白成分, 但不具感染性, 通常认为是病毒感染的副产品, 或者是衣壳蛋白的一种存贮形式。FMDV 在感染细胞中能够自然产生这些病毒空衣壳, 其抗原性与病毒颗粒相似, 免疫原性与完整病毒粒子相似。所涉及的病毒基因主要是结构蛋白 P1-2A 和非结构蛋白 3C 编码区, 而不需要其他非结构蛋白编码区的参与, 从而有利于感染动物与免疫动物的鉴别诊断。早期, 用大肠杆菌等表达的 FMDV 空衣壳免疫动物。尽管这些方法能够获得一些保护, 但都达不到目前灭活疫苗的效果, 其主要原因是抗原的表达量不高。

为了提高空衣壳的表达量, 主要进行了以下试验: 选择不同的表达载体使其能够在感染细胞中表达 FMDV 的空衣壳, 并能刺激产生体液免疫和细胞免疫反应。一种方法是注射含衣壳编码加工必需基因的重组质粒 DNA, 使其能够在免疫动物体内表达、加工产生空衣壳^[17,18], 用小鼠作为动物模型, 通过基因枪皮内或肌肉注射, 都能刺激产生 FMDV 特异性中和抗体。但当免疫猪时, 就需要大量的 DNA, 并且至少需要注射 2~3 次才能产生低水平的 FMDV 特异性中和抗体, 攻毒保护效果也不理想^[17,18]。将表达猪粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)的质粒和表达 FMDV P1-2A3C3D 基因的重组 DNA 共同免疫猪能提高抗体应答水平, 重复免疫 3 次后免疫猪能保护同源病毒的攻击, 但与传统灭活苗相比, 抗体产生较慢且抗体水平较低^[18]; 如果将质粒免疫剂量提高到 2 倍会提高免疫应答水平^[19]; 应用相同的 FMD DNA 疫苗, 采用 DNA 疫苗初免, 结构蛋白亚单位疫苗加强免疫的策略进一步提高了血清抗体的交叉中和病毒作用和免疫保护效率^[20]。这种采用 DNA 疫苗初免和蛋白质亚单位疫苗加强免疫(Prime-protein boost)的策略已有许多报道^[21-23]。用编码 FMDV VP1 的质粒 DNA 初次免疫, 用 VP1 合成肽加强免疫小鼠, 证实了这种免疫策略的有效

性^[24]; 这种策略本动物牛体也证实其有效性^[25]。研究表明用编码 FMD P1-2A3C3D 的 DNA 疫苗初次免疫后, 再用灭活疫苗加强免疫能诱导产生高滴度的 FMDV 特异性抗体, 并能提高细胞免疫的水平^[20]。

虽然 DNA 疫苗研究取得了重大进展, DNA 疫苗运用到动物模型上已取得了较好的效果, 但 DNA 疫苗仍有许多急待解决的问题, 如疫苗的质量控制、质量标准及安全性等, 其中最为重要的是安全性问题, 主要有以下几个方面: 质粒 DNA 可能诱导自身免疫反应; 肌肉注射质粒后, 仅有很少部分被肌细胞摄取, 质粒去向如何尚待进一步查明; 影响核酸疫苗诱发机体免疫应答的因素很多, 效果不太确定; 外源 DNA 注入体内后, 可能整合到宿主基因组上, 使宿主细胞抑癌基因失活或癌基因活化, 使宿主细胞转化成癌细胞。

高效表达空衣壳的另一种方法是用活病毒载体。人腺病毒载体和痘病毒载体都是高效表达外源基因的良好载体, 已用于 FMDV 衣壳蛋白的表达^[26-29]。人腺病毒对人和动物具有较低的致病性, 其野生型病毒已经在美国军队中用于预防急性呼吸系统疾病, 因此安全可靠。而复制缺陷型 Ad5 型腺病毒载体, 可容纳 5 kb~8 kb 的外源 DNA。由于缺失腺病毒基因组的复制必需区, 因此该载体疫苗使用更加安全, 复制缺陷型的重组腺病毒可以在特定的包装细胞中复制, 但是注射入动物体内后, 能一次性的表达外源蛋白, 病毒载体本身不能复制。腺病毒载体系统的另一个优点是腺病毒的宿主范围广, 能够吸附猪和牛的多种组织细胞, 这就确保目的基因的快速吸收和表达。另外, 由于空衣壳是在病毒被免疫动物的细胞摄取以后, 在动物某种细胞内表达产生, 就象 FMDV 感染一样, 能够诱导较全面的体液免疫和细胞免疫应答。尽管复制缺陷型腺病毒不能复制, 但包含有外源基因的复制缺陷型重组腺病毒免疫各种动物均能产生针对外源基因的抗体, 具有很好的免疫攻毒保护效果^[30-32]。由于 Ad5 转基因 DNA 的忠实复制性, 从而不会产生所选表达蛋白抗原性的变化, 而在传统疫苗生产中, FMDV 在细胞传代过程中经常会发生抗原性漂移的问题。

Mayr 等构建了表达 A12 型 FMDV 衣壳蛋白和 3C 蛋白酶的复制缺陷型腺病毒载体 Ad5-FMDV。免疫猪产生了特异性中和抗体, 5/6 免疫猪获得了攻毒保护^[27,28], 没有获得保护的猪症状与对照组相比也

比较轻。随后, Moraes 等构建了表达 A24 型 FMDV 空衣壳粒子的重组腺病毒, 用比以前高 10 倍的免疫剂量一次免疫猪, 可诱导中和抗体产生; 在免疫 7 d、14 d 和 42 d 后攻毒, 所有免疫猪都可得到保护。用放射免疫沉淀试验没有检测到免疫攻毒动物体内有病毒非结构蛋白抗体的产生, 说明免疫动物体内没有病毒的复制^[33]。Ad5-A24 重组腺病毒疫苗在牛体内的扩大试验表明^[34], 牛大剂量一次免疫 7 d 后通过舌皮接种攻毒, 3 d 后对照组动物出现发热、病毒血症, 四蹄出现病损; 而 Ad5-A24 疫苗免疫组除了一头牛出现轻微的症状外, 其余牛均未出现任何症状; 对重组腺病毒免疫牛的血清进行检测, 所有 5 头牛都没有发现有病毒的复制; 重组腺病毒初免后用高剂量 Ad5-A24 间隔 9 周再加强免疫 1 次, 产生的 FMDV 特异性中和抗体滴度高于 1000, 但没有检测到非结构蛋白抗体^[35]。这些结果明确表明, 重组腺病毒活载体疫苗所表达的 FMDV 免疫原, 能够满足感染动物与免疫动物鉴别诊断的要求, 符合标记疫苗的要求。

卢曾军等^[36]构建了表达 O 型 FMDV 空衣壳的复制缺陷型重组腺病毒 Ad-P12x3C, 免疫豚鼠 25 d 后, 用同源病毒攻毒, 所有豚鼠都获得保护; 猪免疫 28 d 后攻毒, 3/4 猪获得完全保护。综上所述, 重组腺病毒载体疫苗能够在动物体内很好的表达 FMDV 的空衣壳结构, 对猪的免疫效果要好于对牛的免疫效果, 说明重组腺病毒在两种动物体内的作用方式不同。腺病毒载体疫苗还需要在提高空衣壳的表达量和延长表达的时间这两方面进行改进。

也有用牛痘病毒^[26,29]、禽痘病毒^[37]、以及伪狂犬病毒^[38]为载体表达 FMDV 空衣壳的研究。但由于空衣壳的表达量太低, 需要免疫 2~3 次才能产生 FMDV 特异性中和抗体, 攻毒保护效果也不理想。在紧急爆发 FMD 的情况下, FMD 疫苗必需满足只注射一次就能够快速产生保护性免疫, 方能使用。李志勇等^[39]构建了含有 Asia 1/HNK/CHA/05 FMDV P1-2A 和 3C 编码区的重组体家蚕杆状病毒 Bm-P12A3C。通过间接免疫荧光和夹心 ELISA 检测结果表明, 目的基因获得成功表达。表达产物 30 倍稀释后免疫牛, 28 d 后用同源病毒攻击, 结果 4/5 的牛获得完全保护, 未保护的一头牛与对照组相比, 症状减轻, 发病推迟。虽然杆状病毒感染家蚕可以迅速生产蛋白, 表达量高, 成本较低, 但很难获得

一致的感染, 质量控制比较困难。因此, 笔者应用杆状病毒表达载体在昆虫细胞中合成了 FMDV 空衣壳粒子。豚鼠免疫试验表明合成的空衣壳粒子具有很好的免疫原性^[40]。

对于无 FMD 国家而言, 如何防止 FMD 的爆发是一项艰巨的任务。研制一种新型的标记疫苗, 如病毒空衣壳, 可以作为全面疾病控制策略的一部分而得以应用。这种疫苗因不含有病毒非结构蛋白成份, 免疫动物后, 可以用以非结构蛋白如 2C、3A、3AB、3ABC 或 3D 为抗原的诊断试剂进行感染动物和免疫动物的区分。应用病毒空衣壳进行免疫对国际贸易不产生影响。这种新的亚单位疫苗的生产不需要严格的病毒防范设施, 因为没有感染性 FMDV 的存在, 也可以在像美国这样的国家生产。这种亚单位疫苗的另一个优点是空衣壳拥有感染性病毒粒子所拥有的大部分或者全部表位, 在动物体内合成的空衣壳既能刺激机体产生体液免疫, 也能产生细胞免疫。

4 细胞因子增强型疫苗

为了加强 FMD 在无病区爆发的控制, 拥有能够迅速保护动物免受感染、限制病毒扩散的疫苗是非常重要的。传统疫苗和 Ad5 型重组腺病毒疫苗都不能使动物在 7 d 内产生保护性免疫。如何才能找到一种疫苗, 在发生疫情时, 通过免疫使得受威胁动物迅速获得保护性的免疫反应, 避免像 1997 年台湾 FMD 和 2001 年在英国和荷兰爆发 FMD 所造成的巨大经济损失, 这就促使人们寻求更好的保护性疫苗。

已有许多学者研究了细胞因子对 FMD DNA 疫苗、重组病毒载体疫苗, 以及传统疫苗免疫应答的调节作用。证实白介素 1(Interleukin 1, IL-1)和白介素 2(IL-2)蛋白能增强 FMD 灭活苗对小鼠的体液免疫应答^[41]。白介素 6(IL-6)作为分子佐剂能增强 FMDV VP1 DNA 疫苗对小鼠的抗原特异性细胞免疫应答^[42]。鼻内给予白介素 15(IL-15)能够增强 FMDV VP1 DNA 疫苗细胞免疫应答水平, 使免疫动物产生高水平的分泌型 IgA、血清 IgG, 以及较高水平的抗原特异性 T 细胞增殖和 CTL 应答, 同时提高了 CD⁴⁺ 和 CD⁸⁺ T 细胞表达 IFN- γ 的水平。同样, IL-15 作为疫苗佐剂也可提高 FMDV 中和抗体的水平和粘膜组织中 IgA 的分泌。总之, 鼻内给予 IL-15

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

作为粘膜佐剂能增强抗原特异性粘膜和全身性免疫应答^[43]。猪 IL-18 能增强 FMDV DNA 空衣壳疫苗的免疫原性,对攻毒保护率也有很大的提高^[44]。研究表明在 FMDV DNA 空衣壳疫苗中包含猪的粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(Porcine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, pGM-CSF)的编码基因能大大提高抗体水平^[18],对 FMD 攻毒保护也有一定改善。Caron 等^[45]发现同时注射表达 pGM-CSF 的重组 Ad5 和 Ad5-FMDV 重组腺病毒的效果没有单独注射 Ad5-FMDV 重组腺病毒的效果好。但对其他免疫原的研究表明当 GM-CSF 和免疫原基因用相同的载体共表达时,它的佐剂效果更加明显^[46]。

型干扰素(Interferon α/β , IFN α/β)是一种细胞因子,它提供了宿主防御病毒感染的第一道防线^[47],能迅速保护细胞培养物免受所有 FMDV 血清型的感染^[10,48]。IFN 已在临床上用于降低或阻断病毒复制,在丙肝和乙肝病人的治疗中已取得了显著的效果。但是 IFN 在血液中的半衰期大约只有 5 h,临床应用需要多次大剂量的注射,这样就会产生相反的全身效应^[49]。因此,采用复制缺陷的 Ad5 载体将 IFN 基因直接传递到动物细胞内,使 IFN 内源性表达,有望克服干扰素被迅速清除的问题^[48]。给猪注射高剂量的 Ad5-pIFN α (Porcine IFN α , pIFN α),4 h 内就产生可检测得到的 IFN,1 d 后用 FMDV A24 强毒直接攻击,所有动物获得完全保护,也没有产生非结构蛋白抗体^[48]。将 Ad5-pIFN α 和 Ad5-A24 联合免疫猪后,使猪在短时间内暴露于 FMDV 存在的环境下,猪能产生迅速的保护,且产生较强的 FMDV 特异性中和抗体。联合使用的效果比单独使用 Ad5-pIFN α 或 Ad5-A24 效果好^[50]。最近的试验结果表明,IFN α 除了能诱导迅速的抗病毒反应外,还能发挥佐剂的作用,增强 Ad5-A24 疫苗在猪体内产生长期的保护性免疫应答^[51]。

研究表明 型 pIFN(pIFN- γ)也有抑制 FMDV 在细胞培养物上复制的活性,与 pIFN α 结合使用,具有协同抗病毒的效果^[52]。单独用任何一种 IFN 诱导产生小量的 IFN 激活基因(IFN-stimulated genes, ISGs),两者结合就会协同诱导大量 ISGs。对猪共同接种 Ad5-pIFN- α 和低剂量 Ad5-pIFN- γ 获得了完全保护。同样,共同接种 Ad5 和高剂量 Ad5-pIFN- γ 或只接种高剂量 Ad5-pIFN- γ ,都能获得保护,保护

动物没有产生 NSP 抗体。这些结果表明,联合使用 型和 型 IFNs 可以协同抑制 FMDV 在体内外的复制。

在牛体的研究表明,接种 Ad5-pIFN α 后,用 FMDV 攻毒,虽然与对照动物相比,动物发病推迟,症状减轻,但不能产生完全的保护^[29]。牛的不完全保护与它们的血液中可检测到的 IFN 水平降低有密切的关系,这个结果与猪给与低剂量 Ad5-pIFN α 时不能保护的结果很相似^[48]。因此,要使这种策略成功地应用于牛,就要通过以下几种方法提高 IFN 的水平:1) 采用产生高水平 IFN 的启动子;2) 改变人 Ad5 的衣壳,以使其能更有效地感染牛的细胞;3) 用靶向细胞或组织的 Ad5 载体,以提高治疗效果。其他一些方法就是提高对 FMD 疫苗的先天性或适应性免疫应答,包括多种细胞因子协同作用,或者是将疫苗抗原和其他一些免疫刺激产物,如 CpG 或 dsRNA 结合来增强保护。研究表明,IFN α 和 型 IFN(γ)结合可协同抑制 FMDV 在细胞培养物上的复制,并保护猪免于病毒攻击^[52]。

5 小结与展望

在有大量易感家畜的发达国家,爆发 FMD 将会引起巨大的经济损失,用目前所用的大规模屠杀受感染动物和接触易感动物来进行控制的策略受到大多群众的反对。因此,虽然目前所用的疫苗可以在长期的消灭策略中成功地运用于控制 FMD,发达国家已经开始探索更加适合于紧急免疫和“免疫存活”政策的控制方案^[1]。为了达到此目的,人们将目标放在生产缺失一种或多种病毒蛋白的免疫原上,如空衣壳疫苗,这样的标记疫苗免疫动物后,可以明确的区分感染动物和免疫动物。近年来许多研究表明,以空衣壳为基础的疫苗不但能刺激动物产生中和抗体,而且能刺激有效的细胞毒性和辅助性 T 淋巴细胞反应,能使动物产生攻毒保护^[53,54]。而且,乳头瘤病毒空衣壳能急性激活树突状细胞(Dendritic cell, DC)^[55]。其他一些空衣壳已进入临床前试验阶段,评估其作为疫苗的潜力,如多瘤病毒、人免疫缺陷病毒、轮状病毒、细小病毒等^[56]。且已有报道表明,Norwalk 空衣壳能在人体内产生体液、粘膜和细胞免疫应答^[57]。所有这些资料表明空衣壳疫苗具有美好的应用前景。另外,使用高抗原含量,或者用佐剂或细胞因子增强的疫苗可刺激迅速的免疫应答,

也具有深入研究的价值。

在 FMD 流行的国家, 疫情的控制仍然依赖于现有的传统疫苗以及当地兽医工作者的辛勤劳动, 通过强制性的高强度的免疫, 逐步减少疫情的发生; 同时限制动物移动, 逐步建立无病区; 对新发疫情采取捕杀与免疫相结合的综合防控措施, 将经济损失减少到最低程度。同时要作好监测工作, 防止新的血清型病毒和变异毒株的传入使防治形势复杂化。对于发展中国家而言, 研究新型的高效疫苗更具有现实意义, 一旦成功, 即可投入市场应用。随着基因工程和细胞工程技术的不断发展, 新型的基因表达技术的应用必将会促进 FMD 新型疫苗的研制成功。

参 考 文 献

- [1] Mason PW, Grubman MJ. Foot-and-mouth disease. *Vaccine for biodefense and emerging and neglected disease*, 2009, doi:10.1016/B978-0-12-369408-9.00022-6.
- [2] McKenna TS, Lubroth J, Rieder E, *et al.* Receptor binding site-deleted foot-and-mouth disease (FMD) virus protects cattle from FMD. *J Virol*, 1995, **69**(9): 5787–5790.
- [3] Piccone ME, Rieder E, Mason PW, *et al.* The foot-and-mouth disease virus leader proteinase gene is not required for viral replication. *J Virol*, 1995, **69**(9): 5376–5382.
- [4] Rieder E, Baxt B, Lubroth J, *et al.* Vaccines prepared from chimeras of foot-and-mouth disease virus (FMDV) induce neutralizing antibodies and protective immunity to multiple serotypes of FMDV. *J Virol*, 1994, **68**(11): 7092–7098.
- [5] Chinsangaram J, Mason PW, Grubman MJ. Protection of swine by live and inactivated vaccines prepared from a leader proteinase-deficient serotype A12 foot-and-mouth disease virus. *Vaccine*, 1998b, **16**(16): 1516–1522.
- [6] Mason PW, Piccone ME, McKenna TS, *et al.* Evaluation of a live-attenuated foot-and-mouth disease virus as a vaccine candidate. *Virology*, 1997, **227**(1): 96–102.
- [7] Almeida MR, Rieder E, Chinsangaram J, *et al.* Construction and evaluation of an attenuated vaccine for foot-and-mouth disease: difficulty adapting the leader proteinase-deleted strategy to the serotype O1 virus. *Virus Res*, 1998, **55**(1): 49–60.
- [8] van Rensburg HG, Henry TM, Mason PW. Studies of genetically defined chimeras of a European type A virus and a South African Territories type 2 virus reveal growth determinants for foot-and-mouth disease virus. *J Gen Virol*, 2004, **85**(Pt 1): 61–68.
- [9] Mason PW, Grubman MJ, Baxt B. Molecular basis of pathogenesis of FMDV. *Virus Res*, 2003, **91**(1): 9–32.
- [10] Grubman MJ, Baxt B. Foot-and-mouth disease. *Clin Microbiol Rev*, 2004, **17**(2): 465–493.
- [11] Nargi F, Kramer E, Mezencio J, *et al.* Protection of swine from foot-and-mouth disease with one dose of an all-D retro peptide. *Vaccine*, 1999, **17**(22): 2888–2893.
- [12] Wigdorovitz A, Carrillo C, Dus Santos MJ, *et al.* Induction of a protective antibody response to foot and mouth disease virus in mice following oral or parenteral immunization with alfalfa transgenic plants expressing the viral structural protein VP1. *Virology*, 1999a, **255**(2): 347–353.
- [13] Wigdorovitz A, Perez Filgueira DM, Robertson N, *et al.* Protection of mice against challenge with foot and mouth disease virus (FMDV) by immunization with foliar extracts from plants infected with recombinant tobacco mosaic virus expressing the FMDV structural protein VP1. *Virology*, 1999b, **264**(1): 85–91.
- [14] Wong HT, Cheng SC, Chan EW, *et al.* Plasmids encoding foot-and-mouth disease virus VP1 epitopes elicited immune responses in mice and swine and protected swine against viral infection. *Virology*, 2000, **278**(1): 27–35.
- [15] Wong HT, Cheng SC, Sin FW, *et al.* A DNA vaccine against foot-and-mouth disease elicits an immune response in swine which is enhanced by co-administration with interleukin-2. *Vaccine*, 2002, **20**(21-22): 2641–2647.
- [16] Domingo E, Escarmis C, Baranowski E, *et al.* Evolution of foot-and-mouth disease virus. *Virus Res*, 2003, **91**(1): 47–63.
- [17] Benvenisti L, Rogel A, Kuznetsova L, *et al.* Gene gun-mediate DNA vaccination against foot-and-mouth disease virus. *Vaccine*, 2001, **19**: 3885–3895.
- [18] Cedillo-Barron L, Foster-Cuevas M, Belsham GJ, *et al.* Induction of a protective response in swine vaccinated with DNA encoding foot-and-mouth disease virus empty capsid proteins and the 3D RNA polymerase. *J Gen Virol*, 2001, **82**(Pt 7): 1713–1724.
- [19] Li Y, Aggarwal N, Takamasu HH, *et al.* Enhancing immune responses against a plasmid DNA vaccine encoding a FMDV empty capsid from serotype O. *Vaccine*, 2006, **24**: 4602–4606.
- [20] Li YM, Stirling CMA, Denyer MS, *et al.* Dramatic improvement in FMD DNA vaccine efficacy and cross-serotype antibody induction in pigs following a protein boost. *Vaccine*, 2008, **26**(21): 2647–2656.
- [21] Gonzalo RM, del Real G, Rodriguez JR, *et al.* A heterologous prime-boost regime using DNA and recombinant vaccinia virus expressing the Leishmania infantum P36/LACK antigen protects BALB/c mice from cutaneous leishmaniasis. *Vaccine*, 2002, **20**: 1226–1231.
- [22] Robinson HL. Prime boost vaccines power up in people.

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

- Nat Med*, 2003, **9**: 642–623.
- [23] Moore AC, Hill AV. Progress in DNA-based heterologous prime-boost immunization strategies for malaria. *Immunol Rev*, 2004, **199**: 126–143.
- [24] Shieh JJ, Liang CM, Chen CY, *et al.* Enhancement of the immunity to foot-and-mouth disease virus by DNA priming and protein boosting immunization. *Vaccine*, 2001, **19**: 4002–4010.
- [25] Jin H, Kang Y, Xiao C, *et al.* DNA prime followed by protein boost enhances neutralisation and Th1 type immunity against FMDV. *Viral Immunol*, 2005, **18**(3): 539–548.
- [26] Berinstein AC, Tami O, Taboga E, *et al.* Protective immunity against foot-and-mouth disease virus induced by a recombinant vaccinia virus. *Vaccine*, 2000, **18**: 2231–2238.
- [27] Mayr GA, Chinsangaram J, Grubman MJ. Development of replication-defective adenovirus serotype 5 containing the capsid and 3C protease coding regions of foot-and-mouth disease virus as a vaccine candidate. *Virology*, 1999, **263** (2): 496–506.
- [28] Mayr GA, O'Donnell V, Chinsangaram J, *et al.* Immune responses and protection against foot-and-mouth disease virus (FMDV) challenge in swine vaccinated with adenovirus-FMDV constructs. *Vaccine*, 2001, **19**: 2152–2162.
- [29] Sanz-Parra A, Jimenez-Clavero MA, Garcia-Briones MM, *et al.* Recombinant viruses expressing the foot-and-mouth disease virus capsid precursor polypeptide(P1) induce cellular but not humoral antiviral immunity and partial protection in pigs. *Virology*, 1999, **259**: 129–134.
- [30] Fooks AR, Jeevarajah D, Lee J, *et al.* Oral or parenteral administration of replication-deficient adenoviruses expressing the measles virus haemagglutinin and fusion proteins: protective immune responses in rodents. *J Gen Virol*, 1998, **79**: 1027–1031.
- [31] Juillard V, Villefroy P, Godfrin D, *et al.* Long-term humoral and cellular immunity induced by a single immunization with replication-defective adenovirus recombinant vector. *Eur J Immunol*, 1995, **25**: 3467–3473.
- [32] Xiang ZQ, Yang Y, Wilson JM, *et al.* A replicationdefective human adenovirus recombinant serves as a highly efficacious vaccine carrier. *Virology*, 1996, **219**: 220–227.
- [33] Moraes MP, Mayr GA, Mason PW, *et al.* Early protection against homologous challenge after a single dose of replication-defective human adenovirus type 5 expressing capsid proteins of foot-and-mouth disease virus (FMDV) strain A24. *Vaccine*, 2002, **20**(11–12): 1631–1639.
- [34] Pacheco JM, Brum MC, Moraes MP, *et al.* Rapid protection of cattle from direct challenge with foot-and-mouth disease virus (FMDV) by a single inoculation with an adenovirus-vectored FMDV subunit vaccine. *Virology*, 2005, **337**(2): 205–209.
- [35] Grubman MJ. Development of novel strategies to control foot-and-mouth disease: marker vaccines and antivirals. *Biologicals*, 2005, **33**: 227–234.
- [36] Lu ZJ, Bao HF, Cao YM, *et al.* Protection of guinea pigs and swine by a recombinant adenovirus expressing O serotype of foot-and-mouth disease virus whole capsid and 3C protease. *Vaccine*, 2008, **26**: G48–G53.
- [37] Zheng M, Jin N, Zhang H, *et al.* Construction and immunogenicity of a recombinant fowlpox virus containing the capsid and 3c protease coding regions of foot-and-mouth disease virus. *J Virol Methods*, 2006, **136**: 230–237.
- [38] Yao Q, Qian P, Huang Q, *et al.* Comparison of immune responses to different foot-and-mouth disease genetically engineered vaccines in guinea pigs. *J Virol Methods*, 2008, **147**(1): 143–150.
- [39] Li ZY, Yi YZ, Yin XP, *et al.* Expression of foot-and-mouth disease virus capsid proteins in silkworm-baculovirus expression system and its utilization as a subunit vaccine. *PLoS One*, 2008, **3**(5): e2273.
- [40] Cao YM, Lu ZJ, Sun JC, *et al.* Synthesis of empty capsid-like particles of Asia I foot-and-mouth disease virus in insect cells and their immunogenicity in guinea pigs. *Vet Microbiol*, 2009, **137**(1–2): 10–17.
- [41] McCullough KC, Pullen L, Parkinson D. The immune response against foot-and-mouth disease virus: influence of the T lymphocyte growth factors IL-1 and IL-2 on the murine humoral response *in vivo*. *Immunol Lett*, 1992, **31** (1): 41–46.
- [42] Su BW, Wang JP, Wang X, *et al.* The effects of IL-6 and TNF- α as molecular adjuvants on immune responses to FMDV and maturation of dendritic cells by DNA vaccination. *Vaccine*, 2008, **26**: 5111–5122.
- [43] Wang X, Zhang XY, Kang YM, *et al.* Interleukin-15 enhance DNA vaccine elicited mucosal and systemic immunity against foot and mouth disease virus. *Vaccine*, 2008, **26**: 5135–5144.
- [44] Ma MX, Jin NY, Liu HJ, *et al.* Immunogenicity of plasmids encoding P12A and 3C of FMDV and swine IL-18. *Antiviral Research*, 2007, **76**(1): 59–67.
- [45] Caron L, Brum MCS, Moraes MP, *et al.* The effect of granulocyte-macrophage colony stimulating factor on the potency and efficacy of a foot-and-mouth disease virus subunit vaccine. *Pesqui Vet Bras*, 2005, **25**: 150–158.
- [46] Wang J, Zganiacz A, Xing Z. Enhanced immunogenicity of BCG vaccine by using a viral-based GM-CSF transgene adjuvant formulation. *Vaccine*, 2002, **20**(23–24): 2887–2898.
- [47] Biron C, Sen GC. Interferons and other cytokines. *Phila-*

- delphia*, 2001, pp.321–351.
- [48] Chinsangaram J, Moraes MP, Koster M, *et al.* Novel viral disease control strategy: adenovirus expressing alpha interferon rapidly protects swine from foot-and-mouth disease. *J Virol*, 2003, **77**: 1621–1625.
- [49] Grubman MJ. New approaches to rapidly control foot-and-mouth disease outbreaks. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2003, **1**(4): 579–586.
- [50] Moraes MPJ, Chinsangaram MCS, Brum MJ, *et al.* Immediate protection of swine from foot-and-mouth disease: a combination of adenoviruses expressing interferon alpha and a foot-and-mouth disease virus subunit vaccine. *Vaccine*, 2003, **22**: 268–279.
- [51] de Avila Botton S, Brum MC, Bautista E, *et al.* Immunopotential of a foot-and-mouth disease virus subunit vaccine by interferon alpha. *Vaccine*, 2006, **24**(17): 3446–3456.
- [52] Moraes MP, de los Santos T, Koster M, *et al.* Enhanced antiviral activity against foot-and-mouth disease virus by a combination of type I and II porcine interferons. *J Virol*, 2007, **81**(13): 7124–7135.
- [53] Yao Q, Bu Z, Vzorov A, *et al.* Virus-like particle and DNA-based candidate AIDS vaccines. *Vaccine*, 2003, **21**: 638–643.
- [54] Garcea RL, Gissmann L. Virus-like particles as vaccines and vessels for the delivery of small molecules. *Curr Opin Biotechnol*, 2004, **15**: 513–517.
- [55] Lenz P, Day PM, Pang YY, *et al.* Papillomavirus-like particles induce acute activation of dendritic cells. *J Immunol*, 2001, **166**: 5346–5355.
- [56] Tacket CO, Sztein MB, Losonsky GA, *et al.* Humoral, mucosal, and cellular immune responses to oral Norwalk virus-like particles in volunteers. *Clin Immunol*, 2003, **108**: 241–247.
- [57] Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, *et al.* A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med*, 2002, **347**: 1645–1651.

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年,是中国微生物学会和中国科学院微生物研究所主办,国内外公开发刊,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:基础微生物学研究;农业微生物学研究;工业微生物学研究;医学微生物学研究;食品微生物学研究;环境微生物学研究;微生物功能基因组研究;微生物蛋白组学研究;微生物模式菌株研究;微生物工程与药物研究;微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国生物科学类核心期刊。曾获国家级优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,2000 年再获中国科学院优秀期刊三等奖,2001 年被选入新闻出版署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自 2008 年本刊已经全新改版,由双月刊改为月刊,更换了彩色封面,纸张改用铜版纸,由原来的小 16 开本改为标准大 16 开本(210×297),发表周期缩短,内容更加丰富详实。欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买,2010 年的每册定价为 48 元,全年 576 元,我们将按期免费邮寄。

另,本刊编辑部现存有少量过期刊,如有需要者可直接与编辑部联系,款到即免费寄上。(请事先与编辑部联系,获悉每册售价。敬请在汇款单上注明所购刊物的年代、卷、期和数量)

邮购地址:(100101)北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel:(010)64807511; E-mail:tongbao@im.ac.cn;bjb@im.ac.cn;http://journals.im.ac.cn

国内邮发代号:2-817; 国外发行代号:BM413

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>