

单纯疱疹病毒疫苗的研究进展

和占龙 李琦涵

〔作者简介〕 和占龙,1972 年生,研究员,教授,云南省技术创新人才,国家自然科学基金评审专家库、国家教育部及云南省、昆明市实验动物专家库成员,云南省实验动物学会副秘书长。长期从事医学实验动物及人类疾病灵长类动物模型的开发及应用研究,现任中国医学科学院医学生物学研究所全国医学灵长类中心实验动物部主任。作为主要研究人员参加国家科技部(863)项目、国家科技重大专项、国家及省级自然科学基金资助项目等 10 余项,获得云南省科技进步一等奖 1 项、昆明市科技进步一等奖 1 项,云南省科技进步三等奖 4 项,中国实验动物科技一等奖、二等奖各 1 项,专利及软件著作权 6 项,发表论文 90 余篇;其中 SCI 论文 27 篇,第一(通讯)作者 8 篇;参编《实验猴正常组织学图谱》和《恒河猴组织学》专著 2 部,参与制订云南省《实验动物病理学检测》地方标准 1 部。完成 EV71、轮状病毒、流感、糖尿病、帕金森病、老年痴呆等动物模型建立、疫苗研发和免疫原性等评价工作。主要研究方向为人类疾病的灵长类动物模型建立、评价与比较医学研究。

中图分类号 R5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.10.001

单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)属致病性人类 α 疱疹病毒,能引起龈口炎、角膜结膜、脑炎以及生殖系统感染和新生儿的感染等多种疾病。HSV 包括 2 个血清型: I 型(HSV-1)和 II 型(HSV-2),可以在三叉及骶尾神经节等组织内建立终身潜伏状态,并且周期性复活而引起疾病复发^[1]。感染 HSV-1 主要引起口唇及颜面、腰部以上的部位感染;感染 HSV-2 者 80% 以上引起生殖系统感染,主要通过性传播。全球 HSV-1 的感染率约为 90%,其中美国约为 65%,欧洲为 52%~67%;HSV-2 感染比 HSV-1 感染少,在美国和欧洲的感染率为 10%~20%^[2,3]。尽管现有的抗病毒干预手段可以在一定程度上控制病情和传播,但无法从根本上治愈,亟待有效的疫苗来限制 HSV 病毒的感染、传播及复发。

一、疫苗的研究现状

作为一种理想的 HSV 疫苗,应该可以诱发消除性免疫,亦即在 HSV 侵入人类机体的各种途径如生

殖道、口鼻黏膜等时都能够诱发有效的免疫应答,并对病毒的再感染具有抵抗力。自 20 世纪 20 年代开始,HSV-1 和 HSV-2 疫苗已经在实验室进行研究,但其有效性并没有得到证实^[4]。最近的 30 年里,随着免疫学与细胞生物学技术的飞速发展,有了更多新的手段来研制新型 HSV 疫苗。比如近年来就有研究人员把目光放在关注感染与非感染者间 T 细胞识别位点是否具有差异性,因为这与病毒的反复暴发密切相关^[5]。目前研究较多且经过临床评估的疫苗主要有亚单位疫苗(subunit vaccine)、减毒活疫苗(attenuated live virus vaccine)、复制缺陷病毒疫苗(replication defective virus vaccine)、DNA 疫苗(DNA vaccine)以及载体疫苗(vector vaccine),这些疫苗在不断建立起来的动物模型上取得重要的成效,但各有优缺点^[6]。

1. 亚单位疫苗:研究重点主要集中在病毒进入细胞所必须的糖蛋白 gB 和 gD 上,在已感染 HSV 的患者体内,它们主要激活 CD4⁺T 细胞,诱导体液免疫和细胞免疫。目前较为普遍并且已经进入 III 期临床的是由 GlaxoSmithKline 公司生产的 gD2-硫酸铝钾-3dMPL 疫苗,所用佐剂 3-dMPL(3-O 脱酰单磷酸脂质 A)能够增强 Th1 应答,虽然可以明显减轻首次感染 HSV-2 的症状,但该结果仅限于 HSV-1 和 HSV-2 血清学反应均属阴性的女性中^[7]。

2. 减毒活疫苗:具有多种抗原物质和表位,可以诱发 Th1 免疫并且在男性和女性中均有治疗活性,对

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31670173);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-1-019,2016-I2M-1-001);昆明市科技创新和服务能力提升计划重点项目(2016-2-R-07674)

作者单位:650118 昆明,中国医学科学院/北京协和医学院医学生物学研究所、云南省重大传染病疫苗研发重点实验室

通讯作者:李琦涵,研究员,博士生导师,电子信箱:qiqihan@imb-cams.com.cn

复发疾病可达到 44% 的保护率,同时也降低了复发的频率与严重程度,产生长效持久的保护作用,但隐患也较多,存在毒力返祖的风险,某些 HSV 基因还存在致癌的可能性^[8,9]。

3. 载体疫苗:兼具了减毒活疫苗和亚单位疫苗的优点,同时能避免 HSV 的毒性、潜伏性以及致癌性等问题。在免疫接种时,以病毒或细菌作为载体的疫苗表达具有免疫原性的蛋白,并且相关基因编码产物能诱导广泛的体液免疫和细胞免疫^[10]。

4. DNA 疫苗:主要是将病毒的编码基因插入到质粒 DNA 中,然后直接接种于体内。在目前没有行之有效的疫苗可以和 HSV 病毒相拮抗时,该种疫苗受到了高度重视,它能够在宿主体内表达相应的病毒蛋白从而诱发多个抗原表位,其中包括不会发生抗原漂移的保守性抗原表位,在接种宿主体内连续表达多个多肽时,还能模拟减毒活疫苗的效应,直接刺激抗原递呈细胞,尤其是树状突细胞(DC)^[11,12]。尽管 DNA 疫苗具有活载体免疫的某些优点,能克服由非复制性抗原所诱导的细胞免疫效果较低等难题,但外源基因进入机体内会不会与宿主基因发生整合还有待进一步的研究证实。

5. 复制缺陷病毒疫苗:缺乏对病毒基因组复制、合成以及病毒颗粒装配必要的一个或多个功能,在正常细胞中由于复制的部分过程受阻并不产生子代病毒,但却正常表达基因产物,因此可充分利用 MHC I 类和 II 类的抗原递呈作用,已经研发此类疫苗能够有效减轻病毒脱落、减少病毒在神经节的装载量、诱发病毒特异性 CD8⁺T 细胞、有效地保护动物免于急性病毒攻击,但在临床中的表现却不尽如人意,尤其是在 II 期临床中。

二、存在的问题与展望

面对这样的局面,哈钦森癌症研究中心在 2012 年的一个最近的独特研究认识到一个治疗单纯性疱疹病毒疫苗失败的主要原因是当前疫苗策略大多集中在复制病毒、蛋白质或 DNA,而未看重根除潜伏的整合性或非复制的附加型病毒基因组。该研究还关注到内切酶可以清除隐藏的整合在体内的病毒基因组,这些酶被工程化拥有高度精确性,这样在关键位置结合不会有任何错误,而不精确的非同源末端加入(NHEJ)修复,在重复清除的位置同时进行可以破坏的重要病毒蛋白。同时载有不同的 DNA 清除酶,锌指内切酶,转录激活样(TAL)内切酶(TALENs)和归巢内切酶的传递等都尚在研究之中^[13]。同时,另一

项研究也密切关注潜伏病毒基因组,他们最近将阳离子油脂抗原(Vaxfectin)在鼠模型中表达 gD2:40% 的小鼠接种这种 Vaxfectin - gD2pDNA 没有检测到 HSV - 2 病毒基因组。而另一个新关注的策略是细胞介导的对病毒蛋白的反应。许多新研究共同继续关注 HSV - 1 的包膜糖蛋白和 HSV - 2 产生的细胞反应。比萨大学最近的一项研究通过猫免疫缺陷病毒(fip)载体用老鼠来测试 gB1 疫苗。疫苗诱导交叉中和抗体激活,以及细胞介导的反应,保护 100% 和 75% 的老鼠不受 HSV - 1 和 HSV - 2 感染^[14]。最近瑞典进行的一项研究显示,糖蛋白 G 结合辅助 CpG,可能是一个有前途的疫苗抗原。这些小鼠的血清显示巨噬细胞介导的,抗体依赖性细胞毒性和抗体依赖性补体介导的细胞溶解。这种保护是由脾 CD4⁺T 细胞在体外与抗原引发刺激 γ 干扰素(IFN - γ)响应产生,同时也显示这种 IFN - γ 反应,这种免疫可以保护 80% ~ 100% 小鼠免受致命的阴道 HSV - 2 侵袭;它还减少疾病严重程度和病毒复制^[15]。糖蛋白 B、C、E、G 的免疫决定性表位肽,gb2466 - 473、gC2216 - 223、gE2483 - 491、gG2572 - 579、gI2286 - 295 和 HSV - 2,分别被证明可以刺激小鼠产生抗体,在体外中和 HSV - 2^[16]。南京医科大学研制的 CJ2 - gD2,是一类表达 gD2 的新的复制 - 缺陷型病毒性疫苗,展现了临床前免疫原性,能够诱发强 HSV - 2 - 特异的记忆 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞反应。gD2 的表达与野生型 HSV - 2 感染的效率相近,能够使得同时感染 CJ2 - gD2 的细胞,野生型 HSV - 2 病毒复制下降 150 倍,与野生型 HSV - 2 的感染的多样性相同^[17]。另一种更新的方法涉及一个候选疫苗(称 HerpV)由 32 个合成的 35merHSV - 2 肽非共价地与重组人类 Hsc70 蛋白质混合组成。这些肽代表 22 个与 HSV - 2 病毒复制有关的蛋白。最近总结的第一阶段研究设有 4 个组:HerpV + 皂素佐剂(QS - 21)、HerpV、QS - 21、空载。HSV - 2 阳性组参与者注射了 HerpV + QS - 21 后 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞显示出很强的对 HSV - 2 抗原反应。HSV - 2⁺参与者可以通过注射肽链型疫苗获得一个广泛的 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞反应^[18]。这些最新的研究结果虽然还没有得到最终的临床验证,但还是非常令人鼓舞的。

疫苗的最佳保护需要增强细胞介导的免疫反应和体液免疫来抵抗病毒。几十年来,在 HSV - 1 和 HSV - 2 疫苗的发展历史上,有疫苗研发进展到 III 期临床试验,但结果却没有像在小鼠和其他模式生物身

上那么有效,所以未来研究的方向应该是揭示 T 细胞对 HSV 表位的反应规律。与此同时,动物模型是 HSV 治疗性疫苗研发的关键,目前用于 HSV 研究的动物模型主要有小鼠、兔子和豚鼠,均与人体免疫体系有着较大的差异,比如小鼠模型是不能模拟人类感染 HSV 并潜伏后的自发性和周期性复发疾病,所以才导致了在动物实验上表现良好的候选疫苗在临床实验中遭遇滑铁卢^[19]。因此,建立更加接近人体免疫特征的非人灵长类动物模型也将是开发 HSV 疫苗的重要研究方向。

参考文献

- Koelle DM, Wald A. Herpes simplex virus: the importance of asymptomatic shedding [J]. J Antimicrob Chemother, 2000, 45 (Suppl T3): 1 - 8
- Nicoll MP, Proenca JT, Efstathiou S. The molecular basis of herpes simplex virus latency [J]. FEMS Microbiol Rev, 2012, 36 (3): 684 - 705
- Efstathiou S, Preston CM. Towards an understanding of the molecular basis of herpes simplex virus latency [J]. Virus Res, 2005, 111 (2): 108 - 119
- Coleman JL, Shukla D. Recent advances in vaccine development for herpes simplex virus types I and II [J]. Human Vaccines & Immunotherapy, 2013, 9 (4): 729 - 735
- Bernstein DI, Stanberry LR. Herpes simplex virus vaccines [J]. Vaccine, 1999, 17 (13 - 14): 1681 - 1689
- Koelle DM, Corey L. Recent progress in herpes simplex virus immunobiology and vaccine research [J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16 (1): 96 - 113
- Belshe RB, Leone PA, Bernstein DI, et al. Efficacy results of a trial of a herpes simplex vaccine [J]. New Engl J Med, 2012, 366 (1): 34 - 43
- Parker JN, Pfister LA, Quenelle D, et al. Genetically engineered herpes simplex viruses that express IL - 12 or GM - CSF as vaccine candidates [J]. Vaccine, 2006, 24 (10): 1644 - 1652
- Aurelian L. Herpes simplex virus type 2 vaccines: new ground for optimism? [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2004, 11: 437 - 445
- Natuk RJ, Cooper D, Guo M, et al. Recombinant vesicular stomatitis virus vectors expressing herpes simplex virus type 2 gD elicit robust CD4⁺ Th1 immune responses and are protective in mouse and guinea pig models of vaginal challenge [J]. J Virol, 2006, 80 (9): 4447 - 4457
- Rajcani J, Mosko T, Rezuchova I. Current developments in viral DNA vaccines: shall they solve the unsolved? [J]. Rev Med Virol, 2005, 15 (5): 303 - 325
- Dudek T, Knipe DM. Replication - defective viruses as vaccines and vaccine vectors [J]. Virology, 2006, 344 (1): 230 - 239
- Shlapobersky M, Marshak JO, Dong L, et al. Vaxfectin - adjuvanted plasmid DNA vaccine improves protection and immunogenicity in a murine model of genital herpes infection [J]. J General Virol, 2012, 93 (Pt 6): 1305 - 1315
- Chiuppesi F, Vannucci L, De Luca A, et al. A lentiviral vector - based, herpes simplex virus 1 (HSV - 1) glycoprotein B vaccine affords cross - protection against HSV - 1 and HSV - 2 genital infections [J]. J Virol, 2012, 86 (12): 6563 - 6574
- Gorander S, Harandi AM, Lindqvist M, et al. Glycoprotein G of herpes simplex virus 2 as a novel vaccine antigen for immunity to genital and neurological disease [J]. J Virol, 2012, 86 (14): 7544 - 7553
- Wizel B, Persson J, Thorn K, et al. Nasal and skin delivery of IC31 ((R)) - adjuvanted recombinant HSV - 2 gD protein confers protection against genital herpes [J]. Vaccine, 2012, 30 (29): 4361 - 4368
- Pan M, Wang X, Liao J, et al. Prediction and identification of potential immunodominant epitopes in glycoproteins B, C, E, G, and I of herpes simplex virus type 2 [J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 205 - 313
- Akhrameyeva NV, Zhang P, Sugiyama N, et al. Development of a glycoprotein D - expressing dominant - negative and replication - defective herpes simplex virus 2 (HSV - 2) recombinant viral vaccine against HSV - 2 infection in mice [J]. J Virol, 2011, 85 (10): 5036 - 5047
- Dasgupta G, BenMohamed L. Of mice and not humans: how reliable are animal models for evaluation of herpes CD8⁺ - T cell - epitopes - based immunotherapeutic vaccine candidates [J]. Vaccine, 2011, 29: 5824 - 5836
- 林颖, 邓宇琳, 王菊勇. 补肾益肺解毒法对 Lewis 肺癌小鼠 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞、Foxp3 及 B7 - H3 的影响 [J]. 河南中医, 2017, 37 (11): 1911 - 1916
- 李穗晖, 吴建奇, 陈瑶, 等. 参桃软肝丸对 H22 肝癌荷瘤小鼠端粒酶活性及 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞比例的影响 [J]. 中医药导报, 2014, 20 (2): 59 - 61, 64
- 程光其. 黄芩清肺汤对肝癌小鼠免疫功能保护作用研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 5: 1 - 3
- 姚庆兰. 香菇多糖对原发性肝癌 TACE 前后外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的影响 [J]. 中国实用医药, 2012, 7 (23): 21 - 22
- 王雪琴, 茅敏. 复方苦参注射液对宫颈癌化疗患者免疫功能影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23 (24): 2690 - 2691
- 游泳, 王红祥, 李秋柏, 等. 参芪扶正注射液对急性髓系白血病患者调节性 T 细胞作用的体外研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2006 (22): 1737 - 1740
- 周群琴, 张爱琴, 陈莎莎, 等. 养正消积胶囊对荷 MFC 胃癌小鼠调节性 T 细胞的影响 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2017, 27 (5): 360 - 363

(收稿日期:2018-07-24)

(修回日期:2018-07-30)

(接第 12 页)

- 程海波, 沈政洁, 孙东东, 等. 抗肿瘤中药对肿瘤微环境的干预作用评述 [J]. 中医杂志, 2014, 55 (15): 1343 - 1346, 1350
- 张获, 陈宜恬, 李荣荣, 等. CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞介导的肿瘤免疫机制探析 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32 (12): 2886 - 2889
- 杨国良, 张学进, 胡丹丹. 肺积方联合化疗对 Lewis 肺癌移植小鼠免疫逃逸相关细胞因子及 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30 (12): 2713 - 2716
- 杨国良, 胡丹丹, 杨玮. 益气养阴方联合化疗抑制 Lewis 肺癌移植小鼠肿瘤生长的疗效与机制 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34 (1): 151 - 156
- 郭净, 王菊勇, 郑展, 等. 肺岩宁方对肺癌小鼠 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞比例及 Foxp3 表达的影响 [J]. 中西医结合学报, 2012, 10 (5): 584 - 590
- 张敏, 赵亚玲, 孙芳云. 红景天提取物对 Lewis 肺癌小鼠移植瘤中 CD4⁺ CD25⁺ Treg 的抑制作用 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20 (4): 444 - 448
- 于明薇, 孙桂芝, 祁鑫, 等. 苏木、苏木 + 黄芪对荷瘤小鼠 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞及相关调控分子的干预作用 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16 (5): 384 - 386

(收稿日期:2018-01-02)

(修回日期:2018-01-14)