

文章编号: 1004-0374(2012)02-0181-04

人3型副流感病毒疫苗的研究进展

闫 微, 井申荣*

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650504)

摘要: 人3型副流感病毒是一种主要感染人类肺部上皮细胞的副黏病毒, 可引起肺炎和支气管炎, 在婴幼儿和免疫力低下的成人中有较高的发病率。经过多年的研究, 对人3型副流感病毒疫苗的研究取得了重要的进展, 但还没有有效的抗病毒药物和批准的疫苗上市。目前研究主要集中在减毒活疫苗及亚单位疫苗等, 对人3型副流感病毒当前疫苗的研究情况做简要的综述。

关键词: 人3型副流感病毒; 疫苗; 减毒活疫苗

中图分类号: R373.13

文献标志码: A

An overview of human parainfluenza virus type 3 vaccine

YAN Wei, JING Shen-Rong*

(Faculty of Life Science and Biotechnology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650504, China)

Abstract: Human parainfluenza virus type 3 (HPIV3) is a respiratory paramyxovirus that infects lung epithelial cells to cause bronchiolitis and pneumonia, and it is also the cause of high morbidity among infant and the immunocompromised elderly people. Although the HPIV3 vaccine research has made important progress after many years of research, no effective antiviral therapy and licensed vaccines exist for HPIV3. Currently, several vaccine development strategies are being explored including live attenuated vaccines and subunit vaccines, etc. This review presented the current vaccine development of human parainfluenza virus type 3.

Key words: human parainfluenza virus type 3; vaccine; live attenuated vaccines

人3型副流感病毒 (human parainfluenza virus type 3, HPIV3) 属于副黏病毒属 (*Paramyxoviridae*), 是负单链 RNA 病毒。HPIV3 作为一种重要的呼吸道病毒, 主要是通过空气传播, 引起急性呼吸道感染, 其感染仅次于呼吸道合胞病毒 (RSV)。HPIV3 主要感染婴幼儿和免疫力低下的成人, 引起肺炎和支气管炎。在接受造血干细胞移植的患者中也有较高的发病率, 从患者的支气管肺泡灌洗液中发现极高的病毒量, 患者病死率高达 38.5%^[1]。

HPIV3 的暴发主要是在每年的春夏两季, 潜伏期一般为 2~6 d。根据血清流行病学研究, 美国 50% 的 1~6 岁儿童已感染过 HPIV3, 而 60%~80% 的感染儿童均在 2~4 岁内^[2]。HPIV3 流行情况在中国的报道较少, 2006 年, 赵林清等^[3] 对北京地区急性呼吸道感染患儿中 HPIV 的感染状况进行了研究, HPIV3 阳性标本占总检测标本的 4.8%。由于

该病毒主要针对的是婴幼儿, 所以很有必要发展一种安全有效的疫苗。

1 病毒感染机制

HPIV3 在感染的初期, 首先是通过血凝素 - 神经酰胺酶 (HN) 与宿主细胞表面的唾液酸受体相结合, 融合蛋白 (F) 与细胞质膜融合, 释放核蛋白复合体 (RNPs), 并进入靶细胞胞质, 使病毒在感染细胞中不断复制。感染的结果取决于靶细胞的特性和它的受体情况, 而具体的发病机制需要对宿主进行

收稿日期: 2011-09-27; 修回日期: 2011-12-04

基金项目: 云南省应用基础研究项目(2007C032M); 国家自然科学基金项目(30872398); 国家高技术研究发展计划(“863”计划)(2006AA02A227)

*通信作者: E-mail: jingshenrong@163.com

相关组织测试才能得知。病毒感染也会导致细胞之间的融合,其中涉及到F和HN蛋白之间的相互作用,以及对已感染的细胞表面和膜邻近未受感染的细胞表面之间的相互作用^[4],HN蛋白又与病毒的释放有关,所以这两种蛋白在病毒的传播中起重要的作用。人肺上皮细胞A549表达了大量的核仁素,它也在HPIV3感染中起着重要的作用^[5]。

2 HPIV3型的疫苗研究

由于HPIV3一般在幼儿出生后的最初几个月暴发,所以最理想的免疫接种时间为出生的头两个月内,有必要研究出安全有效的疫苗。天然杀伤性细胞(natural killer cells, NK细胞)调节过度活跃的T细胞增殖,这可以防止免疫激活和限制免疫损伤,最终导致了病毒持续存在而引发机体再次感染^[6],给疫苗研究又带来了不小的难题。目前所有疫苗仍然对婴幼儿的健康存在一定风险,所有疫苗仍在临床研究中。

2.1 灭活疫苗

灭活疫苗是通过物理和化学方法杀死病原体,注射后促使机体产生抗体抵制病毒入侵。自最早的呼吸道合胞病毒(respiratory syncytical virus, RSV)灭活疫苗在1960年被研制出后,人们开始致力于HPIV3灭活疫苗的研究。Ottolini等^[7]用福尔马林灭活的HPIV3疫苗在棉鼠体内进行实验证明,其并没有产生较强的免疫保护作用,并伴随疾病增强作用。分析原因可能由于灭活疫苗引起的免疫反应主要是体液免疫,不能产生有保护性的CD8⁺T细胞应答,导致疫苗研究的失败。

2.2 减毒活疫苗

减毒活疫苗的研究结果是令人满意的,目前HPIV3主要有两种减毒活疫苗。一种是从受感染的动物体内分离出来的病毒经传代而得到的牛副流感病毒3型(bovine PIV3, BPIV3)疫苗。由于BPIV3和HPIV3的HN及F蛋白的氨基酸序列有75%以上的相似性^[8],所以可以用于HPIV3疫苗的研究,该疫苗经滴鼻免疫后可诱导机体产生黏膜免疫。临床I期的血清学阴性婴幼儿中证明,BPIV3疫苗具有很好安全性、耐受性、保护性。另一种是通过反复冷传代野生毒株,直到病毒失去其原有的致病特性而得到的冷适应型疫苗株cp45。HPIV3cp45具有冷适应、对温度敏感和减毒活性等特点^[9]。温度敏感型的产生被认为是在较高的温度下HPIV3 L基因编码的RNA聚合酶活性下降,降低其对病毒RNA

转录活性的结果。目前该疫苗已进入临床人体试验。在临床I期试验中,HPIV3cp45在1~3个月的血清学阴性婴儿中产生良好的耐受和免疫保护作用^[10],这一结果预示着HPIV3cp45可作为人类候选疫苗使用,对于婴幼儿能有效地刺激产生免疫反应;但由于冷适应性和温度敏感的表型特征并不明确,政府所批准的疫苗试验动物也同样不明确,而且疫苗的效价较低,有待于继续研究。

通过反向遗传学技术重组疫苗株cp45所有已知的突变位点,得到了对温度更加敏感,同时进一步减毒的重组减毒活疫苗rHPIV3cp45。与传统的减毒活疫苗相比,重组疫苗的遗传稳定性增加了。Karron等^[11]分别评估了两种减毒活疫苗的安全性、耐受性、免疫原性,rHPIV3cp45在血清学阴性儿童中具有更好的免疫原性,并且rHPIV3cp45在6~12个月的血清学阴性婴儿中产生了更高的安全性和保护性^[12]。因此,rHPIV3cp45有望成为理想的HPIV3病毒的候选疫苗,需大力加快其临床试验。

2.3 亚单位疫苗

F和HN是HPIV3的两个包膜糖蛋白,属于核心抗原。感染HPIV3能诱发机体产生体液免疫和细胞免疫反应,虽然细胞免疫反应能够制约病毒复制和清除感染初期的HPIV3,但F和HN糖蛋白的中和抗体在长期的免疫保护中仍扮演了重要角色。Durbin和Karron^[13]研究表明,血清和黏膜内的中和抗体能持久防止病毒的再次感染。所以,良好的HPIV3疫苗的的必要条件是诱导机体产生中和抗体。Homa等^[14]实验表明,用昆虫细胞表达这两种蛋白分别接种于棉鼠体内均引起较高的免疫应答反应,并能在短期内阻止病毒的感染。但也因免疫时间较短成本较高,该疫苗并没有进入临床试验。

2.4 核酸疫苗

核酸疫苗又称DNA疫苗,由于比传统的疫苗有较强的免疫保护力并且能够产生持续的免疫应答等优点,是目前疫苗研究的新希望。仙台病毒株(Sendai virus, SeV)作为疫苗的载体,已在动物实验研究中被证明能引发机体稳定和持久的免疫活动,并已经作为HPIV1的一个安全试验疫苗。利用仙台病毒株作为疫苗载体,表达外源基因HPIV3的F和HN,形成rSeV-HPIV3-F和rSeV-HPIV3-HN作为重组疫苗。直接导入动物体细胞内能对HPIV3的感染起一定免疫保护作用^[15],诱导机体产生免疫保护,以达到预防及治疗的目的。在棉鼠体内接种的重组疫苗能诱发机体的中和抗体产生,免疫应答

以辅助性 T 细胞 (Th1) 为主, 并伴有 IFN- γ 水平的增高。接种的棉鼠也对同源或异源的 HPIV3 病毒有交叉保护性。此外, 棉鼠在联合免疫 rSeV-HPIV3-HN 和 SeV-RSV-F 疫苗后, 能够抵抗三种不同病毒: HPIV3、HPIV1 和 RSV 病毒的攻击。这些结果鼓励科学工作者继续研发以重组 SeV 为疫苗用于抗严重的呼吸道疾病的感染。

2.5 嵌合疫苗

RSV 和 HPIV3 均可感染婴幼儿, 研发出同时针对 HPIV3 和 RSV 病毒的疫苗诱导婴幼儿产生保护性免疫反应, 是目前开发儿童呼吸道病毒疫苗的一个最重要的目标。Berkley 等^[16]研究表明, 在肯尼亚地区, RSV 的嵌合疫苗与单独的疫苗相比明显降低了 13 岁以下儿童重症肺炎患者的住院率。利用 BPIV3 病毒为载体表达 HPIV3 的 HN 和 F 蛋白, 得到免疫性良好的 rB/HPIV3, 比 BPIV3 更能产生高水平的抗体^[17]。亦可利用 rB/HPIV3 来表达 RSV 的 F 蛋白 (rB/HPIV3-RSV F) 或同时表达 G 和 F 蛋白 (rB/HPIV3-RSV F+G), rB/HPIV3-RSV F 在恒河猴的试验中同时出现 HPIV3 和 RSV 免疫应答反应, 也在 1~9 岁的血清学阳性儿童中有良好的耐受反应, 而构建表达的 rB/HPIV3-RSV F+G 尚未进入临床试验^[10]。这种方法已被用于麻疹病毒疫苗研发中, 重组的人副流感病毒 3 型用于表达麻疹病毒主要保护抗原血凝素蛋白, 构建了二价 HPIV3-measles 疫苗, 经滴鼻免疫, 对麻疹病毒有很好的免疫保护作用, 具有极其重要的医学研究意义。

甲病毒 RNA 复制子嵌合疫苗对 HPIV3 有良好的免疫力^[18]。以甲病毒自我复制的 RNA 载体, 并用 HPIV3 的 HN 基因取代病毒的结构基因, 保留了病毒的非结构基因, 证明在小鼠和仓鼠中可以诱导机体产生特异性抗体。Greer 等^[19]用辛德毕斯病毒 (Sindbis virus, SINV) 结构蛋白和委内瑞拉马脑炎病毒 (Venezuelan equine encephalitis virus, VEEV) RNA 复制子组成载体, 构建用于表达 HPIV3 病毒的 HN 蛋白的重组病毒样颗粒, 然后采用不同的免疫途径免疫仓鼠。在 6 个月免疫后攻毒, 经检验所有仓鼠都受到保护。疫苗经鼻黏膜免疫可诱导不同黏膜部位及全身系统的免疫反应。甲病毒 RNA 复制子嵌合疫苗与传统疫苗相比安全性更高, 目前已被广泛的用于 HPIV3 候选疫苗和其他呼吸道病毒疫苗的研究。

3 展望

虽然人们对 HPIV3 病毒还没有完全了解, 但

研究人员在 HPIV3 疫苗中已取得了重要进展, 两种类型的减毒活疫苗已进入临床试验评估阶段。HPIV3cp45 候选疫苗在临床 I 和 II 期的结果表明, 在婴幼儿中具有安全有效的免疫原性, III 期试验正在进行中。BPIV3 虽然临床评价才刚刚开始, 但也是一种具有潜力的候选疫苗。重组技术的有效应用进一步改良了传统疫苗, 亚单位疫苗和嵌合疫苗的研究结果是令人满意的。目前所有疫苗仍在继续研究中, 随着生命科学的不断发展, 相信在不久的将来, 一定会研究出安全有效的疫苗用于抵抗人 3 型副流感病毒的感染。

[参 考 文 献]

- [1] Maziarz RT, Sridharan P, Slater S, et al. Control of an outbreak of human parainfluenza virus 3 in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010, 16(2): 192-8
- [2] Peltola V, Heikkinen T, Ruuskanen O. Clinical courses of croup caused by influenza and parainfluenza viruses. *Pediatr Infect Dis J*, 2002, 21(1): 7-8
- [3] 赵林清, 钱渊, 王芳, 等. 北京地区急性呼吸道感染婴幼儿中人副流感病毒感染状况的研究. *中华儿科杂志*, 2007, 45(2): 91-5
- [4] Horga MA, Gusella GL, Greengard O, et al. Mechanism of interference mediated by human parainfluenza virus type 3 infection. *J Virol*, 2000, 74(24): 11792-9
- [5] Bose S, Basu M, Banerjee AK. Role of nucleolin in human parainfluenza virus type 3 infection of human lung epithelial cells. *J Virol*, 2004, 78(15): 8146-58
- [6] Noone CM, Paget E, Lewis EA, et al. Natural killer cells regulate T-cell proliferation during human parainfluenza virus type 3 infection. *J Virol*, 2008, 82(18): 9299-302
- [7] Ottolini MG, Porter DD, Hemming VG, et al. Enhanced pulmonary pathology in cotton rats upon challenge after immunization with inactivated parainfluenza virus 3 vaccines. *Viral Immunol*, 2000, 13(2): 231-6
- [8] Pennathur S, Haller AA, MacPhail M, et al. Evaluation of attenuation, immunogenicity and efficacy of a bovine parainfluenza virus type 3 (PIV-3) vaccine and a recombinant chimeric bovine/human PIV-3 vaccine vector in rhesus monkeys. *J Gen Virol*, 2003, 84(Pt 12): 3253-61
- [9] Karron RA, Belshe RB, Wright PF, et al. A live human parainfluenza type 3 virus vaccine is attenuated and immunogenic in young infants. *Pediatr Infect Dis J*, 2003, 22(5): 394-405
- [10] Schmidt AC, Schaap-Nutt A, Bartlett EJ, et al. Progress in the development of human parainfluenza virus vaccines. *Expert Rev Respir Med*, 2011, 5(4): 515-26
- [11] Karron RA, Casey R, Thumar B, et al. The cDNA-derived investigational human parainfluenza virus type 3 vaccine rcp45 is well tolerated, infectious, and immunogenic in infants and young children. *Pediatr Infect Dis J*, 2011, 30(10): e186-91

- [12] Bernstein DI, Falloon J, Yi T. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2a study of the safety and immunogenicity of a live, attenuated human parainfluenza virus type 3 vaccine in healthy infants. *Vaccine*, 2011, 29(40): 7042-8
- [13] Durbin AP, Karron RA. Progress in the development of respiratory syncytial virus and parainfluenza virus vaccines. *Clin Infect Dis*, 2003, 37(12): 1668-77
- [14] Homa FL, Brideau RJ, Lehman DJ, et al. Development of a novel subunit vaccine that protects cotton rats against both human respiratory syncytial virus and human parainfluenza virus type 3. *J Gen Virol*, 1993, 74 (Pt 9): 1995-9
- [15] Zhan X, Slobod KS, Krishnamurthy S, et al. Sendai virus recombinant vaccine expressing hPIV-3 HN or F elicits protective immunity and combines with a second recombinant to prevent hPIV-1, hPIV-3 and RSV infections. *Vaccine*, 2008, 26(27-28): 3480-8
- [16] Berkley JA, Munywoki P, Ngama M, et al. Viral etiology of severe pneumonia among Kenyan infants and children. *JAMA*, 2010, 303(20): 2051-7
- [17] Karron RA, Thumar B, Schappell E, et al. Evaluation of two chimeric bovine-human parainfluenza virus type 3 vaccines in infants and young children. *Vaccine*, 2011 [Epub ahead of print]
- [18] Greer CE, Zhou F, Legg HS, et al. A chimeric alphavirus RNA replicon gene-based vaccine for human parainfluenza virus type 3 induces protective immunity against intranasal virus challenge. *Vaccine*, 2007, 25(3): 481-9
- [19] Greer CE, Zhou F, Goodsell A, et al. Long-term protection in hamsters against human parainfluenza virus type 3 following mucosal or combinations of mucosal and systemic immunizations with chimeric alphavirus-based replicon particles. *Scand J Immunol*, 2007, 66(6): 645-53