

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00213

## 登革热药物防治研究进展

姬广辉,戴建新\*

第二军医大学国际合作肿瘤研究所,上海 200433

**[摘要]** 登革热作为一种全球性热带传染病,其防治已成为全世界难题。抗体依赖的感染增强作用以及对病毒致病机制的尚未完全阐明均阻碍了登革热预防与治疗药物的发展应用,目前并无临床可用的特异性预防与治疗药物,但近年来,随着登革热发病机制以及治疗方法研究的不断深入,在登革热药物防治方面的研究有了新进展。为更好地认识登革热以及其药物防治研究现状,本文就登革热药物防治方面的最新进展以及存在的主要问题作一综述。

**[关键词]** 登革热;抗体依赖性促进作用;预防;治疗

**[中图分类号]** R 978 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)02-0213-04

### Recent advances in drug prevention and therapy of dengue virus infection

Ji Guang-hui, Dai Jian-xin\*

International Joint Institute of Cancer, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[ABSTRACT]** As a tropical infectious disease, the dengue fever is now one of the most important arthropod-borne diseases from a medical and public health perspective. Antibody-dependent enhancement of dengue virus infection and the unclear pathogenesis mechanism hamper the prevention and treatment of the disease. No efficient preventative and therapeutic drugs are available now, but much progress has been made in the last few years in the drug prevention and therapy of dengue fever. To better understand the current situation, this article reviews the recent advances in the development of anti-dengue vaccines, small-molecule drugs, monoclonal antibodies and the relevant problems.

**[KEY WORDS]** Dengue; antibody-dependent enhancement; prevention; therapy

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(2): 213-216]

登革热病毒为披盖病毒科,黄病毒属,分 DEN-1、DEN-2、DEN-3、DEN-4 四个血清型。登革热以埃及伊蚊和白纹伊蚊的叮咬为传播途径,人群普遍易感。临床上主要引起登革热(Dengue Fever, DF)、登革出血热(Dengue hemorrhagic fever, DHF)、登革休克综合征(dengue shock syndrome, DSS),其中以 DHF/DSS 致死率为高,主要发生于新生儿和二次感染的人群。

世界上约有半数的人口生活在登革热疫区,每年有超过 5 000 万的感染病例,其中 50 万人发展为严重的登革出血热和登革休克综合征,导致 2 万例患者的死亡。目前临床尚无有效的预防及治疗药物,但近年来,随着登革热发病机制以及治疗方法研究的不断深入,在登革热药物防治方面的研究有了新进展。为更好地认识登革热以及其药物防治研究现状、进一步研究登革热的防治,本文主要就登革热疫苗预防、小分子药物和抗体治疗方面的研究进展以及存在的问题作一综述。

### 1 登革热病毒的结构与致病机制

1.1 结构 登革热病毒为单正链 RNA 病毒,只含有 1 个开放阅读框,编码 3 种结构蛋白(核蛋白 C,膜结合蛋白 M 和包膜蛋白 E)和 7 种非结构蛋白(NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b 和 NS5)。其中,C 蛋白包裹病毒 RNA,不诱导机体产生中和性抗体<sup>[1]</sup>;M 蛋白<sup>[2]</sup>与 E 蛋白可诱导产生中和性抗体<sup>[3]</sup>。非结构蛋白可调节病毒基因组的转录和复制,在病毒的复制周期中发挥重要功能;NS1 存在于感染细胞的表面,在病毒 RNA 的复制中发挥重要作用;NS2A 可抑制 IFN 反应,参与了病毒的组装;NS2B 是一种促进因子,在 NS3 蛋白酶解过程中发挥重要作用;NS3 发挥病毒蛋白酶、NTP 酶和螺旋酶的作用;NS4A 和 NS4B 调节 IFN 信号转导;NS5 蛋白是最保守的蛋白质,N 末端有一个甲基转移酶基序,C 末端编码了 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerases, RdRp)<sup>[4]</sup>。针对 NS 的疫苗和单克隆抗体可发

**[收稿日期]** 2008-07-12 **[接受日期]** 2008-08-19

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(“973”计划,2004CB720101)和国家高科技研究发展计划(“863”计划,2006AA02A244)。Supported by National Key Basic R&D Program of China (“973”Program, 2004CB720101) and National High-tech R&D Program (“863” Program, 2006AA02A244)。

**[作者简介]** 姬广辉,硕士生。E-mail: jgh.2007@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author)。Tel: 021-81874348, E-mail: jxdai@smmu.edu.cn

挥保护性作用。

1.2 DHS/DHF的致病机制 关于 DHS/DHF, 主要存在3种假说:第一种为抗体依赖的感染增强作用(antibody dependent enhancement, ADE)。第二种假说为细胞因子风暴说。第三种学说认为登革热病情的严重程度是由病毒毒株的毒力不同所引起<sup>[5]</sup>。其他的影响因素还包括:个人的遗传因素;受感染时机体的免疫状态以及不同个体受感染病毒的量等<sup>[6]</sup>。其中,前两种假说越来越为人们所认识。

ADE假说是由 Halstead 提出,他早期研究发现,部分抗体能够发挥促进感染和加重病情的作用,该假说<sup>[7]</sup>认为,一型 DV 感染后产生的抗体能与所有四型的 DV 起交叉反应,却不能发挥中和作用,而是形成病毒抗体复合物并通过 IgG 的 Fc 受体(FcR)结合到单核细胞系表面,随着吞噬作用病毒得以进入细胞内,进而增强病毒的感染,其中 FcγR II 占主导性作用<sup>[8]</sup>。对于抗体的 ADE 的机制的研究中, Yamanaka 等<sup>[9]</sup>发现血中补体水平控制着抗体的感染增强作用; Huang 等<sup>[10]</sup>研究发现 Anti-prM Ab 在无 FcR 的细胞上依然可以通过分子模拟作用,同时与登革热病毒和靶细胞结合而介导病毒的感染增强作用。ADE 的存在给登革热的疫苗和抗体的发展应用带来了严峻的挑战,因为有效的疫苗和抗体必须同时有效抵抗4种血清的病毒,否则可能因 ADE 而加重疾病进展<sup>[11]</sup>。

细胞因子风暴说认为病毒感染诱导机体产生大量细胞因子尤其是 TNF- $\alpha$ ,能增强登革热病毒感染的内皮细胞产生活性氮和氧,进而引起血管内皮细胞的损害,引起 DHF/DSS 的发生<sup>[12-14]</sup>;而抗 TNF- $\alpha$  的单克隆抗体能够降低受攻击小鼠的死亡率<sup>[15]</sup>。

## 2 药物防治研究进展

2.1 疫苗研究 理想的登革热疫苗必须同时有效针对4种血清型病毒,对9~12个月的婴儿具有较高安全性,并且能够提供长期的保护性免疫。目前有各种类型疫苗:减毒活疫苗、灭活全病毒疫苗、重组亚单位疫苗、DNA疫苗等。鉴于 M 和 E 蛋白包含了主要的中和性抗体表位,用于产生免疫的抗原主要选择 M 与 E 蛋白。减毒活疫苗相比非复制型的灭活全病毒、重组亚单位疫苗或重组 DNA 疫苗,能够更好地诱发机体的保护性免疫反应。因为它能够提供单剂量的快速免疫,而不需要多次加强免疫;能够诱导机体产生更长久的中和性抗体,同时能够有效诱导机体的 T 细胞免疫而产生保护;成本较低,便于推广等优点,因而作为首选疫苗<sup>[16]</sup>。

目前主要有两种策略来开发减毒活疫苗:第一种是采用连续传代的方法来减弱登革热病毒的毒力,进而配伍形成四价疫苗。这类疫苗有曼谷 Mahidol 大学和美国的 Walter-Reed 军事研究所两个小组分别研发。曼谷 Mahidol 大学研制的四价疫苗,其致反应性较强,在儿童和成人难于接受<sup>[17]</sup>。美国的 WalterReed 军事研究所开发并获准生产的四价疫苗,具有较好的耐受性、可接受的致反应性以及不产生严重免疫相关副反应,目前已完成 II 期临床试验<sup>[18]</sup>。

第二种策略是利用基因重组技术制作减毒嵌合活疫苗。将 DEN-4 的 cDNA 克隆的 3'非翻译区进行 30-nt 的缺失突

变形成新的减毒株 rDEN4 $\Delta$ 30,进而将 DEN-1、DEN-2 和 DEN-3 的 prM/E 基因整合入 rDEN4 $\Delta$ 30 骨架区的相应位置形成登革热病毒各亚型的减毒疫苗。单价疫苗单一剂量注射后安全、耐受、较强的免疫原性以及与健康人体内具有遗传稳定性<sup>[19]</sup>。

另一种嵌合疫苗采用了 Acambis 公司开发的 ChimeriVax 疫苗技术。它利用已得到批准应用的 17D 黄热病疫苗病毒(YF-VAX; Aventis Pasteur)作为遗传骨架,将四型登革热病毒的 E 蛋白整合入 17D YF-VAX 骨架而制成。在 I 期临床试验中,首次剂量的单价 ChimeriVax-DEN 2 具有良好的耐受性以及和 YF-VAX 相同的安全性。在 42 个受试的黄热病阴性的志愿者中,产生了 92% 的 DEN-2 血清阳性率,针对异型登革热病毒具有较低的交叉反应性<sup>[20]</sup>。

目前两个主要问题阻碍了登革热活疫苗的发展:(1)诱导体内中性和抗体滴度不平衡可能致 ADE;(2)可能存在的减毒株重新恢复毒力的问题以及可能通过易感蚊子而传播。针对存在的问题,还需要在以下方面进行努力:对每株病毒亚型进行适当减毒以达到最小致反应性和最大的免疫原性,进行配伍优化以最大程度减少各型减毒病毒之间的干扰及产生相对均衡的中性和抗体。

2.2 抗病毒小分子药物 直接的抗病毒药物则可以避免减毒活疫苗存在的潜在问题;阻断病毒生活周期关键步骤的药物可以同时阻断所有型登革热病毒以及其他黄病毒属病毒,更为重要的是不必激活机体的免疫系统从而避免了 ADE 的危险。

抑制病毒进入宿主细胞的抑制剂早有报道。这些抗病毒复合物可分为:多金属氧酸盐类和硫酸多糖类。多金属氧酸盐类 polyoxotungstates 能够体外抑制登革热病毒的感染而不引起明显的细胞毒性<sup>[21]</sup>;硫酸多糖类复合物,作为登革热病毒的受体分子类似物,在人和猴细胞中能够抑制 DENV-2 的吸附和内吞<sup>[22]</sup>。

基于反义 RNA<sup>[23]</sup>、核酶以及干扰 RNA<sup>[24]</sup> 的治疗策略则可以靶向登革热病毒的 RNA,针对病毒复制过程中的关键性步骤特异性抑制病毒的复制。RNA 沉默(siRNA)在组织培养中展示出了抗登革热病毒的作用<sup>[25]</sup>。病毒 RNA 翻译后形成的多蛋白体必须经过酶切后才能形成有功能的蛋白,因此,病毒蛋白酶已成为抗病毒药物设计的重要靶点,病毒非结构蛋白 NS3 和 NS5 成为重要靶点。蛋白酶 NS3 的螺旋酶和蛋白酶活性在病毒复制和感染中发挥重要作用,一些天然复合物,例如环己烯查耳酮衍生物,能够有效抑制 DEN-2 的 NS3 蛋白酶活性而发挥体外抗病毒作用<sup>[26]</sup>。一些模拟蛋白酶的底物类似物可通过结合其催化位点从而抑制 NS3 的蛋白酶活性;含有胍基的复合物通过与活性位点的 Ser135 残基形成氢键来抑制 NS3 蛋白酶活性<sup>[27]</sup>。目前已有一些抑制西尼罗河病毒和日本脑炎病毒 NS3 螺旋酶的低相对分子质量复合物,尚没有针对登革热 NS3 螺旋酶的药物。登革热病毒 NS5 具有 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerases, RdRp)及甲基转移酶活性,同时是黄病毒属病毒结构中最保守的蛋白,是理想的药物靶点。目前尚无 NS5 特异性抑制剂,但其晶体结构已完成,详细的

结构信息能为小分子药物的设计提供重要依据<sup>[28]</sup>。

尽管已有一些 DENV 的抑制剂,但只能抑制病毒生长繁殖,无法体内清除病毒,其透膜性及特异性尚待提高;缺乏相关体内功能研究。

2.3 单克隆抗体 病毒性疾病的免疫球蛋白治疗是病毒性疾病治疗的重要方式,单克隆抗体同小分子化合物相比具有其特殊的优越性:高效、特异性强,副作用小,不仅能中和病毒,还能通过 CDC 和 ADCC 作用激活体内免疫系统清除病毒。

针对结构蛋白 E 和 M 的单克隆抗体均可发挥中和作用<sup>[29-30]</sup>。但 E 蛋白 DIII(EDIII)被认为是包含主要受体结合区域和保护性抗体的表位区,针对 EDIII 的单克隆抗体可以发挥小鼠的体内保护作用<sup>[31]</sup>。Lai 等<sup>[32]</sup>成功成功构建了针对四型登革病毒的黑猩猩 Fab 抗体库,先后成功筛选得到了针对 DENV4 和 DENV1、DENV2 的 Fab 段并与人 Fc 段连接成功构建了人源化嵌合抗体,并利用此抗体成功地保护小鼠和恒河猴抵抗登革热病毒的致死性攻击<sup>[32-33]</sup>。单克隆抗体不仅能发挥中和作用阻断病毒的黏附,而且能发挥一定治疗作用,在病毒吸附靶细胞之后依然有一部分抗体能够发挥其保护作用<sup>[34]</sup>。

ADE 是单克隆抗体治疗的潜在危险因素。研究人员发现,将抗体 Fc 段 CH2 结构域 Fc-FcR 结合区的 9 个氨基酸进行缺失突变后,可以体外消除抗体的 ADE,这一研究可以大大降低单克隆抗体的应用危险<sup>[35]</sup>。

在对其非结构蛋白的研究过程中发现,针对非结构蛋白 NS1 和 NS3 的单克隆抗体亦能在体内发挥一定抗病毒作用,其保护机制尚不十分明确<sup>[36-37]</sup>。有研究发现抗 NS1 的单克隆抗体可通过 IFN- $\gamma$  来发挥其保护作用<sup>[38]</sup>。ADE 主要由 mAb 与病毒表面蛋白结合而介导,而非结构蛋白由于不表达于病毒表面,从而在一定程度上防止了 ADE 的产生。但由于体内非结构蛋白抗体的保护作用是有限的,如何更加有效地利用非结构蛋白产生足够的保护作用,也将是研究的问题之一。

目前两个方面阻碍了单克隆抗体的治疗应用:(1)非人源抗体较强的免疫原性,尚未见有全人源登革热抗体保护作用的报道;(2)ADE 的存在。虽然报道了突变抗体 Fc 而消除 ADE,但体内的安全性研究未见报道。

### 3 展望

登革热发病人数逐年增加,临床并无有效预防与治疗措施。然而,在登革热的预防和治疗方面已经取得了显著的成就。目前已有多种有应用前景的登革热疫苗和抗病毒药物正在开发,但尚无一种正式批准进入临床应用,仍存在许多亟待解决的问题:四价减毒活疫苗诱发体内中和性抗体滴度的不平衡性、ADE 的存在以及病毒毒力的问题;抗病毒小分子药物的透膜及特异性问题,体内试验的缺乏;针对四种血清型登革热病毒的中和性抗体的进一步筛选、ADE 的消除以及人源化问题。针对以上问题,我们还需在以下几方面进行努力:(1)进行减毒活疫苗的减毒及配伍优化,同时进行有效亚单位疫苗的开发;(2)建立登革热小分子药物筛选平台,

积极进行药物透膜的改进,进一步提高其特异性,建立合适的动物模型进行体内研究;(3)运用多种方法进行中和性抗体的大量筛选工作,得到针对四种血清型登革热病毒的中和性抗体,构建并储备无 ADE 作用的人源化抗体。

### [参考文献]

- [1] Lazo L, Hermida L, Zulueta A, Sánchez J, López C, Silva R, et al. A recombinant capsid protein from Dengue-2 induces protection in mice against homologous virus[J]. *Vaccine*, 2007, 25: 1064-1070.
- [2] Kaufman B M, Summers P L, Dubois D R, Cohen W H, Gentry M K, Timchak R L, et al. Monoclonal antibodies for dengue virus prM glycoprotein protect mice against lethal dengue infection[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 1989, 41: 576-580.
- [3] Chen S, Yu M, Jiang T, Deng Y, Qin C, Qin E. Induction of tetra-valent protective immunity against four dengue serotypes by the tandem domain III of the envelope protein[J]. *DNA Cell Biol*, 2007, 26: 361-367.
- [4] Stephenson J R. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design[J]. *Bull World Health Organ*, 2005, 83: 308-314.
- [5] Zulkarnain E, Hotta S, Takegami T. Molecular comparison of dengue type 1 Mochizuki strain virus and other selected viruses concerning nucleotide and amino acid sequences of genomic RNA: a consideration of viral epidemiology and variation[J]. *Microbiol Immunol*, 1994, 38: 581-585.
- [6] de la C Sierra, Kouri G, Guzmán M G. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever[J]. *Arch Virol*, 2007, 152: 533-542.
- [7] Ehrenkranz N J, Ventura A K, Cuadrado R R, Pond W L, Porter J E. Halstead hypothesis[J]. *N Engl J Med*, 1972, 286: 845.
- [8] Boonnak K, Slike B M, Burgess T H, Mason R M, Wu S J, Sun P, et al. Role of dendritic cells in antibody-dependent enhancement of dengue virus infection[J]. *J Virol*, 2008, 82: 3939-3951.
- [9] Yamanaka A, Kosugi S, Konishi E. Infection-enhancing and -neutralizing activities of mouse monoclonal antibodies against dengue type 2 and 4 viruses are controlled by complement levels [J]. *J Virol*, 2008, 82: 927-937.
- [10] Huang K J, Yang Y C, Lin Y S, Huang J H, Liu H S, Yeh T M. The dual-specific binding of dengue virus and target cells for the antibody-dependent enhancement of dengue virus infection [J]. *J Immunol*, 2006, 176: 2825-2832.
- [11] Thomas S, Redfern J B, Lidbury B A, Mahalingam S. Antibody-dependent enhancement and vaccine development [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2006, 5: 409-412.
- [12] Chaturvedi U C, Agarwal R, Elbishbishi E A, Mustafa A S. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis[J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2000, 28: 183-188.
- [13] Pang T, Cardoso M J, Guzman M G. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS) [J]. *Immunol Cell Biol*, 2007, 85: 43-45.
- [14] Yen Y T, Chen H C, Lin Y D, Shieh C C, Wu-Hsieh B A.

- TNF- $\alpha$  enhancing dengue virus-induced endothelium production of reactive nitrogen and oxygen species is key to hemorrhage development[J]. *J Virol*,2008,82:12312-12324.
- [15] Atrasheuskaya A, Petzelbauer P, Fredeking T M, Ignatyev G. Anti-TNF antibody treatment reduces mortality in experimental dengue virus infection[J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2003,35:33-42.
- [16] Robert Putnak J, Collier B A, Voss G, Vaughn D W, Clements D, Peters I, et al. An evaluation of dengue type-2 inactivated, recombinant subunit, and live-attenuated vaccine candidates in the rhesus macaque model[J]. *Vaccine*,2005,23:4442-4452.
- [17] Sabchareon A, Lang J, Chanthavanich P, Yoksan S, Forrat R, Attanath P, et al. Safety and immunogenicity of a three dose regimen of two tetravalent live-attenuated dengue vaccines in five- to twelve-year-old Thai children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2004,23:99-109.
- [18] Sun W, Cunningham D, Wasserman S S, Perry J, Putnak J R, Eckels K H, et al. Phase 2 clinical trial of three formulations of tetravalent live-attenuated dengue vaccine in flavivirus-naïve adults[J]. *Hum Vaccin*,2008-01-27. [Epub ahead of print].
- [19] Durbin A P, Karron R A, Sun W, Vaughn D W, Reynolds M J, Perreault J R, et al. Attenuation and immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in its 3'-untranslated region[J]. *Am J Trop Med Hyg*,2001,65:405-413.
- [20] Guirakhoo F, Kitchener S, Morrison D, Forrat R, McCarthy K, Nichols R, et al. Live attenuated chimeric yellow fever dengue type 2 (ChimeriVax-DEN2) vaccine; Phase I clinical trial for safety and immunogenicity; effect of yellow fever pre-immunity in induction of cross neutralizing antibody responses to all 4 dengue serotypes[J]. *Hum Vaccin*,2006,2:60-67.
- [21] Shigeta S, Mori S, Kodama E, Kodama J, Takahashi K, Yamase T. Broad spectrum anti-RNA virus activities of titanium and vanadium substituted polyoxotungstates[J]. *Antiviral Res*,2003, 58:265-271.
- [22] Talarico L B, Pujol C A, Zibetti R G, Faría P C, Noseda M D, Duarte M E, et al. The antiviral activity of sulfated polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell[J]. *Antiviral Res*,2005,66:103-110.
- [23] Warfield K L, Panchal R G, Aman M J, Bavari S. Antisense treatments for biothreat agents[J]. *Curr Opin Mol Ther*,2006, 8:93-103.
- [24] Haasnoot P C, Cupac D, Berkhout B. Inhibition of virus replication by RNA interference[J]. *J Biomed Sci*,2003,10(6 Pt 1): 607-616.
- [25] Zhang W, Singam R, Hellermann G, Kong X, Juan H S, Lockey R F, et al. Attenuation of dengue virus infection by adeno-associated virus-mediated siRNA delivery[J]. *Genet Vaccines Ther*,2004,2:8.
- [26] Kiat T S, Phippen R, Yusof R, Ibrahim H, Khalid N, Rahman N A. Inhibitory activity of cyclohexenyl chalcone derivatives and flavonoids of fingerroot, *Boesenbergia rotunda* (L.), towards dengue-2 virus NS3 protease[J]. *Bioorg Med Chem Lett*,2006, 16:3337-3340.
- [27] Chanprapaph S, Sarpapakorn P, Sangma C, Niyomrattanakit P, Hannongbua S, Angsuthanasombat C, et al. Competitive inhibition of the dengue virus NS3 serine protease by synthetic peptides representing polyprotein cleavage sites[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2005,330:1237-1246.
- [28] Rawlinson S M, Pryor M J, Wright P J, Jans D A, et al. Dengue virus RNA polymerase NS5: a potential therapeutic target [J] ? *Curr Drug Targets*,2006,7:1623-1638.
- [29] Kaufman B M, Summers P L, Dubois D R, Cohen W H, Gentry M K, Timchak R L, et al. Monoclonal antibodies for dengue virus prM glycoprotein protect mice against lethal dengue infection[J]. *Am J Trop Med Hyg*,1989,41:576-580.
- [30] Apt D, Raviprakash K, Brinkman A, Semyonov A, Yang S, Skinner C, et al. Tetravalent neutralizing antibody response against four dengue serotypes by a single chimeric dengue envelope antigen[J]. *Vaccine*,2006,24:335-344.
- [31] Crill W D, Roehrig J T. Monoclonal antibodies that bind to domain III of dengue virus E glycoprotein are the most efficient blockers of virus adsorption to Vero cells[J]. *J Virol*,2001,75: 7769-7773.
- [32] Lai C J, Goncalvez A P, Men R, Wernly C, Donau O, Engle R E, et al. Epitope determinants of a chimpanzee dengue virus type 4 (DENV-4)-neutralizing antibody and protection against DENV-4 challenge in mice and rhesus monkeys by passively transferred humanized antibody[J]. *J Virol*, 2007, 81: 12766-12774.
- [33] Goncalvez A P, Men R, Wernly C, Purcell R H, Lai C J, et al. Chimpanzee Fab fragments and a derived humanized immunoglobulin G1 antibody that efficiently cross-neutralize dengue type 1 and type 2 viruses[J]. *J Virol*,2004,78:12910-12918.
- [34] Hung S L, Lee P L, Chen H W, Chen L K, Kao C L, King C C, et al. Analysis of the steps involved in Dengue virus entry into host cells[J]. *Virology*,1999,257:156-167.
- [35] Goncalvez A P, Engle R E, St Claire M, Purcell R H, Lai C J. Monoclonal antibody-mediated enhancement of dengue virus infection *in vitro* and *in vivo* and strategies for prevention[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2007,104:9422-9427.
- [36] Calvert A E, Huang C Y, Kinney R M, Roehrig J T. Non-structural proteins of dengue 2 virus offer limited protection to interferon-deficient mice after dengue 2 virus challenge[J]. *J Gen Virol*,2006,87(Pt 2):339-346.
- [37] Tan C H, Yap E H, Singh M, Deubel V, Chan Y C. Passive protection studies in mice with monoclonal antibodies directed against the non-structural protein NS3 of dengue 1 virus[J]. *J Gen Virol*,1990,71(Pt 3):745-749.
- [38] Chung K M, Nybakken G E, Thompson B S, Engle M J, Marri A, Fremont D H, et al. Antibodies against West Nile Virus non-structural protein NS1 prevent lethal infection through Fc gamma receptor-dependent and -independent mechanisms [J]. *J Virol*,2006,80:1340-1351.