

DOI:10.16781/j.CN31-2187/R.20220074

• 综述 •

基孔肯雅病毒疫苗研究新进展

潘振东, 赵平*

海军军医大学(第二军医大学)海军医学系生物医学防护教研室, 上海 200433

[摘要] 基孔肯雅热(CHIKF)是由基孔肯雅病毒(CHIKV)引起的以发热、皮疹和慢性关节痛为主要症状的急性传染病。CHIKF每年在全球100多个国家和地区发病约100万例,已成为重要的全球性公共卫生问题之一。疫苗接种是预防传染病最重要、最有效和最经济的手段,但是由于基础研究和临床试验的资金投入不足以及病毒持续发生适应性突变等原因,导致针对CHIKV的疫苗研发进程总体较为缓慢,迄今还没有CHIKV疫苗被批准用于临床,但已有多种候选疫苗正在进行临床试验。本综述对近年来CHIKV疫苗研究取得的进展进行了概述。

[关键词] 基孔肯雅病毒; 基孔肯雅热; 病毒疫苗; 病毒样颗粒

[中图分类号] R 511 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-1338(2022)12-1437-08

Vaccine of Chikungunya virus: an update

PAN Zhen-dong, ZHAO Ping*

Department of Biomedical Defense, Faculty of Naval Medicine, Naval Medical University (Second Military Medical University) Shanghai 200433, China

[Abstract] Chikungunya fever (CHIKF) is an acute infectious disease caused by Chikungunya virus (CHIKV) and characterized by fever, rash and chronic joint pain. CHIKF has become one of the important global public health issues, with about 1 million cases in more than 100 countries and regions around the world each year. Vaccination is the most important, effective and economical means to prevent infectious diseases. However, due to insufficient funding for basic researches and clinical trials, as well as the continuous adaptive mutations of the virus, the development process of vaccine against CHIKV is generally slow. No licensed vaccine is yet available to prevent CHIKF, but there have been several vaccine candidates undergoing clinical trials. This review briefly summarizes the research progress on CHIKV vaccines in recent years.

[Key words] Chikungunya virus; Chikungunya fever; viral vaccine; virus-like particle

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(12): 1437-1444]

基孔肯雅病毒(Chikungunya virus, CHIKV)属于披膜病毒科中的甲病毒属,是有包膜的单股正链RNA病毒。CHIKV基因组长11 805 bp,由2个开放阅读框(open reading frame, ORF)组成,其5'端ORF编码4种非结构蛋白(nonstructural protein, nsP),即nsP1~nsP4,而3'端ORF编码6种结构蛋白[衣壳(capsid, C)蛋白、包膜(envelope, E)1~E3蛋白、6K蛋白和核糖体移码蛋白]^[1-2]。nsP与病毒复制密切相关。在结构蛋白中,E2蛋白介导病毒与宿主受体之间的相互作用,E1蛋白介导病毒包膜与宿主细胞的膜融合,E3蛋白可促进p62(E2蛋白的前体)的折叠及E2

蛋白与E1蛋白形成异二聚体,后者进一步形成三聚体并镶嵌在病毒体表面,即病毒刺突蛋白^[3]。动物实验和流行病学研究发现,针对CHIKV E2和E1蛋白尤其是E2蛋白的中和抗体具有良好的保护作用,因此大部分CHIKV疫苗都以E2蛋白和E1蛋白作为靶抗原^[4-6]。此外,近年有研究证实基质重塑相关蛋白8(matrix remodeling-associated protein 8, Mxra8)是多种新出现的致关节炎性甲病毒如CHIKV、罗斯河病毒(Ross river virus, RRV)、马雅罗病毒(Mayaro virus, MAYV)和阿良良病毒(O'nyong-nyong virus, ONNV)等进入细胞的受体,CHIKV E2蛋白为该受体的配体,这一发现

[收稿日期] 2022-01-18

[接受日期] 2022-07-01

[基金项目] 国家重点研发计划(2016YFC1200401)。Supported by National Key Research and Development Plan of China (2016YFC1200401)。

[作者简介] 潘振东,硕士生。E-mail: 1402475666@qq.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81870998, E-mail: pnzhao@163.com

为防治致关节炎性甲病毒感染提供了重要的方向和策略^[7-8]。CHIKV感染机体后诱导产生抗病毒适应性免疫应答,包括体液免疫应答(IgM和IgG应答)和细胞免疫应答(CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞应答)^[9-14],针对E2蛋白的中和抗体以及针对病毒结构蛋白和nsP的细胞免疫应答对于控制病毒感染均发挥了重要作用。

系统发育分析提示,CHIKV可分为4种基因型[西非型、亚洲型、东非/中非/南非型(East/Central/South African genotype, ECSA)及从ECSA进化出的印度洋型(Indian Ocean lineage, IOL)^[15-16]。感染基孔肯雅热(Chikungunya fever, CHIKF)的患者中75%~95%有症状,高达60%的患者关节痛症状会持续数年^[17],严重影响了患者的生活质量。CHIKF急性期的临床表现如高热、皮疹、肌痛等大多在2周内消失,但关节炎和关节痛可能会持续数月或数年^[16]。关节痛通常是对称的,并且90%的患者会累及上肢和下肢;大关节几乎都有症状,小关节和脊柱也是如此,还可能引发关节周围水肿和急性关节炎,尤其在指间关节、腕关节、踝关节及韧带止点处^[16]。CHIKV于1952年至1953年在坦桑尼亚首次被分离出来,随后CHIKF多次在非洲、南亚、东南亚等地暴发和流行。CHIKF每年在全球100多个国家和地区发病约100万例,已成为重要的全球公共卫生问题之一,其病死率约为0.1%,死亡病例主要为新生儿和患有基础疾病的人群^[17-18]。近年来我国也面临CHIKF输入的严峻挑战,境外输入时有发生,涉及广东、云南、浙江、山东、天津、辽宁等多个省份^[19-22]。受全球化进程不断加快、人口流动性增加、城市化进程加快以及全球气候变暖等因素的影响,病毒持续发生适应性突变,对疫苗研发提出新的挑战。疫苗接种是预防传染病最重要、最有效和最经济的手段,迄今为止还没有CHIKV疫苗被批准应用于临床,但有一些候选疫苗正处在动物实验的临床前研究阶段,并有多款候选疫苗通过了I期和II期临床试验并展现出良好的效果^[23]。本文综述了近年来基于不同策略研发的CHIKV候选疫苗,包括重组病毒载体疫苗、亚单位疫苗、全病毒疫苗、核酸疫苗等,分析了它们各自的特点和优势,对后续疫苗的研发提供参考。

1 病毒载体疫苗

病毒载体疫苗是指利用基因工程技术将外源

保护性抗原基因插入到复制能力缺陷的载体病毒基因组中制备重组病毒,接种机体后重组病毒基因组中的抗原基因表达出抗原蛋白,从而诱导免疫应答的一类载体疫苗。病毒载体疫苗具有允许大片段外源基因插入、接种途径多、作用时间久、免疫原性强、能诱导产生体液免疫和细胞免疫反应,以及易生产制备等优点。呼吸道腺病毒虽然是最常用的病毒载体,但可能因人群具有针对病毒载体的预存免疫而影响其实际的免疫效果。此外,病毒载体潜在的致病性及致癌风险也需要纳入考虑,其有效性和长期安全性需进一步评估。

人群针对黑猩猩腺病毒的预存免疫较弱,因此它被越来越多地用作病毒疫苗载体。López-Camacho等^[4]利用复制缺陷型黑猩猩腺病毒载体ChAdOx1设计了2款表达CHIKV结构蛋白的病毒载体疫苗,包括表达全长结构蛋白的疫苗(ChAdOx1 sCHIKV)和蛋白缺失的疫苗(ChAdOx1 sCHIKVΔC)。研究者采用单针免疫的方法将这2款疫苗分别接种于BALB/c小鼠($n=6$),结果显示以上2款疫苗均具有较强的免疫原性,能够诱导特异性T细胞应答和针对CHIKV E2蛋白的早期、特异和持久的B细胞应答。

Campos等^[24]在A129小鼠模型中证实了上述2款疫苗对CHIKV感染的保护效果,结果显示这2款疫苗对A129小鼠均是安全的,且单针免疫即可对致死剂量的病毒攻击提供完全保护作用并抑制CHIKV感染相关的炎症反应。这2款候选疫苗的有效率与减毒疫苗CHIKV 181/25相当,但不会引起减毒疫苗相关的如体重减轻等不良反应。Folegatti等^[25]开展了I期临床试验来评估ChAdOx1 sCHIKV的安全性、耐受性以及疫苗诱导产生体液免疫和细胞免疫应答的免疫原性,该试验招募了24名18~50岁的成年健康受试者,分为3个剂量组接受ChAdOx1 sCHIKV单针免疫,接种剂量分别为 5×10^9 病毒颗粒数(viral particle, vp)($n=6$)、 2.5×10^{10} vp($n=9$)和 5×10^{10} vp($n=9$)。结果显示,该疫苗在免疫剂量为 5×10^{10} vp时仍是安全的,未观察到严重不良反应。通过蚀斑减少中和试验(plaque reduction neutralization test, PRNT)检测受试者血清中和抗体滴度,结果显示3个剂量组都表现出很强的免疫原性,在接种后第14天体内针对3个CHIKV谱系(IOL、西非型和亚洲型)代表性毒株的血清中和抗体转化率均达到

100%。通过干扰素 γ (interferon γ , IFN γ) 酶联免疫斑点试验 (enzyme-linked immunospot assay, ELISpot) 检测外周血单核细胞的细胞免疫应答, 结果显示该疫苗接种能有效诱导分泌 IFN γ 的 T 细胞, 在接种后第 14 天达到峰值, 并在接种后第 28 天仍高于基线水平。该疫苗不需要佐剂, 在低剂量也展现出较强的免疫原性, 具有良好的应用前景。但该试验也存在一定的局限性, 比如随访期短 (6 个月), 样本量较少, 开放标记, 非随机、非对照的实验设计等问题。

除腺病毒载体外, 麻疹病毒 (measles virus, MV) 载体也有良好的应用前景。MV 载体可稳定携带长达 5 kb 的异源基因^[26]。Ramsauer 等^[27] 为评估 1 款 CHIKV 重组 MV 载体疫苗 (MV-CHIKV) 的免疫原性、安全性和耐受性, 在奥地利进行了随机、双盲、安慰剂对照、阳性对照和剂量递增的 I 期临床试验。MV-CHIKV 以具有完全复制能力的减毒麻疹疫苗 Schwarz 株为载体, 其抗原基因为 2006 年在法属留尼汪岛分离得到的 CHIKV 毒株的结构蛋白 C、E3、E2、6K 和 E1 基因。该试验将健康成年受试者随机分为 4 组, 分别为低剂量组 [1.5×10^4 半数组织培养感染剂量 (50% tissue culture infective dose, TCID₅₀)]、中剂量组 (7.5×10^4 TCID₅₀)、高剂量组 (3.0×10^5 TCID₅₀) 和安慰剂对照组, 于第 0 天进行首次免疫, 第 28 天或第 90 天进行加强免疫来评估疫苗免疫原性。在第 28 天进行加强免疫是为了评估 2 针较近时间间隔接种策略的有效性, 这一策略适合前往 CHIKV 流行地区的游客和医疗工作者; 第 90 天进行加强免疫有利于评估首次免疫后中和抗体滴度的持续性, 以及在 >28 d 的较长时间间隔后给予加强免疫所产生的免疫应答的强弱, 并可能有助于中和抗体的亲和力成熟。结果显示, 接种第 1 针疫苗后, 低剂量组和中剂量组受试者的抗体几何平均滴度在 3 个月内逐渐下降, 而高剂量组受试者的抗体几何平均滴度保持稳定, 因此他们推荐使用高剂量 ($>1 \times 10^5$ TCID₅₀) 进行单针疫苗接种。但无论 2 次免疫的时间间隔长短, 加强免疫后抗体反应均增强, 血清转化率均达到 100%。此外, 该疫苗总体上具有良好的安全性, 未发现与疫苗接种相关的严重不良事件, 是第 1 个有希望应用于临床的 MV 载体候选疫苗。

为了确定 III 期临床试验疫苗注射剂量和加强

免疫方案, 并考察体内已存在的 MV 抗体对 MV-CHIKV 免疫原性的影响, Reisinger 等^[28] 在奥地利进行了双盲、随机、安慰剂对照、阳性对照的 II 期临床试验。他们发现在 50%~93% 的受试者中单次 MV-CHIKV 免疫可诱导产生中和抗体, 加强免疫可诱导产生更高滴度的抗体。在接种 1~6 个月后所有免疫组个体的血清转化率为 86%~100%。与低剂量 (5×10^4 TCID₅₀) 相比, 高剂量 (5×10^5 TCID₅₀) 的 MV-CHIKV 增加了体内中和抗体滴度。此外, 在第 6 个月时加强免疫比在第 1 个月时进行加强更能增加中和抗体滴度, 说明仍需进一步探索加强免疫效果的接种策略。该试验证明体内已存在的 MV 抗体并不影响 MV-CHIKV 的免疫原性。此外, 该疫苗除诱导产生针对 CHIKV 结构蛋白的免疫应答外, 也诱导产生 MV 特异性 IgG, 表明 MV 载体骨架也诱导免疫应答。尽管接种疫苗的受试者发生注射部位局部疼痛或硬化的比例高于对照组, 但总体不良反应事件的发生率与对照组相比差异没有统计学意义。综上所述, MV-CHIKV 是一款安全、耐受性良好、免疫原性强和具有良好发展前景的 CHIKV 候选疫苗, 后续的研究中还需要评估免疫反应长期的持久性以及 MV-CHIKV 诱导产生的中和抗体针对其他 CHIKV 基因型的中和能力。根据上述 2 项临床试验结果, Tschismarov 等^[29] 发现 MV-CHIKV 加强免疫 (仅相对于单次免疫) 可诱导更高水平、更持久的中和抗体应答, 以及更强的、由 Fab 段和 Fc 段介导的免疫保护作用。MV-CHIKV 的加强免疫策略被认为是在 CHIKV 流行的情况下获得长期保护效应的首选方案。

2 全病毒疫苗

2.1 减毒活疫苗 减毒活疫苗是指在体外培养的过程中诱导病原体发生突变, 使其在正常个体中失去致病性, 但仍保留其免疫原性, 接种于机体后可刺激机体产生特异性免疫应答, 但不会引起疾病的一类疫苗。与灭活疫苗相比, 该类疫苗的免疫性强、无需免疫佐剂, 通常只需接种 1 次, 但其具有复制能力和潜在的致病风险。

用反向遗传学技术对病毒基因组进行定点突变是近年来兴起的研制减毒活疫苗的有效方法。Roques 等^[30] 利用该技术删除 nsP3 复制酶基因中长度为 180 个核苷酸的片段, 研发出减毒疫苗

$\Delta 5nsP3$, 这种删除被证明是稳定且不可恢复的。在研究开始的第42天对猕猴进行单针皮下注射 $\Delta 5nsP3$, 在第123天进行攻毒之后未观察到明显的回忆应答, 说明接种疫苗后产生的免疫应答足以防止病毒感染。该疫苗能够诱导产生T细胞免疫应答和强大、持久的保护性抗体应答, 且抗体针对不同基因型CHIKV具有交叉中和作用。值得注意的是, $\Delta 5nsP3$ 诱导产生的抗体水平与野生型CHIKV感染产生的抗体水平相当。

为了评估 $\Delta 5nsP3$ 疫苗的安全性和免疫原性, Wressnigg等^[31]在健康人群中进行了该疫苗的I期随机、对照、单盲、多中心临床试验。受试者被随机分为3个剂量组, 分别为低剂量组(3.2×10^3 TCID₅₀, $n=31$)、中等剂量组(3.2×10^4 TCID₅₀, $n=30$)和高剂量组(3.2×10^5 TCID₅₀, $n=59$), 各组均在第0天接种 $\Delta 5nsP3$ 。3个剂量组在单针接种后均显示出良好的安全性和很强的免疫原性, 在接种后的14d内血清转化率达100%并一直持续到第12个月。低剂量组和中等剂量组受试者在第6个月时进行加强免疫, 剂量为 3.2×10^5 TCID₅₀; 在第6个月时将高剂量组受试者随机分为两组, 分别在第6个月时和第12个月时进行加强免疫, 剂量为 3.2×10^5 TCID₅₀。94%~100%的受试者再次免疫后未观察到回忆免疫应答, 即使距离初次接种12个月后再接种也不会引起血清中和抗体滴度升高4倍, 表明单次免疫足以诱导产生持续的高滴度中和抗体。该试验仅研究了一种同源性病毒株VLA1553, 不能预测该疫苗对其他基因型CHIKV的交叉保护作用。此外, 这项研究仅限于评估该疫苗在健康成年人中的安全性和免疫原性, 而且受试者大多为白种人, 具有一定的局限性。

2.2 灭活疫苗 灭活疫苗是指用物理或化学方法将体外培养出的具有感染性的病毒或细菌杀死, 但同时保持其抗原颗粒的完整性, 从而使其失去致病力而保留免疫原性的一类疫苗。灭活疫苗既可由完整的病毒或细菌组成, 也可由其裂解产物组成。病原体灭活后会失去感染性, 因此灭活疫苗最大的优点是安全性高, 且易于保存, 其缺点是免疫原性低、维持免疫效果常需多次免疫, 且主要诱导产生体液免疫应答, 难以产生较强的黏膜免疫应答等。

Rudd等^[32]利用新的皮肤输送技术Foroderm在小鼠模型中试验了一款非佐剂化的CHIKV全病

毒灭活疫苗。Foroderm技术使用3D打印的微结构敷贴器, 将高纵横比、圆柱形的二氧化硅颗粒通过表皮输送抗原, 促进疫苗由皮下向真皮转移并快速转移至引流淋巴结。基于Foroderm技术的单针疫苗局部免疫可诱导产生T细胞应答和抗体应答, 免疫小鼠受病毒攻击时不会引起病毒血症和关节炎, 为小鼠提供了完全保护作用。

3 亚单位疫苗

亚单位疫苗是指以病原微生物的特定蛋白质结构作为靶抗原、辅以免疫佐剂而制备成的疫苗。其中靶抗原可通过化学分解培养的病原体或基因工程重组表达而获得。亚单位疫苗仅由具有免疫原性的蛋白质构成, 安全性高, 且避免产生由无关抗原诱导的免疫应答, 减少了疫苗的不良反应, 但其免疫原性通常较低, 需与佐剂联用才能发挥免疫保护作用。

目前大部分亚单位疫苗是以CHIKV E2和E1蛋白为疫苗抗原以诱导中和抗体。Kumar等^[33]基于E2蛋白设计出亚单位疫苗, 将ECSA型CHIKV E2蛋白编码基因插入到pET15b载体中, 表达并纯化得到E2蛋白rE2p。结果显示, 联合铝佐剂的rE2p疫苗可为成年BALB/c小鼠提供完全保护作用, 诱导产生的中和抗体可以中和ECSA型毒株和亚洲型毒株。此外, rE2p亚单位疫苗通过细菌表达系统表达E2蛋白, 安全性高且易于纯化和高效生产。

Narula等^[34]检索了CHIKV所有结构蛋白和nsP的氨基酸序列, 预测其潜在的B细胞、T细胞表位, 通过免疫信息学方法开发出一款由B细胞表位、辅助性T细胞表位和细胞毒性T细胞表位序列通过接头氨基酸序列连接的重组多表位亚单位疫苗, 还通过分子对接和分子动力学模拟分析了抗原与固有免疫模式识别受体Toll样受体3(Toll-like receptor 3, TLR3)的相互作用。

病毒样颗粒(virus-like particle, VLP)疫苗是一种特殊类型的亚单位疫苗, 指由细胞表达的CHIKV结构蛋白自组装形成的蛋白质颗粒, 其形态和结构与真实病毒体相似, 但不含病毒基因组, 因此无复制和感染能力, 其颗粒样的结构特性有助于高效激活机体免疫系统并诱导免疫应答, 在病毒疫苗研究领域具有广阔的应用前景。

Akahata等^[35]分别将37997(西非型)和LR2006 OPY-1(IOL)的C-E3-E2-6K-E1编码基因插入真核表达载体[巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)/R14]中构建成表达质粒,再将表达质粒、表达荧光素酶的质粒(pHR'CMV-荧光素酶质粒)、水泡性口炎病毒糖蛋白(vesicular stomatitis virus glycoprotein, VSV-G)和包装质粒[表达人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus 1, HIV-1)结构蛋白(除E蛋白外)(pCMVΔR8.2)]共转染293T细胞来构建CHIKV VLP疫苗。

Chen等^[36]在CHIKV流行的加勒比海地区开展了CHIKV VLP疫苗的Ⅱ期随机、安慰剂对照和双盲临床试验。受试者随机分为两组,即疫苗组($n=201$)和安慰剂组($n=199$),分别在第28天和第56天接受疫苗和安慰剂2次肌肉注射,并随访72周。结果显示,该疫苗诱导的体液免疫应答与其在Ⅰ期临床试验中诱导产生的抗体效价相当,且从Ⅰ期试验的受试者血清中获得的抗体可中和3种基因型(西非型、亚洲型、东非/中非/南非型)CHIKV。CHIKV VLP疫苗的耐受性良好,未报告严重的不良反应事件。

Garg等^[37]开发出一种对CHIKV、乙型脑炎病毒(encephalitis B virus, EBV)、黄热病毒(yellow fever virus, YFV)和寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)均有效且安全的VLP疫苗,并评估疫苗单价配方以及二价和四价组合的免疫原性。其中包括由EBV和CHIKV VLP组成的二价配方(这2种病毒在亚洲较为流行)以及由YFV和CHIKV VLP组成的二价配方(这2种病毒在南美洲和非洲较为流行)。实验分别用单价、二价和四价VLP联合铝佐剂,于第0周和第2周免疫BABL/c小鼠,结果显示首次接种后6周所有免疫组的小鼠中均检测到高滴度中和抗体。其中单价组的滴度最高,因为该组的抗原剂量最高;二价组和四价组的中和抗体滴度略有降低,可能是由抗原剂量减少所引起。该研究显示了用1种多价虫媒病毒疫苗诱导高效中和抗体的可行性,但仍需要在适当的动物模型中作进一步研究,以评估接种多价VLP疫苗诱导产生的免疫保护作用是否能够抵抗致死剂量的病毒攻击。

研究表明,一些在青少年和成年人中被证明有效的疫苗对于老年人群的免疫保护效果明显降

低^[38],且老年人接种疫苗后产生的抗体反应较弱、衰减更快^[39]。Arévalo等^[40]在C57BL/6J品系的成年小鼠(4~6周龄)和老年小鼠(18~24周龄)中将CHIKV VLP疫苗联合不同的佐剂(QuilA, R848, 氢氧化铝)以增强疫苗的免疫原性。结果显示,CHIKV VLP单独免疫或联合QuilA佐剂免疫成年小鼠可诱导高水平中和抗体,对CHIKV感染的保护率为100%;CHIKV VLP疫苗接种老年小鼠后诱导产生的抗体反应明显减弱,且几乎检测不到中和抗体,病毒攻击后CHIKV VLP单独免疫和联合佐剂免疫的老年小鼠与未经过免疫的老年小鼠相比病情更加严重。该研究强调了改进疫苗研发策略以为老年人提供安全性高、免疫原性强且耐受性良好的CHIKV疫苗的重要性,同时也提出了在研制疫苗的过程中要充分考虑到疫苗在不同人群中安全性和有效性的差异。

4 核酸疫苗

4.1 mRNA疫苗 mRNA疫苗是指将含有编码抗原蛋白的mRNA递送至机体内并表达相应的抗原蛋白,诱导机体产生特异性免疫应答,以达到预防和治疗疾病效果的一类疫苗。在当今新型冠状病毒肺炎疫情背景下,mRNA疫苗技术获得了突飞猛进的发展,展现出广阔的应用前景。mRNA疫苗具有免疫原性强、安全性高和生产成本低等优点,但同时也有稳定性较差、递送技术为欧美少数公司所独有等问题。mRNA疫苗技术不仅可用于递送疫苗抗原基因,还可以用于递送抗体基因。

Kose等^[41]从CHIKV自然感染的恢复者体内中分离出1株单克隆中和抗体,用脂质体包裹该单抗的mRNA并接种于免疫缺陷小鼠,表达出的单抗可保护小鼠抵抗致死性CHIKV攻击且无关节炎表现。目前该疫苗已作为候选疫苗准备进行临床试验。

4.2 DNA疫苗 DNA疫苗是指将编码某种蛋白抗原的基因插入到真核细胞表达载体中构建的表达质粒,接种于机体后表达抗原蛋白,诱导免疫应答的一类疫苗。DNA疫苗制备过程简单,可同时诱导体液免疫和细胞免疫,但也存在将质粒中的基因序列整合于宿主基因组以及DNA疫苗长期在体内表达抗原可能会产生免疫耐受等潜在问题^[42-43]。尽管有很多DNA疫苗在动物实验中取得了良好的免

疫效果,但在临床试验中用于诱导有效免疫应答还依赖于高效递送技术的开发和使用。

类似于 mRNA 疫苗技术, DNA 疫苗技术也可用于体内递送抗体基因。Muthumani 等^[44]为针对 CHIKV 感染提供短期和长期的免疫保护,用电穿孔法将编码抗 CHIKV 单克隆抗体的表达质粒接种于小鼠,小鼠迅速产生了血清抗体转化并抵抗了致死性 CHIKV 攻击。该抗体能够中和多种 CHIKV 临床分离株。研究者还评估了单抗质粒和 DNA 疫苗联用的有效性,结果显示,联用策略可诱导产生快速、持久的体液免疫和细胞免疫,可短期迅速和长期持久保护小鼠抵抗致死性 CHIKV 攻击,表明联用可能具有叠加或协同效应。

5 小 结

CHIKV 已影响全球数百个国家和地区,多次引起暴发和流行,我国也经常有境外输入病例,CHIKV 已成为重要的全球性公共卫生问题之一。然而由于 CHIKV 主要在非洲和南美洲国家暴发和流行,该地区部分国家经济实力较为落后,科研、产品开发和临床试验的资金投入不足,以及病毒持续发生适应性突变等原因,针对 CHIKV 的疫苗研发进程总体较为缓慢。迄今为止,还没有 CHIKV 疫苗被批准应用于临床,但已有相当数量的 CHIKV 疫苗在进行动物实验和临床试验并取得了良好的效果。其中病毒载体疫苗、VLP 疫苗和减毒活疫苗均展现出良好的应用前景,后续疫苗研发的过程中需要注意疫苗针对不同年龄段人群的有效性以及对短期迅速和长期持久保护作用的需求等问题。CHIKV 疫苗是全球控制 CHIKV 疫情的终极手段,期待安全有效的疫苗早日上市。

[参考文献]

- [1] POWERS A M. Vaccine and therapeutic options to control Chikungunya virus[J/OL]. Clin Microbiol Rev, 2017, 31: e00104-e00116. DOI: 10.1128/CMR.00104-16.
- [2] SOLIGNAT M, GAY B, HIGGS S, BRIANT L, DEVAUX C. Replication cycle of Chikungunya: a re-emerging arbovirus[J]. Virology, 2009, 393: 183-197.
- [3] ZHANG R, EARNEST J T, KIM A S, WINKLER E S, DESAI P, ADAMS L J, et al. Expression of the Mxra8 receptor promotes alphavirus infection and pathogenesis in mice and *Drosophila*[J/OL]. Cell Rep, 2019, 28: 2647-2658.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.07.105.
- [4] LÓPEZ-CAMACHO C, KIM Y C, BLIGHT J, LAZARO MORELI M, MONTOYA-DIAZ E, HUISKONEN J T, et al. Assessment of immunogenicity and neutralisation efficacy of viral-vectored vaccines against Chikungunya virus[J/OL]. Viruses, 2019, 11: 322. DOI: 10.3390/v11040322.
- [5] QUIROZ J A, MALONIS R J, THACKRAY L B, COHEN C A, PALLESEN J, JANGRA R K, et al. Human monoclonal antibodies against Chikungunya virus target multiple distinct epitopes in the E1 and E2 glycoproteins[J/OL]. PLoS Pathog, 2019, 15: e1008061. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008061.
- [6] KAM Y W, LUM F M, TEO T H, LEE W W L, SIMARMATA D, HARJANTO S, et al. Early neutralizing IgG response to Chikungunya virus in infected patients targets a dominant linear epitope on the E2 glycoprotein[J]. EMBO Mol Med, 2012, 4: 330-343.
- [7] ZHANG R, KIM A S, FOX J M, NAIR S, BASORE K, KLIMSTRA W B, et al. Mxra8 is a receptor for multiple arthritogenic alphaviruses[J]. Nature, 2018, 557: 570-574.
- [8] SONG H, ZHAO Z N, CHAI Y, JIN X Y, LI C Y, YUAN F, et al. Molecular basis of arthritogenic alphavirus receptor MXRA8 binding to Chikungunya virus envelope protein[J/OL]. Cell, 2019, 177: 1714-1724.e12. DOI: 10.1016/j.cell.2019.04.008.
- [9] LUM F M, TEO T H, LEE W W L, KAM Y W, RÉNIA L, NG L F P. An essential role of antibodies in the control of Chikungunya virus infection[J]. J Immunol, 2013, 190: 6295-6302.
- [10] GUERRERO-ARGUERO I, TELLEZ-FREITAS C M, WEBER K S, BERGES B K, ROBISON R A, PICKETT B E. Alphaviruses: host pathogenesis, immune response, and vaccine & treatment updates[J/OL]. J Gen Virol, 2021, 102(8). DOI: 10.1099/jgv.0.001644.
- [11] HOARAU J J, GAY F, PELLÉ O, SAMRI A, JAFFAR-BANDJEE M C, GASQUE P, et al. Identical strength of the T cell responses against E2, nsP1 and capsid CHIKV proteins in recovered and chronic patients after the epidemics of 2005-2006 in La Reunion Island[J/OL]. PLoS One, 2013, 8: e84695. DOI: 10.1371/journal.pone.0084695.
- [12] MESSAOUDI I, VOMASKE J, TOTONCHY T, KREKLYWICH C N, HABERTHUR K, SPRINGGAY L, et al. Chikungunya virus infection results in higher and persistent viral replication in aged rhesus macaques due to defects in anti-viral immunity[J/OL]. PLoS Negl Trop Dis, 2013, 7: e2343. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002343.
- [13] WAUQUIER N, BECQUART P, NKOGHE D,

- PADILLA C, NDJOYI-MBIGUINO A, LEROY E M. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation[J]. *J Infect Dis*, 2011, 204: 115-123.
- [14] GASQUE P, COUDERC T, LECUIT M, ROQUES P, NG L F P. Chikungunya virus pathogenesis and immunity[J]. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2015, 15: 241-249.
- [15] VOLK S M, CHEN R B, TSETSARKIN K A, ADAMS A P, GARCIA T I, SALL A A, et al. Genome-scale phylogenetic analyses of Chikungunya virus reveal independent emergences of recent epidemics and various evolutionary rates[J]. *J Virol*, 2010, 84: 6497-6504.
- [16] WEAVER S C, LECUIT M. Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372: 1231-1239.
- [17] ERASMUS J H, ROSSI S L, WEAVER S C. Development of vaccines for Chikungunya fever[J]. *J Infect Dis*, 2016, 214 (suppl 5): S488-S496.
- [18] SCHWARTZ O, ALBERT M L. Biology and pathogenesis of Chikungunya virus[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8: 491-500.
- [19] 陈斌, 陈秋兰, 李昱, 牟笛, 王哲, 朱曼桐, 等. 2010—2019年中国输入性基孔肯雅热病例流行病学特征分析[J]. *疾病监测*, 2021, 36: 539-543.
- [20] 张怡雯, 姜晓林, 陈德颖, 吕涛, 张国英, 张化江, 等. 一起出境游旅行团输入性基孔肯雅热疫情调查[J]. *中国公共卫生*, 2021, 37: 879-882.
- [21] 谢彤, 吕莉琨, 谭昭麟, 李力, 吕杰, 李晓燕. 中国天津市一例缅甸输入性基孔肯雅热病例的病毒基因分型[J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41: 2131-2134.
- [22] 高玉峰, 侯丽, 傅韶瑜, 姜义霖, 程晓兰, 贾赞, 等. 大连口岸首例输入性基孔肯雅热病例的实验室检测和确认[J]. *中国国境卫生检疫杂志*, 2021, 44: 309-310, 334.
- [23] REYES-SANDOVAL A. 51 years in of Chikungunya clinical vaccine development: a historical perspective[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2019, 15: 2351-2358.
- [24] CAMPOS R K, PRECIADO-LLANES L, AZAR S R, LOPEZ-CAMACHO C, REYES-SANDOVAL A, ROSSI S L. A single and un-adjuvanted dose of a chimpanzee adenovirus-vectored vaccine against Chikungunya virus fully protects mice from lethal disease[J/OL]. *Pathogens*, 2019, 8: 231. DOI: 10.3390/pathogens8040231.
- [25] FOLEGATTI P M, HARRISON K, PRECIADO-LLANES L, LOPEZ F R, BITTAYE M, KIM Y C, et al. A single dose of ChAdOx1 Chik vaccine induces neutralizing antibodies against four Chikungunya virus lineages in a phase 1 clinical trial[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12: 4636. DOI: 10.1038/s41467-021-24906-y.
- [26] COMBREDET C, LABROUSSE V, MOLLET L, LORIN C, DELEBECQUE F, HURTREL B, et al. A molecularly cloned Schwarz strain of measles virus vaccine induces strong immune responses in macaques and transgenic mice[J]. *J Virol*, 2003, 77: 11546-11554.
- [27] RAMSAUER K, SCHWAMEIS M, FIRBAS C, MÜLLNER M, PUTNAK R J, THOMAS S J, et al. Immunogenicity, safety, and tolerability of a recombinant measles-virus-based Chikungunya vaccine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active-comparator, first-in-man trial[J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15: 519-527.
- [28] REISINGER E C, TSCHISMAROV R, BEUBLER E, WIEDERMANN U, FIRBAS C, LOEBERMANN M, et al. Immunogenicity, safety, and tolerability of the measles-vectored Chikungunya virus vaccine MV-CHIK: a double-blind, randomised, placebo-controlled and active-controlled phase 2 trial[J]. *Lancet*, 2019, 392: 2718-2727.
- [29] TSCHISMAROV R, ZELLWEGER R M, KOH M J, LEONG Y S, LOW J G, OOI E E, et al. Antibody effector analysis of prime versus prime-boost immunizations with a recombinant measles-vectored Chikungunya virus vaccine[J/OL]. *JCI Insight*, 2021, 6: e151095. DOI: 10.1172/jci.insight.151095.
- [30] ROQUES P, LJUNGBERG K, KÜMMERER B M, GOSSE L, DEREUDDRE-BOSQUET N, TCHITCHEK N, et al. Attenuated and vectored vaccines protect nonhuman primates against Chikungunya virus[J/OL]. *JCI Insight*, 2017, 2: e83527. DOI: 10.1172/jci.insight.83527.
- [31] WRESSNIGG N, HOCHREITER R, ZOIHSL O, FRITZER A, BÉZAY N, KLINGLER A, et al. Single-shot live-attenuated Chikungunya vaccine in healthy adults: a phase 1, randomised controlled trial[J]. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20: 1193-1203.
- [32] RUDD P A, RAPHAEL A P, YAMADA M, NUFER K L, GARDNER J, LE T T T, et al. Effective cutaneous vaccination using an inactivated Chikungunya virus vaccine delivered by Foroderm[J]. *Vaccine*, 2015, 33: 5172-5180.
- [33] KUMAR M, SUDEEP A B, ARANKALLE V A. Evaluation of recombinant E2 protein-based and whole-virus inactivated candidate vaccines against Chikungunya virus[J]. *Vaccine*, 2012, 30: 6142-6149.
- [34] NARULA A, PANDEY R K, KHATOON N, MISHRA A, PRAJAPATI V K. Excavating Chikungunya genome to design B and T cell multi-epitope subunit vaccine using comprehensive immunoinformatics approach to control Chikungunya infection[J]. *Infect Genet Evol*, 2018, 61: 4-15.
- [35] AKAHATA W, YANG Z Y, ANDERSEN H, SUN

- S Y, HOLDAWAY H A, KONG W P, et al. A virus-like particle vaccine for epidemic Chikungunya virus protects nonhuman Primates against infection[J]. *Nat Med*, 2010, 16: 334-338.
- [36] CHEN G L, COATES E E, PLUMMER S H, CARTER C A, BERKOWITZ N, CONAN-CIBOTTI M, et al. Effect of a Chikungunya virus-like particle vaccine on safety and tolerability outcomes: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2020, 323: 1369-1377.
- [37] GARG H, MEHMETOGLU-GURBUZ T, JOSHI A. Virus like particles (VLP) as multivalent vaccine candidate against Chikungunya, Japanese encephalitis, yellow fever and Zika virus[J/OL]. *Sci Rep*, 2020, 10: 4017. DOI: 10.1038/s41598-020-61103-1.
- [38] BORASCHI D, ITALIANI P. Immunosenescence and vaccine failure in the elderly: strategies for improving response[J]. *Immunol Lett*, 2014, 162: 346-353.
- [39] WEINBERGER B, HERNDLER-BRANDSTETTER D, SCHWANNINGER A, WEISKOPF D, GRUBECK-LOEBENSTEIN B. Biology of immune responses to vaccines in elderly persons[J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 46: 1078-1084.
- [40] ARÉVALO M T, HUANG Y, JONES C A, ROSS T M. Vaccination with a Chikungunya virus-like particle vaccine exacerbates disease in aged mice[J/OL]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2019, 13: e0007316. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007316.
- [41] KOSE N, FOX J M, SAPPARAPU G, BOMBARDI R, TENNEKOON R N, DE SILVA A D, et al. A lipid-encapsulated mRNA encoding a potently neutralizing human monoclonal antibody protects against Chikungunya infection[J/OL]. *Sci Immunol*, 2019, 4: eaaw6647. DOI: 10.1126/sciimmunol.aaw6647.
- [42] FAUREZ F, DORY D, LE MOIGNE V, GRAVIER R, JESTIN A. Biosafety of DNA vaccines: new generation of DNA vectors and current knowledge on the fate of plasmids after injection[J]. *Vaccine*, 2010, 28: 3888-3895.
- [43] MOR G, YAMSHCHIKOV G, SEDEGAH M, TAKENO M, WANG R, HOUGHTEN R A, et al. Induction of neonatal tolerance by plasmid DNA vaccination of mice[J]. *J Clin Invest*, 1996, 98: 2700-2705.
- [44] MUTHUMANI K, BLOCK P, FLINGAI S, MURUGANANTHAM N, CHAAITHANYA I K, TINGEY C, et al. Rapid and long-term immunity elicited by DNA-encoded antibody prophylaxis and DNA vaccination against Chikungunya virus[J]. *J Infect Dis*, 2016, 214: 369-378.

[本文编辑] 尹 茶