

流感病毒疫苗研究现状、发展趋势和展望

江海燕, 朱庆平, 陈涛, 钱万强

科学技术部基础研究管理中心, 北京 100862

摘要 流感大流行严重威胁人类的生命健康和社会经济的发展。及时提供充足、有效的流感疫苗是目前各国应对流感大流行的首选方法。然而, 目前流感疫苗还存在许多问题, 如生产周期长、保护范围有限(不具备广谱性)、易产生过敏反应等。为此, 各国政府和科研团体都在进行着不懈的努力以应对流感的大流行。本文介绍了目前国内外使用的流感疫苗, 比较了流感灭活疫苗和减毒活疫苗的优缺点; 针对当前流感病毒疫苗研制中亟待解决的问题, 即疫苗的保护时效及合适的培养基问题, 探讨了解决的思路以及取得的进展; 结合中国在流感方面的主要研究进展, 探讨了中国流感病毒疫苗相关基础研究中需要解决的关键科学问题, 并对未来流感的防控进行了展望。

关键词 流感病毒; 基因; 抗原变异; 疫苗

中图分类号 R373.1*3

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)14-0105-04

A Review of Influenza Vaccine Researches

JIANG Haiyan, ZHU Qingping, CHEN Tao, QIAN Wanqiang

Basic Research Service, The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China, Beijing 100862, China

Abstract Pandemic influenza poses a grave threat to all mankind. Vaccination is widely considered to be the first line of defense for protecting populations in advance against an influenza pandemic, so the adequate and timely supply of effective vaccines is an urgent issue for the preparedness against the pandemic. There are a number of problems that concern the vaccine uses today, for example, (1) the production cycle is too long to respond to a novel virus; (2) because it is not known beforehand which strain of influenza virus would give rise to a pandemic, vaccines that impart broad cross-reactive immunogenicity are required, but the cross-protection of vaccines between different strains are very weak; (3) many people are allergic to the vaccines because of something in the egg medium. In order to be prepared for the pandemic influenza that may occur in a future time, a concerted effort from public health, commercial and scientific sectors is required. In this paper, the advantages and disadvantages of the inactivated influenza vaccines and the attenuated live influenza vaccines are discussed. Some aspects related with tackling the obstacles facing the development of influenza vaccine, e.g. the protecting period and the proper medium, and research progresses achieved are reviewed, including some key scientific issues in basic research of influenza, such as virus transmission, host restriction and pathogenesis, which are very important to the influenza vaccine development and pandemic control. Research progresses of influenza in China are also discussed. Some suggestions for influenza control and prevention are proposed.

Keywords influenza virus; gene; antigenic variation; vaccine

0 引言

2009年, H1N1流感大流行给全世界造成了恐慌, 据世界卫生组织2009年12月30日公布的疫情通报, 2009年甲型H1N1流感在全球范围内致死超过1.2万人。历史上流感病毒引发的流感大流行, 曾令世界各地大量人口感染和死亡, 并带来严重的经济损失。20世纪暴发了三次流感大流行, 分别

是1918—1919年的西班牙流感、1957—1958年的亚洲流感及1968—1969年的香港流感。仅是1918—1919年的疫情, 造成全球约二千万至五千万人死亡^[1], 比第一次世界大战所造成的死亡人数还多。每隔一段时间, 流感大流行便会卷土重来, 但何时来袭却无法预测。疫情一旦暴发, 势必导致高发病率和死亡率, 社会和经济也会严重受创。

收稿日期: 2010-06-11

作者简介: 江海燕, 助理研究员, 研究方向为科研管理与政策, 电子信箱: jianghy@htrdc.com; 朱庆平(共同为第一作者), 副研究员, 研究方向为科研管理与政策, 电子信箱: zhuqp@htrdc.com

过去 10 年,除发生于人类的流疫情外,世界各地均有禽流感发生,并不断有禽流感病毒感染人类的病例,这引起了各国政府的严重关注,也成为科学家迫切想解决的难题。虽然各地政府尝试以销毁家禽的方法遏止疾病蔓延,但人类从家禽感染甲型 H5、H7 和 H9 流感病毒的个案仍然不断出现,近年更有规模暴发的趋势,如荷兰曾有 80 多人同时染上 H7N7 病毒^[2]。人类感染禽流感的后果非常严重,感染高致病性 H5N1 禽流感病毒的患者死亡率近 60%^[3]。高致病性的禽流感病毒可能会因不断变异成为轻易传染人类的危险病原体,对公众健康构成巨大威胁,已有科学家担心 H5N1 也可能会在不久的将来引发流感大流行。

上述情况提示人们在预防人类流感病毒的基础上,还必须积极预防禽流感病毒感染人类,防止禽流感病毒与人类流感病毒重新组合,导致其在人与人之间传播,避免引发流感大流行。而应对上述情况发生的最为关键而有效的措施无疑是预防接种,是有效的疫苗。

1 临床使用的流感疫苗

预防流感病毒感染的主要方法有抗病毒药物和流感疫苗两种。临床上使用的 M2 离子通道抑制剂和神经氨酸酶抑制剂有一定的预防作用,但其发挥的预防作用非常有限,主要还是用于流感的治疗,而且存在毒副作用。

目前,流感病毒疫苗是预防流感的基础。疫苗是使机体针对特定病原体产生特异性抗体或细胞免疫,从而得到免疫保护的生物制品。提前接种流感疫苗可以有效地控制流感病毒感染和相关并发症。因此,世界卫生组织在世界范围内建立了广泛的监控网络,收集局部流行的流感病毒株,进行抗原分型和基因测序,并在每年流感季节到来前提供流感疫苗株,指导各国流感疫苗的生产。

临床使用的流感疫苗有两种,一种为流感病毒灭活疫苗,于 1945 年在美国首先获准上市,在各国广泛使用;另一种为流感病毒减毒活疫苗,目前仅在俄罗斯和美国等少数国家获准上市。中国使用的是流感病毒灭活疫苗。

1.1 流感病毒灭活疫苗

流感病毒灭活疫苗主要是针对 H1N1、H3N2 和 B 型流感病毒的三联灭活疫苗,包括全病毒灭活疫苗、裂解疫苗和亚单位疫苗。由于灭活疫苗有较好的免疫效果和临床安全性,且生产成本低,在世界范围内普遍使用。然而,灭活疫苗存在许多缺点,主要表现在:① 灭活疫苗为一种死苗,皮下接种不同于病毒的自然感染过程,只能刺激机体产生相应的 IgG 抗体,不能刺激呼吸道粘膜产生分泌型免疫球蛋白 A (sIgA),因此不能有效地阻止病毒在呼吸道内的繁殖;② 由于病毒高变异性,需要每年接种,皮下注射伴随的疼痛和潜在的感染风险不易被人们所接受;③ 其保护作用未达到期望水平,尤其对低龄儿童保护效果较差;④ 交叉保护作用很弱。

1.2 流感病毒减毒活疫苗

与灭活疫苗不同,流感减毒活疫苗接种后在体内有一定

的生长增殖能力,接种次数少,免疫效果持久,但其基因稳定性和疫苗安全性需要加以控制。流感减毒活疫苗中研究最为广泛的是冷适应减毒活疫苗。从 20 世纪 60 年代起,美国研究者在鸡胚中连续低温培养流感病毒,使其能在 25℃ 和 33℃ 生长,但不能在 37℃ 繁殖(人体温度条件),获得了冷适应流感病毒株,它具有冷适应和温敏特性^[4]。俄罗斯研究人员也在鸡胚中培育出这种低温适应的病毒株。目前使用的冷适应减毒活疫苗保护效果比较理想,疫苗株基因组稳定,安全可靠,接种后仅有少数儿童出现了轻微的呼吸道和胃肠道症状。

流感病毒减毒活疫苗与灭活疫苗相比有许多优势。首先,减毒活疫苗的免疫途径与病毒自然感染相似,能够在呼吸道复制^[5],诱导有效的黏膜免疫应答,产生大量分泌型 IgA (sIgA),同时可以诱导较强的细胞和体液免疫应答,有效地控制流感病毒在呼吸道的繁殖。其次,减毒活疫苗可以通过滴鼻或喷鼻途径给药,非常方便,避免了注射途径带来的问题。第三,经鼻免疫减毒活疫苗所诱导的细胞免疫以及 sIgA 抗体对不同亚型的流感病毒具有一定的交叉保护作用。

传统的冷适应减毒疫苗制备过程复杂耗时,技术要求高,需要在针对供体毒株表面糖蛋白抗体存在的条件下,将野生毒株和冷适应供体株共同感染鸡胚,通过筛选,获得既有冷适应性又具有当年流行病毒株抗原性的重组疫苗株。反向遗传学技术极大地促进了流感减毒活疫苗的发展^[6],它将 6 个来源于冷适应病毒株的基因和 2 个来源于当年流行病毒株的 HA 和 NA 基因分别克隆到 8 个质粒中,共转染哺乳动物细胞,即可获得所需的流感病毒疫苗株,极大简化了冷适应减毒活疫苗的制备过程。

2 疫苗研发中存在的问题,解决思路和研究进展

虽然流感病毒灭活疫苗和冷适应减毒活疫苗在预防流感病毒感染和传播方面都发挥了重要作用,但是流感疫苗研发长期以来面临着两个亟待解决的问题。

2.1 流感毒株的高频变异限制了疫苗的保护时效

现有的流感疫苗只能对同一亚型中抗原匹配较好的毒株产生有效的免疫保护,难以应对流感病毒的高频变异。针对每年出现的新病毒,必须更换和选育新的疫苗株。疫苗株的选育费时费力,即使应用先进的反向遗传技术,从新的流行株出现到有效的疫苗上市,至少也需要 6 个月。这使得人类对新流感病毒的预防极为被动,尤其是抵御流感大流行。更何况由于专利的技术壁垒,利用反向遗传技术制备疫苗会提高疫苗的生产成本。

新流行株的出现对疫苗研发速度提出了严峻的挑战。因此,寻找广谱流感疫苗显得尤为重要和迫切。

2.2 缺少理想的培养介质限制疫苗的生产

当前生产流感疫苗所用的培养介质均为鸡胚,利用鸡胚生产流感疫苗有很多缺点,如:① 对鸡蛋过敏的人群无法接种流感疫苗;② 鸡胚成分复杂,生产出来的流感疫苗要经过复杂的纯化过程去除鸡胚蛋白;③ 生产疫苗使用的鸡胚为清

洁级, 孵育条件要求严格, 限制了大规模生产, 若发生流感大流行, 短期内难以提供足够的疫苗; ④ H5N1 对鸡是易感的, 用鸡胚生产疫苗很难保障病毒滴度, 从而影响疫苗效价。因此, 寻找更优的培养介质是科研人员重要的努力方向。

围绕上述问题已开展大量研究工作, 主要进展如下。

1) 目前广谱流感疫苗主要是指对甲型流感病毒不同亚型具有交叉保护作用的疫苗。主要进展有: ① 现在使用的减毒活疫苗和加佐剂的灭活疫苗可产生一定程度的亚型间交叉保护反应^[7-8], 但这种保护反应强度均未超过自然感染, 其应用效果非常有限; ② 发现了多种具有交叉保护作用的疫苗靶抗原, 其中 NP 和 M2 在动物攻击实验中显示了较好的亚型间交叉保护效果^[9-10], 但这类抗原的免疫原性有待加强; ③ DNA 疫苗、病毒载体疫苗以及联合疫苗等能够有效地增强疫苗免疫效果, 但存在安全性以及生产成本的问题。

面对可能出现的流感大流行, 广谱流感疫苗所具备的交叉保护性能在一定程度上能降低未知病毒带来的危害。因此, 广谱流感疫苗是流感疫苗的重要发展方向。

2) 在解决疫苗培养介质问题方面, 目前的研究多集中使用 Vero 细胞替代鸡胚。Vero 细胞是世界卫生组织规定的可用于生产生物制品标准品的传代细胞系, 可进行发酵罐大规模、快速培养。经过大量的研究发现, 在培养过程中补加胰酶能够使流感病毒在 Vero 细胞上很好地适应, 1995 年甲型流感病毒在 Vero 细胞上繁殖生长获得成功^[11], 1996 年乙型流感病毒也获得成功^[12]。2004 年研究者成功获得了 Vero 细胞冷适应流感病毒株^[13]。流感病毒在 Vero 细胞上的冷适应以及反向遗传技术的应用, 使得通过细胞培养, 大规模、快速地生产流感减毒活疫苗成为可能, 虽然这种疫苗的安全性和稳定性还需要检验, 但通过细胞培养流感疫苗是未来流感疫苗发展的趋势。

3 流感疫苗相关基础研究中存在的关键问题

自 19 世纪中期英国医生琴纳的天花疫苗、20 世纪初期法国科学家巴斯德的狂犬病疫苗开始, 疫苗发展至今已有 100 多年的历史了。然而, 在生命科学研究高速发展的今天, 为什么对流感大流行, 特别是禽流感的肆虐仍然没有有效的办法? 对未来可能会有的流感暴发类型, 为什么常常难以做出准确预测, 使全社会在突发的疫情面前陷于被动和恐慌?

究其根源, 在于还有许多流感病毒疫苗相关的基础性科学问题没有得到解决, 如对自身免疫系统认识还很不够, 特别是对人类免疫系统与生态环境之间的相互影响、流感病毒与宿主的交互作用理解得还不深入; 对流感病毒变异的规律、跨种传播的规律还认识不清; 对流感病毒的致病机制认识不够等。

上述基础科学问题的解决将对流感病毒的防控产生极大的推动作用。试想, 如果能够准确而及时地预测即将发生的流感情, 掌握流感病毒致病的关键分子, 快速制备出安全、有效的流感疫苗; 或根据流感的变异和传播规律, 以及致

病机制, 设计出具有普遍保护效果的流感通用型疫苗, 就可以从根本上扭转目前的被动局面, 能够较从容地应对每一次的流感大流行。因此, 就当前的紧迫性来说, 加强流感病毒相关基础研究具有非常重要的意义。

4 中国流感病毒相关研究的主要进展

为防治严重危害中国人民健康的严重传染病, 国家 973 计划等组织开展了病毒的生态分布、分子变异和进化规律、病毒跨种间感染的分子基础等研究, 增强了对病原微生物变异规律和分子机制的认识, 为中国新发传染病的防治提供了重要的科学支撑。

在流感病毒流行病学研究方面, 中国科学院微生物研究所的研究人员及时准确地鉴定了 2005 年春季引起青海湖地区候鸟大量死亡的病原体是高致病性禽流感 H5N1 病毒, 并对病毒基因特征、致病性进行了详细地研究^[14], 随后对该地区进行了连续跟踪调查, 明确提出候鸟的迁徙与禽流感的传播密切相关^[15]。中国科学家从人源高致病性 H5N1 病毒分离株中成功分离纯化到两种空斑类型病毒, 初步证实小斑病毒对动物致病性较高, 且具有嗜神经性, 并分析了这两种空斑病毒基因序列的差异, 证明国内分离株与从香港、越南等地分离的毒株遗传进化上存在差异^[16]。

在流感病毒的传播途径方面, 揭示了人感染 H5N1 禽流感病毒的分子病理特征。通过对 1 例孕妇感染禽流感病例研究发现, 病毒不仅可以感染呼吸道, 还可以散播到包括脑等其他器官, 病毒可通过母婴传播而感染胎儿^[17-18]。

流感病毒跨种间感染与致病机制研究也取得了重要进展, 饶子和研究组解析了 H5N1 病毒 RNA 聚合酶部分亚基的结构, 发现了 PA 的新功能, 为抗流感病毒药物设计提供了潜在的新靶点^[19-20]。陈化兰研究组发现了流感病毒 NS1 蛋白在病毒致病机制的重要作用^[21]。另外, 研究者发现 HA 分子上 182、192、225、226、227、228 位氨基酸与受体结合有密切关系。中国科学家还在世界上首次发现了自噬参与了流感病毒的增殖^[22]。

另外, 中国科学家对流感病毒早期快速诊断、跨种传播和流行规律的预测预警及疫苗研究等方面也开展了卓有成效的研究工作。这一系列流感病毒相关的基础研究为中国开展新一代流感病毒疫苗的研制、设计抗流感病毒的药物、积极预防流感大流行提供了重要的理论支撑。

5 结论与展望

预防和控制流感是全局性问题, 在加强流感基础研究的基础上, 应将流感基础研究与疫苗开发, 特别是疫苗生产企业有机组织起来, 形成联合、竞争的协同机制, 深入分析、凝练流感疫苗研制中的关键科学技术问题, 形成产-学-研的技术创新体系。同时, 在国家、地区和各类科研院所之间建立起流感信息、技术、疫苗和药品的共享、协调和联动机制, 做好应对流感大流行的准备计划和应急预案, 才能将灾难危害程

度降到最低。

参考文献 (References)

- [1] Tumpey T M, Basler C F, Aguilar P V, *et al.* Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus [J]. *Science*, 2005, 310(5745): 77–80.
- [2] Alexander D J. Avian influenza viruses and human health [J]. *Dev Biol (Basel)*, 2006, 124: 77–84.
- [3] Gambotto A, Barratt-Boyes S M, de Jong M D, *et al.* Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus [J]. *The Lancet*, 2008, 371(9622): 1464–1475.
- [4] Snyder M H, London W T, Maassab H F, *et al.* A 36 nucleotide DNA segment 8 specifies a temperature dependent host range phenotype[J]. *Virus Res*, 1990, 15(1): 69–83.
- [5] Johnson P R, Feldman S, Thompson J M, *et al.* Immunity to influenza A virus infection in young children: A comparison of natural infection, live cold adapted and inactivated vaccines [J]. *J Infect Dis*, 1986, 154(1): 1212–1261.
- [6] Hoffman E, Neumann G, Kawaoka Y, *et al.* A DNA transfection system for generation of influenza A virus from eight plasmids [J]. *PNAS*, 2000, 97(11): 6108–61131.
- [7] Belshe R B, Edwards K M, Vesikari T, *et al.* Live attenuated versus inactivated influenza vaccine in infants and young children [J]. *N Eng J Med*, 2007, 356(7): 685–696.
- [8] Seo S U, Lee K H, Byun Y H, *et al.* Immediate and broad spectrum protection against heterologous and heterotypic lethal challenge in mice by live influenza vaccine[J]. *Vaccine*, 2007, 25(47): 8067–8076.
- [9] Epstein S L, Kong W P, Mispion J A, *et al.* Protection against multiple influenza A subtypes by vaccination with highly conserved nucleoprotein [J]. *Vaccine*, 2005, 23(46–47): 5401–5410.
- [10] Ernst W A, Kim H J, Terrence M, *et al.* Protection against H1, H5, H6 and H9 influenza A infection with liposomal matrix 2 epitope vaccines [J]. *Vaccine*, 2006, 24(24): 5158–5168.
- [11] Govorkova E A, Kaverin N V, Gubareva L V, *et al.* Replication of influenza A viruses in a green monkey kidney continuous cell line (Vero)[J]. *J Infect Dis*, 1995,172(1): 250–253.
- [12] Govorkova E A, Murti G, Meignier B, *et al.* African green monkey kidney (Vero) cells provide an alternative host cell system for influenza A and B viruses[J]. *J Virol*, 1996, 70(8): 5519–5524.
- [13] Romanova J, Katinger D, Ferko B, *et al.* Live cold2adapted influenza A vaccine produced in Vero cell line [J]. *Virus Res*, 2004, 103(122): 1872–1931.
- [14] Liu J, Xiao H, Lei F, *et al.* Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds[J]. *Science*, 2005, 309(5738): 1206.
- [15] Wang G, Zhan D, Li L, *et al.* H5N1 avian influenza reemergence in Lake Qinghai: Phylogenetic and antigenic analyses of the newly-isolated viruses and roles of migratory birds in virus circulation [J]. *Journal of General Virology*, 2008, 89(3): 697–702.
- [16] Zhu Q Y, Qin E D, Wang W, *et al.* Fatal Infection with Influenza A (H5N1) Virus in China[J]. *N Eng J Med*, 2006, 354(25): 2731–2731.
- [17] Gu J, Xie Z G, Gao Z C, *et al.* H5N1 infection of the respiratory tract and beyond: A molecular pathology study [J]. *The Lancet*, 2007, 370(9593): 1137–11345.
- [18] Wang H, Feng Z J, Shu Y L, *et al.* Probable limited person-to-person transmission of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus in China[J]. *Lancet*, 2008, 371(9622): 1427–1434.
- [19] Yuan P W, Bartlam M, Lou Z Y, *et al.* Crystal structure of an avian influenza polymerase PA (N) reveals an endonuclease active site [J]. *Nature*, 2009, 458: 909–913.
- [20] He X J, Zhou J, Bartlam M, *et al.* Crystal structure of the polymerase PA_C: PB1_N complex from an avian influenza H5N1 virus [J]. *Nature*, 2008, 454: 1123–1126.
- [21] Jiao P R, Tian G B, Li Y B, *et al.* A single-amino-acid substitution in the NS1 protein changes the pathogenicity of H5N1 avian influenza viruses in mice[J]. *J Virol*, 2008, 82(3): 1146–1154.
- [22] Zhou Z, Jiang X, Liu D, *et al.* Autophagy is involved in influenza A virus replication[J]. *Autophagy*, 2009, 5(3): 321–328.

(责任编辑 王芷)

·学术动态·

“第二届全国社会计算会议”征文



中国自动化学会将于 2010 年 12 月 18—19 日在北京召开“第二届全国社会计算会议”。

征文内容:面向社会问题的计算理论和方法研究;基于计算与仿真的社会学研究;社会网络及语义网分析与挖掘;社会行为建模;网络化社会态势分析与预警研究及应用;社会环境下的数据挖掘、机器学习、信息检索、人工智能;群体思维与社会智能研究及应用;情感挖掘,文化动力学,网络环境中信息、情绪与影响传播过程;万维网的普及对社会发展的影响研究及应用;社会环境下的信任、风险和安全;基于 Web 的情报与安全信息学研究及应用;社会计算系统及平台的设计与结构;社会计算应用及实证研究;计算实验方法研究;人工生命与人工社会建模;军事计算与军事仿真;互联网多媒体内容语义分析与应用。

全文截稿日期:2010 年 10 月 18 日。

联系人:邱晓刚,电话:0731-84573389,电子信箱:13874934509@139.com。

会议网址:http://www.caa.org.cn/index.php?me_id=36&ac_id=275。