网络出版时间:2025-11-26 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2026.05.014

猪流行性腹泻疫苗研究进展

高旭东[1],贾爱卿[1,2,3],王贵平[1,2,3],崔金明[1,2,3]
(1 广东海大集团股份有限公司 畜牧水产研究中心,广东 广州 511400;
2 广东省养猪与猪病防控技术研究企业重点实验室,广东 广州 511400;
3 广东海大畜牧兽医研究院有限公司,广东 广州 511400)

[摘 要] 猪流行性腹泻(porcine epizootic diarrhea,PED)是由猪流行性腹泻病毒(porcine epizootic diarrhea virus,PEDV)引起的一种导致猪严重腹泻和脱水的传染性疾病,对于0~7日龄仔猪的致死率高达100%,自该病流行以来,给全球养猪行业造成了重大损失,因此防治PEDV已成为养猪业面临的的重大挑战之一。疫苗接种作为PED防控的核心策略,其研发与应用备受关注。目前,研究者已开发出多种疫苗策略,包括传统灭活疫苗、减毒活疫苗及新型的亚单位疫苗、核酸疫苗和载体疫苗等,这些疫苗在抗原设计、递送系统和免疫程序等方面各具特色,为PED防控提供了多元化解决方案。然而,现有疫苗在诱导黏膜免疫、提供交叉保护以及应对病毒快速变异等方面仍存在明显不足。本综述系统梳理了PEDV的流行病学特征和分子生物学特性,重点分析了各类疫苗的研发进展、技术优势及局限性。通过比较不同疫苗策略的免疫效果和应用前景,深入探讨了PED疫苗研发面临的关键科学问题和技术瓶颈。同时,结合我国养猪业的实际需求,提出了未来PED疫苗研发的重点方向,以期为我国PEDV的综合防控提供理论依据和技术支撑。

[关键词] 猪;猪流行性腹泻;疫苗研发;综合防控
[中图分类号] S858.281.5;S858.285.3 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)05-0137-09

Research progress of porcine epidemic diarrhea vaccine

GAO Xudong[1],JIA Aiqing[1,2,3],WANG Guiping[1,2,3],CUI Jinming[1,2,3]
(1 *Guangdong Haid Group Co.,Ltd. Animal Husbandry and Aquatic Research Center,Guangzhou,Guangdong* 511400,*China*;
2 *Guangdong Provincial Key Laboratory of Pig Breeding and Disease Control Technology,Guangzhou,Guangdong* 511400,*China*;
3 *Guangdong Haid Research Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine Co.,Ltd.,Guangzhou,Guangdong* 511400,*China*)

Abstract: Porcine epizootic diarrhea (PED), caused by the porcine epizootic diarrhea virus (PEDV), is a contagious disease that leads to severe diarrhea and dehydration in pigs. The mortality rate for piglets aged 0—7 days can reach 100%, and since its emergence, it has caused significant losses to the global pig industry. As a major pig-producing country, China has also been affected by PED, making the prevention and control of PEDV one of the main challenges in the pig industry. Vaccination, as the core strategy for PED control, has received considerable attention in research and application. Currently, researchers have developed various vaccine strategies, including traditional inactivated vaccines, attenuated live vaccines, and novel subunit vaccines, nucleic acid vaccines, and vector vaccines. These vaccines exhibit distinct features in antigen design, delivery systems, and immunization schedules, providing diversified solutions for PED control. However, existing vaccines still exhibit obvious limitations in inducing mucosal immunity, providing cross-protection, and coping with rapid viral mutations. This review systematically summarizes the epidemiological characteristics and molecular biological proper-

[收稿日期] 2025-02-24 [修回日期] 2025-04-08
[基金项目] 广东省科技计划项目(2020B1212070023)
[作者简介] 高旭东(1994—),男,陕西西安人,博士,主要从事动物疾病研究。Email:gaoxd@haid.com.cn
[通信作者] 崔金明(1980—),男,广东广州人,副研究员,博士,主要从事动物疾病研究。Email:cuijm4@haid.com.cn

ties of PEDV, and focuses on analyzing the research progress, technical advantages, and limitations of various vaccines. By comparing the immune effects and application prospects of different vaccine strategies, it deeply explores the key scientific issues and technical bottlenecks in PED vaccine research and development. Furthermore, considering the practical requirements of China's pig industry, it proposes key directions for future PED vaccine research and development, with the aim of providing theoretical references and technical support for the comprehensive control of PED in China.

Key words: swine; porcine epizootic diarrhea; vaccine development; comprehensive control

猪流行性腹泻(porcine epizootic diarrhea, PED)作为养猪业的重大疫病威胁,自 1971 年首次在英国暴发以来,已给全球养猪业带来了持续且严重的经济损失[1]。该病于 1984 年传入我国,早期以 CV777 毒株为主要流行株,通过灭活疫苗免疫策略得到有效控制。然而,2010 年后新型变异毒株的传入导致疫情再次暴发,感染范围持续扩大[2]。流行病学调查显示,2013 年之前,PED 主要在中国、日本、韩国、越南等亚洲国家呈区域性流行,随后迅速扩散至北美等地区,最终形成全球性流行态势,对国际养猪产业造成严重冲击[3-8]。

PED 由猪流行性腹泻病毒(porcine epizootic diarrhea virus, PEDV)引起,其易感宿主涵盖所有日龄的猪只。感染猪只主要表现为急性水样腹泻、呕吐、脱水及体质量急剧下降,其中 0~7 日龄仔猪感染后的死亡率接近 100%[9-10]。在养殖场防疫实践中,新生仔猪因其免疫系统发育不完全而成为重点防控对象,其免疫保护主要依赖于母源抗体的传递。基于这一特性,当前防控策略主要采用母源免疫途径:通过免疫妊娠母猪,诱导其产生高水平的分泌型免疫球蛋白 A(secreted immunoglobulin A, sIgA),进而通过初乳被动免疫为仔猪提供保护。这一策略充分利用了母猪-仔猪间的免疫传递机制,但同时也对疫苗的黏膜免疫诱导能力提出了更高要求。

现阶段,PED 已呈全球流行趋势,且常与其他病原体共同感染,是当前传播范围最广、传染性最强的猪传染病之一[11-15]。鉴于 PEDV 的危害性日益加剧,现有防控手段的防护效果并不理想,该病每年仍给养猪业带来了巨大的经济损失。为此,本研究重点分析现有的 PED 疫苗防控策略,深入探讨分析其技术优势与局限性,旨在为后续 PED 防控提供理论依据和实践参考。

1 猪流行性腹泻病毒结构与流行病学概述

PEDV 的基因组由一个具有 5′帽子和 3′ poly A 尾巴的单链 RNA 构成,基因组长度约为 28 kb,完整基因结构如图 1 所示。

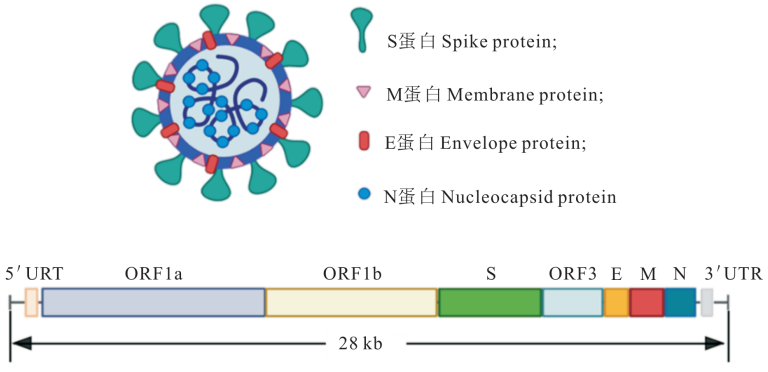


图 1 PEDV 病毒颗粒结构(上)和基因组结构(下)示意图

Fig. 1 Schematic diagram of PEDV particle structure (top) and genome structure (bottom)

PEDV 的基因组包含 7 个开放阅读框(open reading frames, ORFs),分别为 ORF1a、ORF1b 和 ORF2~ORF6。其中,ORF2、ORF4、ORF5 和 ORF6 分别编码尖刺蛋白(spike protein, S)、膜蛋白(membrane protein, M)、囊膜蛋白(envelope protein, E)和核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, N),即 S、M、E、N 共 4 种主要的结构蛋白。此外,ORF1a 和 ORF1b 编码 16 种不同的非结构蛋白(non-structural proteins, nsp1~nsp16),而 ORF3 则单独编码 1 个辅助蛋白 ORF3。这些蛋白在病毒入侵宿主细胞

到病毒复制的整个过程中发挥着重要作用[5,16-20]。

S蛋白在病毒与宿主细胞的相互作用中起关键作用，主要参与细胞膜融合过程以及与中和抗体有关的特异性结合。S蛋白由S1和S2共2个亚基组成，其中S1亚基具有较强的抗原性特征和较高的突变频率，作为主要的受体结合亚基和抗原识别位点，常被用于不同PEDV毒株进化分析与分类研究。从结构特征来看，S1亚基内部主要包含2个受体结合结构域（receptor binding domain，RBD）、1个N端结构域（N-terminal domain，NTD）和1个C端结构域（C-terminal domain，CTD），这些结构共同介导病毒对宿主细胞受体的识别和结合，并影响后续的细胞入侵过程。其中，CTD区域为中和抗体的主要识别位点，也是B细胞的核心抗原识别位点，被定义为核心中和表位（core neutralizing epitope，COE）[21-23]。相比之下，S2亚基包含2个七肽重复结构域（heptapeptide repeat，HR1和HR2）以及1个跨膜结构域，其结构特征表现出较高的保守性[24-25]。值得注意的是，除COE区域外，S2亚基中的SS2、SS6和2C10表位同样具有显著的抗原性特征，这些表位已成为疫苗研发的重要靶点[21]。

此外，E蛋白通过与M蛋白结合共同构成病毒的蛋白外壳，而N蛋白则通过与病毒RNA的特异性结合，在病毒的逆转录和复制过程中发挥重要调控作用[26-28]。

随着PEDV在全球范围的广泛传播，其基因组序列发生了显著变异，形成多个基因亚型。基于S蛋白的基因序列差异，PEDV主要可分为G1和G2两大基因亚家族。值得注意的是，在持续进化过程中，还出现了一类具有S蛋白基因缺失特征且毒力相对减弱的变异株，即S-INDEL型毒株。根据系统发育分析，G1和G2亚家族可进一步划分为G1a、G1b、G2a和G2b 4个病毒亚型[18,29]。流行病学调查显示，G1a和G1b亚型主要分布于欧洲、美洲以及亚洲部分地区，其中经典毒株CV777即属于G1a亚家族。相比之下，G2a和G2b亚型则主要流行于亚洲地区。值得注意的是，在我国当前流行的PEDV毒株中，G2亚型占据主导地位，其流行率高达93%；其次为S-INDEL型（6%）；而G1型的流行率最低，仅占1%[30]。

2　猪流行性腹泻病毒主要疫苗应用现状

针对当前PED的流行现状，由于缺乏有效的治疗药物，疫苗免疫仍是主要的预防控制策略。然而，PEDV不同基因型变异株间存在的显著抗原性差异，导致现有疫苗的免疫覆盖率及保护效果受到明显限制。

截至2024年底，我国农业农村部批准的PED疫苗新兽药证书共涉及10类产品，其中5类为灭活疫苗，5类为减毒活疫苗，且以多联疫苗为主。国内共有39家相关厂家获得过PED疫苗生产批准文号，其中2024年有34家企业实际获得批签发资格。值得注意的是，尽管有mRNA疫苗已于2023年进入临床试验阶段并计划2025年上市，但当前的主流产品仍以传统疫苗技术为主。

灭活疫苗和减毒活疫苗凭借其生产成本低、研发周期短的优势，在应对PEDV快速变异方面展现出一定适用性。然而，现有疫苗对变异毒株，特别是高致病性变异株的交叉保护效果欠佳，这一局限性严重影响了传统疫苗的免疫效力。因此，开发具有广谱保护作用的新型疫苗，以提高免疫覆盖率和增强对不同变异株的保护效果，已成为当前PED防控研究的重要方向。

2.1　灭活疫苗

灭活疫苗的制备主要基于化学灭活工艺，其核心技术是通过甲醛等灭活剂对细胞培养获得的病毒悬液进行处理。该工艺的关键在于精确控制灭活条件：既要充分破坏病毒的核酸复制能力，使其完全丧失感染性，又要最大限度地维持病毒颗粒的结构完整性，以确保其表面抗原表位的免疫原性得以保留。这种平衡处理不仅能够诱导机体产生特异性体液免疫和细胞免疫应答，同时可有效保证疫苗的生物安全性。

从产业化角度来看，灭活疫苗具有多重优势：（1）制备工艺成熟，质量控制标准化程度高；（2）生产成本较低，具有市场竞争力；（3）疫苗稳定性优异，便于冷链运输与长期储存；（4）使用安全性高，适用于不同日龄猪群。这些特性使其在规模化生猪养殖的疫病防控体系中发挥着重要作用，特别是在基础免疫程序中占据关键地位。

PEDV灭活疫苗的研究始于20世纪90年代，其技术发展经历了从粗制疫苗到细胞培养疫苗，再到多联疫苗的演进过程。王明等[31]于1993年首次报道了基于病死仔猪肠壁提取物的CV777毒株灭活疫苗，该疫苗采用铝佐剂制备，在妊娠期母猪免疫后可为其所产仔猪提供97.06%的保护率。但该免

疫方法速度慢,疫苗产量低,难以实现规模化应用。随后,马思奇等[32]通过Vero细胞培养系统成功建立了CV777毒株的体外扩增方法,制备的灭活疫苗对仔猪保护率可达85%,显著提高了生产效率并降低了成本,这一技术突破也为灭活疫苗的规模化生产奠定了基础。由于养殖环境复杂、致病病原较多,PEDV通常会和猪传染性胃肠炎病毒(transmissible gastroenteritis virus,TGEV)以及猪轮状病毒(porcine rotavirus,PoRV)等多种病原混合感染。马思奇等[33]于1995将PEDV与TGEV联合采用氢氧化铝佐剂成功制备了TGE-PED二联灭活疫苗,其对PED和TGE的免疫保护率分别达到90%和76%。随着PEDV的持续突变,疫苗研发也随之推进。藏玉婷等[34]根据较新病毒突变株开发了TGE-PED二联疫苗(JL株+HN-1株),接种3~5日龄仔猪可使其体内产生TEGV与PEDV的高水平中和抗体,且抗体滴度与保护率呈显著正相关;针对PoRV共感染问题,牛小迎等[35]成功研制出PED-TGE-PoRV三联灭活疫苗,在母猪免疫试验中,其对仔猪的保护率达到89%。随着G2亚家族病毒的传播,其毒力和传播性也逐渐增强,早期应用的传统疫苗无法起到较好的保护作用,黏膜免疫激活受到限制,因此疫苗产品需要更新迭代以应对新的突变毒株。

尽管灭活疫苗目前仍是预防PED的主流产品,但其固有的局限性仍对生猪养殖产业构成了显著挑战。具体而言,灭活疫苗尚存在以下主要缺陷:(1)由于病毒失去增殖能力,需要多次免疫接种才能达到有效保护;(2)单次接种剂量较大,增加了养殖成本;(3)难以有效刺激黏膜免疫系统,导致分泌型IgA抗体产生不足,而IgA抗体在肠道黏膜免疫中起着关键作用。这些局限性严重影响了灭活疫苗的实际应用效果。因此,亟需通过新型疫苗技术的研发和制备工艺的优化创新来提升疫苗的免疫效果,特别是增强黏膜免疫应答,这对于PED的有效防控具有重要意义。

2.2 减毒活疫苗

减毒活疫苗是通过特定技术手段使病原体毒力减弱而保留其免疫原性的一类生物制剂,其制备主要通过化学诱变、非宿主细胞连续传代培养、反向遗传学筛选基因改造等方式使其致病性显著降低或完全丧失。减毒活疫苗在保持有限复制能力、完整抗原表位呈现和诱导持久免疫记忆等关键特性的同时,能够在宿主体内模拟自然感染过程,有效激发包括黏膜免疫、体液免疫和细胞免疫在内的全面免疫应答,从而建立针对同源病原体的免疫保护屏障。这种独特的免疫特性使其在病毒性疾病预防中具有显著优势,但也对其遗传稳定性和生物安全性提出了更高要求。

在PED防控领域,减毒活疫苗凭借其优异的免疫原性已成为重要的防控手段。与灭活疫苗类似,减毒活疫苗的开发也以多联疫苗为主要方向。佟有恩等[36]通过Vero细胞连续传代获得减毒株,成功研制出TGE-PED二联减毒活疫苗,与灭活疫苗相比,该疫苗具有保护期延长、免疫剂量降低等显著优势,且被动免疫保护率高达97.7%。然而,在实际养殖环境中,由于病原体的复杂性和环境因素的影响,疫苗效果可能会出现波动。刘浩等[37]的研究证实,在PED暴发的猪场中,采用TGE-PED二联活疫苗(HB08株+ZJ08株)进行紧急免疫,配合严格的生物安全措施,可将仔猪死亡率控制在30%以下,凸显了综合防控策略的重要性。针对传统注射途径诱导黏膜免疫不足的问题,研究者开发了口服免疫新策略。SONG等[38]证实,通过口服途径免疫妊娠母猪,可显著提高初乳和常乳中的sIgA水平(较注射途径提高3~5倍),从而大幅提升仔猪存活率。该策略于2004年和2011年分别在韩国和菲律宾进行了动物临床试验,保护效果均超过85%[5]。这些研究不仅证实了口服减毒活疫苗防控策略的可行性,也为免疫程序优化提供了重要依据。

尽管减毒活疫苗在应用中展现出显著的免疫效果,但其使用仍存在诸多限制和潜在风险。首要的安全隐患在于活病毒株的生物安全性。在疫苗制备或接种过程中,可能存在减毒不完全或毒力返强的风险,这一特性导致其在生物安全等级要求较高的规模化养殖场中受到使用限制。更为严重的是,接种的减毒株可能与环境中流行的野毒株发生基因重组,进而产生具有新特性的重组毒株,这种重组事件不仅可能导致疫苗株毒力返强,还可能加速病毒进化,给疫情防控带来严峻挑战。因此,在减毒活疫苗的研发和应用过程中,必须建立严格的安全性评价体系,包括病毒株的遗传稳定性检测、重组风险评估以及长期的环境安全性监测,以确保疫苗使用的安全性和有效性。

2.3 亚单位疫苗

亚单位疫苗是通过基因工程技术,利用真核或原核表达系统表达病原体特异性抗原蛋白,经纯化

后与佐剂配伍制备而成的疫苗制剂。这类疫苗的核心优势在于其可设计性，即可通过构建融合蛋白或添加不同功能亚基，有效提升抗原的免疫原性和黏膜免疫效果。

PED亚单位疫苗的研发主要聚焦于S蛋白的S1亚基和COE区，通过融合蛋白策略提升抗原的免疫原性。研究表明，抗原的空间构象对疫苗效果具有决定性影响，HO等[39]将DR13毒株COE区与GCN4pII三聚化标签融合，成功构建了接近天然三聚体构象的抗原蛋白，通过本氏烟草表达系统制备的融合蛋白在小鼠模型中展现出与灭活疫苗相当的保护效果。为进一步优化抗原设计，研究者采用Trimer-tag技术，将S1蛋白与人源α1胶原蛋白C前肽（human C-propeptide of α Ⅰ collagen，COLIA1）连接，形成稳定的同源三聚体。该设计在母猪免疫试验中表现出显著优势，其诱导的母乳和血液中和抗体水平均显著高于商业化灭活疫苗[40]。与GCN4pII相比，Trimer-tag方案更加成熟且效果更好，已广泛应用于商业蛋白产品中。值得注意的是，PED三聚体亚单位疫苗能在结构上形成三聚体，较好地刺激宿主免疫系统，但对于黏膜免疫刺激效果却并不理想。为了解决此问题，LI等[41]将沙门氏菌鞭毛蛋白FliC的D3结构域替换为PEDV COE区，构建的FliC-COE融合蛋白可有效激活黏膜免疫系统。后续研究证实，该疫苗通过后海穴接种可诱导母猪产生高水平sIgA抗体，显著提升仔猪肠绒毛修复率[42]。然而，MURTAZA等[43]的研究表明，FliC（1～99）N端连接COE区的设计在小鼠模型中诱导的IgG水平低于灭活疫苗，表明融合位点和结构设计对疫苗效果具有关键影响。

与减毒活疫苗相比，亚单位疫苗具有更高的生物安全性（无重组风险）和可设计性（易于改造以增强黏膜免疫）。然而，其生产制备存在明显局限性：（1）部分抗原的免疫激活依赖于真核表达系统的糖基化修饰，导致生产成本显著增加；（2）与灭活疫苗类似，由于缺乏自我复制能力，存在接种剂量大、免疫次数多、保护周期短等缺陷。这些因素限制了亚单位疫苗在需要严格控制成本的兽用疫苗领域的大规模应用。

2.4　mRNA疫苗

mRNA疫苗是一种新型疫苗技术，其原理是将编码抗原蛋白的mRNA序列通过复制缺陷型病毒载体或脂质体进行包封，形成脂质体纳米颗粒（lipid nanoparticles，LNPs），接种后可在宿主体内表达目标抗原蛋白，从而诱导特异性免疫应答[44]。该技术具有显著的免疫原性优势，能够同时诱导机体产生高水平的IgG和IgA抗体，展现出良好的应用前景[45-46]。此外，由于生产过程中无需使用活病毒，其生物安全性显著优于传统疫苗。

mRNA疫苗作为一种新兴技术，在PEDV防控领域展现出独特优势，其通过非整合机制在胞质内瞬时表达抗原，完全规避了插入突变风险，同时具有快速研发、强效诱导黏膜免疫的特点。美国食品药品管理局（Food and Drug Administration，FDA）于2014年批准首个PED mRNA疫苗（PED-RP），该疫苗采用委内瑞拉马脑炎病毒改造载体（pVEK）递送S基因，临床试验显示其可使仔猪死亡率从91％降至69％，初乳sIgA水平提升4.2倍[47]。近来，国内研究团队在mRNA疫苗领域也取得重要进展。杨利敏等[48]基于G2a型毒株S蛋白RBD开发的mRNA-LNPs疫苗，在妊娠母猪模型中诱导的中和抗体滴度达531.8，与灭活疫苗相当。为了进一步加强mRNA疫苗的免疫效果，ZHAO等[49]使用AH2012/12毒株分别设计了S蛋白和多表位嵌合体S蛋白的PED mRNA疫苗，该疫苗同样采用了LNP包裹技术，提高了疫苗稳定性和递送效率。后续动物试验发现，单一S蛋白mRNA疫苗优于多表位嵌合体蛋白mRNA疫苗，且免疫妊娠母猪后可诱导仔猪产生高水平中和抗体，同时通过母乳传递足量sIgA为仔猪提供被动免疫保护[49]。现阶段，国内已有PED mRNA疫苗进入临床试验阶段，预计于2025年能够正式获得批文。

尽管mRNA疫苗在人用和兽用疫苗领域展现出巨大潜力，但其应用仍面临诸多挑战：（1）mRNA分子固有的不稳定性；（2）严格的冷链运输和储存要求导致成本高昂；（3）潜在的免疫副反应；（4）高昂的研发和生产成本。以上问题限制了其在动物医疗领域的规模化应用，这些问题的解决亟需依赖mRNA稳定性修饰技术、新型递送系统和生产工艺的进一步突破。

2.5　DNA疫苗

DNA疫苗作为一种新型免疫策略，通过将编码抗原蛋白的基因序列克隆至真核表达载体，直接注射后可在宿主体内表达目标抗原，从而诱导特异性免疫应答。研究表明，针对冠状病毒的DNA疫苗能够有效诱导中和抗体的产生[50-51]。

DNA疫苗凭借其操作便捷性和设计灵活性,在PEDV防控领域展现出独特潜力。SUO等[52]利用pVAX1载体分别构建了包含完整S蛋白、S1亚基及猪源白介素18(interleukin-18,IL-18)的重组DNA疫苗。小鼠试验证实,该疫苗能够显著促进外周血和脾脏T淋巴细胞增殖,提高PEDV特异性中和抗体水平,并诱导干扰素γ(interferon,IFN-γ)和IL-4的产生[52]。为突破传统注射途径的局限性,ZHANG等[53]开发了一种基于减毒沙门氏菌的口服递送系统,将TGE-PED二联DNA疫苗(pVAXD载体)通过口服途径免疫仔猪(每头猪只初免为1.6×10^{11} CFU,两周后加强为2.0×10^{11} CFU),成功诱导了包括sIgA、IgG、IFN-γ和IL-4在内的多重免疫应答。类似地,MENG等[54]使用pIRES载体构建的TGE-PED二联DNA疫苗在6~8周龄小鼠模型中表现出良好的免疫效果,能够显著上调$CD4^+$、$CD8^+$ T细胞水平并提高S蛋白特异性中和抗体滴度。YIN等[55]则使用pPI载体构建了PoRV VP7蛋白和PEDV S蛋白的二联DNA疫苗,通过肌肉注射途径成功诱导小鼠产生了高水平的黏膜和体液免疫应答。目前关于PED DNA疫苗的研发大多采取相似思路,并且实际应用效果较为有限,因此并未正式投入市场。

与mRNA疫苗相比,DNA疫苗在物理化学稳定性方面具有显著优势,其双链结构对核酸酶的耐受性更强,可在常温下保持较长时间的稳定性,这一特性显著降低了疫苗的储存和运输成本。然而,其免疫效果受到抗原蛋白表达效率的限制,需要经过转录、翻译、翻译后修饰和抗原呈递等多个环节,导致其免疫效果存在较大差异。此外,DNA疫苗还存在整合至宿主基因组的潜在风险。这些因素共同制约了DNA疫苗在PED防控中的规模化应用。

2.6 乳酸杆菌口服疫苗

乳酸杆菌是一类广泛分布于自然界的革兰氏阳性无芽孢杆菌,其典型特征是能在厌氧条件下通过糖酵解途径将葡萄糖代谢为乳酸。作为肠道微生态系统中的重要益生菌群,乳酸杆菌具有良好的黏膜定殖能力和固有的免疫调节特性,同时其优异的基因承载能力和天然的安全性使其成为理想的黏膜免疫疫苗载体。目前,基于乳酸杆菌的疫苗递送系统主要通过基因工程技术将目标抗原基因整合至乳酸杆菌基因组或质粒中,利用其在黏膜表面的定殖能力,持续表达和递送抗原,从而诱导局部和全身性免疫应答。这种递送方式不仅能够有效刺激黏膜免疫系统产生sIgA,还可激活系统性免疫反应,在预防肠道病原体感染方面具有独特优势。

乳酸杆菌疫苗能够模拟自然感染途径直接刺激肠道黏膜免疫系统,促进sIgA的生成,因此其在PED防控中展现出了独特优势。聂民财等[56]利用重组植物乳酸杆菌(*Lactobacillus plantarum*)pVE5523-S1进行豚鼠免疫试验,采用间隔14 d的3次免疫方案,期间通过心脏采血进行ELISA检测,结果显示试验组豚鼠血清中的sIgA水平显著升高,同时IL-4和IFN-γ表达量明显上调,证实了该疫苗的免疫效果。赵德等[57]进一步评估了猪流行性腹泻病毒乳酸菌载体疫苗的安全性,监测显示免疫组小鼠体质量增长率与对照组小鼠无显著差异,组织病理学分析也未发现肠道菌群失调,证实了该技术的生物安全性。除了直接表达抗原外,还可添加其他辅助蛋白提高免疫效应。HOU等[58]开发了一种创新性疫苗策略,将PEDV COE区与树突状细胞(dendritic cell,DC)靶向肽基因融合,构建重组干酪乳酸杆菌(*Lactobacillus casei*),进而得到乳酸杆菌疫苗pPG-COE-DCpep/L393。通过新生仔猪口服免疫试验证实,该疫苗不仅能显著增强黏膜免疫应答(通过ELISA测试),还能促进辅助型T淋巴细胞增殖(T-helper,Th1),并在PEDV感染时发挥肠系膜淋巴结抗炎作用,为仔猪提供有效免疫保护。在疫苗设计方面,除了表达抗原蛋白外,直接表达对应抗体也是一种设计思路,SUN等[59]利用乳酸杆菌直接分泌表达PEDV中和抗体的Fab片段(pPG-Fab/J31),新生仔猪攻毒试验结果显示,该疫苗可提供100%的保护率,展现出显著的临床应用潜力。但此类抗体片段由于无法长期存在于宿主体内,且无法刺激宿主自身免疫,因此需要进行多次免疫,实际应用中并不适用。

尽管基于乳酸杆菌的PED疫苗研究已取得显著进展,但其实际应用仍面临诸多挑战。首要的安全隐患在于转基因活菌的直接使用,即重组乳酸杆菌可能通过基因水平转移或菌群互作影响肠道微生态平衡,存在潜在的生物安全风险,这一因素严重限制了其商业化应用。此外,技术层面也存在以下局限性:(1)外源蛋白表达水平不稳定,影响疫苗免疫效果的一致性;(2)重组乳酸杆菌在肠道内的定殖能力有限,难以建立稳定的菌群以维持长久刺激;(3)个体间肠道微环境差异可能导致免疫效果

波动。这些技术瓶颈使得乳酸杆菌口服疫苗的免疫效果难以达到预期，制约了其在PED防控中的大规模应用。

3　展　望

作为全球最大的生猪养殖国，我国长期面临PEDV的严重威胁，给生猪养殖业造成了巨大的经济损失。尽管现有疫苗技术在PED防控中发挥了一定作用，但普遍存在黏膜免疫应答不足、sIgA产生水平低等问题，难以通过母源抗体为新生仔猪提供充分保护。针对这一技术瓶颈，未来研究应重点关注以下方向：

1）开发基于黏膜递送的新型疫苗策略。通过口腔饲喂等途径直接将抗原递送至肠道相关淋巴组织，以有效激活局部黏膜免疫应答，显著提高sIgA水平。这类疫苗能够模拟自然感染途径，是未来PED疫苗研发的重点方向。

2）优化亚单位疫苗设计。利用人工智能辅助的蛋白质设计技术，优化抗原表位并构建同源多聚体结构，可显著提高抗原的免疫原性。通过模拟病毒天然构象，更好地激活病原体相关分子模式（pathogen-associated molecular patterns，PAMP）识别途径，诱导强烈的黏膜和系统免疫应答。

3）开发持续性免疫策略。基于乳酸杆菌的口服疫苗，虽已在实验室条件下显示出良好的应用前景，但其在实际养殖环境中的定殖效率和免疫效果仍需进一步优化。

综上所述，现有疫苗在诱导母源sIgA抗体方面仍存在明显不足，这主要与抗原设计、递送系统和免疫程序的优化程度密切相关。未来研究需重点关注黏膜免疫诱导机制的解析、广谱抗原表位的筛选以及持续性免疫刺激的疫苗研发平台建设，以期建立多维度、全周期的PEDV综合防控体系。

[参考文献]

[1] PENSAERT M B，DE BOUCK P. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine[J]. Archives of Viro-logy，1978，58：243-247.

[2] LI W T，LI H，LIU Y B，et al. New variants of porcine epidemic diarrhea virus，China，2011[J]. Emerging Infectious Diseases，2012，18：1350-1353.

[3] FAN J H，LI Y J. Cloning and sequence analysis of the M gene of porcine epidemic diarrhea virus LJB/03[J]. Virus Genes，2005，30：69-73.

[4] KUSANAGI K，KUWAHARA H，KATOH T，et al. Isolation and serial propagation of porcine epidemic diarrhea virus in cell cultures and partial characterization of the isolate[J]. The Journal of Veterinary Medical Science，1992，54(2)：313-318.

[5] SONG D，PARK B. Porcine epidemic diarrhoea virus：a comprehensive review of molecular epidemiology，diagnosis，and vaccines[J]. Virus Genes，2012，44(2)：167-175.

[6] KWEON C H，KWON B J，JUNG T S，et al. Isolation of porcine epidemic diarrhea virus（PEDV）in Korea[J]. Korean J Vet Res，1993，33(2)：249-254.

[7] TAKAHASHI K，OKADA K，OHSHIMA K. An outbreak of swine diarrhea of a new-type associated with coronavirus-like particles in Japan[J]. Nihon Juigaku Zasshi The Japanese Journal of Veterinary Science，1983，45(6)：829-832.

[8] VLASOVA A N，MARTHALER D，WANG Q，et al. Distinct characteristics and complex evolution of PEDV strains，North America，May 2013-February 2014[J]. Emerging infectious Diseases，2014，20(10)：1620-1628.

[9] SONG D，MOON H，KANG B. Porcine epidemic diarrhea：a review of current epidemiology and available vaccines[J]. Clinical And Experimental Vaccine Research，2015，4(2)：166-176.

[10] 吴白，苏玮玮，鞠德财，等. 猪流行性腹泻病毒SD201604株的分离鉴定及致病性研究[J]. 中国畜牧兽医，2018，45(11)：3229-3236.
WU B，SU W W，JU D C，et al. Isolation，identification and pathogenicity evaluation of porcine epidemic diarrhea virus SD201604 Strain[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine，2018，45(11)：3229-3236.

[11] 雷喜梅，杨永乐，许姝雅，等. 猪流行性腹泻病毒血清学及临床诊断方法研究进展[J]. 浙江大学学报（农业与生命科学版），2018，44(2)：149-156.
LEI X M，YANG Y L，XU Z Y，et al. Research progress on serological and clinical diagnostic assays of porcine epidemic diarrhea virus[J]. Journal of Zhejiang University（Agriculture and Life Sciences），2018，44(2)：149-156.

[12] SUN D，WANG X，WEI S，et al. Epidemiology and vaccine of porcine epidemic diarrhea virus in China：a mini-review[J]. J Vet Med Sci，2016，78(3)：355-363.

[13] 常铁城，陈建飞，冯力，等. 2014年部分地区猪流行性腹泻病毒流行病学调查[J]. 中国预防兽医学报，2016，38(4)：335-338.
CHANG T C，CHEN J F，FENG L，et al. Epidemiological survey of porcine epidemic diarrhea virus in 2014[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine，2016，38(4)：335-338.

[14] CIMA G. PED virus reinfecting U. S. herds. virus estimated to have killed 7 million-plus pigs[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association，2014，245：166-167.

[15] 苏运芳，孙彦刚，刘运，等. 猪流行性腹泻疫苗研究进展[J]. 畜牧与兽医，2016，48(2)：134-138.
SU Y F，SUN Y G，LIU Y，et al. Research progress of swine epidemic diarrhea vaccine[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine，2016，48(2)：134-138.

[16] JUNG K，SAIF L J. Porcine epidemic diarrhea virus infection：etiology，epidemiology，pathogenesis and immunoprophylaxis

[J]. The Veterinary journal,2015,204(2):134-143.

[17] DUARTE M, TOBLER K, BRIDGEN A, et al. Sequence analysis of the porcine epidemic diarrhea virus genome between the nucleocapsid and spike protein genes reveals a polymorphic ORF[J]. Virology,1994,198(2):466-476.

[18] LEE C. Porcine epidemic diarrhea virus: an emerging and re-emerging epizootic swine virus[J]. Virology Journal,2015,12(1):193.

[19] PARK S J,SONG D S,HA G W,et al. Cloning and further sequence analysis of the spike gene of attenuated porcine epidemic diarrhea virus DR13[J]. Virus Genes,2007,35(1):55-64.

[20] SHEN Z,YANG Y L,YANG S Q,et al. Structural and biological basis of alphacoronavirus nsp1 associated with host proliferation and immune evasion[J]. Viruses,2020,12(8):812.

[21] SUN D,FENG L,SHI H,et al. Identification of two novel B cell epitopes on porcine epidemic diarrhea virus spike protein [J]. Veterinary Microbiology,2008,131(1/2):73-81.

[22] SU Y F,HOU Y X,WANG Q H. The enhanced replication of an S-intact PEDV during coinfection with an S1 NTD-del PEDV in piglets[J]. Veterinary Microbiology,2019,228:202-212.

[23] REGUERA J,SANTIAGO C,MUDGAL G,et al. Structural bases of coronavirus attachment to host aminopeptidase N and its inhibition by neutralizing antibodies[J]. PLoS Pathogens,2012,8(8):e1002859.

[24] CAO L Y,GE X Y,GAO Y,et al. Putative phage-display epitopes of the porcine epidemic diarrhea virus S1 protein and their antiviral activity[J]. Virus Genes,2015,51(2):217-224.

[25] CHANG S H,BAE J L,KANG T J,et al. Identification of the epitope region capable of inducing neutralizing antibodies against the porcine epidemic diarrhea virus[J]. Molecules and Cells,2002,14(2):295-299.

[26] CORSE E,MACHAMER C E. Infectious bronchitis virus E protein is targeted to the Golgi complex and directs release of virus-like particles[J]. Journal of Virology,2000,74(9):4319-4326.

[27] CHEN J F,SUN D B,WANG C B,et al. Molecular characterization and phylogenetic analysis of membrane protein genes of porcine epidemic diarrhea virus isolates in China[J]. Virus Genes,2008,36(2):355-364.

[28] SHI D,SHI H Y,SUN D B,et al. Nucleocapsid interacts with NPM1 and protects it from proteolytic cleavage,enhancing cell survival,and is involved in PEDV growth[J]. Scientific Reports,2017,7:39700.

[29] HUANG Y W,DICKERMAN A W,PIÑEYRO P,et al. Origin,evolution,and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States [J]. mBio,2013,4(5):e00737-13.

[30] 赵文影,谢莉敏,李毅毅,等. 2023年规模化猪场主要病原检测结果分析[J]. 猪业科学,2024,41(5):85-89.
ZHAO W Y, XIE L M, LI Y Y, et al. Analysis of detection results of main pathogens in large-scale pig farms in 2023[J]. Swine Industry Science,2024,41(5):85-89.

[31] 王明,马思奇,周金法,等. 猪流行性腹泻灭活疫苗的研究[J]. 中国畜禽传染病,1993(5):17-19.
WANG M,MA S J,ZHOU J F,et al. Study on inactivated porcine epidemic diarrhea vaccine[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine,1993(5):17-19.

[32] 马思奇,王明,周金法,等. 猪流行性腹泻病毒适应Vero细胞培养及以传代细胞毒制备氢氧化铝灭活疫苗免疫效力试验[J]. 中国畜禽传染病,1994,16(2):15-19.
MA S Q,WANG M,ZHOU J F,et al. Adaption of porcine epidemic diarrhea virus to growth in cell cultures and efficacy of the killed virus vaccine[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine,1994,16(2):15-19.

[33] 马思奇,王明,冯力,等. 猪传染性胃肠炎与猪流行性腹泻二联氢氧化铝细胞灭活疫苗的研究[J]. 中国畜禽传染病,1995,17(6):23-27.
MA S J,WANG M,FENG L,et al. Study on the inactivated aluminum hydroxide cell vaccine of transmissible gastroenteritis and porcine epidemic diarrhea[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine,1995,17(6):23-27.

[34] 藏玉婷,张春媛. 猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联灭活疫苗血清学效力检验与靶动物免疫攻毒保护相关性研究[J]. 饲料博览,2018(3):27-31.
ZANG Y T,ZHANG C Y. Correlation research of the antibody titer and virus attack protection of porcine transmissible gastroenteritis and porcine epidemic diarrhea inactivated vaccine[J]. Feed Review,2018(3):27-31.

[35] 牛小迎,叶成玉,张君,等. 猪病毒性腹泻三联疫苗的免疫研究[J]. 青海畜牧兽医杂志,2000,30(3):7-8.
NIU X Y,YE C Y,ZHANG J,et al. Study on immunity of triplet vaccine of porcine virus diarrhea[J]. Chinese Qhinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences,2000,30(3):7-8.

[36] 佟有恩,冯力,李伟杰,等. 猪传染性胃肠炎与猪流行性腹泻二联弱毒疫苗的研究[J]. 中国预防兽医学报,1999,21(6):406-410.
TONG Y E,FENG L,LI W J,et al. Development of bi-combined attenuated vaccine against transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine,1999,21(6):406-410.

[37] 刘浩,韩永刚,鲁莹. 临产母猪紧急接种猪传染性胃肠炎+猪流行性腹泻二联活疫苗(HB08+ZJ08株)对初生仔猪保护效果观察[J]. 养猪,2018(3):101-103.
LIU H,HAN Y G,LU Y. Induced sow emergency inoculation pig infective gastroenteritis+pig epidemic diarrhea vaccine (HB08+ZJ08 strain) observation of protection effect on newborn pigs [J]. Swine Production,2018(3):101-103.

[38] SONG D S,OH J S,KANG B K,et al. Oral efficacy of vero cell attenuated porcine epidemic diarrhea virus DR13 strain[J]. Research in Veterinary Science,2007,82(1):134-140.

[39] HO T T,NGUYEN G T,PHAM N B,et al. Plant-derived trimeric CO-26K-equivalent epitope induced neutralizing antibodies against porcine epidemic diarrhea virus[J]. Frontiers in

Immunology，2020，11：2152.

[40] LI L J，YIN S H，ZHOU J J，et al. Spike 1 trimer，a nanoparticle vaccine against porcine epidemic diarrhea virus induces protective immunity challenge in piglets[J]. Frontiers in Microbiology，2024，15：1386136.

[41] LI Q N，OUYANG P，WU T T，et al. PED subunit vaccine based on COE domain replacement of flagellin domain D3 improved specific humoral and mucosal immunity in mice[J]. Vaccine，2018，36(11)：1381-1388.

[42] LI Q N，XU Z C，WU T T，et al. A flagellin-adjuvanted PED subunit vaccine improved protective efficiency against PEDV variant challenge in pigs[J]. Vaccine，2018，36(29)：4228-4235.

[43] MURTAZA A，HOA N T，DIEU-HUONG D，et al. Advancing PEDV vaccination：comparison between inactivated and flagellin N-terminus-adjuvanted subunit vaccines[J]. Vaccines，2024，12(2)：139.

[44] FERRAN M C，SKUSE G R. Recombinant Virus Vaccines：Methods and Protocols[M]. New York，NY：Springer New York，2017.

[45] GERDTS V，ZAKHARTCHOUK A. Vaccines for porcine epidemic diarrhea virus and other swine coronaviruses[J]. Veterinary Microbiology，2017，206：45-51.

[46] KIM H，LEE Y K，KANG S C，et al. Recent vaccine technology in industrial animals[J]. Clinical and Experimental Vaccine Research，2016，5(1)：12.

[47] SAWATTRAKOOL K，STOTT C J，BANDALARIAMARCA R D，et al. Field trials evaluating the efficacy of porcine epidemic diarrhea vaccine，RNA（Harrisvaccine）in the Philippines[J]. Tropical Animal Health and Production，2020，52(5)：2743-2747.

[48] 杨利敏，王俊虹，徐明国，等. 猪流行性腹泻mRNA疫苗的制备与免疫原性评价[J]. 生物工程学报，2023，39(7)：2624-2633.
Yang L M，Wang J H，Xu M G，et al. Preparation and immunogenicity evaluation of mRNA vaccine against porcine epidemic diarrhea[J]. Chinese Journal of Biotechnology，2023，39(7)：2624-2633.

[49] ZHAO Y X，FAN B C，SONG X，et al. PEDV-spike-protein-expressing mRNA vaccine protects piglets against PEDV challenge[J]. mBio，2024，15(2)：e0295823.

[50] LI G X，SHI N，SUO S，et al. Vaccination of mice with ORF5 plasmid DNA of PRRSV；enhanced effects by co-immunizing with porcine IL-15[J]. Immunological Investigations，2012，41(3)：231-248.

[51] LILLEHOJ H S，DING X C，QUIROZ M A，et al. Resistance to intestinal coccidiosis following DNA immunization with the cloned 3-1E Eimeria gene plus IL-2，IL-15，and IFN-gamma[J]. Avian Diseases，2005，49(1)：112-117.

[52] SUO S，REN Y D，LI G X，et al. Immune responses induced by DNA vaccines bearing Spike gene of PEDV combined with porcine IL-18[J]. Virus Research，2012，167(2)：259-266.

[53] ZHANG Y D，ZHANG X H，LIAO X D，et al. Construction of a bivalent DNA vaccine co-expressing *S* genes of transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus delivered by attenuated Salmonella typhimurium[J]. Virus Genes，2016，52(3)：354-364.

[54] MENG F D，REN Y D，SUO S，et al. Evaluation on the efficacy and immunogenicity of recombinant DNA plasmids expressing spike genes from porcine transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus[J]. PLoS One，2013，8(3)：e57468.

[55] YIN Y，ZHU L，LIU P J，et al. Evaluation on the efficacy and immunogenicity of recombinant DNA plasmids expressing *S* gene from porcine epidemic diarrhea virus and VP7 gene from porcine rotavirus[J]. Brazilian Journal of Microbiology，2019，50(1)：279-286.

[56] 聂民财，岳健国，邓益超，等. 表达猪流行性腹泻病毒*S1*基因植物乳酸杆菌工程菌的免疫原性分析[J]. 生物工程学报，2021，37(8)：2779-2785.
NIE M C，YUE J G，DENG Y C，et al. Immunogenicity of engineered *Lactobacillus plantarum* expressing porcine epidemic diarrhea virus *S1* gene[J]. Chinese Journal of Biotechnology，2021，37(8)：2779-2785.

[57] 赵德，李鹏，高凤山，等. 猪流行性腹泻病毒乳酸菌载体疫苗对小鼠初步免疫试验[J]. 动物医学进展，2013，34(3)：6-9.
ZHAO D，LI P，GAO F S，et al. Study on preliminary immune tests in rats by injecting recombinant *Lactococcus lactis* vaccine containing porcine epidemic diarrhea virus gene[J]. Progress in Veterinary Medicine，2013，34(3)：6-9.

[58] HOU X Y，JIANG X P，JIANG Y P，et al. Oral immunization against PEDV with recombinant *Lactobacillus casei* expressing dendritic cell-targeting peptide fusing COE protein of PEDV in piglets[J]. Viruses，2018，10(3)：106.

[59] SUN Y，SONG W Q，GAO C，et al. Orally administered recombinant *Lactobacillus* expressing PEDV neutralizing antibody protects piglets against PEDV infection[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2024，282：137006.

（责任编辑：温晓平）