

## 重组 B 群脑膜炎球菌疫苗大鼠安全性和免疫原性研究

苏桂民<sup>1,2</sup>, 纪国存<sup>1,2</sup>, 郭通<sup>1,2</sup>, 冀颖<sup>1,2</sup>, 龙静<sup>1,2</sup>, 王欣惠<sup>1,2</sup>, 朱卫华<sup>1,2</sup>, 杜琳<sup>1,2</sup> (1. 北京市细菌性疫苗工程技术研究中心, 北京 100176; 2. 北京智飞绿竹生物制药有限公司研发中心, 北京 100176)

**摘要:**目的 对大鼠重复给予重组 B 群脑膜炎球菌疫苗, 考察该创新疫苗的非临床安全性和免疫原性, 为临床设计人用剂量及临床毒副反应的监测提供参考依据。方法 使用 SD 大鼠, 设计阴性对照组、佐剂对照组、疫苗低剂量组 (每只 1 剂) 和高剂量组 (每只 3 剂) 4 个主试验组及 3 个卫星组。于第 0、3、6、9、12 周分别肌肉注射, 进行临床观察和解剖观察, 并对多种组织脏器进行病理学检查。检测体质量、食量、体温、血细胞计数、凝血功能、血液生化、眼科、T 淋巴细胞亚群、细胞因子、血清特异性 IgG 抗体和杀菌抗体等指标。结果 低、高剂量重组 B 群脑膜炎球菌疫苗均能产生高水平的结合抗体, 免疫血清具有较强活性的杀菌抗体。低、高剂量组疫苗可引起大鼠中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞显著升高, 血红蛋白和红细胞比容显著降低。与给药相关的改变还表现为血清球蛋白升高, 白蛋白降低, 与之伴随的 A/G 值降低。4 周恢复期后均可恢复正常。与佐剂和疫苗免疫相关的组织病理学改变为注射局部可见轻微至中度肉芽肿性炎症、急性炎症, 坐骨神经外膜单个核细胞/混合细胞浸润、增生, 淋巴结髓索浆细胞数目及粒细胞系增多等。结论 重组 B 群脑膜炎球菌疫苗对 SD 大鼠具有良好的免疫原性和安全性, 未见免疫毒性反应, 可见与铝佐剂和免疫反应相关的外周血液指标变化以及注射部位炎症。本试验剂量下, 重组 B 群脑膜炎球菌疫苗未见不良反应剂量 (no observed adverse effect level, NOAEL) 为每只 3 剂。

**关键词:** 重组 B 群脑膜炎球菌疫苗; 大鼠; 免疫原性; 安全性

doi: 10. 11669/cpj. 2024. 02. 003 中图分类号: R378. 1 + 5; R186 文献标志码: A 文章编号: 1001 - 2494 (2024) 02 - 0118 - 10

### Safety and Immunogenicity of Recombinant Group B Meningococcal Vaccine in Rats

SU Guimin<sup>1,2</sup>, JI Guocun<sup>1,2</sup>, GUO Tong<sup>1,2</sup>, JI Ying<sup>1,2</sup>, LONG Jing<sup>1,2</sup>, WANG Xinhui<sup>1,2</sup>, ZHU weihua<sup>1,2</sup>, DU Lin<sup>1,2</sup> (1. Beijing Bacterial Vaccine Engineering Research Center, Beijing 100176, China; 2. Vaccine Research and Development Center, Beijing Zhifei Luzhu Biopharmaceutical Co., Ltd., Beijing 100176, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the non-clinical safety and immunogenicity of recombinant group B meningococcal vaccine by repeatedly dose to rats, so as to provide reference for designing dose level and monitoring toxicity and side effects in clinical trials. **METHODS** SD rats were used to design 4 main toxicity groups including negative control group, adjuvant control group, low dose vaccine group (1 dose each) and high dose vaccine group (3 doses each) and 3 satellite groups. The vaccine was dosed by intramuscular injection at weeks 0, 3, 6, 9 and 12 respectively. During the study, all the animals of the main toxicity group were observed for clinical signs, indicators such as body weights, food consumption, body temperature, blood cells counting, coagulation, serum biochemistry, ophthalmology, T lymphocyte subsets and cytokines were detected. Serum specific IgG antibody and bactericidal antibody were measured for satellite animals. All the animals were observed anatomically, main organs were weighed to the calculate viscera/body ratio and the viscera/brain ratio, and various tissues and organs were examined pathologically. **RESULTS** It could produce high-leveled binding antibodies and bactericidal antibodies with strong activity in immune serum that rats injected the low and high doses of recombinant group B meningococcal vaccines. Both the low and high dose vaccines caused the increases in neutrophils, monocytes and lymphocytes significantly, the decreases in hemoglobin and RBC significantly. Other dose-related changes involved the increase in serum globulin and decrease in albumin, with concomitant decrease in A/G, which basically returned to normal after 4 weeks of recovery period. The histopathological findings associated with adjuvant and vaccine were mild or moderate granulomatous inflammation, acute inflammation in injection site, infiltration and proliferation of mononuclear cells/mixed cells in the sciatic membrane, and increased number of myeloid plasma cells and granulocytes in lymph nodes. **CONCLUSION** Recombinant group B meningococcal vaccine had good immunogenicity and safety profile in SD rats, there is no immune toxicity reaction. It is obvious that adjuvant and vaccine-related changes in indicators of peripheral blood and the inflammation response in injection site. Under the dose levels of this study, there is no adverse effect level on recombinant B group meningococcal vaccine for 3 doses/one rat.

**KEY WORDS:** recombinant group B meningococcal vaccine; rat; immunogenicity; safety

作者简介: 苏桂民, 男, 研究员 研究方向: 疫苗研发 Tel: (010) 67872389

脑膜炎球菌是引起流行性脑脊髓膜炎(简称流脑)的主要病原体,按荚膜多糖划分为12个血清群,其中A、B、C、X、Y和W<sub>135</sub>群几乎覆盖了全球所有流脑病例的致病菌群<sup>[1-3]</sup>。近年来,随着A、C、Y、W<sub>135</sub>群脑膜炎球菌荚膜多糖疫苗或多糖结合疫苗的推广使用,B群流脑开始在多个国家占有相当大的发病比例<sup>[4]</sup>。2015-2019年中国境内报告流脑病例共540例,年均发病率为0.78/1000万,在296例脑膜炎球菌血清群阳性病例中,A、B、C、W<sub>135</sub>、Y及不可分群分别占4.73%、36.15%、22.97%、6.08%、1.69%、28.38%,其中0~4岁、5~9岁病例中B群病例分别占58.56%、55.00%,呈现儿童高发B群流脑态势<sup>[5-6]</sup>。

与A、C、Y、W<sub>135</sub>群多糖疫苗不同,B群多糖的主要成分是 $\alpha(2\rightarrow8)$ -N-乙酰神经氨酸聚合物,是人中枢神经系统抗原类似物,作为疫苗成分,其免疫原性弱且存在导致自身免疫性疾病的风险<sup>[7]</sup>,因而B群脑膜炎球菌疫苗研发采用的为蛋白疫苗策略。国外研发上市B群疫苗主要为外膜囊泡(outer membrane vesicle,OMV)疫苗及重组蛋白疫苗,其中OMV疫苗是PorA蛋白作为主要抗原成分的囊泡疫苗,由于PorA蛋白序列具有高度保守性,其不能对所有致病流行株形成广泛有效的保护效果<sup>[8-10]</sup>。蛋白类疫苗Trumenba<sup>®</sup>疫苗(Pfizer)和Bexsero<sup>®</sup>疫苗(GSK)2种,已分别于2014年10月和2015年1月获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市,均含有H因子结合蛋白(fHBP)作为抗原成分。fHBP蛋白是几乎表达在所有B群脑膜炎球菌流行株的一种脂蛋白<sup>[11]</sup>,根据氨基酸序列和抗原性分为fHBP-A、fHBP-B亚家族<sup>[12]</sup>2个亚家族,每种B群菌株只表达1种fHBP蛋白,且不相互交叉保护<sup>[13-14]</sup>。Trumenba疫苗筛选了2个fHBP蛋白亚家族代表性的各一蛋白作为抗原成分<sup>[15]</sup>,临床试验和医学调查证实其对分离的致病菌株具有免疫保护作用,扩展了对B群流行株的保护范围<sup>[16]</sup>。我国20世纪90年代开始,Wang等<sup>[17-18]</sup>已开展B群外膜蛋白类抗原研究及流脑分型抗体制备工作,为我国B群流脑疫苗研发奠定了基础。近年来B群OMV、蛋白结合多糖及融合蛋白等<sup>[19-21]</sup>作疫苗成分的免疫原性研究均有大量报道,但国内至今未有实现商品化的B群疫苗。

重组B群脑膜炎球菌疫苗(大肠杆菌)是国内正在研发的创新型疫苗,选取fHBP-A、fHBP-B亚家族蛋白为有效成分。本研究对大鼠重复肌肉注射该重组B群疫苗,考察疫苗的安全性、有效性和对主

要脏器的损害及影响程度,为临床设计人用剂量和监测其毒副反应提供参考依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 受试物和对照品

重组B群脑膜炎球菌疫苗(大肠杆菌,将fHBP-A和fHBP-B蛋白基因克隆至大肠埃希菌,经发酵培养、诱导表达,将菌体破碎离心,层析纯化制成纯化蛋白原液,加入磷酸铝佐剂吸附后混合制成疫苗,含有fHBP-A和fHBP-B蛋白各60 $\mu$ g,批号:20200801)、佐剂对照品(批号:20200616、20200922)(北京智飞绿竹生物制药有限公司);阴性对照品为0.9%氯化钠注射液(生理盐水,山东齐鲁药业有限公司,批号:6B19111301,6B20060706)。

### 1.2 实验动物和饲养条件

SPF级SD大鼠,6~7周龄,共150只,雌雄各半(北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证编号:110011201107518884、110011201107518986)。体重范围:140~220g。饲养于聚碳酸酯盒中,20~26 $^{\circ}$ C,湿度40%~70%,光照约12h明暗交替。

### 1.3 试剂和仪器

HRP标记山羊抗大鼠多克隆抗体(美国Sigma公司)、fHBP抗体检测用预包被酶标板(北京智飞绿竹生物制药有限公司);LEGENDplex<sup>™</sup>大鼠检测试剂盒(BioLegend公司);四甲基联苯胺(TMB)显色液;牛肉粉琼脂;氯化三苯基四氮唑(TTC)染料(美国Sigma公司);苏木精-伊红(HE)染料等。

Advia2120型全自动血球分析仪(德国Siemens公司);CA-1500型全自动血凝分析仪(日本Sysmex公司);Cobas6500型尿检分析仪(瑞士Roche公司);FACS Calibur流式细胞仪(美国BD公司);DxFLEX流式细胞仪(美国Beckman公司);酶标仪(美国MDC公司);生物安全柜(新加坡ESCO公司);二氧化碳培养箱(美国Thermo公司);涂片机,显微镜,包埋机,切片机等。

### 1.4 研究设计

使用Provantis 9.4.3.0系统动物管理模块将动物按性别区段随机分为7组,包括主试验组4个组别:阴性对照组、佐剂对照组、低剂量组(每只1剂)、高剂量组(每只3剂)和3个卫星组,主试验组每组每性别15只动物,卫星组每组每性别5只动物。肌肉注射给药,多点注射。在0、3、6、9、12周各给药1次,连续给药共5次,恢复期4周。

试验期间对所有动物进行临床观察,对主试

验组动物统计体质量和摄食量,进行眼科检查、血细胞计数、凝血功能、血液生化、尿液分析、免疫学指标 T 淋巴细胞亚群、细胞因子等测定,并大体解剖观察,及骨髓涂片、脏器称重和组织病理学等检查。

卫星组采集血液检测血清抗体效价,并检测血清杀菌滴度。血清杀菌试验参照 Ingeborg S. Aaberge<sup>[22]</sup>的方法进行,其中 B 群脑膜炎球菌 Nm211009 和 Nm450522 等株 fHBP 蛋白属于 A 亚家族, Nm311302 和 Nm311113 等株 fHBP 蛋白属于 B 亚家族,菌株均来自于中国疾病预防控制中心。

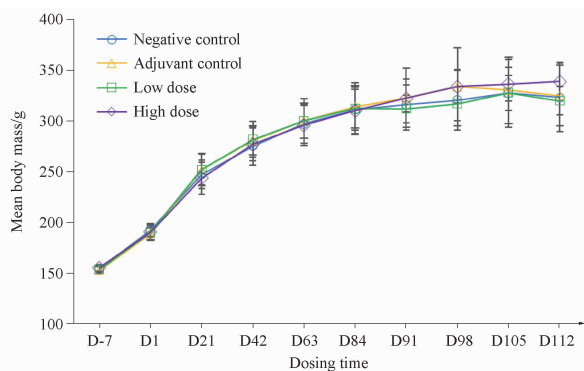
### 1.5 数据采集与统计方法

使用 Proantis 9.4.3.0 系统采集数据或导入数据,使用 SAS 9.2 软件进行方差分析、Dunnett's 多重比较(参数法)等统计分析。

## 2 结果

### 2.1 症状观察、注射部位观察、体质量、摄食量、体温和眼科检查

动物临床观察未见异常反应,各组动物给药局部观察未见红斑、充血、肿胀、溃疡和硬结异常反应。从入组前 1 周(D-7)至恢复期结束前(第 112 天, D112),与阴性对照组比较,佐剂和疫苗各剂量组动物体重均未见有统计学意义的显著变化( $P > 0.05$ ),雌、雄性动物各组间体重在各时间点均无明显差异( $P > 0.05$ )。给予重组 B 群脑膜炎球菌疫苗未对大鼠体质量、摄食量、体温和眼部产生明显影响,见图 1~2。

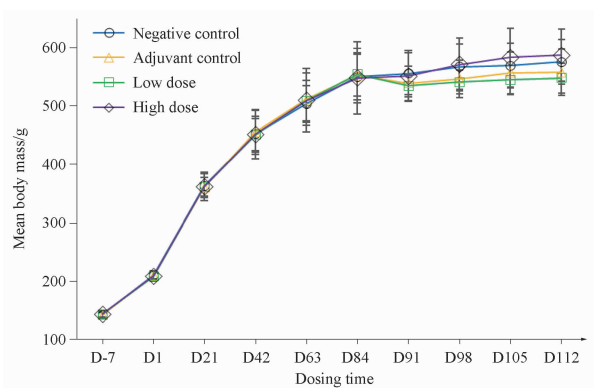


给药期  $n = 10$ , 恢复期  $n = 5$ 。

Dosing phase,  $n = 10$ , recovery phase,  $n = 5$ 。

**图 1** 重复给予重组 B 群脑膜炎球菌疫苗雌性大鼠体质量变化。  $\bar{x} \pm s$

**Fig. 1** Body weight changes of female rats receiving recombinant group B meningococcal vaccine repeatedly.  $\bar{x} \pm s$



给药期  $n = 10$ , 恢复期  $n = 5$ 。

Dosing phase,  $n = 10$ , recovery phase,  $n = 5$ 。

**图 2** 重复给予重组 B 群脑膜炎球菌疫苗雄性大鼠体质量变化。  $\bar{x} \pm s$

**Fig. 2** Body weight changes of male rats receiving recombinant group B meningococcal vaccine repeatedly.  $\bar{x} \pm s$

### 2.2 血液学测定

与同期同性别阴性对照组比较,首次给药后 3 d(第 4 天, D4):高剂量组雄性动物可见中性粒细胞( Neut)计数和百分比、单核细胞( Mono)计数显著升高和淋巴细胞( Lymph)百分比显著降低;末次给药后 3 d(第 88 天, D88):低、高剂量组雌雄动物均可见 Neut 计数和百分比、Mono 计数升高和 Lymph 百分比降低,低、高剂量组雄性动物的白细胞计数升高,而雌性动物只有高剂量组升高,见表 1~2。4 周恢复期结束(第 113 天, D113),以上改变可见恢复或恢复趋势。

首次给药后 3 d(D4),低、高剂量组的血红蛋白(HGB)浓度和红细胞比容(HCT)百分比显著降低或呈降低趋势,末次给药后 3 d(D88),低、高剂量组均表现为显著降低。此外,首次给药后佐剂对照组和低、高剂量组雄性动物 Retic 浓度和百分比降低,雌性动物并不明显,末次给药后 3 d(D88),只有高剂量雄性动物网织红细胞(Retic)仍显著降低,直至 4 周恢复期结束(D113)。另外,雌雄动物表现不同的是,末次给药后 3 d(D88)高剂量组雄性动物平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)的明显降低和血小板(PLT)水平明显升高,而同时期雌性动物只有高剂量的 MCH 变化显著(表 3~4)。

以上差异具有统计学意义( $P \leq 0.05$ ),可能与给予供试品后引起的免疫反应和或局部刺激性相关,4 周恢复期结束(D113),以上改变可见恢复或恢复趋势。

### 2.3 血液生化

末次给药后 3 d(D88),佐剂对照组和低、高剂

表 1 重组 B 群脑膜炎球菌疫苗重复给药雄性大鼠白细胞(WBC)计数和百分比.  $\bar{x} \pm s$

Tab. 1 White blood cell (WBC) count and percentage in male rats after receiving recombinant group B meningococcal vaccine repeatedly.  $\bar{x} \pm s$

Measure time	Groups	WBC	Neut	Neut	Mono	Mono	Lymph	Lymph
		$/10^9 \cdot L^{-1}$	$/10^9 \cdot L^{-1}$	/%	$/10^9 \cdot L^{-1}$	/%	$/10^9 \cdot L^{-1}$	/%
After three days of first dose (D4, n=5)	Negative control	8.72 ± 1.44	1.22 ± 0.59	13.62 ± 5.20	0.31 ± 0.11	3.42 ± 0.85	7.07 ± 0.99	81.48 ± 5.64
	Adjuvant control	11.04 ± 2.49	1.59 ± 0.43	14.38 ± 2.08	0.45 ± 0.08	4.32 ± 1.30	8.80 ± 2.09	79.54 ± 2.94
	Low dose	9.07 ± 0.99	1.33 ± 0.13	14.82 ± 2.43	0.31 ± 0.06	3.48 ± 0.78	7.29 ± 1.00	80.18 ± 2.53
	High dose	12.45 ± 1.54 <sup>1)</sup>	3.57 ± 0.75 <sup>1)</sup>	28.66 ± 4.50 <sup>1)</sup>	0.55 ± 0.10 <sup>1)</sup>	4.52 ± 1.19	8.15 ± 1.22	65.40 ± 4.48 <sup>1)</sup>
After three days of last dose (D88, n=10)	Negative control	5.84 ± 1.87	0.75 ± 0.17	13.51 ± 3.34	0.20 ± 0.10	3.44 ± 1.58	4.77 ± 1.70	81.11 ± 3.55
	Adjuvant control	7.07 ± 1.86	0.87 ± 0.17	13.07 ± 4.59	0.31 ± 0.17	4.21 ± 1.27	5.74 ± 1.70	80.64 ± 4.80
	Low dose	10.00 ± 2.06 <sup>1)</sup>	2.70 ± 0.79 <sup>1)</sup>	27.90 ± 10.48 <sup>1)</sup>	0.41 ± 0.17 <sup>1)</sup>	4.04 ± 1.42	6.69 ± 1.98	66.09 ± 9.65 <sup>1)</sup>
	High dose	11.09 ± 2.50 <sup>1)</sup>	3.56 ± 1.05 <sup>1)</sup>	32.07 ± 6.70 <sup>1)</sup>	0.57 ± 0.22 <sup>1)</sup>	5.05 ± 0.91	6.73 ± 1.70	60.90 ± 7.01 <sup>1)</sup>
End of recovery period (D113, n=5)	Negative control	8.34 ± 2.08	2.29 ± 0.76	27.20 ± 6.08	0.32 ± 0.17	3.60 ± 1.25	5.53 ± 1.24	66.80 ± 7.04
	Adjuvant control	7.49 ± 2.84	1.52 ± 0.52	20.80 ± 4.58	0.27 ± 0.10	3.76 ± 1.29	5.55 ± 2.37	73.38 ± 5.94
	Low dose	7.85 ± 1.89	1.86 ± 0.76	22.96 ± 6.55	0.27 ± 0.14	3.42 ± 1.49	5.59 ± 1.26	71.68 ± 7.54
	High dose	9.77 ± 1.54	2.57 ± 0.33	26.74 ± 5.00	0.30 ± 0.07	3.16 ± 0.62	6.71 ± 1.41	68.24 ± 5.35

注: <sup>1)</sup>与阴性对照比较,  $P < 0.05$ , Anova & Dunnett 差异性显著。

Note: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , compared with negative control, significant difference test by Anova & Dunnett.

表 2 重组 B 群脑膜炎球菌疫苗重复给药雌性大鼠 WBC 计数和百分比.  $\bar{x} \pm s$

Tab. 2 WBC count and percentage of female rats after receiving recombinant group B meningococcal vaccine repeatedly.  $\bar{x} \pm s$

Measure time	Groups	WBC	Neut	Neut	Mono	Mono	Lymph	Lymph
		$/10^9 \cdot L^{-1}$	$/10^9 \cdot L^{-1}$	/%	$/10^9 \cdot L^{-1}$	/%	$/10^9 \cdot L^{-1}$	/%
After three days of first dose (D4, n=5)	Negative control	9.57 ± 2.13	1.76 ± 1.00	18.48 ± 9.95	0.25 ± 0.14	2.48 ± 1.16	7.38 ± 1.81	76.94 ± 10.42
	Adjuvant control	10.44 ± 0.93	1.54 ± 0.38	14.68 ± 3.17	0.39 ± 0.14	3.68 ± 1.21	8.34 ± 0.73	80.02 ± 4.14
	Low dose	10.10 ± 1.66	2.24 ± 0.97	21.78 ± 8.50	0.43 ± 0.11	4.24 ± 1.09	7.28 ± 1.23	72.48 ± 8.97
	High dose	10.23 ± 0.38	2.50 ± 0.76	24.34 ± 6.96	0.39 ± 0.10	3.82 ± 0.90	7.15 ± 0.75	70.04 ± 7.84
After three days of last dose (D88, n=10)	Negative control	5.18 ± 1.42	0.66 ± 0.22	13.02 ± 3.07	0.17 ± 0.11	3.31 ± 1.54	4.23 ± 1.21	81.55 ± 3.10
	Adjuvant control	6.06 ± 2.60	0.65 ± 0.17	11.67 ± 3.61	0.20 ± 0.08	3.59 ± 1.21	5.07 ± 2.36	82.48 ± 3.62
	Low dose	7.52 ± 1.98	2.34 ± 0.58 <sup>1)</sup>	31.79 ± 6.47 <sup>1)</sup>	0.33 ± 0.16 <sup>1)</sup>	4.23 ± 1.26	4.69 ± 1.56	61.87 ± 6.78 <sup>1)</sup>
	High dose	9.29 ± 2.81 <sup>1)</sup>	3.12 ± 1.30 <sup>1)</sup>	33.42 ± 7.88 <sup>1)</sup>	0.43 ± 0.18 <sup>1)</sup>	4.53 ± 0.81	5.51 ± 1.70	59.57 ± 7.90 <sup>1)</sup>
End of recovery period (D113, n=5)	Negative control	3.59 ± 1.49	0.68 ± 0.20	21.42 ± 9.13	0.12 ± 0.07	3.36 ± 0.86	2.70 ± 1.32	72.70 ± 9.72
	Adjuvant control	2.93 ± 0.90	0.57 ± 0.14	19.72 ± 2.45	0.11 ± 0.04	3.78 ± 0.83	2.18 ± 0.72	74.08 ± 2.82
	Low dose	4.00 ± 1.54	0.66 ± 0.12	18.62 ± 6.94	0.23 ± 0.13	5.42 ± 2.32	3.00 ± 1.38	73.00 ± 7.28
	High dose	4.49 ± 1.42	1.11 ± 0.40 <sup>1)</sup>	26.04 ± 8.64	0.20 ± 0.14	4.14 ± 2.13	3.07 ± 1.17	66.64 ± 8.55

注: <sup>1)</sup>与阴性对照比较,  $P < 0.05$ , Anova & Dunnett 差异性显著。

Note: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , compared with negative control, significant difference test by Anova & Dunnett.

量组与给药相关的异常改变主要表现为球蛋白 (Glb) 浓度升高, 白蛋白 (Alb) 浓度降低, 以及与之伴随的白蛋白/球蛋白 (A/G) 显著降低, 高剂量组动物的血清总蛋白 (TP) 水平同样显著降低, 见表 5。

此外, 首、末次给药后次日 (D2、D86), 佐剂对照组和低、高剂量组雌雄动物可见凝血纤维蛋白 (FIB) 浓度升高, 首、末次药后 3 d (D4、D88) 仍处于显著增高水平, 但呈现一定的恢复趋势。多数指标的改变具有统计学意义 ( $P \leq 0.05$ ), 结合疫苗的作用机制和方式, 认为可能与给予佐剂或疫苗后引起的免疫反应和局部刺激性有关, 见图 3。4 周恢复期结束 (D113), 以上各项指标均

明显恢复。其他生化指标未见与给药相关的异常改变。

#### 2.4 淋巴细胞亚群分布、细胞因子

各组动物的 T 淋巴细胞亚群未见与给药相关的异常改变。末次给药后 3 d (D88) 高剂量组雄性动物  $CD3^+ CD4^+ / CD3^+ CD8^+$  升高, 为阴性对照组均值的 1.38 倍, 见表 6。4 周恢复期结束 (D113), 佐剂对照组雌性动物  $CD3^+ CD4^+$  水平升高和  $CD3^+ CD8^+$  水平降低, 随之  $CD3^+ CD4^+ / CD3^+ CD8^+$  显著升高, 由于仅单性别可见且未见明显规律性改变, 因此不具有毒理学意义。

首次给药后和末次给药后 1 ~ 2 h (D1、D85),

表3 重组B群脑膜炎球菌疫苗重复给药雄性大鼠红细胞相关计数和百分比.  $\bar{x} \pm s$

Tab. 3 Red blood cell count and percentage of male rats after receiving recombinant group B meningococcal vaccine repeatedly.

$\bar{x} \pm s$

Measure time	Groups	HGB	HCT	Retic	Retic	MCV	MCH	PLT
		/g · L <sup>-1</sup>	/%	/10 <sup>12</sup> · L <sup>-1</sup>	/%	/10 <sup>-15</sup> L	/10 <sup>-12</sup> g	/10 <sup>12</sup> · L <sup>-1</sup>
After three days of first dose (D4, n = 5)	Negative control	135.8 ± 3.4	44.32 ± 0.97	0.525 ± 0.035	8.35 ± 0.70	70.34 ± 1.72	21.52 ± 0.47	1.23 ± 0.07
	Adjuvant control	133.0 ± 3.2	43.12 ± 1.18	0.390 ± 0.060 <sup>1)</sup>	6.24 ± 1.18 <sup>1)</sup>	68.76 ± 3.33	21.20 ± 1.05	1.13 ± 0.16
	Low dose	125.2 ± 4.1 <sup>1)</sup>	41.10 ± 1.64 <sup>1)</sup>	0.340 ± 0.061 <sup>1)</sup>	5.66 ± 1.07 <sup>1)</sup>	68.28 ± 2.34	20.78 ± 0.63	1.19 ± 0.20
	High dose	126.8 ± 0.4 <sup>1)</sup>	41.38 ± 0.44 <sup>1)</sup>	0.334 ± 0.068 <sup>1)</sup>	5.41 ± 1.10 <sup>1)</sup>	66.98 ± 1.61	20.50 ± 0.47	1.15 ± 0.14
After three days of last dose (D88, n = 10)	Negative control	155.3 ± 6.8	49.89 ± 2.22	0.179 ± 0.030	2.05 ± 0.38	57.23 ± 1.76	17.81 ± 0.75	0.91 ± 0.14
	Adjuvant control	148.7 ± 7.0	48.25 ± 2.20	0.182 ± 0.034	2.11 ± 0.41	56.08 ± 1.37	17.27 ± 0.68	1.00 ± 0.14
	Low dose	146.3 ± 4.6 <sup>1)</sup>	47.74 ± 1.94	0.183 ± 0.030	2.13 ± 0.39	55.41 ± 1.88	17.01 ± 0.67 <sup>1)</sup>	1.06 ± 0.09 <sup>1)</sup>
	High dose	141.9 ± 5.4 <sup>1)</sup>	46.50 ± 1.83 <sup>1)</sup>	0.137 ± 0.032 <sup>1)</sup>	1.60 ± 0.36 <sup>1)</sup>	54.43 ± 2.06 <sup>1)</sup>	16.60 ± 0.64 <sup>1)</sup>	1.14 ± 0.10 <sup>1)</sup>
End of recovery period (D113, n = 5)	Negative control	166.3 ± 7.8	54.73 ± 3.35	0.197 ± 0.028	2.11 ± 0.39	58.13 ± 1.66	17.70 ± 0.63	0.89 ± 0.08
	Adjuvant control	159.4 ± 7.3	52.44 ± 2.03	0.222 ± 0.018	2.41 ± 0.26	56.74 ± 2.35	17.22 ± 0.88	0.90 ± 0.08
	Low dose	157.0 ± 3.7	52.80 ± 1.94	0.199 ± 0.030	2.18 ± 0.37	57.58 ± 3.47	17.14 ± 0.79	0.97 ± 0.10
	High dose	155.6 ± 6.1	52.32 ± 2.42	0.221 ± 0.050	2.31 ± 0.49	54.70 ± 1.23	16.26 ± 0.43 <sup>1)</sup>	0.97 ± 0.08

注: <sup>1)</sup>与阴性对照比较,  $P < 0.05$ , Anova & Dunett 差异性显著; HGB - 血红蛋白; HCT - 红细胞比容; Retic - 网织红细胞; MCV - 平均红细胞体积; MCH - 平均红细胞血红蛋白含量; PLT - 血小板。

Note: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , compared with negative control, significant difference test by Anova & Dunett; HGB - hemoglobin; HCT - hematocrit; Retic - reticulocyte; MCV - mean corpuscular volume; MCH - mean corpuscular hemoglobin; PLT - platelet.

表4 重组B群脑膜炎球菌疫苗重复给药雌性动物红细胞相关计数和百分比.  $\bar{x} \pm s$

Tab. 4 Red blood cell count and percentage of female rats after receiving recombinant group B meningococcal vaccine repeatedly.

$\bar{x} \pm s$

Measure time	Groups	HGB	HCT	Retic	Retic	MCV	MCH	PLT
		/g · L <sup>-1</sup>	/%	/10 <sup>12</sup> · L <sup>-1</sup>	/%	/10 <sup>-15</sup> L	/10 <sup>-12</sup> g	/10 <sup>12</sup> · L <sup>-1</sup>
After three days of first dose (D4, n = 5)	Negative control	137.2 ± 10.3	43.84 ± 2.85	0.274 ± 0.087	3.97 ± 1.47	62.30 ± 1.65	19.46 ± 0.38	1.04 ± 0.13
	Adjuvant control	139.8 ± 8.9	44.84 ± 3.65	0.202 ± 0.033	2.85 ± 0.64	62.74 ± 2.18	19.62 ± 0.99	1.10 ± 0.16
	Low dose	126.0 ± 6.4	40.24 ± 2.28	0.220 ± 0.045	3.46 ± 0.64	63.52 ± 1.81	19.92 ± 0.54	1.18 ± 0.19
	High dose	127.8 ± 7.6	40.80 ± 3.11	0.238 ± 0.056	3.63 ± 0.84	61.98 ± 0.66	19.44 ± 0.40	1.00 ± 0.17
After three days of last dose (D88, n = 10)	Negative control	146.8 ± 6.0	45.34 ± 1.64	0.199 ± 0.064	2.55 ± 0.83	58.04 ± 1.85	18.77 ± 0.58	0.96 ± 0.11
	Adjuvant control	145.6 ± 5.3	45.46 ± 1.88	0.191 ± 0.045	2.44 ± 0.57	58.11 ± 1.26	18.61 ± 0.59	1.04 ± 0.15
	Low dose	139.7 ± 4.1 <sup>1)</sup>	43.66 ± 1.97 <sup>1)</sup>	0.187 ± 0.036	2.45 ± 0.43	57.27 ± 2.03	18.35 ± 0.69	0.99 ± 0.10
	High dose	133.1 ± 2.1 <sup>1)</sup>	42.02 ± 0.89 <sup>1)</sup>	0.194 ± 0.034	2.60 ± 0.44	56.30 ± 1.02	17.83 ± 0.49 <sup>1)</sup>	1.08 ± 0.11
End of recovery period (D113, n = 5)	Negative control	149.6 ± 8.9	48.22 ± 3.41	0.169 ± 0.045	2.10 ± 0.53	60.26 ± 1.37	18.70 ± 0.31	0.89 ± 0.23
	Adjuvant control	152.4 ± 10.5	49.40 ± 3.27	0.165 ± 0.035	2.08 ± 0.48	62.06 ± 2.24	19.12 ± 0.68	0.91 ± 0.05
	Low dose	149.2 ± 6.1	48.24 ± 1.99	0.154 ± 0.016	1.91 ± 0.21	59.88 ± 1.27	18.54 ± 0.56	0.86 ± 0.13
	High dose	146.0 ± 17.5	48.30 ± 6.08	0.214 ± 0.085	2.85 ± 1.73	60.16 ± 1.66	18.22 ± 0.69	0.84 ± 0.17

注: <sup>1)</sup>与阴性对照比较,  $P < 0.05$ , Anova & Dunett 差异性显著。

Note: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , compared with negative control, significant difference test by Anova & Dunett.

低、高剂量组动物的 TNF- $\alpha$  和 IL-6 均可见显著升高,且首次给药后升高幅度大于末次给药后,高剂量组升高幅度大于低剂量组,可能与给药后引起的免疫反应相关。末次给药后 3 d (D88) 和 4 周恢复期结束 (D113), 各组动物的 TNF- $\alpha$ 、IL-6 未见明显异常改变,见图 4。

## 2.5 血清抗体效价

低、高剂量组均能产生高水平的特异性 IgG 抗体,表现出相似的变化规律。在免疫初期,血

清抗体水平表现出一定的剂量相关性,随着免疫次数增加,抗体水平在低、高剂量组之间无明显差异,见图 5。首次给药后 3 周 (第 21 天, D21), 低、高剂量组均产生抗 fHBP-A、抗 fHBP-B 2 种抗原的结合抗体,低剂量小于高剂量;给药后 6 周 (第 42 天, D42) 2 种抗原的结合抗体水平基本达到峰值,均在 1:2<sup>17</sup> 以上,无剂量差异;给药后 6、9、12 周甚至恢复期结束一直保持在较高水平。

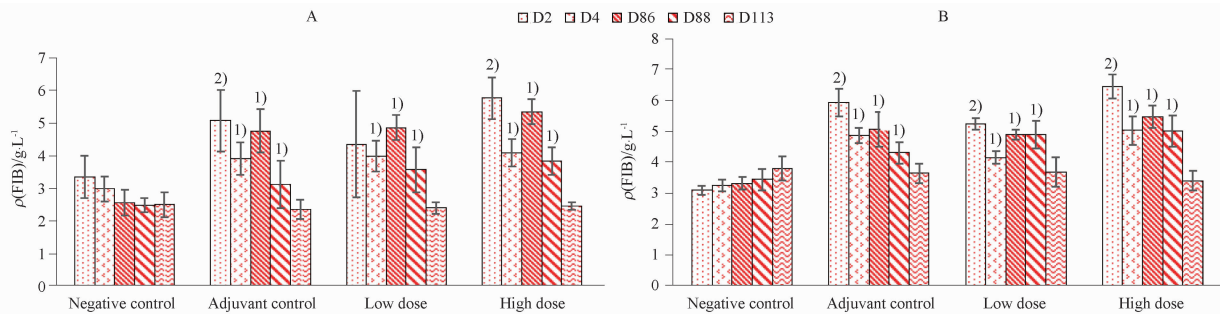
表5 重组B群脑膜炎球菌疫苗末次给药至恢复期血清生化部分指标变化.  $\bar{x} \pm s$

Tab. 5 Changes of some serum biochemical indexes from the end dose of recombinant group B meningococcal vaccine to recovery period.  $\bar{x} \pm s$

Groups	After three days of last dose (D88, n=10)				End of recovery period (D113, n=5)			
	TP/g · L <sup>-1</sup>	Alb/g · L <sup>-1</sup>	Glb/g · L <sup>-1</sup>	A/G	TP/g · L <sup>-1</sup>	Alb/g · L <sup>-1</sup>	Glb/g · L <sup>-1</sup>	A/G
Negative control-male	67.28 ± 4.27	34.71 ± 1.89	32.57 ± 2.83	1.08 ± 0.06	68.45 ± 5.69	34.13 ± 2.86	34.33 ± 2.93	1.00 ± 0.00
Adjuvant control - male	65.63 ± 2.45	31.65 ± 2.28 <sup>1)</sup>	33.98 ± 0.64	0.94 ± 0.08 <sup>1)</sup>	69.20 ± 3.45	34.76 ± 1.16	34.44 ± 2.74	1.04 ± 0.09
Low dose-male	65.71 ± 2.90	29.74 ± 1.94 <sup>1)</sup>	35.97 ± 1.54 <sup>1)</sup>	0.82 ± 0.04 <sup>1)</sup>	69.78 ± 3.69	34.10 ± 0.82	35.68 ± 2.96	0.96 ± 0.05
High dose-male	62.47 ± 1.39 <sup>1)</sup>	27.04 ± 0.97 <sup>1)</sup>	35.43 ± 1.07 <sup>1)</sup>	0.76 ± 0.05 <sup>1)</sup>	69.38 ± 4.11	33.18 ± 1.33	36.20 ± 3.22	0.09 ± 0.07
Negative control-female	74.10 ± 4.70	44.02 ± 2.92	30.08 ± 2.68	1.49 ± 0.14	81.04 ± 5.83	45.76 ± 4.54	35.28 ± 1.92	1.30 ± 0.12
Adjuvant control-female	77.69 ± 4.61	44.40 ± 3.20	33.29 ± 2.32 <sup>1)</sup>	1.33 ± 0.12 <sup>1)</sup>	81.14 ± 2.92	47.50 ± 2.74	33.64 ± 1.84	1.44 ± 0.11
Low dose-female	74.35 ± 6.26	38.94 ± 5.47 <sup>1)</sup>	35.41 ± 1.91 <sup>1)</sup>	1.10 ± 0.17 <sup>1)</sup>	84.82 ± 4.79	47.50 ± 2.93	37.32 ± 2.38	1.28 ± 0.08
High dose-Female	66.21 ± 2.92 <sup>1)</sup>	31.85 ± 1.89 <sup>1)</sup>	34.36 ± 1.16 <sup>1)</sup>	0.92 ± 0.04 <sup>1)</sup>	84.12 ± 6.38	46.02 ± 2.95	38.10 ± 3.56	1.20 ± 0.07

注:<sup>1)</sup>与阴性对照比较,  $P < 0.05$ , Anova & Dunett 差异性显著; TP - 总蛋白; Alb - 白蛋白; Glb - 球蛋白; A/G - 白蛋白/球蛋白。

Note:<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , compared with negative control, significant difference test by Anova & Dunett; TP - total protein; Alb - albumin; Glb - globulin; A/G - albumin/globulin.



D88, n=10; D2, D4, D86, D113, n=5; 与阴性对照比较, Anova & Dunett 差异性显著, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ , 差异性极显著, <sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

D88, n=10; D2, D4, D86, D113, n=5; significant difference test, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; extremely significant difference test, <sup>2)</sup> $P < 0.01$  by Anova & Dunett, compared with negative control group.

图3 重组B群脑膜炎球菌疫苗重复给药后雌性(A)和雄性(B)大鼠凝血纤维蛋白(FIB)短时间内水平变化.  $\bar{x} \pm s$

Fig. 3 Changes of FIB level in female (A) and male (B) rats within a short time receiving recombinant group B meningococcal vaccine repeatedly.  $\bar{x} \pm s$

表6 重组B群脑膜炎球菌疫苗末次给药与恢复期结束大鼠淋巴细胞亚群分布.  $\bar{x} \pm s$

Tab. 6 Distribution of lymphocyte subsets in rats after end dose of recombinant group B meningococcal vaccine and recovery period.  $\bar{x} \pm s$

Groups	After three days of last dose (D88, n=10)				End of recovery period (D113, n=5)			
	CD3 <sup>+</sup> /%	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> /%	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> /%	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> / CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> /%	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> /%	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> /%	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> / CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>
Negative control-male	48.17 ± 10.05	59.62 ± 3.58	38.23 ± 3.56	1.58 ± 0.25	48.34 ± 2.82	54.55 ± 4.78	44.09 ± 4.77	1.26 ± 0.27
Adjuvant control-male	52.47 ± 3.58	62.88 ± 4.24	34.71 ± 3.98	1.84 ± 0.34	42.99 ± 3.27	62.96 ± 5.56	35.29 ± 5.40	1.84 ± 0.44
Low dose-male	53.17 ± 6.50	57.70 ± 6.19	39.38 ± 6.28	1.51 ± 0.35	46.62 ± 4.72	60.93 ± 7.97	37.21 ± 7.78	1.72 ± 0.50
High dose-male	45.00 ± 5.44	65.90 ± 4.84	30.89 ± 4.56	2.19 ± 0.51 <sup>1)</sup>	43.76 ± 4.12	60.38 ± 3.45	38.14 ± 3.45	1.60 ± 0.26
Negative control-female	55.74 ± 6.13	64.15 ± 8.01	33.01 ± 8.00	2.10 ± 0.81	50.02 ± 8.40	60.64 ± 6.40	38.09 ± 6.33	1.65 ± 0.46
Adjuvant control-female	53.81 ± 4.04	60.69 ± 6.19	36.40 ± 5.62	1.72 ± 0.45	53.74 ± 8.33	72.55 ± 2.23 <sup>1)</sup>	26.15 ± 2.29 <sup>1)</sup>	2.80 ± 0.36 <sup>1)</sup>
Low dose-female	54.55 ± 6.99	66.16 ± 5.40	30.64 ± 5.47	2.25 ± 0.64	53.16 ± 6.27	61.38 ± 6.14	37.35 ± 6.10	1.69 ± 0.37
High dose-female	54.88 ± 7.83	64.56 ± 5.91	31.47 ± 4.92	2.12 ± 0.52	47.88 ± 6.48	68.08 ± 4.52	30.46 ± 4.50	2.29 ± 0.50

注:<sup>1)</sup>与阴性对照比较,  $P < 0.05$ , Anova & Dunett 差异性显著。

Note:<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , compared with negative control, significant difference test by Anova & Dunett.

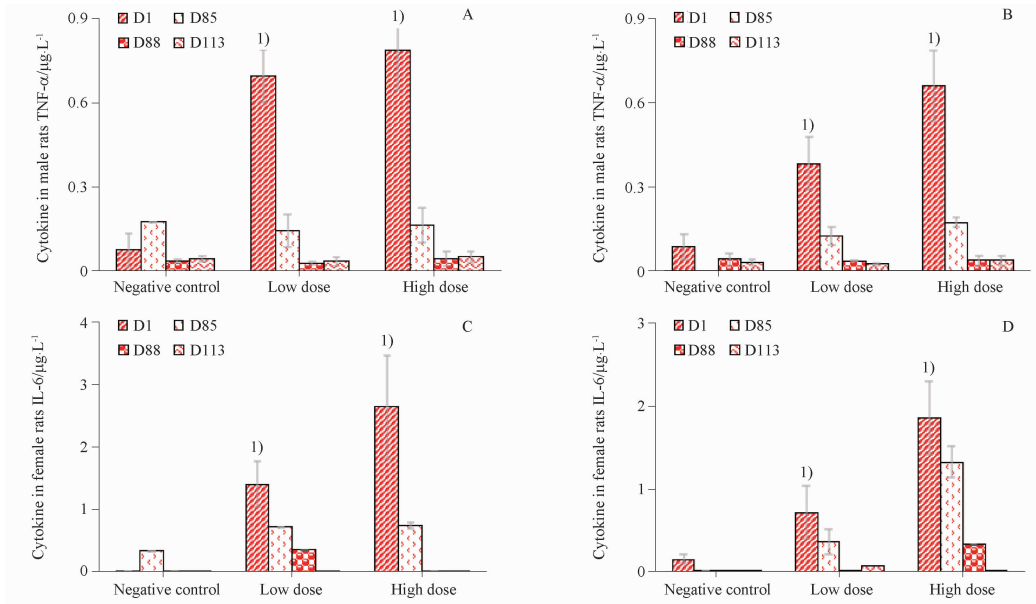
## 2.6 杀菌抗体滴度

以B群脑膜炎球菌Nm210902、Nm450522株(A亚家族)和Nm311302、Nm311113株(B亚家族)作

为靶菌检测血清的杀菌活性,见表7、图6,3次免疫后(第63天,D63)血清对靶菌均表现出显著的杀菌活性。与佐剂对照相比,低、高剂量血清对A亚家

族两个菌株的杀菌滴度均大于 1:512,与佐剂对照呈显著差异,且雌雄动物表现相近;对 B 亚家族两个菌株的杀菌滴度不小于 1:388,与佐剂对照差异显著,雌性稍高于雄性。其中对 Nm311302 菌株,低

剂量组血清平均滴度 1:1024、1:676,显著高于高剂量组的 1:588、1:512,体现出剂量效应和菌株特殊性,Nm311113 菌株,低、高剂量血清杀菌呈现相似变化。



与阴性对照比较, Anova & Dunett 差异性极显著, <sup>1)</sup>P < 0.01。

<sup>1)</sup>P < 0.01, compared with negative control group, extremely significant difference test by Anova & Dunett.

图4 重组B群脑膜炎球菌疫苗重复给药后雄性(A,B)和雌性(C,D)大鼠细胞因子TNF-α和IL-6短时间内水平变化。n=5,  $\bar{x} \pm s$

Fig. 4 Changes of cytokine TNF-α and IL-6 level in male (A, B) and female (C, D) rats within a short time after repeated doses. n = 5,  $\bar{x} \pm s$

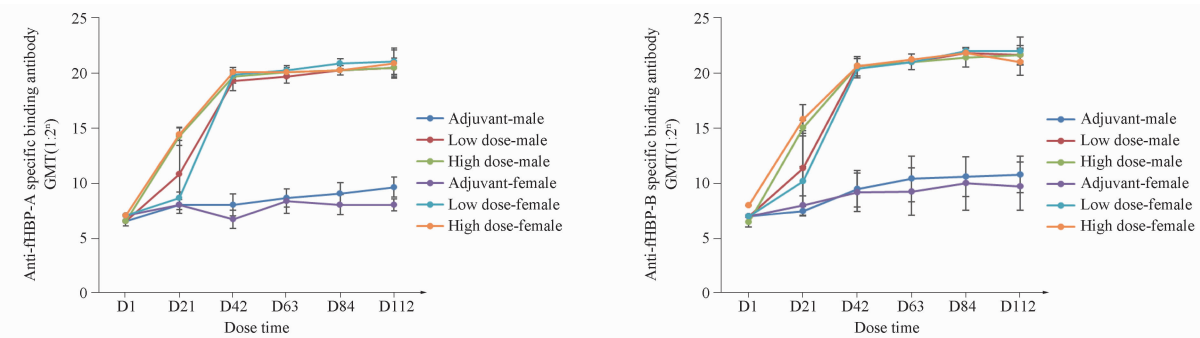


图5 大鼠免疫血清对2种H因子结合蛋白(fHBP)抗原血清抗体滴度。n=5,  $\bar{x} \pm s$

Fig. 5 The titer of rat immune serum against two fHBP antigens. n = 5,  $\bar{x} \pm s$

## 2.7 脏器质量和病理学检查

与阴性对照组相比,低和高剂量组动物脾脏和肝脏脏器质量略有增加,导致脏器比或脏脑比小幅度增加,但未引起显著影响。

佐剂对照组和低、高剂量组动物引起双侧注射部位肌肉白色斑块的大体病理学改变见图7A~7F,注射局部轻微至中度肉芽肿性炎症,并大多数

动物伴有注射局部肌肉可见轻微至中度急性炎症,坐骨神经外膜轻度单个核细胞或混合炎细胞浸润,考虑为注射局部炎症蔓延至周围邻近组织,同时病变发生率疫苗组高于佐剂对照组。4周恢复期结束,以上病理变化完全恢复或呈现一定的恢复趋势。另外,动物腹股沟淋巴结出现轻度至中度髓索浆细胞数目增多,及胸骨骨髓轻微粒细

胞系增多的现象,可能与肌肉注射疫苗后产生的免疫反应有关。恢复期结束(D113),上述改变可

见完全恢复。其他脏器组织未见与给药相关的毒性病理改变,见图 7G~7J。

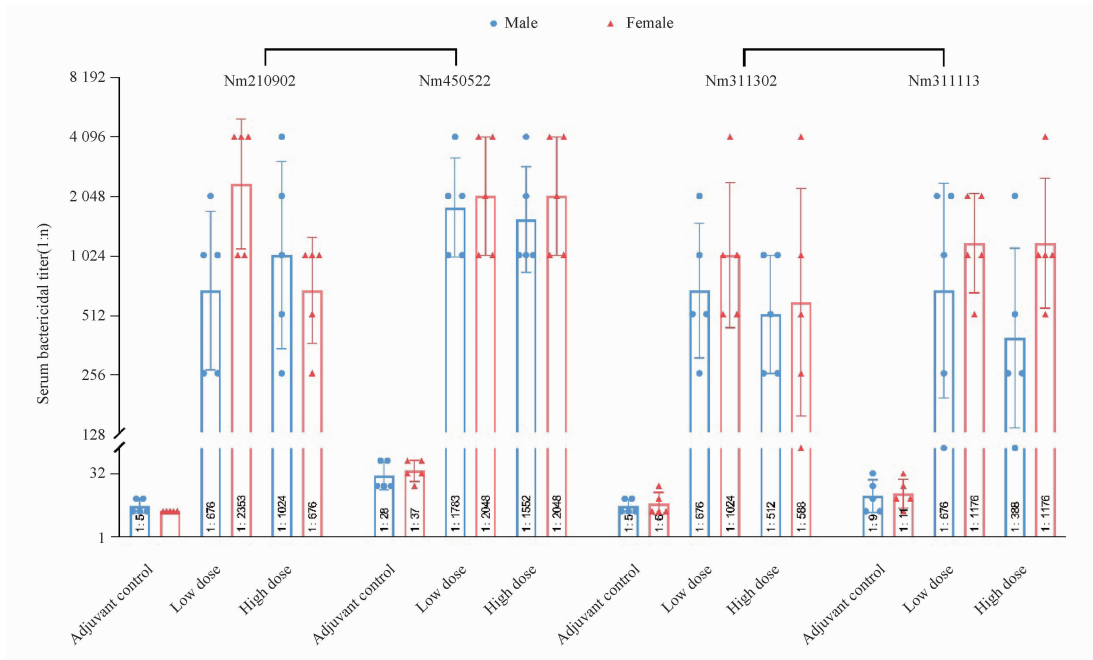


图 6 首次给药后 63 d 血清(D63)对 B 群脑膜炎球菌流行株的杀菌活性.  $n = 5, \bar{x} \pm s$

Fig. 6 Bactericidal activity against group B meningococcal epidemic strains of serum after 63 days first dose(D63).  $n = 5, \bar{x} \pm s$

表 7 B 群脑膜炎球菌 A、B 亚家族流行株平均杀菌滴度

Tab. 7 Mean bactericidal titer of group B meningococcal epidemic strains A and B subfamily

Groups	n	<i>N. meningitidis</i> GroupB fHBP-A family strains				<i>N. meningitidis</i> GroupB fHBP-B family strains			
		Nm210902		Nm450522		Nm311302		Nm311113	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Adjuvant control	5	1:5	<1:4	1:28	1:37	1:5	1:6	1:9	1:11
Low dose	5	1:676	1:2353	1:1783	1:2048	1:194	1:1024	1:676	1:1176
High dose	5	1:1024	1:676	1:1552	1:2048	1:84	1:128	1:388	1:1176

### 3 讨论

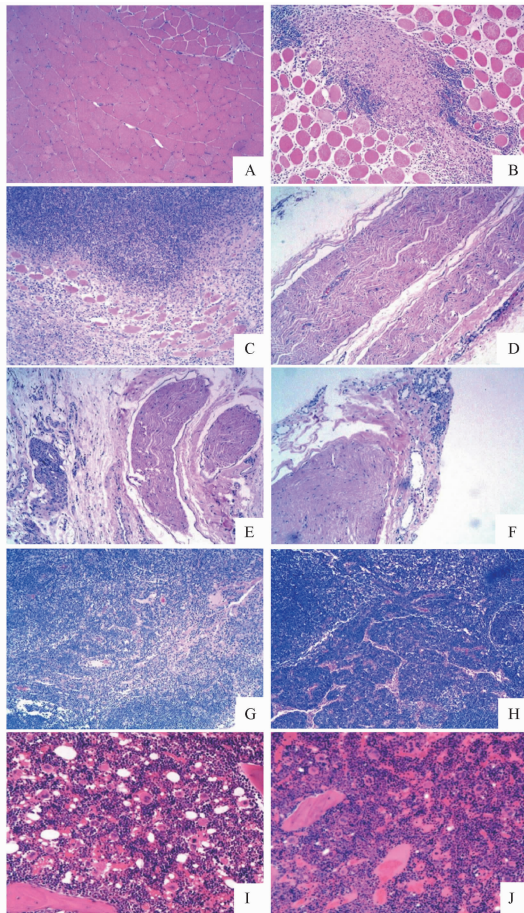
首次给药后和末次给药后 3 d,低、高剂量组雌雄动物均出现 WBC、Neut、Mono、Glb 水平升高,中性粒细胞 Neut 在非特异性免疫中起着十分重要的作用,具有很强的吞噬活性<sup>[23]</sup>,而单核细胞 Mono 在特异性免疫应答的诱导和调控中起关键作用<sup>[24]</sup>,所以导致白细胞计数 WBC 显著升高。首、末次给药后次日和 3 d 后 FIB 始终处于显著升高水平,这可能纤维蛋白 FIB 促进组织血运重建,伤口愈合和组织修复的作用有关<sup>[25-26]</sup>,同时给药后引起的 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的短时间内升高,结合蛋白疫苗的作用机制和方式,该变化与给药后引起的免疫反应与局部刺激性有关。

病理学检查中,低和高剂量组分别有 13/20 和 17/20 动物出现的注射局部肌肉轻微至中度急性炎

症;3/20 和 6/20 动物腹股沟淋巴结发生轻度至中度髓索浆细胞数目增多;以及 10/20 和 16/20 动物胸骨骨髓发生轻微至轻度粒细胞系增多现象。上述变化均与注射疫苗后引起的免疫反应相关。恢复期结束后上述改变均完全恢复。

佐剂对照组和低、高剂量组注射局部均有与铝佐剂相关的轻微至中度肉芽肿性炎症,与铝佐剂可导致注射局部炎症反应的文献报道一致<sup>[27]</sup>,反应性质与本试验相同且恢复需要较长时间。佐剂对照组和低、高剂量组分别有 6/20、14/20、15/20 动物坐骨神经外膜可见轻微至轻度单个核细胞/混合炎细胞浸润,可能为注射局部炎症蔓延至周围邻近组织所致。4 周恢复期结束上述改变尚未恢复,但呈现明显的恢复趋势。

低、高剂量组均可诱导 SD 大鼠产生较高水平



A - 阴性对照组 1M2 号动物,注射局部未见明显异常改变;B - 佐剂对照组 2M2 号动物,注射局部可见轻微肉芽肿性炎症;C - 高剂量组 4M2 号动物,注射局部可见急性炎症、肉芽肿性炎症;D - 阴性对照组 1M2 号动物,坐骨神经未见明显异常改变;E - 佐剂对照组 2M2 号动物,坐骨神经外膜可见单个核细胞浸润;F - 高剂量组 4M2 号动物,坐骨神经外膜可见单个核细胞浸润;G - 阴性对照组 1M2 号动物,腹股沟淋巴结未见明显异常改变;H - 高剂量组 4M2 号动物,腹股沟淋巴结髓索浆细胞数目增多;I - 阴性对照组 1M2 号动物,胸骨骨髓未见明显异常改变;J - 高剂量组 4M2 号动物,胸骨骨髓可见粒细胞系增多。

A - 1M2 animal in negative control group, no obvious abnormal changes in injection site;B - 2M2 animal in adjuvant control group, mild granulomatous inflammation in injection site;C - 4M2 animal in high dose group, acute and granulomatous inflammation in injection site;D - 1M2 animal in negative control group, no obvious abnormal changes on the sciatic nerve;E - 2M2 animal in adjuvant control group, visible monocyte infiltration on the sciatic nerve membrane;F - 4M2 animal in high dose group, visible monocyte infiltration on the sciatic nerve membrane;G - 1M2 animal in negative control group, no obvious abnormal changes in inguinal lymph nodes;H - 4M2 animal in high dose group, an increase in the number of myeloid plasma cells in inguinal lymph nodes;I - 1M2 animal in negative control group, no obvious abnormal changes in sternum marrow;J - 4M2 animal in high dose group, an increase of granulocyte series in sternum marrow.

图 7 注射局部、坐骨神经、腹股沟淋巴结、胸骨骨髓与供试品/佐剂对照相关的可见病变(HE 染色, A-H, J-10 倍物镜, I-20 倍物镜)

Fig. 7 Lesions related to the test substance/adjuvant control were observed in the injection site, sciatic nerve, inguinal lymph nodes, and sternum marrow. (HE staining, A-H, J- $\times 10$ , I- $\times 20$ )

的特异性 IgG 抗体,且 4 周恢复期结束抗体滴度仍维持在较高水平未见降低。4 株 B 群脑膜炎球菌流行株的杀菌活性显示,低、高剂量组均表现为显著的杀菌活性,从而表明疫苗针对 B 群脑膜炎球菌流行株的高效预防作用。

因此,采用每只 1 剂和每只 3 剂的重组 B 群脑膜炎球菌疫苗,在第 0、3、6、9、12 周分别肌肉注射注射 SD 大鼠,低、高剂量疫苗均能引起大鼠中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞显著升高,血清球蛋白升高,与之伴随的 A/G 值降低。低、高剂量疫苗和佐剂均引起双侧注射部位肌肉白色斑块的病理学改变及注射部位轻微至中度肉芽肿性炎症、急性炎症,坐骨神经外膜单个核细胞或混合细胞浸润,淋巴结髓索浆细胞数目增多及骨髓粒细胞系增多等,4 周恢复期结束后病变完全或部分恢复,该病理学改变主要与疫苗中所含磷酸铝佐剂有关。重组 B 群脑膜炎球菌疫苗对 SD 大鼠有良好的免疫原性和较好的安全性,无明显毒性剂量为每只 3 剂。本实验为评价重组 B 群脑膜炎球菌疫苗的非临床安全性提供了重要研究结果,为临床设计人用剂量和临床不良反应的监测提供了参考。

## REFERENCES

- [ 1 ] Centers for Disease Control and Prevention, U. S. Department of Health and Human Services. Enhanced Meningococcal Disease Surveillance Report [ ER/OL]. 2016. <https://www.cdc.gov/meningococcal/downloads/NCIRD-EMS-Report>.
- [ 2 ] HARRISON O B, CLAUS H, JIANG Y, *et al.* Description and nomenclature of neisseria meningitidis capsule locus [J]. *Emerg Infect Dis*, 2013, 19(4):566-573.
- [ 3 ] JAFRI R Z, ALI A, MESSONNIER N E, *et al.* Global epidemiology of invasive meningococcal disease [J]. *Popul Health Metr*, 2013, 11(1):17. DOI: 10.1186/1478-7954-11-17.
- [ 4 ] DONALD R G, HAWKINS J C, HAO L, *et al.* Meningococcal serogroup B vaccines: estimating breadth of coverage [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2017, 13(2):255-265.
- [ 5 ] LI J H, WU D, WEN N, *et al.* Serogroup distribution characteristics of epidemic cerebrospinal meningitis in China from 2015 to 2019 [J]. *Chin J Vaccine Immun* (中国疫苗和免疫), 2020, 26(3):241-244.
- [ 6 ] HU X J. Epidemiological surveillance and prophylaxis of epidemic cerebrospinal meningitis [J]. *Chin J Vaccine Immun* (中国疫苗和免疫), 2001, 7(5):300-303.
- [ 7 ] GRANOFF D M. Review of meningococcal group B vaccines [J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 50(S2):54-56.
- [ 8 ] KELLY R E Jr, SHAMBERGER R C, MELLINS R B, *et al.* Prospective multicenter study of surgical correction of pectus excavatum: design, perioperative complications, pain, and baseline pulmonary function facilitated by internet-based data collection [J]. *J Am Coll Surg*, 2007, 205(2):205-216.
- [ 9 ] LENNON D, REID S, STEWART J, *et al.* Reducing inequali-

- ties with vaccines; New Zealand's MeNZB vaccine initiative to control an epidemic [J]. *J Paediatr Child Health*, 2012, 48(3):193-201.
- [10] TAPPERO J W, LAGOS R, BALLESTEROS A M, *et al.* Immunogenicity of 2 serogroup B outer-membrane protein meningococcal vaccines; a randomized controlled trial in Chile [J]. *JAMA*, 1999, 281(16):1520-1527.
- [11] FLETCHER L D, BEMFIELD L, BARNIAK V, *et al.* Vaccine potential of the Neisseria meningitidis 2086 lipoprotein [J]. *Infect Immun*, 2004, 72(4):2088-2100.
- [12] MURPHY E, ANDREW L, LEE K L, *et al.* Sequence diversity of the factor H binding protein vaccine candidate in epidemiologically relevant strains of serogroup B Neisseria meningitidis [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(3):379-389.
- [13] BEERNINK P T, WELSCH J A, HARRISON L H, *et al.* Prevalence of factor H-binding protein variants and NadA among meningococcal group B isolates from the United States: implications for the development of a multicomponent group B vaccine [J]. *J Infect Dis*, 2007, 195(10):1472-1479.
- [14] BIAGINI M, SPINSANTI M, DE A G, *et al.* Expression of factor H binding protein in meningococcal strains can vary at least 15-fold and is genetically determined [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(10):2714-2719.
- [15] GANDHI A, BALMER P, YORK L J. Characteristics of a new meningococcal serogroup B vaccine, bivalent rLP2086 (MenB-FHbp; Trumenba.) [J]. *Postgrad Med*, 2016, 128(6):548-556.
- [16] FOLARANMI T, RUBIN L, MARTIN S W, *et al.* Use of serogroup B meningococcal vaccines in persons aged >10 years at increased risk for serogroup B meningococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2015, 64(22):608-612.
- [17] YIN C F, WANG L Y, TANG Q Y. Studies on expression and characteristics of iron-regulated proteins of group B Neisseria Meningitidis [J]. *Prog Microbiol Immunol* (微生物学免疫学进展), 1997, 25(1):16-19.
- [18] BAI X Y, WANG L Y, HUANG W X, *et al.* Preparation and preliminary use of McAbs to serotype 15 strains of group B meningococcus [J]. *J Monoclon Antibody* (单克隆抗体通讯), 1991, 7(1):28-30.
- [19] LI X J, GAO D D, BI Y W, *et al.* Immunogenicity and toxicity of outer membrane vesicle of serogroup B Neisseria meningitidis extracted by three methods [J]. *Chin J Biol* (中国生物制品学杂志), 2011, 24(10):1183-1186.
- [20] GAO R G, SUN S X, ZHANG Y, *et al.* Preparation of meningococcal conjugate vaccine using fHBP of Neisseria meningitidis serogroup B as a protein carrier and its immunogenicity in mice [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2013, 22(7):769-775.
- [21] PENG S Z, XIAO H J, PENG Z H, *et al.* Expression and immunological analysis of recombinant Neisseria Meningitidis group B recombinant fHBP fusion protein [J]. *China Biotechnol* (中国生物工程杂志), 2011, 31(5):28-33.
- [22] BORROW R, AABERGE I S, SANTOS G F, *et al.* Interlaboratory standardization of the measurement of serum bactericidal activity by using human complement against meningococcal serogroup B, strain 44/76-SL, before and after vaccination with the Norwegian MenBvac outer membrane vesicle vaccine [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2005, 12(8):970-976.
- [23] FLANNAGAN R S, COSÍO G, GRINSTEIN S. Antimicrobial mechanisms of phagocytes and bacterial evasion strategies [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7(5):355-366.
- [24] CHEN B Q, PENG Q, XIAO Y, *et al.* Research progress in regulation of monocyte/macrophage mediated inflammatory response by mesenchymal stem cells [J]. *Med Recapit* (医学综述), 2019, 25(1):6-11.
- [25] LOWE G D, RUMLEY A, MACKIE I J. Plasma fibrinogen [J]. *Ann Clin Biochem*, 2004, 41(Pt 6):430-440.
- [26] SEMPOS C T, LOOKER A C. Iron status and the risk of coronary heart disease: an example of the use of nutritional epidemiology in chronic disease research [J]. *J Nutrit Biochem*, 2001, 12(3):170-182.
- [27] DU J, WANG J H, HU T T, *et al.* Research progress on harness of Aluminium adjuvants in vaccines [J]. *Inter J Epidemiol Infect Dis* (国际流行病学传染病学杂志), 2013, 40(1):53-57.

(收稿日期:2022-12-25)