

OVA 加<sub>m</sub>Stx1 或 Stx1B 鼻腔免疫小鼠能产生唾液和鼻洗液抗原特异性 IgA 抗体和 AFC; 而单纯 OVA 免疫小鼠则不能。在体外 OVA 加<sub>m</sub>Stx1 或 Stx1B 鼻腔免疫小鼠的脾脏和 CLN CD4<sup>+</sup> T 细胞能对抗原刺激产生 OVA 特异性增殖应答, 其中以 OVA 加 Stx1-B 鼻腔免疫小鼠的抗原特异性 CD4<sup>+</sup> T 细胞应答最强, OVA 加<sub>m</sub>Stx1 次之, 单纯 OVA 免疫小鼠则不产生细胞增殖应答。OVA 加 Stx1-B 或<sub>m</sub>Stx1 免疫鼠的脾脏和 CLN CD4<sup>+</sup> T 细胞均能产生白细胞介素 (IL) 4、IL-5、IL-6、IL-10, 但 OVA 加 Stx1-B 免疫小鼠产生的 Th2 型细胞因子水平高于 OVA 加<sub>m</sub>Stx1 免疫鼠; 而单纯 OVA 免疫小鼠仅产生少量的 IL-6 和 IL-10。

Ohmura-Hoshino 等认为, 无毒性 Stx 衍生物是一种有希望的新型候选黏膜佐剂。

(王继麟摘 徐葛林校)

CT-2\* 作为佐剂诱导的对多肽抗原的黏膜和全身性细胞免疫应答 [英] / Lomada D, Gambhira R, Nehete PN, et al Vaccine. 2004, 23(4): 555-565

很多病毒通过吸附黏膜而感染宿主, 因此, 直接靶向黏膜表面的接种策略将有助于预防病毒感染。黏膜途径免疫的主要问题是免疫效果和/或黏膜的抗原吸附差, 甚至引起宿主的免疫耐受。因此, 运用与黏膜表面相容的佐剂来加强抗原的免疫原性至关重要。已有很多细菌毒素被用作黏膜佐剂, 此项研究检测了 2 个密码子突变的霍乱毒素 (CT-2\*, 无 ADP 核糖基化活性和毒性) 的黏膜佐剂作用。

研究所用的抗原为已知辅助性 T 细胞 (TH) 和细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 表位的合成多肽。Balb/c 小鼠间隔 5 天鼻腔免疫 1 次或 2 次加或不加 CT-2\* 的多肽, 以天然 CT 作为阳性对照。末次免疫后 5 天制备小鼠鼻相关淋巴组织 (NALT)、颈淋巴结 (CLN)、肠系膜淋巴结 (MLN)、集合淋巴结 (PP)、阴道相关淋巴组织 (VALT) 和脾细胞悬液, 用 CTL 测定和淋巴细胞增殖试验检测细胞应答, 用流式细胞仪和 ELISPOT 测定  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 产生。结果表明, CT-2\* 是肽抗原鼻腔免疫诱导抗原特异性 CTL 应答的有效佐剂, 在 CTL 测定中, 当 E:T 为 100:1 时, CT-2\* 组和 CT 组的引流 CLN 特异性细胞裂解率分别为 36% 和 34%, 脾细胞特异性细胞裂解率分别为 72% 和 44.5%, 表明 CT-2\* 作为黏膜佐剂诱导抗原特异性 CTL 应答的能力与 CT 相当或略强于 CT。CT-2\* 作为佐剂诱导的 CTL 应答由 CD8

T 细胞介导, 具有抗原和主要组织相容性复合体 (MHC) 特异性。CT-2\* 加肽抗原鼻腔免疫能诱导强烈的记忆免疫, 而且不会发生免疫耐受。此外, CT-2\* 佐剂还能诱导抗原特异性 TH 应答。研究表明, 上述结果不仅可在 NALT 和脾细胞中观察到, 而且也可在全身其他黏膜淋巴组织 (如 MLN、PP 和 VALT) 中观察到。

Lomada 认为, CT-2\* 是有效的黏膜佐剂, 与肽抗原一起经鼻黏膜途径免疫能诱导局部和全身黏膜淋巴组织产生抗原特异性细胞免疫。

(刘晶星摘 陈敏校)

鼻内接种的病毒体流感亚单位疫苗在雪貂动物模型中诱导强的局部和全身性保护性免疫 [英] / Lambkin R, Oxford JS, Bossuyt S, et al Vaccine. 2004, 22(31-32): 4390-4396

最近的研究表明, 病毒体颗粒作为疫苗传送系统能够在动物和人类诱导强的免疫应答。雪貂对流感病毒感染的敏感性和临床反应与人类十分相似, 是研究流感疫苗的很好模型。英国伦敦大学 Lambkin 等对雪貂鼻内和肌肉接种病毒体疫苗, 比较两种疫苗防止流感、减轻症状的效果以及免疫雪貂鼻内分泌物中流感病毒的排泄情况。

试验疫苗含有三株流感病毒 (A/北京/262/95(H1N1)、A/悉尼/5/97(H3N2) 和 B/哈尔滨/7/94) 血凝素各 15  $\mu$ g, 鼻内接种疫苗另含 4  $\mu$ g 大肠杆菌不耐热毒素作为黏膜佐剂。将雪貂分为 3 组, 第 1 组分别于第 0 和第 7 天用专用喷雾器鼻内接种 200  $\mu$ l 试验疫苗, 第 2 组于第 0 天肌肉注射 15  $\mu$ g 疫苗, 第 3 组为未免疫对照组。接种后 21 天用  $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub> 的 A/悉尼/5/97(H3N2) 病毒株攻击雪貂, 同时在接种第 0 和第 28 天采集血清进行血凝抑制 (HI) 试验以检测免疫前后病毒特异性抗体水平, 并在第 21~28 天每天测量体温和收集鼻洗液检测炎症细胞数目。

研究结果表明, 两组免疫的雪貂在免疫后 7 天血清 HI 抗体滴度达到高峰且滴度值相近, 病毒攻击后都产生免疫学反应, 因在第 28 天的 HI 抗体滴度达到第 2 次高峰, 而对照组仅在第 28 天达到高峰。在病毒感染后第 1 天对照组体温平均上升 0.78, 明显高于鼻内接种组, 略高于肌肉接种组; 在感染后第 2 天对照组平均体温上升 1.1, 明显高于两个免疫组。在感染后第 3 天对照组的炎症细胞几何平均数为  $2.3 \times 10^7$  / ml, 分别是肌肉接种组和鼻内接种组的

4倍和20倍。对照组在病毒感染后平均体重出现了有规律的降低,肌肉接种组也出现体重减轻趋势,而鼻内接种组在整个观察期间体重逐步上升。病毒感染后第1天所有组都几乎没有病毒排泄,感染后第2天对照组和肌肉接种组排出相近量病毒,而鼻内接种组排出的病毒量显著低于另两组,感染后4天肌肉接种组的病毒排出量降低,几乎与鼻内接种组没有差别,而对照组的病毒排出量始终高于另两组。

因此,这种佐剂型三价病毒体亚单位疫苗对雪貂模型进行鼻内接种可防止流感症状和病毒排泄,提供高水平保护,抵抗同源病毒攻击,并由于其接种方便和安全,在流感疫苗接种者尤其是高危人群中具有良好的反响。

(张颖摘 徐闻青校)

丙型肝炎脂质体多肽疫苗诱导转基因小鼠产生CD8<sup>+</sup> T细胞[英]/Engler OB, Schwendener RA, Dai WJ, et al Vaccine. 2004, 23(1): 58-68

慢性丙型肝炎患者的T细胞免疫功能低下或不足是丙型肝炎病毒(HCV)持续存在的主要原因。瑞士风湿病与临床免疫学/变态反应医院 Engler 等应用脂质体包裹HCV的不同T细胞表位多肽,免疫HLA-A2.1转基因小鼠,观察其激活和诱导针对不同HCV表位的T细胞应答的能力。

将200 mg/ml的大豆卵磷脂、25 mg/ml的胆固醇、1.2 mg/ml的DL- $\alpha$ -维生素E共同溶解在体积比为1:1的甲醇/亚甲基氯化物中,再分别与HCV 1a基因型的10种CD8<sup>+</sup> T细胞表位多肽(4 mg/ml)混合,制得包裹有HCV不同CD8<sup>+</sup> T细胞表位的脂质体多肽疫苗。将HBV核壳蛋白的一段多肽或PADRE多肽添加到疫苗中,则制得带有辅助性T细胞表位的辅助T表位-脂质体多肽疫苗。将CpG寡核苷酸ODN1668添加到疫苗中,则得到CpG-脂质体多肽疫苗。HLA-A2.1转基因小鼠系6~8周龄的HDD小鼠,该小鼠H-2D<sup>b</sup>基因和 $\beta_m$ 基因缺失,转染有人的HLA-A2.1基因。

分别用50  $\mu$ l的含HCV蛋白的不同CD8<sup>+</sup> T细胞表位的脂质体多肽疫苗(多肽含量为130  $\mu$ g),对HLA-A2.1转基因小鼠作皮下注射,每隔2周注射1次,连续3次,末次注射后2周处死小鼠,收集脾细胞,用<sup>51</sup>Cr释放法测定脾细胞的细胞毒性,用ELISPOT法测定干扰素 $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )分泌细胞的数

量。结果:含有CD8<sup>+</sup> T细胞表位132的脂质体多肽疫苗在转基因小鼠体内诱导特异性CD8<sup>+</sup> T细胞,能杀伤表达HCV蛋白的小鼠胸腺瘤细胞和人的T1/NS3-4A细胞,特异性记忆CD8<sup>+</sup> T细胞持续存在3个月;该疫苗还能诱导产生IFN- $\gamma$ 分泌细胞,占脾细胞总数的0.2%~0.4%,持续存在3个月。辅助T表位-脂质体多肽疫苗和CpG-脂质体多肽疫苗诱导的IFN- $\gamma$ 分泌细胞分别占脾细胞总数的0.5%~0.6%和5%。用含CD8<sup>+</sup> T细胞表位132的CpG-脂质体多肽疫苗免疫HLA-A2.1转基因小鼠2次,间隔14天,末次免疫后11天再用 $1 \times 10^7$  pfu的重组HCV病毒vv9A攻击,5天后杀死小鼠,取卵巢并匀浆,结果发现,卵巢组织中的重组HCV vv9A病毒负荷下降1.5~2个对数级。

因此,这种多肽亚单位疫苗可以针对HCV多个表位,有望用于清除慢性丙型肝炎患者体内的HCV,成为新的治疗性HCV亚单位疫苗。

(邵圣文摘 戚中田校)

脊髓灰质炎灭活疫苗的免疫原性和保护性评价:预测疫苗效力的新方法[英]/Dragunsky EM, Ivanov AP, Wells VR, et al J Infect Dis. 2004, 190(8): 1404-1412

用对脊髓灰质炎病毒敏感的转基因(Tg)小鼠评价脊髓灰质炎灭活疫苗(IPV)保护性的分析方法已经建立,并针对2型IPV进行了优化。美国食品和药物管理局Dragunsky等用这种方法来比较由减毒Sabin株生产的实验性IPV(sIPV)和由野生型(wt)脊髓灰质炎病毒MEF-1株生产的传统IPV(cIPV)的免疫原性和保护性。

在保护性试验中,研究人员用不同剂量的cIPV或sIPV腹腔免疫相同数量的雄鼠和雌鼠,并用0.5ml MEF-1或疫苗2型病毒衍生株10660稀释物肌肉内攻击小鼠,连续2周内每日观察小鼠的麻痹和/或瘫痪情况。第1次和/或第2次免疫后从尾静脉采集约50  $\mu$ l血,观察期结束后(攻击后14天)收集唾液,作血清学分析和核苷酸序列测定。

研究发现,从IPV生产厂家得到的MEF-1株的核酸序列和wt2型脊髓灰质炎病毒株Lansing之间仅有16个核苷酸不同,而且只有2个氨基酸置换。而MEF-1和Sabin2株有1310个核苷酸差异(占17.6%),72个氨基酸(3.3%)发生置换,其中包括抗原位点1,3内的几个氨基酸。这些发现表明,MEF-1和Sabin2株之间可能存在不同的抗原特性。