

DOI:10.13350/j.cjpb.230823

• 综述 •

## 载体介导的拉沙病毒疫苗的研制现状\*

李文桂\*\*,陈雅棠

(重庆医科大学附属第一医院传染病寄生虫病研究所,重庆 400016)

**【摘要】** 拉沙病毒(LASV)感染导致的拉沙热是一种人兽共患的病毒性出血热疾病,临床以发热、寒战、咽炎、胸骨后疼痛和蛋白尿为特征,可出现多系统病变,当前采用疫苗防治研究备受关注。糖蛋白和核壳蛋白是2种有效的疫苗候选分子。本文概述了水疱性口炎病毒(rVSV-GPC)、黄热病毒(rYFV-GPC)、牛痘病毒(rVV-NP/GPC)、狂犬病毒(rRABV-GPCco)、腺病毒血清型5(rAd5-GPC/NP)、猩猩腺病毒血清型0x1(rChAdox1-GPC/NP)、莫培亚病毒(rMOPV-GPC/NP)、委内瑞拉马脑炎病毒(rVEEV-GPC/NP)、杆状病毒(rBuV-GPC)和鼠伤寒沙门氏菌(rSt-NP)等载体介导的拉沙病毒疫苗的构建及其免疫机制等方面研制现状。

**【关键词】** 拉沙病毒;糖蛋白;核壳蛋白;疫苗;综述

**【中图分类号】** R373

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2023)08-0983-04

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Aug;18(8):983-986.]

### The status in the research of vector-based vaccine of Lassa virus

LI Wengui, CHEN Yatang (Institute of Infectious and Parasitic Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**【Abstract】** Lassa virus (LASV) is one type of etiologic agents causing zoonotic, infectious disease of viral hemorrhagic fevers (VHFs), its clinical characteristic includes fever, shiver, pharyngitis, posterior sternal pain, albuminuria and multi-organ failure, it recently becomes highlight to control this virus by use of the vaccine. The glycoprotein and nucleocapsid protein are 2 types of attractive candidate molecules of vaccine, it's outlined on the status in the research of construction and immune mechanism of vector-based vaccine of protein of LASV, those vaccines include: Vesicular stomatitis virus (rVSV-GPC), Yellow fever virus (rYFV-GPC), Vaccinia virus (rVV-NP/GPC), Rabies virus (rRABV-GPCco), Adenovirus serotype 5 (rAd5-GPC/NP), Chimpanzee adenovirus serotype 0x1 (rChAdox1-GPC/NP), Mopeia virus (rMOPV-GPC/NP), Venezuelan equine encephalitis virus (rVEEV-GPC/NP), Buculovirus (rBuV-GPC), Salmonella typhimurium (rSt-NP), and et al.

**【Key words】** Lassa virus; glycoprotein; nucleocapsid protein; vaccine; review

\*\*\*拉沙病毒(Lassa virus, LasV)感染导致的拉沙热是一种人兽共患的病毒性出血热疾病,临床以发热、寒战、咽炎、胸骨后疼痛和蛋白尿为特征,可出现多系统病变。该病毒的自然宿主是啮齿类动物,人主要是接触受染鼠类及其排泄物而遭受感染,也可通过直接接触患者的血液、尿液、粪便或身体其他分泌物以及通过污染的针头而感染。该病主要流行于塞拉里昂、利比亚、尼日利亚和几内亚等西非国家,受威胁人口达2千万左右,病死率通常为1%,但在住院患者可达15%<sup>[1-5]</sup>。拉沙病毒是双节段的RNA病毒,基因组的S节段基因编码核衣壳蛋白(nucleoprotein, NP)和糖蛋白前体(glycoprotein precursor, GPC),GPC可裂解为GP1和GP2。这些蛋白存在多个细胞表位,将它们的DNA疫苗免疫豚鼠可诱导较好的保护力<sup>[6-8]</sup>,表明它们可作为靶抗原进行应用。

水疱性口炎病毒、黄热病毒、牛痘病毒、狂犬病毒、腺病毒血清型5、猩猩腺病毒血清型0x1、莫培亚病毒、委内瑞拉马脑炎病毒、杆状病毒和鼠伤寒沙门氏菌等微生物经过减毒改造后可作为疫苗载体使用。这些载体介导的疫苗具有灭活疫苗和活疫苗的优势,能主动感染宿主的细胞,协助外源基因进入细胞,产生细胞因子和趋化因子,从而诱导长期的免疫应答。本

研究拟概述这些载体介导的拉沙病毒疫苗的研制现状。

### 1 病毒作为表达载体

**1.1 水疱性口炎病毒** 水疱性口炎病毒(VSV)是水疱性口炎的病原体。采用基因重排或删除技术可培育VSV减毒株,其基因组可以插入4.5 kb的外源基因,可高水平表达外源蛋白<sup>[9-12]</sup>。将提取的拉沙病毒总RNA作为模板克隆GPC基因,将其插入pVSV4.1得到pVSV4.1-GPC,添加辅助质粒转化Vero细胞株,进行筛选和培养,通过免疫荧光证实重组病毒可呈现融合蛋白分子。借助腹腔注射将 $1 \times 10^6$  PFU重组病毒接种豚鼠(*Cavia porcellus*),在接种后28 d经腹腔注射将 $10^4$  TCID<sub>50</sub>拉沙病毒Z-132株进行攻击感染,在攻击感染后45 d表明血、肝、肺和脾组织的病毒负荷显著减少,计数存活率显现免疫组和对照组各为66.7%(6/9)和0(0/9)。后续研究表明6

\* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 30801052, 30671835, 30500423, 30200239)。

\*\* **【通讯作者(简介)】** 李文桂(1967-),男,湖北郧县人,博士,研究员,主要从事病原微生物的分子生物学和分子免疫学研究。E-mail: cqliwengui@163.com

$\times 10^7$  PFU 重组病毒肌肉注射食蟹猴 (*Macaca fascicularis*) 也可完全对抗拉沙病毒 Z-132 株的肌肉注射攻击<sup>[13]</sup>。Marzi 等<sup>[14-15]</sup>将重组病毒接种食蟹猴或豚鼠也可有效抵抗拉沙病毒 Z-132 或 Soromba-R 株的攻击,表明该类疫苗具有较好的保护效果。

**1.2 黄热病毒** 黄热病毒 (YFV) 的 YF17D 减毒株可作为疫苗载体使用<sup>[16-18]</sup>。将 GPC 基因克隆入 pYF17D 得到 pYF17D-GPC, 添加 YF17D 减毒株转化 BHK-21 细胞株, 进行筛选和培养, 采用 Western blot 提示重组病毒表达 66 ku 的 GPC 蛋白可被阳性血清所中和; 通过皮下注射将  $1 \times 10^5$  PFU 重组病毒接种豚鼠, 在首次接种后 2 周重复 1 次, 发现血清的中和抗体在首次接种后 3~5 周提升, 在首次接种后 5 周提升较高; 在首次接种后 5 周皮下注射  $10^3$  PFU 拉沙病毒 Josiah 株进行攻击感染, 在攻击感染后 2 周显现免疫组的存活率为 80% (4/5), 而对照组为 0 (0/5)<sup>[19]</sup>。Jiang 等<sup>[20]</sup>同理构建了 rYFV-GPC 疫苗, 将  $1 \times 10^6$  PFU 重组病毒皮下注射 CBA/J 鼠, 在初次接种后 2 周强化 1 次, 在初次接种后 6 周显示脾细胞 CTL 反应增强, ELISPOT 表明脾组织 IFN- $\gamma^+$  SFCs 的数目增加, 此时, 皮下注射  $10^3$  LD<sub>50</sub> 拉沙病毒 Josiah 株进行攻击, 在攻击后 25d 提示免疫组和对照组的存活率分别为 83.3% (5/6) 和 0 (0/6)。

**1.3 牛痘病毒** 牛痘病毒 (*Vaccinia virus*, VV) 的基因组可插入 25 kb 的外源基因, 表达的外源蛋白可进行修饰<sup>[21]</sup>。Clegg 等<sup>[22]</sup>以拉沙病毒的总 RNA 为模板扩增 NP 基因, 插入 pSC20 得 pSC20-NP, 加入牛痘病毒 Lister 株转染 CV-1 细胞, 进行筛选和培养, 借助 Western 印渍表明重组病毒产生 60 ku 的 NP 蛋白可被阳性血清所结合。将  $1 \times 10^{7.5}$  PFU 重组病毒皮下注射豚鼠, 在注射后 4 周腹腔注射  $10^4$  TCID<sub>50</sub> 拉沙病毒 GA391 株进行攻击感染, 在攻击感染后 4 周提示血清的病毒负荷明显减少。Morrison 等<sup>[23-24]</sup>以相似方法筛选了 rVV-NP 疫苗, 将其皮下注射豚鼠或猕猴 (*Macaca mulatta*) 可强力抵抗拉沙病毒 Josiah 株的皮下注射攻击。

Auperin 等<sup>[25]</sup>以拉沙病毒的总 RNA 为模板扩增 GPC 基因, 插入 pSC11 得 pSC11-GPC, 加入牛痘病毒 NYBH 株转染 BHK-21 细胞, 进行筛选和培养, 经 Western 印渍证明重组病毒表达 75 ku 的 GPC、45 ku 的 GP1 和 38 ku 的 GP2 蛋白可被阳性血清所中和。将  $1 \times 10^8$  PFU 重组病毒皮下注射豚鼠, 在初次注射后 21 d 显示血清 IgG 升高, 滴度为 1 : 32~1 : 512; 此时腹腔注射  $10^4$  PFU 拉沙病毒 Josiah 株进行攻击感染, 在攻击感染后 14 d 显示血清的病毒负荷下降 10 个数量级, 免疫组和对照组的存活率分别为 100% (11/11) 和 20% (2/10)。随后, Cross 等<sup>[26]</sup>证实该疫苗肌肉注射食蟹猴可完全对抗拉沙病毒 0043/LV/14 株的肌肉注射攻击。

**1.4 狂犬病毒** 通过多位点变异或删除技术可以将狂犬病毒 (*Rabies virus*, RABV) 变成一种疫苗载体<sup>[27-28]</sup>。Abreu-Mota 等<sup>[29]</sup>人工合成密码子优化的 GPCco 基因, 插入 pBNSP333 得 pBNSP333-NP, 加入狂犬病毒的减毒株转染 Vero 细胞, 进行筛选和培养, 经 Western 印渍表明重组病毒呈现 60 ku 的 GPCco 蛋白可被阳性血清所中和。将  $10^7$  PFU 重组病毒加 TLR4 激动剂 GLA-SE 肌肉注射豚鼠, 在初次注射后 7 d 和 28 d 加强 2 次, 在初次注射后 42 d 用  $10^4$  PFU 拉沙病毒 Josiah 株进行肌肉注射攻击, 在攻击后 28 d 提示血清的病毒负荷降低 100 倍, 血

清的非中和性 IgG 升高。Kurup 等<sup>[30]</sup>发现该疫苗肌肉注射食蟹猴可诱导一个长达 1 年的体液免疫应答。

**1.5 腺病毒** 腺病毒血清型 5 (*Adenovirus serotype 5*, Ad5) 和猩猩腺病毒血清型 ox1 (*Chimpanzee adenovirus serotype 0x1*, ChAdox1) 均是复制缺陷型病毒, 可同时表达多个基因和对表达产物进行翻译和修饰, 是一种安全高效的疫苗载体<sup>[31-33]</sup>。Maruyama 等<sup>[34]</sup>以拉沙病毒的总 RNA 为模板扩增 GPC/NP 基因, 插入 pAd5 (E1<sup>-</sup>E2b<sup>-</sup>) 得 pAd5 (E1<sup>-</sup>E2b<sup>-</sup>)-GPC/NP, 转染 Vero 细胞, 经过筛选和培养, 经 Western 荧光证实重组病毒可表达融合蛋白的分子。将  $1 \times 10^{10}$  IU 重组病毒皮下注射豚鼠, 在初次接种后 2 周强化 1 次, 在初次接种后 8 周发现血清 IgG 和中和抗体提升, 此时用  $8 \times 10^4$  PFU 拉沙病毒 LF2384 株进行腹腔注射攻击, 在攻击后 21 d 提示血清的病毒负荷降低  $10^4$  倍, 脑、肺、肝、脾和肾组织的病变减轻, 计数存活率发现免疫组和对照组各为 80% (8/10) 和 0 (0/10)。Wang 等<sup>[35]</sup>同理筛选了 rAd5-GPC1 疫苗, 将其肌肉注射 BALB/c 鼠诱导一个细胞和体液免疫应答, 可有力对抗拉沙病毒 Josiah 株的腹腔注射攻击。

Fischer 等<sup>[36]</sup>将  $3 \times 10^8$  IU 重组病毒 ChAdOX1-GPC 肌肉注射豚鼠, 在首次接种后 4 周重复 1 次, 在首次接种后 8 周发现血清 IgG 和中和抗体的滴度增加, 此时用  $1 \times 10^5$  PFU 拉沙病毒 Josiah 株进行腹腔注射攻击, 在攻击后 28 d 提示血清的病毒负荷降低  $10^4$  倍, 脑、肺、肝、脾和肾组织的病变减轻, 计数存活率显示免疫组和对照组各为 100% (10/10) 和 0 (0/10), 表明 ChAdOX1-GPC 是一种较好的疫苗。

**1.6 莫培亚病毒** 莫培亚病毒 (*Mopeia virus*, MOPV) 是一种不致病的沙粒病毒, 实验动物共同感染 MOPV 和 LASV 后常发生基因重排, 产生 MOPV/LASV 杂交株 ML29, 研究显示 ML29 细胞株含有 MOPV 的 L 节段以及 LASV 的 S 节段, 可以表达 LASV 的 GPC/NP 蛋白; 将其接种 CBA/J 和 STAT<sup>-/-</sup> 等免疫缺陷鼠不产生明显的心脏损害, 提示 ML29 细胞株是一种较好的候选疫苗<sup>[37-40]</sup>。Lukashevich 等<sup>[41]</sup>将  $1 \times 10^3$  PFU 的 ML29 细胞株皮下注射豚鼠, 在初次注射后 30 d 用  $10^3$  PFU 拉沙病毒 Josiah 株进行皮下注射攻击, 在攻击后 70 d 发现肝和肺组织的病变减轻, 计数存活率提示免疫组和对照组各为 100% (10/10) 和 0 (0/10)。当将  $1 \times 10^6$  PFU 的 ML29 细胞株皮下注射猕猴时可诱导一个细胞免疫应答。

**1.7 委内瑞拉马脑炎病毒** 委内瑞拉马脑炎病毒 (VEEV) 是一种小 RNA 病毒, 将外源基因插入病毒基因组的 5' 端, 5' 端的启动子可指导外源基因的表达, 并将其包装成病毒样颗粒, 因而是一种有希望的疫苗载体<sup>[42]</sup>。Wang 等<sup>[43]</sup>将  $1 \times 10^7$  PFU 重组病毒 rVEEV-GPC/NP 皮下注射 CBA/J 鼠, 在初次注射后 14 d 重复 1 次, 在初次注射后 21 d 经流式细胞仪显示脾 MHC-I<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> 细胞、CD80<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> 和 CD86<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> 细胞的数目增加, 提示 T 细胞激活; CD8a<sup>+</sup> CD11c<sup>+</sup> 细胞的数目增加, 提示树突状细胞激活; ELISPOT 表明脾组织 IL-2<sup>+</sup> IFN- $\gamma^+$  SFCs 的数目增加; 此时脑内注射  $10^3$  PFU 拉沙病毒 Josiah 株进行攻击感染, 在攻击感染后 3 周提示免疫组和对照组的存活率分别为 100% (88) 和 0 (0/8)。

**1.8 杆状病毒** 昆虫杆状病毒 (BuV) 是一种高效表达外源基

因的表达载体<sup>[44-45]</sup>。Hummel等<sup>[46]</sup>以拉沙病毒的总RNA为模板扩增GPC基因,插入pAcYM1B得pAcYM1B-GPC,转染SF9细胞,通过筛选和培养,经Western印渍表明重组病毒产生75 ku的GPC蛋白可被阳性血清所中和。借助皮下注射将 $5.5 \times 10^6$  PFU重组病毒加铝佐剂接种大白兔,在首次接种后21和35 d重复2次,在首次接种后45 d发现血清IgG滴度增加,可达1:400~1:3200。

## 2 鼠伤寒沙门氏菌作为表达载体

鼠伤寒沙门氏菌(Sl)的SL3261株是一种营养缺陷性突变株,其基因型和表型均很稳定,可作为疫苗载体<sup>[47-48]</sup>。Djavani等<sup>[49-50]</sup>以pLS5560-7为模板扩增NP基因,插入pCRII得pC-RII-NP,与pAPC重组得pAPC-NP,转染SL3261株,通过筛选和培养,经Western印渍证明重组菌表达65 ku的NP蛋白可被阳性血清所中和;将 $5 \times 10^9$  CFU重组菌灌胃BALB/c鼠,在初次灌胃后3周加强1次,在初次灌胃后25 d显示血清IgG和胃灌洗液sIgA升高,脾细胞CTL反应增强,此时脑内注射 $2 \times 10^3$  PFU拉沙病毒Josiah株进行攻击感染,在攻击感染后15 d提示免疫组和对照组的存活率分别为37%(5/14)和0(0/10),表明该类疫苗的保护效果较差。

## 3 结语

部分载体介导的拉沙病毒疫苗只是初步进行了疫苗的构建和鉴定工作,但未开展接种动物的免疫试验以及攻击试验,需要进一步完善。一些疫苗进行了接种动物的免疫试验和攻击试验,诱导的保护力各有不同,可能需要优化疫苗接种的剂量、途径、次数以及间隔时间,也需探索这些疫苗能否对抗拉沙病毒不同株的攻击,是否产生交叉保护效果。随着对拉沙病毒的基因组学、蛋白质组学、代谢组学、转录组学以及表观遗传学进行进一步探索,探究这些蛋白家族及其它相关蛋白生物学功能,提升疫苗的设计水准;摸索纳米微粒技术引入新型疫苗是否可延长免疫应答的时间,诱导记忆性T细胞的产生;将为载体介导的拉沙病毒疫苗提供理论基础。

### 【参考文献】

- [1] Clegg JC, Wilson SM, Oram JD. Nucleotide sequence of the S RNA of *Lassa virus* (Nigerian strain) and comparative analysis of *Arenavirus* gene products[J]. *Virus Res*, 1991, 18(2-3): 151-164.
- [2] Lenz O, ter Meulen J, Feldmann H, et al. Identification of a novel consensus sequence at the cleavage site of the *Lassa virus* glycoprotein[J]. *J Virol*, 2000, 74(26): 11418-11421.
- [3] McCormick JB, Fischer-Hoch SP. Lassa fever[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2002, 262(1): 75-109.
- [4] Lukashevich IS, Salvato MS. *Lassa virus* genome[J]. *Curr Genomics*, 2006, 7(2): 351-379.
- [5] Yun NE, Walker DH. Pathogenesis of *Lassa virus* [J]. *Viruses*, 2012, 4(7): 2031-2046.
- [6] McCormick JB, Mitchell SW, Kiley MP, et al. Inactivated *Lassa virus* elicits a non protective immune response in rhesus monkeys [J]. *J Virol*, 2005, 79(22): 13934-13942.
- [7] Rodriguez-Carreno MP, Nelson MS, Botten J, et al. Evaluating the immunogenicity and protective efficacy of a DNA vaccine encoding *Lassa virus* nucleoprotein[J]. *Virol*, 2005, 335(1): 87-98.
- [8] Cashman KA. Enhanced efficacy of a codon-optimized DNA vaccine encoding the glycoprotein precursor gene of *Lassa virus* in a guinea pig[J]. *Hum Vac Immunother*, 2017, 13(16): 3010-3019.
- [9] Lawson ND, Stillman EA, Whitt MA, et al. Recombinant *Vesicular stomatitis viruses* from DNA[J]. *PNAS*, 1995, 92(23): 4477-4481.
- [10] Whelan SJ, Ball LA, Barr JN, et al. Efficient recovery of infectious *Vesicular stomatitis virus* entirely from cDNA clones[J]. *PNAS*, 1995, 92(43): 8388-8392.
- [11] Flanagan EB, Schoeb TR, Wertz GW. *Vesicular stomatitis viruses* with rearranged genomes have altered invasiveness and neuropathogenesis in mice[J]. *J Virol*, 2003, 77(9): 5740-5748.
- [12] Roberts A, Buonocore L, Price R, et al. Attenuated *Vesicular stomatitis viruses* as vaccine vectors[J]. *J Virol*, 1999, 73(5): 3723.
- [13] Safronetz D, Mire C, Rosenke K, et al. A recombinant *Vesicular stomatitis virus*-based lassa fever vaccine protects guinea pigs and macaques against challenge with geographically and genetically distinct *Lassa viruses* [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2015, 9(4): e0003736.
- [14] Marzi A, Feldmann F, Geisbert TW, et al. *Vesicular stomatitis virus*-based vaccines against *Lassa and Ebola viruses* [J]. *Emerg Infect Dis*, 2015, 21(2): 305-307.
- [15] Stein DR, Warner BM, Soule G, et al. A recombinant *Vesicular stomatitis*-based lassa fever vaccine elicits rapid and long-term protection from lethal *Lassa virus* infection in guinea pigs [J]. *NPJ Vaccines*, 2019, 4(1): 8.
- [16] Querec T, Bennouna S, Alkan S, et al. Yellow fever vaccine YF-17D activates multiple dendritic cell subsets via TLR2, 7, 8, and 9 to stimulate polyvalent immunity [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(2): 413-424.
- [17] Bonaldo MC, Garratt RC, Marchevsky RS, et al. Attenuation of recombinant *Yellow fever 17D viruses* expressing foreign protein epitopes at the surface [J]. *J Virol*, 2005, 79(13): 8602-8613.
- [18] Bonaldo MC, Mello SM, Trindade GF, et al. Construction and characterization of recombinant *Flaviviruses* bearing insertions between E and NS1 genes [J]. *Virol J*, 2007, 4(1): 1-16.
- [19] Bredenbeek PJ, Molenkamp R, Spaan WJ, et al. A recombinant Yellow Fever 17D vaccine expressing *Lassa virus* glycoproteins [J]. *Virol*, 2006, 345(2): 299-304.
- [20] Jiang X, Dalebout TJ, Bredenbeek PJ, et al. Yellow fever 17D-vectored vaccines expressing *Lassa virus* GP1 and GP2 glycoproteins provide protection against fatal disease in guinea pigs [J]. *Vaccine*, 2011, 29(6): 1248-1257.
- [21] Mackett M. *Vaccinia virus* as a vector for delivering foreign antigens [J]. *Semin Virol*, 1990, 1(1): 39-47.
- [22] Clegg JCS, Lloyd G. *Vaccinia* recombinant expressing *Lassa virus* internal nucleocapsid protein protects guinea pigs against lassa fever [J]. *Lancet*, 1987, 2(8552): 186-188.
- [23] Morrison HG, Bauer SP, Lange JV, et al. Protection of guinea pigs from lassa fever by *Vaccinia virus* recombinants expressing the nucleoprotein or the envelope glycoproteins of *Lassa virus* [J]. *Virol*, 1989, 171(1): 179-188.
- [24] Fisher-Hoch SP, McCormick JB, Auperin D, et al. Protection of rhesus monkeys from fatal lassa fever by vaccination with a re-

combinant *Vaccinia virus* containing the *Lassa Virus* glycoproteins gene[J]. PNAS,1989,86(2):317-321.

[25] Auperin DD,Esposito JJ,Lange JV,et al. Construction of a recombinant *Vaccinia virus* expressing the *Lassa virus* glycoprotein gene and protection of guinea pigs from a lethal *Lassa virus* infection[J]. Virus Res,1988,9(2):233-248.

[26] Cross RW,Woolsey C,Prasad AN,et al. A recombinant VSV-vectored vaccine rapidly protects nonhuman primates against heterologous lethal lassa fever[J]. Cell Rep,2022,40:111094.

[27] Mebatsion T,Schnell M,Cox JH,et al. Highly stable expression of a foreign gene from *Rabies virus* vectors[J]. PNAS,1996,93(14):7310-7314.

[28] Nakagawa K,Ito N,Masatani T,et al. Generation of a live rabies vaccine strain attenuated by multiple mutations and evaluation of its safety and efficacy[J]. Vaccine,2012,30(19):3610-3617.

[29] Abreu-Mota T,Hagen KR,Cooper K,et al. Non-neutralizing antibodies elicited by recombinant lassa-rabies vaccine are critical for protection against lassa fever[J]. Nat Commun,2018,9:4223.

[30] Kurup D,Fischer CR,Scher G,et al. Tetravalent rabies-vectored filovirus and lassa fever vaccine induces long-term immunity in nonhuman primates[J]. J Infect Dis,2021,224(5):995-1004.

[31] Tatsis N,Ertl HC. *Adenoviruses* as vaccine vectors[J]. Mol Ther,2004,10(4):616-629.

[32] Souza APD,Haut L,Sandoval AR,et al. Recombinant viruses as vaccines against viral diseases[J]. Braz J Med Bio Res,2005,38(3):509-522.

[33] Dicks MDJ,Spencer AJ,Edwards NJ,et al. A novel *Chimpanzee adenovirus* vector with low human seroprevalence: improved systems for vector derivation and comparative immunogenicity[J]. PloS One,2012,7(7):e40385.

[34] Maruyama J,Mateer EJ,Manning JTG,et al. Adenoviral vector-based vaccine is fully protective against lethal lassa fever challenge in Hartley guinea pigs[J]. Vaccine,2019,9:030.

[35] Wang MR,Li RH,Li YH,et al. Construction and immunological evaluation of an adenoviral vector-based vaccine candidate for lassa fever[J]. Virues,2021,13:484.

[36] Fischer RJ,Purushotham JN,van Doremalen N,et al. ChAd0x1-vectored lassa fever vaccine elicits a robust cellular and humoral immune response and protects guinea pigs against lethal *Lassa virus* challenge[J]. NPJ Vaccine,2021,6:32.

[37] Lukashevich IS. Generation of reassortants between African Arenaviruses[J]. Virol,1992,188(3):600-605.

[38] Lukashevich IS,Vasiuchkov AD,Stelmakh TA,et al. The isolation and characteristics of reassortants between the *Lassa and Mopeia arenaviruses*[J]. Vopr Virusol,1991,36(2):146-150.

[39] Moshkoff DA,Salvato MS,Lukashevich IS,et al. Molecular characterization of a reassortants virus derived from *Lassa and Mopeia viruses*[J]. Virus Genes,2007,34(1):169-176.

[40] Johnson DM,Gubitt B,Pfeffer TL,et al. *Lassa virus* vaccine candidate ML29 generates truncated viral RNAs which contribute to interfering activity and attenuation[J]. Viruses,2021,13:214.

[41] Lukashevich IS,Patterson J,Carrion R,et al. A live attenuated vaccine for lassa fever made by reassortment of *Lassa and Mopeia virus*[J]. J Virol,2005,79(22):13934-13942.

[42] Rayner JO,Dryga SA,Kamrud KI. *Alphavirus* vectors and vaccination[J]. Rev Med Virol,2002,12(5):279-296.

[43] Wang M,Jokinen J,Tretyakova I,et al. *Alphavirus* vector-based replication particles expressing multivalent cross-protective *Lassa virus* glycoprotein[J]. Vaccine,2017,12:46.

[44] Ailor E,Betenbaugh MJ. Modifying secretion and post-translational processing in insect cells[J]. Curr Opin Biotech,1999,10(2):142-145.

[45] Dai X,Hajqs JP,Joosten NN,et al. Isolation of a *Spodoptera exigua baculovirus* recombinant with a 10.6 kbp genome deletion that retains biological activity[J]. J Gen Virol,2000,81(10):2545-2554.

[46] Hummel KB,Martin ML,Auperin DP. *Baculovirus* expression of the glycoprotein gene of *Lassa virus* and characterization of the recombinant protein[J]. Virus Res,1992,25(1):79-90.

[47] Schodel F. Recombinant avirulent *Salmonellae* as oral vaccine carriers[J]. Infection,1992,20(1):1-8.

[48] Darji A,Zurlage S,Garbe AI,et al. Oral delivery of DNA vaccines using attenuated *Salmonella typhimurium* as carrier[J]. FEMS Immunol Med Microbiol,2000,27(4):341-349.

[49] Djavani M,Yin CL,Xia L,et al. Murine immune responses to mucosally delivered *Salmonella* expressing *Lassa fever virus* nucleoprotein[J]. Vaccine,2000,18(9):1543-1554.

[50] Djavani M,Yin CL,Lukashevich IS,et al. Mucosal immunization with *Salmonella typhimurium* expressing *Lassa virus* nucleocapsid protein cross-protects mice from lethal challenge with *Lymphocytic choriomeningitis virus*[J]. J Hum Virol,2001,4(2):103-108.

【收稿日期】 2023-01-23 【修回日期】 2023-04-15

(上接 973 页)

[8] Russo TA,Olson R,Fang CT,et al. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *Klebsiella pneumoniae*[J]. J Clin Microbiol,2018,56(9):1-12.

[9] 刘焕,田海娃,李国会,等. 老年脑梗死并发肺部感染病原菌耐药性与影响因素[J]. 中华医院感染学杂志,2020,30(3):44-47.

[10] Bao Y,Li X,Wang K,et al. Central retinal artery occlusion and cerebral infarction associated with *Mycoplasma pneumoniae* infection in children[J]. BMC Pediatr,2019,16(1):210.

[11] 张淑琴,杨卫萍,殷燕. 387 例急性脑梗死合并肺部感染患者病原菌分布及耐药性分析[J]. 中国病原生物学杂志,2018,13(11):1272-1275.

[12] 董文琴,余华彬,郑溢声,等. 急性脑梗死肺部感染患者外周血细菌因子变化及其与预后的关系[J]. 中华医院感染学杂志,2022,32(21):3229-3233.

[13] Zhang W T,Niu J Y,He C. Associations of OSAHS complicated by cerebral infarction with intestinal flora,inflammatory factors,homocysteine and adiponectin expression[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2020,24(24):12993-12999.

[14] 谢强,徐添天,谢瑞玉,等. 碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌毒力基因型及分子流行病学研究[J]. 热带医学杂志,2023,23(3):327-330.

[15] 周鹏,赵亚敏,李红金,等. 急性脑梗死患者合并肺部感染的影响因素分析及对预后的影响[J]. 中华医院感染学杂志,2019,29(2):212-214.

【收稿日期】 2023-03-15 【修回日期】 2023-05-03