



寨卡疫苗研究进展

王然¹, 陈辉^{1*}, 安静^{1,2*}

¹首都医科大学基础医学院, 微生物学与寄生虫学教研室, 北京 100069

²北京脑重大疾病研究院, 癫痫研究所, 北京 100069

摘要: 寨卡病毒系由伊蚊传播的黄病毒, 超过 20 亿人在其流行区域生活。近几年, 在中南美洲乃至世界范围内爆发的寨卡疫情已对全球公共卫生事业构成严重威胁。已有研究证实寨卡病毒感染为格林巴利综合症的病因之一; 孕妇感染寨卡病毒后, 可造成新生儿小头症。早日研制出安全有效的寨卡疫苗之重要性不言而喻。全球率先报道的寨卡疫苗为一款 DNA 疫苗, 其在设计、制备和生产方面均较其他类型疫苗更加简易, 且可避免可复制型疫苗因毒力回复而造成对孕妇和胎儿的健康威胁, 在寨卡疫苗的研究中具有显著优势。其他传统类型疫苗和基于抗体的新型疫苗等均有研究机构开展研究, 并已取得阶段性进展, 本文将扼要综述寨卡疫苗的研究现状与进展。

关键词: 寨卡病毒, 疫苗, 寨卡疫苗, 新生儿小头症, 格林巴利综合征

1 寨卡病毒

1.1 生物学性状

寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)隶属黄病毒科的黄病毒属。病毒颗粒呈球形, 有包膜; 基因组为单股正链 RNA, 长度为 10794 bp, 编码 3 个结构蛋白和 7 个非结构蛋白。其中结构蛋白中的包膜(Envelope, E)蛋白是诱导宿主产生特异性免疫反应的重要病毒蛋白, 前体膜(Premembrane, prM)蛋白在 E 蛋白构象的正确折叠和病毒出胞的过程中扮演重要角色, 故该 2 种蛋白常作为多

种黄病毒疫苗设计中的靶抗原。特别的是, E 蛋白的第 III 结构域(E domain III, EDIII)上聚集了众多可诱导机体产生中和抗体(Neutralizing antibody, nAb)的表位, 常以此结构基础制备特异性单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)^[1]。ZIKV 分为非洲型和亚洲型 2 种基因型, 二者氨基酸同源性超过 95%, 目前在南美洲流行的病毒主要为亚洲型。

1.2 流行概况

1947 年, ZIKV 首次分离于乌干达寨卡森林

基金项目: 国家自然科学基金(81271839, 81372935, 81301435, 81471957)

*通信作者。陈辉, Tel: +86-10-83911834, E-mail: chenhuicxh@ccmu.edu.cn; 安静, Tel: +86-10-83950107, E-mail: anjing@ccmu.edu.cn

收稿日期: 2016-09-25; 修回日期: 2016-11-19; 网络出版日期: 2016-11-28

的猕猴体内并因此而命名^[2]。2007年4月,在密克罗尼西亚联邦的雅浦岛大规模爆发寨卡疫情,起初曾误以为登革病毒(Dengue virus, DENV)、基孔肯雅病毒或罗斯河病毒感染。2015年,ZIKV疫情第一次在非传统流行区域的中南美洲爆发并迅速蔓延^[3]。至2016年3月,全球已有超过60个国家和地区报道寨卡病例。

1.3 传播途径

ZIKV主要经被感染的埃及伊蚊或白纹伊蚊叮咬传播^[4]。其次,有研究团队在感染ZIKV的孕妇胎盘、羊水和胎儿脑脊液中同时并持续检出ZIKV^[5],证明ZIKV可循母婴垂直途径传播。虽然在乳汁中也检测到病毒,但尚缺乏哺乳传播的证据^[6-8]。再者,ZIKV可经性接触传播,且病毒在精液中存在的时间可达2-10周^[9]。另外,ZIKV可存活于眼部,或可通过泪液传播^[10]。

1.4 致病性

大多数ZIKV感染者无任何症状,可有短暂数日的潜伏期,仅有不足两成的感染者产生轻微症状,例如发热、斑丘疹、关节痛和结膜炎等,和/或伴随肌肉痛或头痛,症状多持续2-7日,呈自限性;极少患者需入院就医,多数自然感染者可产生持久的免疫力^[11]。

与其它黄病毒不同的是,ZIKV可对新生儿的健康构成巨大的威胁。最新的研究结果已证实ZIKV感染与新生儿小头症之间存在明确的因果关系^[12-18]。新生儿小头症和重症大脑发育缺陷的发病率随ZIKV疫情的蔓延而显著上升^[19-20]。

另有研究证实,ZIKV感染为成人格林巴利综合征(Guillain-Barre syndrome, GBS)的病因之一^[21-23],该病被认为与ZIKV感染引起的自身免疫损伤有关^[24]。

1.5 预防与治疗策略

目前尚无安全有效的寨卡疫苗和特异性抗ZIKV药物。媒介控制和感染者隔离是短时间内有效的预防方法。基于ZIKV的传播途径和致病特点,建议孕妇暂时避免到ZIKV流行区旅行、疫区育龄妇女推迟怀孕。

现对于有症状的感染者多采取支持疗法,即充足的休息、补水并适当服用解热镇痛类药物。

2 寨卡疫苗

2.1 研发疫苗的基础

为加快疫苗研究的进程,以下4大基础问题亟待明确。

首先,应充分认识ZIKV进化的结构生物学基础。例如,有研究认为,与ZIKV同属黄病毒的西尼罗病毒(West Nile virus, WNV)的E蛋白之Asn154多糖,与其神经毒性密切相关^[25]。ZIKV、DENV和WNV三者Asn154多糖及其邻近区域的结构差异明显,有可能导致神经毒性各不相同。若能阐明ZIKV Asn154多糖的功能,将对研发抗ZIKV药物和疫苗具有重要意义。

其次,ZIKV两种基因型的氨基酸差异虽然不足5%,但足以引起各自抗体之间的差异,合格的疫苗须对2种基因型ZIKV的不同毒株均能提供良好的保护力。

再者,需阐明ZIKV在自然状态下感染人类的免疫学机制,探究由ZIKV感染所致的新生儿小头症和成人GBS的病理生理学基础和致病机制。

最后,建立可模拟ZIKV感染人类的动物模型,有助于疾病的诊断与治疗,也利于了解疾病的预后和转归,亦可用于疫苗效果的评价。

2.2 研发疫苗的障碍

2.2.1 原始抗原效应(Original antigenic sin, OAS):长期从事 DENV 相关研究的 Halstead 指出, 登革患者即使连续感染不同血清型的 DENV, 仍只对初次感染的 DENV 血清型产生强大的免疫反应, 而对后续感染 DENV 血清型的免疫应答相对削弱, 如同用过时的武器对抗新病毒, 他将这一现象归因于 OAS^[26]。最新的登革疫苗 CYD-TDV III 期临床试验结果显示, DENV 抗体阴性受试者的免疫效果优于长期暴露于黄病毒感染风险中的人们^[27]。同样地, 若受试者在接种寨卡疫苗前曾感染或接种过 DENV、黄热病毒或基孔肯雅病毒等同源性较高的黄病毒或相应疫苗, 会限制寨卡疫苗诱导机体产生其特异性抗体, 特别是 nAb, 从而影响疫苗的保护效果。

2.2.2 抗体依赖性增强(Antibody dependent enhancement, ADE)效应:登革疫苗的研究已成为近年的焦点, 影响疫苗免疫效果的最大障碍可能是 ADE 效应, 即人体初次感染某种血清型 DENV 产生的抗体可加重二次感染异种血清型 DENV 的症状。理论上, 尽管 ZIKV 仅有 1 种血清型, 但其抗体依然可以使二次感染异种黄病毒的症状加重, 同理, 其它黄病毒的抗体亦可对 ZIKV 的感染产生 ADE 效应, 使其感染症状加重^[28-29]。近期一项研究表明, DENV 的抗体在体外试验中有促进 ZIKV 感染的作用^[30-32], 由于二者 E 蛋白的同源性约为 54-59%, 一方产生的 ADE 类抗体足以加重另一方的感染, 甚至有人认为, 可将 ZIKV 列为 DENV 的第 5 种血清型。因此, 避免疫苗接种后可能引起的 ADE 效应是寨卡疫苗设计和研制过程中的掣肘之一。

2.2.3 疫苗的毒力恢复与致病性:ZIKV 的减毒活疫苗有毒力回复的可能性, 即由非致病性的减毒

株逆行突变至有致病性的强毒株, 孕妇接种后会胎儿的健康造成严重影响。另外, 已有研究证实, 甲型 H1N1 型流感疫苗可增加 GBS 的发生率^[33], 因此, 若使寨卡疫苗既可对人体提供良好的保护作用, 又能避免接种者发生 GBS, 必须明确 ZIKV 感染导致 GBS 发生的机理。

2.3 疫苗研究的现状

2.3.1 减毒活疫苗:美国国家过敏和传染病研究所(National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIAID)长期致力于登革减毒活疫苗的研制, 科研人员通过删除 DENV 部分基因, 使其依然可以在体内增殖且不具致病性, 在临床试验中已取得良好的效果^[34]。巴西布坦坦研究所正在与 NIAID 合作研发寨卡减毒活疫苗, 试图删除 ZIKV 上相同位点的基因以达到类似效果, 使得 ZIKV 减毒活疫苗只需一次免疫即可诱导机体产生持久的细胞免疫和体液免疫反应, 但存在妊娠期感染的可能性, 故 ZIKV 的减毒活疫苗并非优选。

2.3.2 纯化灭活疫苗:印度巴拉特国际生物技术公司声称, 该公司基于 ZIKV 非洲型 MR-766 株研制的纯化灭活疫苗可在动物体内诱导产生良好的免疫应答反应。

美国贝斯以色列女执事医疗中心(Beth Israel Deaconess Medical Center, BIDMC)和沃尔特里德陆军研究院(Walter Reed Army Institute of Research, WRAIR)合作研制的一款灭活疫苗已完成临床前期试验, 在免疫后的 BALB/c 小鼠和恒河猴体内, 均检测到了 ZIKV 特异性抗体和 nAbs, 并且可以抵抗 2 种来源的 ZIKV (巴西株: ZIKV-BR; 波多黎各株: ZIKV-PR, 皆为亚洲型, 氨基酸序列相差 5 个)攻击, 在血、尿和脑脊液等体液中也未检测出病毒血症。值得注意的是, 动物体内干扰素

(interferon, IFN)- γ 的水平有所升高, 提示除了体液免疫反应之外, 该疫苗还诱导动物建立了温和的细胞免疫反应^[35]。

2.3.3 核酸疫苗: Inovio 制药公司将其研制的寨卡 DNA 疫苗命名为 GLS-5700, 系首个进入 I 期临床试验的寨卡疫苗。该疫苗携带可表达 ZIKV prM 蛋白和 E 蛋白的基因, 经皮下注射后, 通过瞬时电穿孔促进质粒进入人体细胞, *prM-E* 基因表达的类亚病毒颗粒作为抗原成分被呈递到细胞表面, 由人体免疫系统识别, 诱导产生免疫应答反应。在临床前期试验中, 啮齿类和非人灵长类动物均可对该疫苗产生良好的免疫应答反应; 攻毒试验同样选用 ZIKV-BR 和 ZIKV-PR 两种毒株, 以评估疫苗是否对 ZIKV 感染具有广泛的保护作用, 获得了理想的效果^[36]。

NIAID 采用类似构建思路, 但不同的是, 该机构研发的 DNA 疫苗并不表达 prM 前 93 个氨基酸, 仅表达 prM 蛋白在自然感染过程中成熟裂解后残存的 M 蛋白。该团队进行了 2 种尝试, 其一将日本乙型脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)的 *prM* 信号序列替换至同一位点以提高该疫苗的表达效率; 其二将 E 蛋白末端 98 个氨基酸(包括茎区和跨膜区)替换为 JEV 相应氨基酸以增加类亚病毒颗粒的分泌量。该疫苗可分别在小鼠及恒河猴体内诱导出高水平的 nAb 并可为动物提供完全的保护^[1]。

BIDMC 与 WRAIR 的合作团队也进行了相似的尝试, 他们发现, 无论质粒中缺失 *prM* 和/或表达 E 蛋白跨膜区或 E 蛋白锚杆区的任一基因时, 疫苗均未能小鼠提供完全的保护, 仅有携带 *prM-E* 全长基因的质粒才可达到完全的保护效果。仅单次免疫后, 小鼠即可获得抵抗 ZIKV 的能力, 若加强 1 次免疫, nAbs 效价可显著上升, 这一结

果在 BALB/c、C57BL/6、SJL 小鼠和恒河猴的试验中得到相互印证, 但即使较低水平的 nAbs, 已足以对试验动物提供完全的保护^[36-37]。另外, 该团队还证明了 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的消耗程度并非影响疫苗保护作用的决定性因素。动物试验的结果虽不能完全预示临床试验的结果, 但可以为后期试验的设计和改进行奠定理论基础^[38]。

NIAID 还将与葛兰素史克公司合作, 研发针对 ZIKV 的 RNA 复制子疫苗(自我扩增型 RNA 疫苗)。比起 DNA 疫苗, RNA 复制子疫苗只需进入细胞质即可大量复制, 使外源基因高效表达, 而 DNA 疫苗则需要进入细胞核才能发挥作用。由于 RNA 复制子疫苗具有较高的复制和表达效率, 使得免疫所需剂量相对较低。RNA 复制子不进入细胞核, 也不会同宿主基因组整合而产生致癌作用, 仅在短时间内于细胞质中复制、转录和表达, 随后在 dsRNA 的作用下诱导被转染细胞凋亡, 故安全性良好。研究人员相信, 凭借 RNA 复制子疫苗的优势, 最早可于 2017 年初进行该疫苗的临床试验。

2.3.4 重组载体疫苗: 重组载体疫苗系将编码 ZIKV 抗原蛋白的基因插入载体基因组中, 接种后随疫苗株在体内的增殖, 大量 ZIKV 抗原蛋白得以表达。重组载体疫苗虽仅需 1 次免疫, 但免疫应答的持续时间和 nAbs 的水平普遍偏低。

牛津大学詹纳研究所的科研团队尝试将 ZIKV 的表面蛋白基因插入黑猩猩腺病毒中, 这一思路类似于葛兰素史克公司研制的埃博拉病毒疫苗, 结果有待后期报道。

BIDMC 和 WRAIR 将 ZIKV 的 *prM-E* 基因装载入猴腺病毒 52 型中, 免疫恒河猴可产生良好的体液免疫和细胞免疫反应, 并获得完全的保护^[37]。

2.3.5 基于抗体的疫苗: 来自伦敦帝国理工学院

和法国巴斯德研究所的科研人员,从登革热病人血清中分离鉴定出一系列广谱中和抗体(Broadly neutralizing antibody, bnAb),这些 bnAb 大多作用于 DENV E 蛋白融合环表位(Fusion-loop epitope, FLE)。FLE 抗体通常由补体介导的免疫反应发挥保护作用,虽在与 ZIKV 交叉反应中属优势表位,但仅诱导较低水平的中和抗体反应,并可使二次感染加重。这也解释了在巴西北部地区等 DENV 流行区域爆发的寨卡疫情更为严重的原因。故基于 DENV FLE 抗体设计的疫苗只会增加机体对 ZIKV 的易感性。另有一类 bnAb 作用靶点位于 DENV E 蛋白二聚体亚基间非共价键,即 E 蛋白二聚体表位(E-dimer epitope, EDE),该 bnAb 可中和 4 种血清型 DENV。EDE 根据其 loop150 上的糖基化修饰不同而分为 2 种亚型,即 EDE1 和 EDE2。在无糖环境下,EDE1 抗体较 EDE2 抗体的结合能力更强。EDE 抗体中和 ZIKV 和 DENV 的能力基本一致。理论上,ZIKV 和 DENV 的 E 蛋白氨基酸序列同源性高,基于 EDE 设计的疫苗在 ZIKV 感染时有促进 ADE 效应发生的可能性^[39]。

美国最新一项研究表明,寨卡病人的恢复期血清可对所有基因型 ZIKV 产生广谱抗病毒反应。大多登革疫苗因其对四种血清型 DENV 保护不均衡而饱受诟病,故成功的寨卡疫苗须对包括亚洲型及非洲型在内的所有毒株提供同等的保护力。E 蛋白某几个氨基酸的变异,可导致 E 蛋白或整个病毒颗粒的构象及其动力学的改变,抗原构象随之变化^[40-41],制备抗体所选用的毒株是否可以对所有同源或异源毒株有中和作用,需大量试验验证。上述研究发现,人体对单一毒株产生的特异性抗体可对多种毒株具有广泛中和作用,而并未体现出差异性,这对疫苗的发展具有重要意义^[42]。

黄病毒的 EDIII 是多种疫苗设计的靶点所在,

美国国立卫生研究院(National institutes of health, NIH)的相关研究发现,针对 ZIKV EDIII 制备的 mAb 对感染 ZIKV 的小鼠具有良好的保护作用^[43]。仅使用 1 种 mAb 可造成病毒的免疫逃逸,故需多种 mAb 混合使用^[44]。这类表位特异性的 mAb 可通过胎盘屏障,使母体和胎儿在短时间内获得大量特异性抗体,日后可对妊娠期 ZIKV 感染的治疗或疫苗的研究提供新思路^[45]。

BIDMC 和 WRAIR 将 2.3.2 和 2.3.3 所述试验动物的免疫后血清过继至同种属动物体内,被过继动物也可获得完全保护,若将编码抗体的基因导入宿主细胞,利用后者的表达系统合成免疫球蛋白,有望达到预防和治疗疾病的目的。

2.4 评价疫苗的动物模型

I 型 IFN (主要由 IFN- α 和 IFN- β 组成)是参与抗病毒免疫的重要效应分子,II 型 IFN(IFN- γ)亦有微弱的抗病毒作用。I 型 IFN 受体缺陷的 A129 小鼠和 I/II 型 IFN 受体均缺陷的 AG129 小鼠可选择性阻断某几种 IFN 的信号通路,上述小鼠对一定滴度的 ZIKV 基本无抵抗能力,攻毒后表现出明显的神经系统受累症状,可在其脑组织和睾丸中检测到高滴度的 ZIKV;同等剂量 ZIKV 对其它无免疫缺陷的小鼠进行攻毒试验后,并未表现出前述感染症状。另外,A129 或 AG129 小鼠体现出年龄依赖的病毒易感性。试验结果显示,3 周龄的小鼠较更高周龄的小鼠相比,病毒易感性更高,攻毒后生存率更低。故此,3 周龄的 A129 或 AG129 小鼠不仅可以作为评价疫苗安全性、免疫原性和保护效力的动物模型,还可用于研究 ZIKV 通过性接触传播的机制^[46]。此外,在前述候选寨卡疫苗保护效果的研究中,BALB/c、C57BL/6、SJL 小鼠和恒河猴等实验动物均有应用。

3 讨论和总结

理想的寨卡疫苗应具有足够的免疫原性,且不能加重其它黄病毒的感染,单次免疫后即可为接种者提供快速、持久的保护以抵抗 ZIKV 的攻击,并能有效地预防新生儿小头症及成人 GBS 的发生。

目前,全球近 30 家科研机构正从事各类寨卡疫苗的研发,其中多种候选疫苗已在动物试验中获得良好的效果^[47]。尽管黄热病、日本脑炎和登革等黄病毒类疫苗已相继上市,对寨卡疫苗的研究具有一定参考价值,但考虑到 ZIKV 对孕妇及胎儿造成的影响尤为突出,专家建议优先研制灭活或无活性疫苗(非可复制型疫苗),德克萨斯大学医学部的专家 Nikos Vasilakis 预测,距离安全有效的寨卡疫苗投入使用仍需 10–12 年^[48]。

当前寨卡疫苗的相关研究报告多数是令人鼓舞的,预计截止至 2016 年底,将有更多动物试验和小型临床试验的结果披露,研究人员期望最早可以在 2017 年初进行更大规模的临床试验。也有持反对意见的人士表示,在疫苗上市前,疫区人民大都已具备 ZIKV 特异的终身免疫力,疫情也逐渐消退,质疑研制该疫苗的利益成效。不过,鉴于 ZIKV 感染对育龄妇女和胎儿构成的健康威胁,及其与新生儿小头症和 GBS 之相关性,研制出有效的疫苗以保护高危人群并防止疫情的再次爆发,依然是不可或缺的。

多年来,人们已经对多种黄病毒的媒介传播、疾病预防与治疗有了深入的研究并取得积极进展,这些成果对 ZIKV 的基础科研、临床实践及药物和疫苗的研发有重要的借鉴和指导意义,取得的进展无疑将惠及数以十亿计身处于 ZIKV 感染风险区的人们。

参考文献

- [1] Dowd KA, Ko SY, Morabito KM, Yang ES, Pelc RS, DeMaso CR, Castilho LR, Abbink P, Boyd M, Nityanandam R, Gordon DN, Gallagher JR, Chen XJ, Todd JP, Tsybovsky Y, Harris A, Huang YJS, Higgs S, Vanlandingham DL, Andersen H, Lewis MG, De La Barrera R, Eckels KH, Jarman RG, Nason MC, Barouch DH, Roederer M, Kong WP, Mascola JR, Pierson TC, Graham BS. Rapid development of a DNA vaccine for Zika virus. *Science*, 2016, 354(6309): 237–240.
- [2] Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus I. Isolations and serological specificity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene*, 1952, 46(5): 509–520.
- [3] WHO. Guideline: Infant Feeding in Areas of Zika Virus Transmission. Geneva: WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee, 2016.
- [4] WHO. Fact sheet on Zika virus disease (updated on 2 June 2016). *Weekly Epidemiological Record*, 2016, 91(24): 314–316.
- [5] Paixão ES, Barreto F, Teixeira MDG, Costa MDCN, Rodrigues LC. History, epidemiology, and clinical manifestations of Zika: a systematic review. *American Journal of Public Health*, 2016, 106(4): 606–612.
- [6] Musso D, Roche C, Nhan TX, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Detection of Zika virus in saliva. *Journal of Clinical Virology*, 2015, 68: 53–55.
- [7] Dupont-Rouzeyrol M, Biron A, O'Connor O, Huguon E, Descloux E. Infectious Zika viral particles in breastmilk. *The Lancet*, 2016, 387(10023): 1051.
- [8] Besnard M, Lastère S, Teissier A, Cao-Lormeau VM, Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, french polynesia, December 2013 and February 2014. *Eurosurveillance*, 2014, 19(13): 20751.
- [9] Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, 21(2): 359–361.
- [10] Miner JJ, Sene A, Richner JM, Smith AM, Santeford A, Ban N, Weger-Lucarelli J, Manzella F, Rückert C, Govero J, Noguchi KK, Ebel GD, Diamond MS, Apte RS. Zika virus infection in mice causes panuveitis with shedding of virus in tears. *Cell Reports*, 2016, 16(12): 3208–3218.
- [11] Wang ZY, Wang PG, An J. Zika virus and Zika fever. *Virologica Sinica*, 2016, 31(2): 103–109.
- [12] Cavalheiro S, Lopez A, Serra S, Da Cunha A, da Costa MDS,

- Moron A, Lederman HM. Microcephaly and Zika virus: neonatal neuroradiological aspects. *Child's Nervous System*, 2016, 32(6): 1057–1060.
- [13] de Fatima Vasco Aragao M, van der Linden V, Brainer-Lima AM, Coeli RR, Rocha MA, Sobral da Silva P, Durce Costa Gomes de Carvalho M, van der Linden A, Cesario de Holanda A, Valenca MM. Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: retrospective case series study. *BMJ*, 2016, 353: i1901.
- [14] Hazin AN, Poretti A, Turchi Martelli CM, Huisman TA, Microcephaly Epidemic Research Group, Di Cavalcanti Souza Cruz D, Tenorio M, van der Linden A, Pena LJ, Brito C, Gil LH, de Barros Miranda-Filho D, Marques ET, Alves JG. Computed tomographic findings in microcephaly associated with Zika virus. *The New England Journal of Medicine*, 2016, 374(22): 2193–2195.
- [15] Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, Kolenc M, Resman Rus K, Vesnaver Vipotnik T, Fabjan Vodušek V, Vizjak A, Pižem J, Petrovec M, Avšič Županc T. Zika virus associated with microcephaly. *The New England Journal of Medicine*, 2016, 374(10): 951–958.
- [16] Brasil P, Pereira JP Jr, Raja Gabaglia C, Damasceno L, Wakimoto M, Ribeiro Nogueira RM, Carvalho de Sequeira P, Machado Siqueira A, Abreu de Carvalho LM, Cotrim da Cunha D, Calvet GA, Neves ES, Moreira ME, Rodrigues Baião AE, Nassar de Carvalho PR, Janzen C, Valderramos SG, Cherry JD, Bispo de Filippis AM, Nielsen-Saines K. Zika virus infection in pregnant women in rio de janeiro-preliminary report. *The New England Journal of Medicine*, 2016, doi: 10.1056/NEJMoa1602412.
- [17] Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA, Petersen LR. Zika virus and birth defects-reviewing the evidence for causality. *The New England Journal of Medicine*, 2016, 374(20): 1981–1987.
- [18] Johansson MA, Mier-y-Teran-Romero L, Reefhuis J, Gilboa SM, Hills SL. Zika and the risk of microcephaly. *The New England Journal of Medicine*, 2016, 375(1): 1–4.
- [19] Garcez PP, Loliola EC, Madeiro da Costa R, Higa LM, Trindade P, Delvecchio R, Nascimento JM, Brindeiro R, Tanuri A, Rehen SK. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science*, 2016, 352(6287): 816–818.
- [20] Qian XY, Nguyen HN, Song MM, Hadiono C, Ogden SC, Hammack C, Yao B, Hamersky GR, Jacob F, Zhong C, Yoon KJ, Jeang W, Lin L, Li YJ, Thakor J, Berg DA, Zhang C, Kang E, Chickering M, Nauen D, Ho CY, Wen ZX, Christian KM, Shi PY, Maher BJ, Wu H, Jin P, Tang HL, Song HJ, Ming GL. Brain-region-specific organoids using mini-bioreactors for modeling ZIKV exposure. *Cell*, 2016, 165(5): 1238–1254.
- [21] Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S, Lastère S, Roche C, Vanhomwegen J, Dub T, Baudouin L, Teissier A, Larre P, Vial AL, Decam C, Choumet V, Halstead SK, Willison HJ, Musset L, Manuguerra JC, Despres P, Fournier E, Mallet HP, Musso D, Fontanet A, Neil J, Ghawché F. Guillain-barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in french polynesia: a case-control study. *The Lancet*, 2016, 387(10027): 1531–1539.
- [22] Brasil P, Calvet GA, Siqueira AM, Wakimoto M, de Sequeira PC, Nobre A, Quintana Mde S, Mendonça MC, Lupi O, de Souza RV, Romero C, Zogbi H, Bressan Cda S, Alves SS, Lourenço-de-Oliveira R, Nogueira RM, Carvalho MS, de Filippis AM, Jaenisch T. Zika virus outbreak in rio de janeiro, brazil: clinical characterization, epidemiological and virological aspects. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2016, 10(4): e0004636.
- [23] Brasil P, Sequeira PC, Freitas AD, Zogbi HE, Calvet GA, de Souza RV, Siqueira AM, de Mendonca MC, Nogueira RM, de Filippis AM, Solomon T. Guillain-Barré syndrome associated with Zika virus infection. *The Lancet*, 2016, 387(10026): 1482.
- [24] Cardoso CW, Paploski IAD, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MMO, Campos GS, Sardi SI, Kitron U, Reis MG, Ribeiro GS. Outbreak of exanthematous illness associated with zika, chikungunya, and dengue viruses, salvador, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, 21(12): 2274–2276.
- [25] Beasley DWC, Whiteman MC, Zhang SL, Huang CYH, Schneider BS, Smith DR, Gromowski GD, Higgs S, Kinney RM, Barrett ADT. Envelope protein glycosylation status influences mouse neuroinvasion phenotype of genetic lineage 1 West Nile virus strains. *Journal of Virology*, 2005, 79(13): 8339–8347.
- [26] Halstead SB, Rojanasuphot S, Sangkawibha N. Original antigenic sin in dengue. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1983, 32(1): 154–156.
- [27] Velumani S, Toh YX, Balasingam S, Archuleta S, Leo YS, Gan VC, Thein TL, Wilder-Smith A, Fink K. Low antibody titers 5 years after vaccination with the CYD-TDV dengue vaccine in both pre-immune and naive vaccinees. *Human*

- Vaccines & Immunotherapeutics*, 2016, 12(5): 1265–1273.
- [28] Libraty DH, Acosta LP, Tallo V, Segubre-Mercado E, Bautista A, Potts JA, Jarman RG, Yoon IK, Gibbons RV, Brion JD, Capeding RZ. A prospective nested case-control study of Dengue in infants: rethinking and refining the antibody-dependent enhancement dengue hemorrhagic fever model. *PLoS Medicine*, 2009, 6(10): e1000171.
- [29] Stettler K, Beltramello M, Espinosa DA, Graham V, Cassotta A, Bianchi S, Vanzetta F, Minola A, Jaconi S, Mele F, Foglierini M, Pedotti M, Simonelli L, Dowall S, Atkinson B, Percivalle E, Simmons CP, Varani L, Blum J, Baldanti F, Cameroni E, Hewson R, Harris E, Lanzavecchia A, Sallusto F, Corti D. Specificity, cross-reactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection. *Science*, 2016, 353(6301): 823–826.
- [30] Kawiecki AB, Christofferson RC. Zika-induced antibody response enhances dengue serotype 2 replication *in vitro*. *The Journal of Infectious Diseases*, 2016, doi: 10.1093/infdis/jiw377.
- [31] Dejnirattisai W, Supasa P, Wongwiwat W, Rouvinski A, Barba-Spaeth G, Duangchinda T, Sakuntabhai A, Cao-Lormeau VM, Malasit P, Rey FA, Mongkolsapaya J, Screaton GR. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with Zika virus. *Nature Immunology*, 2016, 17(9): 1102–1108.
- [32] Priyamvada L, Quicke KM, Hudson WH, Onlamoon N, Sewatanon J, Edupuganti S, Pattanapanyasat K, Chokeyphaibulkit K, Mulligan MJ, Wilson PC, Ahmed R, Suthar MS, Wrammert J. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(28): 7852–7857.
- [33] Kwong JC, Vasa PP, Campitelli MA, Hawken S, Wilson K, Rosella LC, Stukel TA, Crowcroft NS, McGeer AJ, Zinman L, Deeks SL. Risk of Guillain-Barré syndrome after seasonal influenza vaccination and influenza health-care encounters: a self-controlled study. *The Lancet Infectious Diseases*, 2013, 13(9): 769–776.
- [34] Kirkpatrick BD, Whitehead SS, Pierce KK, Tibery CM, Grier PL, Hynes NA, Larsson CJ, Sabundayo BP, Talaat KR, Janiak A, Carmolli MP, Luke CJ, Diehl SA, Durbin AP. The live attenuated dengue vaccine TV003 elicits complete protection against dengue in a human challenge model. *Science Translational Medicine*, 2016, 8(330): 330ra36.
- [35] Cugola FR, Fernandes IR, Russo FB, Freitas BC, Dias JL, Guimarães KP, Benazzato C, Almeida N, Pignatari GC, Romero S, Polonio CM, Cunha I, Freitas CL, Brândao WN, Rossato C, Andrade DG, Faria Dde P, Garcez AT, Buchpiguel CA, Braconi CT, Mendes E, Sall AA, Zanotto PM, Peron JP, Muotri AR, Beltrão-Braga PC. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*, 2016, 534(7606): 267–271.
- [36] Larocca RA, Abbink P, Peron JP, Zanotto PM, Iampietro MJ, Badamchi-Zadeh A, Boyd M, Ng'ang'a D, Kirilova M, Nityanandam R, Mercado NB, Li Z, Moseley ET, Bricault CA, Borducchi EN, Giglio PB, Jetton D, Neubauer G, Nkolola JP, Maxfield LF, De La Barrera RA, Jarman RG, Eckels KH, Michael NL, Thomas SJ, Barouch DH. Vaccine protection against Zika virus from Brazil. *Nature*, 2016, 536(7617): 474–478.
- [37] Abbink P, Maxfield LF, Ng'ang'a D, Borducchi EN, Iampietro MJ, Bricault CA, Teigler JE, Blackmore S, Parenteau L, Wagh K, Handley SA, Zhao GY, Virgin HW, Korber B, Barouch DH. Construction and evaluation of novel rhesus monkey adenovirus vaccine vectors. *Journal of Virology*, 2015, 89(3): 1512–1522.
- [38] Larsen GD. Promising vaccines for Zika. *Lab Animal*, 2016, 45(8): 282.
- [39] Barba-Spaeth G, Dejnirattisai W, Rouvinski A, Vaney MC, Medits I, Sharma A, Simon-Lorière E, Sakuntabhai A, Cao-Lormeau VM, Haouz A, England P, Stiasny K, Mongkolsapaya J, Heinz FX, Screaton GR, Rey FA. Structural basis of potent Zika-dengue virus antibody cross-neutralization. *Nature*, 2016, 536(7614): 48–53.
- [40] Kuhn RJ, Dowd KA, Beth Post C, Pierson TC. Shake, rattle, and roll: impact of the dynamics of flavivirus particles on their interactions with the host. *Virology*, 2015, 479–480: 508–517.
- [41] Pierson TC, Diamond MS. Degrees of maturity: the complex structure and biology of flaviviruses. *Current Opinion in Virology*, 2012, 2(2): 168–175.
- [42] Dowd KA, DeMaso CR, Pelc RS, Speer SD, Smith ARY, Goo L, Platt DJ, Mascola JR, Graham BS, Mulligan MJ, Diamond MS, Ledgerwood JE, Pierson TC. Broadly neutralizing activity of Zika virus-immune sera identifies a single viral serotype. *Cell Reports*, 2016, 16(6): 1485–1491.
- [43] Pierson TC, Graham BS. Zika virus: immunity and vaccine development. *Cell*, 2016, 167(3): 625–631.
- [44] Dixit R, Herz J, Dalton R, Booy R. Benefits of using

- heterologous polyclonal antibodies and potential applications to new and undertreated infectious pathogens. *Vaccine*, 2016, 34(9): 1152–1161.
- [45] Zhao HY, Fernandez E, Dowd KA, Speer SD, Platt DJ, Gorman MJ, Govero J, Nelson CA, Pierson TC, Diamond MS, Fremont DH. Structural basis of Zika virus-specific antibody protection. *Cell*, 2016, 166(4): 1016–1027.
- [46] Rossi SL, Tesh RB, Azar SR, Muruato AE, Hanley KA, Auguste AJ, Langsjoen RM, Paessler S, Vasilakis N, Weaver SC. Characterization of a novel murine model to study Zika virus. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2016, 94(6): 1362–1369.
- [47] Tripp RA, Ross TM. Development of a Zika vaccine. *Expert Review of Vaccines*, 2016, 15(9): 1083–1085.
- [48] Shan C, Xie XP, Barrett ADT, Garcia-Blanco MA, Tesh RB, Vasconcelos PFDC, Vasilakis N, Weaver SC, Shi PY. Zika virus: diagnosis, therapeutics, and vaccine. *ACS Infectious Diseases*, 2016, 2(3): 170–172.

Advances in Zika vaccines

Ran Wang¹, Hui Chen^{1*}, Jing An^{1,2*}

¹ Department of Microbiology and Parasitology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China

² Center of Epilepsy, Beijing Institute for Brain Disorders, Beijing 100069, China

Abstract: *Aedes* (a genus of mosquitoes) transfers Zika virus (ZIKV) to humans. About two billion people worldwide live in ZIKV-affected areas. The outbreak of ZIKV in Central and South America threatens public health worldwide, especially for pregnant women and their fetuses. ZIKV infection has become one of the major causes of neonatal congenital microcephaly and adult Guillain-Barre syndrome. No effective vaccine and treatment are available now against ZIKV infection. The first Zika vaccine is a DNA vaccine which affords complete protection against ZIKV and induces a high level of specific antibody titers. Advantages of DNA vaccines are simple to design and produce, safe for adults and fetuses, and without virulence recovery induced by reproducible vaccines. Some positive vaccines including traditional and emerging ones are in research and some progresses have been achieved. This article reviews the current situation and progress of Zika vaccines.

Keywords: Zika virus, vaccine, Zika vaccine, microcephaly, guillain-barre syndrome

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81271839, 81372935, 81301435, 81471957)

*Corresponding author. Hui Chen, Tel: +86-10-83911834, E-mail: chenhuicxh@ccmu.edu.cn; Jing An, Tel: +86-10-83950107, E-mail: anjing@ccmu.edu.cn

Received: 25 September 2016; Revised: 19 November 2016; Published online: 28 November 2016