

王鹏, 沈伟桢, 周斌. 猪圆环病毒 2 型疫苗的应用和研发进展 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (4): 139-146.

WANG P, SHEN W Z, ZHOU B. Application of and research progress in porcine circovirus type 2 vaccine [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (4): 139-146.

猪圆环病毒 2 型疫苗的应用和研发进展

王鹏^{1#}, 沈伟桢^{2#}, 周斌^{2*}

(1. 南京江北新区农村工作管理服务中心, 江苏 南京 211899;

2. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 猪圆环病毒 2 型 (PCV2) 是猪圆环病毒相关疾病 (PCVAD) 的主要病原, 感染后会导致猪淋巴系统功能衰竭和免疫抑制, 严重危害养猪业的正常生产。近年来, PCV2 疫苗的研发一直备受关注, 相关研究已取得一定进展, 已上市了多种疫苗, 包括灭活疫苗、亚单位疫苗、嵌合疫苗和合成肽疫苗等。此外, 研究人员还在疫苗的免疫机制和接种策略方面进行了深入探讨, 为疫苗的研发和应用提供了重要的理论支持。然而, 目前 PCV2 疫苗的研究仍面临着诸多挑战, 如临床流行的主要毒株从 PCV2b 逐渐转变为 PCV2d, 疫苗安全性、长期免疫效果等, 现有疫苗的免疫效果仍需进一步研究证实。本文对 PCV2 及其现有疫苗的生产现状、新型疫苗的研发进展、佐剂在疫苗中的应用、疫苗对不同基因型的保护能力等进行了综述, 以期为我国有效防控 PCVAD 提供科学参考。

关键词: 猪圆环病毒 2 型; 疫苗; 佐剂; 保护力

中图分类号: S855.3 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)04-0139-08

Application of and research progress in porcine circovirus type 2 vaccine

WANG Peng^{1#}, SHEN Weizhen^{2#}, ZHOU Bin^{2*}

(1. Nanjing Jiangbei New Area Rural Work Management Service Center, Nanjing 211899, China;

2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Porcine circovirus type 2 (PCV2) is the major pathogen of porcine circovirus related diseases (PCVAD), which causes lymphatic system failure and immune suppression after infection and seriously harms the normal production of the pig industry. In recent years, the research and development of PCV2 vaccine has been concerned, and relevant research has made certain progress, and a variety of vaccines have been commercialized, including inactivated vaccines, subunit vaccines, chimeric vaccines and synthetic peptide vaccines. In addition, researchers have also conducted in-depth discussions on the immune mechanism and vaccination strategy of vaccines, providing important theoretical support for the development and application of vaccines. However, the current research on PCV2 vaccines still faces many challenges, such as the gradual variation of the main strain in clinical circulation from PCV2b to PCV2d, vaccine safety, long-term immune effect, etc. The immune effect of the existing vaccines still requires confirming by further studies. This article reviews the production status of PCV2 and its existing vaccines, the research on and development progress in new vaccines, the application of adjuvants in vaccines, and the protection ability of vaccines against different genotypes, in order to provide scientific reference for effective prevention and control of PCVAD in China.

Keywords: porcine circovirus type 2; vaccine; adjuvant; protection

猪圆环病毒 (PCV) 是一种单链环状 DNA 病毒, 属于圆环病毒科圆环病毒属, 是已知最小的动物病毒

之一^[1], 根据全基因组核苷酸序列可分为 PCV1 型 (PCV1)、2 型 (PCV2)、3 型 (PCV3) 和 4 型 (PCV4) 4 个血清型, PCV2 又可细分为 a~h 8 个亚型^[2]。猪对 PCV2 具有较强的易感性, 4 周龄断奶仔猪最易感, 常引发断奶仔猪多系统衰竭综合征 (PMWS), 临床表现多样, 渐进性消瘦或生长迟缓是最常见的症状, 易与其他病原混合感染, 大大提高病猪的死亡率^[3]。猪圆环病毒病于 1991 年在加拿大首

收稿日期: 2024-02-02

基金项目: 国家重点研发计划 (2021YFD1801300)

第一作者: 王鹏, 男, 本科, 兽医师; 沈伟桢, 男, 硕士研究生。[#]共同第一作者

* 通信作者: 周斌, 教授, 研究方向为动物分子病毒学与免疫学、动物疫病诊断与防控, E-mail: zhoubin@njau.edu.cn。

次被发现,之后世界各国均有大量报道^[4-5],我国自2001年首次分离到PCV2以来,浙江、山东、广东、河南等省份先后均有该传染病流行的报道发生。目前为止,PCV2经历过2次重大抗原变异:2003年,PCV2b亚型在全球大部分地区取代PCV2a亚型成为主导毒株;2012年,中国、韩国等部分地区的PCV2b亚型开始被PCV2d亚型取代。

全球各国养猪产业正遭受着PCV2引起的严重影响与经济负担,因此疫苗接种被视为预防该病的最有效手段并逐渐成为近年来的主要关注点之一。在此背景下,传统灭活疫苗、亚单位疫苗、嵌合疫苗和合成肽疫苗陆续问世并投入使用,同时实验室也致力于开发新型活载体疫苗、核酸疫苗等,商业疫苗的投入使用和实验室疫苗的不断优化在防控PCV2感染和提高猪群生长性能发挥了重要作用。然而,疫苗佐剂的筛选、PCV2d的流行也为疫苗的研发提出了新的挑战。

1 PCV2疫苗的应用现状

自2006年开始进入我国市场的PCV2商业疫苗(表1,表2)均有报道表明可显著降低PMWS感染猪的临床病理表现并改善其生长性能^[6]。在接种疫苗后,猪群的平均日增重和瘦肉产量百分比有所提高,增加了饲料转化率并降低了接种疫苗猪群的药物成本。目前我国商业化的PCV2疫苗主要可以分为2类:灭活疫苗和以衣壳(Cap)蛋白作为免疫原的亚单位疫苗。然而,灭活疫苗通常是在猪肾传代细胞系(PK-15)中生产,有着病毒滴度低的缺点^[7];亚单位疫苗可在大肠杆菌或杆状病毒表达系统中生产,但需要昂贵的超离心或层析纯化^[8]。因此,目前研究的重心逐渐偏向于成本更低、安全性更高并且保护作用更持久的活载体疫苗和核酸疫苗。

表1 国内PCV2商品疫苗汇总

疫苗类型	毒株	疫苗名称(兽药生字)	
灭活疫苗	1010株	猪克环(110571155)	
	DBN-SX07株	信圆宁(010371076),圆康(060131076),科圆佳(090351076),东方圆(120491076),诸欢泰(130141076),圆泰(150101076),沃圆清(151721076),绿圆康(151821076),元芷优(180021076),圆力佳(220011076),海圆安(220521076),澳圆康(230241076)	
	LG株	元美瑞(080071071),圆毕净(090201071),华圆健(101451071),助圆康(151181071),圆毕净(154391071)	
	SD株	新圆泰(150101173)	
	SH株	圆倍安(010651069),正圆安(070221069),圆浩佳(100081069),圆益(100651069),圆克清(100971069),圆克清佳(100971121),圆浩佳(101911069),圆泰莱(140391069),澳兰圆清(15180106),圆健(160021069),园倍适(163001121),圆梦(220051121)	
	WH株	圆必宁(100991087),科圆宁(17004108),圆满(220051087)	
	YZ株	兰圆净(163581120),圆立净(101081120),圆立定(110851120),维圆克(130341120),圆克威(190031120),圆丽宁(200351120)	
	ZJ/C株	诸元妥(030381188),佑圆宝(110541188),圆净诺(110571088),圆捷(150251188),圆环康(221011088),正圆净(240051088)	
	亚单位疫苗	OKM株	正圆臻(070221172),圆臻清(100971172),圆柯欣(160021128),联圆净(280181172)
		PCV2	海圆康(兽药生字220521181)
VLPs		易圆净(兽药生字150131096)	
重组载体疫苗	CP08株	圆立优(101081098),圆力康(170261098)	
联合疫苗	162株	圆支泰(21011195)	
	CP08株	诗圆静(110571151),圆支康(170261151)	
	DBN01株	金圆支(050151165),圆支必宁(100991165)	
	rB-06株	天圆支(310011193)	
	SH株	支圆宁(100081143),圆支清(100971143),支圆宁(101911143),欣圆支(160021143),圆副(160021152),圆支(163001143),支圆泰(163581143)	
	PCV2	圆支优(兽药生字010641157),圆支特净(兽药生字070291157),圆福康(兽药生字170041179)	
合成肽疫苗	多肽0803+0806	PCV2合成肽疫苗(28011161)	

表2 国内进口PCV2疫苗汇总

序号	疫苗名称	批准文号	生产企业
1	PCV2 灭活疫苗 (CAKY98 株)	(2023) 外兽药证字 27 号	韩国 Choong Ang 疫苗实验室有限公司
2	PCV2 灭活疫苗 (1010 株)	(2022) 外兽药证字 25 号	法国诗华动物保健公司
3	PCV2、猪肺炎支原体二联灭活疫苗	(2021) 外兽药证字 67 号	美国法玛威生物制品股份有限公司
4	PCV1-2 嵌合体、支原体肺炎二联灭活疫苗	(2021) 外兽药证字 12 号	硕腾生物制药有限公司
5	PCV1-2 嵌合体灭活疫苗	(2019) 外兽药证字 57 号	硕腾生物制药有限公司
6	PCV2 杆状病毒载体灭活疫苗	(2018) 外兽药证字 42 号	勃林格殷格翰动物保健有限公司
7	PCV2 灭活疫苗 (1010 株)	(2017) 外兽药证字 04 号	梅里亚动物保健有限公司
8	PCV2 杆状病毒载体灭活疫苗	(2014) 外兽药证字 27 号	勃林格殷格翰动物保健有限公司

2 传统疫苗

2.1 灭活疫苗

灭活疫苗由于病原微生物已经完全灭活,在使用安全性和储存稳定性等方面相比弱毒疫苗有优势,还具有对母源抗体的中和作用不敏感的优点。最早的PCV2灭活疫苗是法国梅里亚公司于2006年研发的PCV2全病毒灭活疫苗Circovac[®][9-11],疫苗通过欧盟认证,是世界上首个以轻石蜡油为佐剂的PCV2疫苗,同时Circovac[®]可用于繁育母猪和3周龄以上仔猪,也是目前唯一一个既适用于母猪又适用于仔猪的PCV2疫苗。它能有效降低感染仔猪各组织器官中的病毒载量,降低病毒血症的发生并减轻病毒组织器官的负荷和病毒散播,促进新生仔猪的生长发育。我国最早的PCV2灭活疫苗是南京农业大学姜平教授科研团队研发的PCV2灭活疫苗(SH株)[12]。目前国内灭活疫苗主要基于SH株、LG株、ZJ/C株、DBN-SX07株等毒株研制,均属于PCV2b亚型,在本质上没有区别[13]。

2.2 弱毒疫苗

由于弱毒疫苗毒力容易返强、致弱毒株毒力评价难度较大等问题,截至目前为止市场上还没有针对PCV2的弱毒疫苗。Fenaux等[14]在PK-15细胞中连续传代PCV2分离株达120代后,对第1代病毒(VP1)和最后1代病毒(VP120)在生物学特性、遗传特征上通过试验进行表征,发现从第1代到第120代的过程中,整个病毒基因组发生了2处核苷酸变异:C328G和A573C。这2处变异导致Cap蛋白第110位的脯氨酸变为丙氨酸(P110A),第191位的精氨酸变为丝氨酸(R191S)。进一步研究发现这些突变增强了PCV2的体外生长能力并减弱了体内感染能力,这一发现对研发出有效的PCV2弱毒疫苗的具有重要指导作用。

3 基因工程疫苗

3.1 亚单位疫苗

目前商业PCV2亚单位疫苗的设计和研发主要基于ORF2所编码的Cap蛋白,它是PCV2的主要结构蛋白和免疫保护性抗原,具有中和性表位和诱导保护性免疫反应的潜力[15-16]。目前国际市场上有3种PCV2亚单位疫苗,分别是CircoFlex[®], Circument[®]和Porcilis PCV[®][17]。它们都利用杆状病毒系统表达ORF2制成,经灭活和纯化后病毒样颗粒(VLPs)在形态上与PCV2颗粒相同[8]。一项试验同时评估了Circovac[®]、CircoFlex[®]和Porcilis PCV[®],结果表明,与商业化灭活疫苗相比,亚单位疫苗CircoFlex[®]和Porcilis PCV[®]表现出更低的病毒载量和散播,更温和的组织病理学病变,更高水平的PCV2特异性中和抗体和细胞介导免疫[18]。王琳琳等[19]利用杆状病毒表达系统高效表达Cap蛋白,采用水性佐剂制备成灭活疫苗,仔猪免疫后精神、食欲和行为活动均正常,酶联免疫吸附试验(ELISA)抗体效价在1:400~1:800,具有良好的免疫原性和安全性,可作为预防PCVAD的候选疫苗。Xi等[20]通过大肠杆菌表达重组Cap蛋白,在中性缓冲液中自组装成与完整PCV2病毒相似的VLPs。通过试验证明该蛋白具有良好的免疫原性,能有效刺激机体产生特异性抗体介导的免疫应答,并保护机体免受PCV2-SH毒株的感染,而且生产成本较低,是一种具有潜在竞争力的亚单位疫苗。目前国内注册上市的亚单位疫苗有正圆臻、圆柯欣、圆臻清、圆环力康、易圆净等。

3.2 重组载体疫苗

重组载体疫苗利用基因工程技术以减毒活病毒或细菌作为基因表达载体,将编码特定病原微生物免疫原性蛋白的基因插入载体中,输入机体后在体内表达免疫原性蛋白,从而激发机体产生特异性抗体和细胞

免疫应答, 预防相应病原微生物的感染^[21]。当前 PCV2 重组载体疫苗主要有腺病毒载体疫苗、伪狂犬病毒载体疫苗以及杆状病毒载体疫苗^[22]。

3.2.1 杆状病毒载体疫苗

昆虫杆状病毒表达载体系统 (BEVS) 已成熟应用于多种蛋白的表达中, 为疫苗研发提供了大量原材料, 适用于多基因表达设计和大规模的无血清培养条件下的重组蛋白生产^[23]。He 等^[24]利用杆状病毒感染的家蚕幼虫和大肠杆菌 BL21 (DE3) 原核表达系统表达了 PCV2 Cap 蛋白, 通过 ELISA 证实了产生的 VLPs 的免疫原性, 表明杆状病毒感染的家蚕幼虫表达系统是获得 PCV2 VLPs 的良好选择, 具有开发低成本、高效疫苗的潜力。Xu 等^[25]针对 PRRSV GP5 蛋白和 PCV2 Cap 蛋白利用 BEVS 构建了重组 BacSC-Dual-GP5-Cap 疫苗, 其能产生相当高的病毒中和滴度并诱导淋巴细胞增殖反应, 是抵抗两者感染的潜在二价亚单位疫苗。目前国内上市的杆状病毒表达 Cap 蛋白的载体疫苗有国药集团动物保健股份有限公司的圆力康和扬州优邦生物药品有限公司的圆立优^[22]。

3.2.2 腺病毒载体疫苗

腺病毒载体疫苗通过将保护性抗原基因重组到腺病毒基因组中构建而成, 具有简单构建和诱导体液免疫、黏膜免疫和细胞免疫的优势^[26]。Li 等^[27]构建了分泌型重组腺病毒和非分泌型重组腺病毒, ELISA 和病毒中和试验 (VNT) 结果表明, 分泌型重组腺病毒诱导的体液免疫应答明显高于 PCV2-SH 菌株, 并且在 PCV2 攻毒试验中病毒载量显著降低, 表明分泌型重组腺病毒疫苗比商业灭活疫苗 PCV2-SH 菌株能引起更强的免疫应答和更好的保护作用, 是一种潜在的 PCVAD 候选疫苗。为了降低腺病毒蛋白的免疫原性, Li 等^[28]构建了用 Intron A、WPRE 修饰和 CD40L、GM-CSF 修饰的 PCV2 腺病毒载体疫苗, 这类修饰后的疫苗诱导了更强的体液和细胞免疫反应, 提供了比未修饰疫苗更好的保护作用。然而, 腺病毒的靶向性差, 首过效应强, 且不能整合到靶细胞的基因组 DNA 中并稳定表达外源基因, 因此只有不断优化腺病毒载体以提高其特异性和安全性, 才能最大限度发挥它的潜在应用价值^[29]。

3.2.3 伪狂犬病毒活载体疫苗

伪狂犬病毒 (PRV) 因其基因组结构独特、宿主覆盖范围广泛和生物安全性, 已成为研发活载体疫苗的重要工具。将表达保护性抗原基因的重组伪狂犬病毒构建疫苗模型, 可以预防包括伪狂犬病在内的多种疾病, 实现一针多防的目的, 而且能简化免疫过程、降低成本, 在商业和应用前景上具有潜在优势^[30]。Zheng 等^[31]构建了一种表达 PCV2 Cap 蛋白和

白细胞介素 18 (IL-18) 的重组伪狂犬病毒, 用 PRV-ORF2-IL18、PRV-ORF2、PRV-HB98 或灭活的 PCV2 免疫小鼠, ELISA、VNT、异性淋巴细胞增殖试验、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺T 淋巴细胞分析显示, PRV-ORF2-IL18 在小鼠中可诱导高滴度的血清中和抗体, 并产生具有较强的细胞介导免疫应答。PRV-ORF2-IL18 免疫可保护小鼠免受 PRV-Fa 毒株的致命攻击, 并显著降低 PCV2 病毒血症的数量。PRV-ORF2-IL18 重组病毒可能是预防猪 PCV2 和 PRV 感染的一种有吸引力的候选疫苗。

3.3 合成肽疫苗

合成肽疫苗是一种仅含有免疫决定簇的短肽疫苗, 将根据病原体蛋白质的氨基酸序列合成的保护性短肽与载体结合, 再加入佐剂制备而成^[32]。Jeong 等^[33]根据来自欧洲、北美洲和亚洲的不同分离株的氨基酸序列比对来构建 Cap 蛋白的氨基酸序列并合成小肽, 使用氢氧化铝、氧化钴和脂质体为佐剂制备疫苗, 结果表明以脂质体佐剂制备的合成肽疫苗免疫效果较好, 但整体保护作用较当前商品疫苗略差一些。南京农业大学姜平教授研究团队深入分析 PCV2 免疫保护抗原和抗原表位后, 确定并筛选出由 50~51 个氨基酸组成的 2 条多肽序列, 成功研制出 PCV2 合成肽疫苗^[34]。疫苗免疫保护效力达 100%, 免疫持续期 4 个月, 为防控 PCVAD 提供了又一种重要手段。

3.4 核酸疫苗

核酸疫苗能够直接引入编码特定抗原蛋白的 DNA 或 RNA 到免疫动物的细胞中, 通过宿主细胞的表达机制转化和翻译外源核酸, 形成的抗原蛋白刺激机体产生针对该抗原蛋白的免疫反应, 最终达到预防或治疗某种疾病的目的^[35]。Sylla 等^[36]利用 pEGFP-N1 载体构建 PCV2 Cap 基因重组疫苗, 对 80 只 BALB/c 小鼠以 2 周的间隔接种 pEGFP-Cap、LG 株疫苗、pEGFP-N1 载体或 PBS 3 次, 然后用 PCV2 攻毒。结果发现, 接种 pEGFP-Cap 的小鼠通过诱导高度特异的血清 IgG 抗体和细胞因子 (γ 干扰素和白细胞介素 10), 以及较小的 PCV2 病毒载量, 有效地保护了小鼠免受 PCV2 感染。因此, 这项研究表明, 重组 pEGFP-Cap 可显著减轻小鼠的 PCV2 感染, 并提供证据证明 DNA 疫苗可以替代针对 PMWS 的 PCV2 疫苗。由于外源基因在宿主细胞中的表达调控和在细胞间的转移机制研究尚不完善, 可能会引起意外的免疫反应和其他问题, 因此核酸疫苗的安全性和有效性还需进一步研究验证, 这是目前核酸疫苗研究仅限于实验室研究的主要瓶颈原因之一^[35]。

3.5 嵌合疫苗

嵌合疫苗能够将 2 种或多种病原体的基因组或片

段通过基因工程技术连接或替换,形成的重组基因能够表达2种或更多的病原体抗原,然后再通过传统方法设计和制造灭活疫苗、弱毒疫苗和亚单位疫苗等^[37]。美国富道公司将致病性PCV2中的ORF 2片段置换不致病的PCV1中的ORF 2片段,构建了PCV1-2嵌合病毒并将其制成灭活疫苗。多次试验表明,嵌合病毒灭活疫苗能够为猪群提供较好的免疫防护,特别是在抑制病毒和降低病毒血症的效果上有着显著的优势。目前该疫苗已经在美国、加拿大、丹麦和墨西哥等国家获得注册并被广泛使用^[38-39]。国内市场上现有的PCV2嵌合疫苗为2019在我国注册上市的硕腾公司生产的PCV1-2型嵌合体灭活疫苗。

4 PCV2 联合疫苗

联合疫苗是指将2个或2个以上的疫苗抗原通过混合、联合或同时施用的方式进行免疫接种,从而实现预防多个疾病的疫苗。联合疫苗尤其是多联疫苗在研制和临床试验过程中,应该充分考虑各种组分之间的相互作用以及它们对联合疫苗安全性和有效性的可能影响^[40]。国内市场上现有的PCV2联合疫苗种类分为PCV2型、猪肺炎支原体二联疫苗和PCV2型、副猪嗜血杆菌二联疫苗,已获批的国产疫苗有圆支优、圆支康、圆支泰、圆支必宁等。陈昌海等^[41]对PCV2灭活疫苗和猪瘟病毒冻干活疫苗联合免疫效果进行了评估,结果表明2种疫苗联合接种并未影响相应抗体的产生,反而在一定程度上发挥了协同作用,促进了2种抗体在猪群个体间的稳定分布。张召等^[42]对猪瘟活疫苗、PCV2型基因工程疫苗和猪肺炎支原体灭活疫苗3种疫苗联合免疫的可行性进行评价,发现3种疫苗之间互不干扰,联合免疫效果与单苗免疫一致,而且接种后的猪群在生长性能上表现更优,证明三者联合免疫安全有效。

5 佐剂在PCV2疫苗中的应用

针对各种疫苗接种所需的佐剂而言,其效用与原理各有差异,故而在决定或挑选某种特定疫苗所用的佐剂的过程中,必须全面权衡靶动物种类、疫苗免疫原性质、需要激活的免疫类型、免疫应答的途径以及期望达到的免疫效果等多方面因素^[43]。目前PCV2商品疫苗的佐剂主要为化学佐剂和分子佐剂两大类^[44],在灭活疫苗、亚单位疫苗、合成肽疫苗等类型的疫苗中都有广泛的应用。赵本进等^[45]使用水包油佐剂Merckinade SDA 25、HS1010和双向佐剂Montanide ISA 206制成PCV2灭活疫苗,对3种疫苗的稳定性和黏度、接种仔猪后的有效性和安全性进行评估。结果表明,佐剂Montanide ISA 206相较Mercki-

nade SDA 25可诱导更高水平抗体效价,考虑到佐剂产品的成熟度,确定灭活疫苗使用Montanide ISA 206。孙莹慧等^[46]将重组的PCV2 Cap蛋白与与氢氧化铝胶佐剂、ISA 15 AVG佐剂和IMS 251C VG佐剂混合制备疫苗,并选择PCV2阴性仔猪(14日龄)开展动物安全性检验和免疫效力检验。研究结果显示,使用佐剂ISA 15A VG制备的亚单位疫苗,在接种仔猪后可刺激机体产生较高水平的体液免疫应答。刘新月等^[47]将IMS 251C VG、GEL 02 PR、ISA 15A VG、ISA 206 VG、ISA 61 VG、台湾细菌鞭毛、卡波姆、多糖共8种佐剂与适量PCV2多肽抗原按照特定方法配制不同疫苗,采用小鼠试验初步检验疫苗安全性及免疫效果,筛选出较优的佐剂进行仔猪免疫攻毒保护试验,研究结果表明油佐剂ISA 61 VG佐剂和水佐剂GEL 02 PR制备的PCV2合成肽疫苗无安全性问题,且具有极好的体液免疫和细胞免疫反应,对预防PCV2感染具有较好的免疫保护作用,是一种很好的合成肽疫苗佐剂。

分子佐剂能够非特异性地改变或增强机体对抗原的特异性免疫应答,它们的形式与传统佐剂不同,是质粒编码的蛋白质,其作用方式依赖靶向先天免疫受体或分子信号转导事件,包括模式识别受体激动剂、细胞因子、趋化因子和免疫靶向基因等^[48]。Fu等^[49]比较了泛素(Ub)、热休克蛋白70 C端多肽结合区(Hsp70c)和白细胞介素-2(IL-2)这3种分子佐剂在基于PCV2 ORF2基因DNA疫苗中的增强能力,结果表明相较于Hsp70c和IL-2,利用Ub作为分子佐剂可诱导更强的Th1型细胞免疫,血清中Cap蛋白特异性IgG抗体水平也更高,而且在感染后的大部分时间内产生的特异性免疫均强于其他2组。因此,对于PCV2 DNA疫苗接种,Ub是比Hsp70c和IL-2更好的分子佐剂。

6 PCV2疫苗对不同亚型毒株的保护能力

目前PCV2的商业疫苗大多都来源于PCV2a和PCV2b亚型毒株,面对当前流行的主流PCV2d亚型毒株,已有研究者们评估了它们能否提供可靠的保护。Jeong等^[50]、Oprea等^[9]、黄亚平等^[51]使用现有商品PCV2灭活疫苗对流行的PCV2d毒株的免疫保护效果进行评估,Fort等^[8]通过试验验证了基于PCV2 Cap蛋白的亚单位疫苗对来自具有不同基因型和地理来源的4种不同PCV2分离株的保护作用,结果均表明现有商品疫苗能完全保护PCV不同基因型的攻击。然而,Li等^[52]比较了基于基因型2b和2d的2种试验性PCV1-2灭活嵌合疫苗的保护能力,结果表明2个疫苗接种组在攻毒后的体液免疫反应、

PCV2b 载量或 PCV 相关微观病变方面没有显著差异。然而,在接种 PCV2b 疫苗猪的腹股沟浅表淋巴结中没有检测到来自攻击毒株的 DNA,但攻毒后 21 d 在 PCV2d 免疫组的 1 头猪中检测到来自攻击毒株的 DNA。Kang 等^[53]发现在韩国田间分离的 PCV2 毒株 [QIA215 (PCV2a)、QIA418 (PCV2b)、QIA169 (PCV2d) 和 QIA244 (PCV2d)] 表现出不同的抗原结合活性,观察到不同基因型之间以及相同基因型的毒株之间存在交叉保护差异。Reiner 等^[54]也发现了一致的结果,与未接种疫苗的猪群相比,接种疫苗的猪群中感染 PCV2a 的频率相对降低,而感染 PCV2b 的情况正好相反。综上所述,当受到异源毒株感染时,目前商品疫苗虽然也能引起对临床综合征的充分保护,并减少病毒复制,但是病毒感染和复制并不能被完全阻止,并且在不太理想的条件下(例如不准确的疫苗接种、免疫抑制、母源免疫下降、伴随感染等)免疫可能不太有效^[52]。

7 讨论和展望

目前,国际和国内上应用的 PCV2 商品疫苗在防治 PCVAD 方面临床效果较好,且对 PCV2 感染有效,但由于 PCV 的高度变异性和免疫逃逸等特点,目前尚未有一种完全有效的疫苗能够提供长期的保护。传统的灭活疫苗具有很强的免疫原性,制备过程简单,成本较低,但在大规模应用中,由于长时间的病毒培养周期,这些疫苗的产量通常无法满足需求并存在安全性较差的问题。新型纯净性较高、安全性较好的基因工程疫苗正在逐渐取代一些传统疫苗,但这些新型疫苗的免疫原性较弱,单独使用时无法引发有效的免疫反应^[55]。新上市的 PCV2 合成肽疫苗在技术层面上实现了突破性创新,为疫苗的标准化的、大规模产业化生产提供了可能,为规模化养殖企业带来了更多选择,有力保障了生猪产业的持续健康发展。然而,单独的基于肽的疫苗,即使包含最佳 B 细胞和 T 细胞表位,仍需佐剂和适当的递送系统才能更高效地发挥疫苗效果^[33, 56]。因此,目前需要开发能够应对疫苗应用范围扩大,并且能够适用于多种给药途径的多样化应用方法的新型免疫佐剂来进一步提高疫苗的免疫效果。

研究表明,当前的 PCV2 疫苗对于不同亚型的毒株具有保护作用,能够有效地预防临床症状的发展,减轻病毒血症并产生有效的体液和细胞免疫反应。然而,同样也有试验数据表明这些疫苗往往对同源攻击比异源攻击表现出更高的保护作用,并有部分流行病学调查分析和统计评估指出,观察到的 PCV2 基因型转变通常与地方流行毒株和使用疫苗的不同保护有

关^[57]。尽管无法得到确切的证实,但从个体试验数据到地区流行调查统计的一致结果均表明了特定基因型疫苗诱导免疫在推动 PCV2 变异过程中起到了一定作用,从长远来看可能对当前疫苗免疫效力产生不利影响。

随着分子生物学和基因工程技术的不断进步,研究者在基于现有研究成果的基础上积极探索如何改进、创新 PCV2 疫苗,比如改良免疫原设计、提高免疫效力、减少副反应等。研发出一种安全高效且生产成本低的 PCV2 基因工程疫苗,已成为疫苗研发的主流方向,相信随着相关研究的不断深入,一定能研制出理想的疫苗。

参考文献:

- [1] TISCHER I, GELDERBLUM H, VETTERMANN W, et al. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA [J]. *Nature*, 1982, 295 (5844): 64-66.
- [2] FRANZO G, SEGALES J. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (12): e0208585.
- [3] ALLAN G M, ELLIS J A. Porcine circoviruses: a review [J]. *J Vet Diagn Invest*, 2000, 12 (1): 3-14.
- [4] BAEKBO P, KRISTENSEN C S, LARSEN L E. Porcine circovirus diseases: a review of PMWS [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2012, 59 (Suppl 1): 60-67.
- [5] CORREA-FIZ F, FRANZO G, LLORENS A, et al. Porcine circovirus 2 (PCV2) population study in experimentally infected pigs developing PCV2-systemic disease or a subclinical infection [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 17747.
- [6] CHAE C. Commercial porcine circovirus type 2 vaccines: efficacy and clinical application [J]. *Vet J*, 2012, 194 (2): 151-157.
- [7] YANG X, CHEN F, CAO Y, et al. Comparative analysis of different methods to enhance porcine circovirus 2 replication [J]. *J Virol Methods*, 2013, 187 (2): 368-371.
- [8] FORT M, SIBILA M, ALLEPUZ A, et al. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and geographic origins [J]. *Vaccine*, 2008, 26 (8): 1063-1071.
- [9] OPRIESSNIG T, XIAO C T, HALBUR P G, et al. A commercial porcine circovirus (PCV) type 2a-based vaccine reduces PCV2d viremia and shedding and prevents PCV2d transmission to naive pigs under experimental conditions [J]. *Vaccine*, 2017, 35 (2): 248-254.
- [10] OPRIESSNIG T, RAMAMOORTHY S, MADSON D M, et al. Differences in virulence among porcine circovirus type 2 isolates are unrelated to cluster type 2a or 2b and prior infection provides heterologous protection [J]. *J Gen Virol*, 2008, 89 (Pt 10): 2482-2491.
- [11] CASPARI K, HENNING H, SCHREIBER F, et al. Impact of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on boar semen quality and quantity using two different vaccines [J]. *Theriogenology*,

- 2014, 82 (4): 574-579.
- [12] 董信田, 李玉峰, 姜平, 等. 猪圆环病毒 2 型灭活疫苗的制备与免疫效力研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2008 (5): 639-644.
- [13] 徐敏, 汪孟航. PCV2d 已成为猪圆环病毒 2 型的优势流行基因型 [J]. 畜禽业, 2020, 31 (10): 4-5.
- [14] FENAUX M, OPRIESSNIG T, HALBUR P G, et al. Two amino acid mutations in the capsid protein of type 2 porcine circovirus (PCV2) enhanced PCV2 replication *in vitro* and attenuated the virus *in vivo* [J]. J Virol, 2004, 78 (24): 13440-13446.
- [15] NAWAGITGUL P, HARMS P A, MOROZOV I, et al. Modified indirect porcine circovirus (PCV) type 2-based and recombinant capsid protein (ORF2) -based enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to PCV [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2002, 9 (1): 33-40.
- [16] NAWAGITGUL P, MOROZOV I, BOLIN S R, et al. Open reading frame 2 of porcine circovirus type 2 encodes a major capsid protein [J]. J Gen Virol, 2000, 81 (Pt 9): 2281-2287.
- [17] BEACH N M, MENG X J. Efficacy and future prospects of commercially available and experimental vaccines against porcine circovirus type 2 (PCV2) [J]. Virus Res, 2012, 164 (1/2): 33-42.
- [18] SEO H W, HAN K, PARK C, et al. Clinical, virological, immunological and pathological evaluation of four porcine circovirus type 2 vaccines [J]. Vet J, 2014, 200 (1): 65-70.
- [19] 王琳琳, 方向红, 夏坤, 等. 猪圆环病毒 2 型亚单位疫苗的研制及其 ELISA 抗体评价 [J]. 特产研究, 2022, 44 (05): 29-32.
- [20] XI X, MO X, XIAO Y, et al. Production of *Escherichia coli*-based virus-like particle vaccine against porcine circovirus type 2 challenge in piglets: Structure characterization and protective efficacy validation [J]. J Biotechnol, 2016, 223: 8-12.
- [21] 金宇一. 新型疫苗研究进展 [C]. 中国科协 2001 年学术年会. 长春, 2001.
- [22] 欧阳海平, 潘永飞, 宋延华. 猪圆环病毒 2 型疫苗研究进展 [J]. 动物医学进展, 2020, 41 (1): 98-103.
- [23] 荣芮, 李婷婷, 张玉云, 等. 昆虫杆状病毒表达载体系统在疫苗研究中的应用进展 [J]. 生物工程学报, 2019, 35 (4): 577-588.
- [24] HE Q, CAO Z, WANG P, et al. Efficient application of a baculovirus-silkworm larvae expression system for obtaining porcine circovirus type 2 virus-like particles for a vaccine [J]. Arch Virol, 2020, 165 (10): 2301-2309.
- [25] XU X G, WANG Z S, ZHANG Q, et al. Baculovirus as a PRRSV and PCV2 bivalent vaccine vector: baculovirus virions displaying simultaneously GP5 glycoprotein of PRRSV and capsid protein of PCV2 [J]. J Virol Methods, 2012, 179 (2): 359-366.
- [26] 张倩, 胡倩倩, 王富珍, 等. 腺病毒载体疫苗研发进展 [J]. 中国疫苗和免疫, 2020, 26 (4): 484-492.
- [27] LI D, DU Q, WU B, et al. Immunogenicity of adenovirus vaccines expressing the PCV2 capsid protein in pigs [J]. Vaccine, 2017, 35 (36): 4722-4729.
- [28] LI D, XU D, WANG Z, et al. Immunogenicity evaluation of modified adenovirus vaccines expressing porcine circovirus type 2 capsid protein in pigs [J]. Viral Immunol, 2017, 30 (2): 111-119.
- [29] 张倩, 胡倩倩, 王富珍, 等. 腺病毒载体疫苗研发进展 [J]. 中国疫苗和免疫, 2020, 26 (4): 484-492.
- [30] 邹伟斌, 陈丹, 谢少霞, 等. 基因工程活载体疫苗的研究进展 [J]. 广东畜牧兽医科技, 2016, 41 (4): 1-5.
- [31] ZHENG L L, GUO X Q, ZHU Q L, et al. Construction and immunogenicity of a recombinant pseudorabies virus co-expressing porcine circovirus type 2 capsid protein and interleukin 18 [J]. Virus Res, 2015, 201: 8-15.
- [32] SKWARCZYNSKI M, TOTH I. Peptide-based synthetic vaccines [J]. Chem Sci, 2016, 7 (2): 842-854.
- [33] JEONG J, PARK C, KIM S, et al. Evaluation of the efficacy of a novel porcine circovirus type 2 synthetic peptide vaccine [J]. Can J Vet Res, 2018, 82 (2): 146-153.
- [34] 南京农业大学利用合成肽技术成功研制猪圆环病毒病疫苗 [J]. 猪业观察, 2021 (4): 7.
- [35] MELO A R D S, DE MACÊDO L S, INVENÇÃO M D C V, et al. Third-generation vaccines: features of nucleic acid vaccines and strategies to improve their efficiency [J]. Genes (Basel), 2022, 13 (12): 2287.
- [36] SYLLA S, CONG Y L, SUN Y X, et al. Protective immunity conferred by porcine circovirus 2 ORF2-based DNA vaccine in mice [J]. Microbiol Immunol, 2014, 58 (7): 398-408.
- [37] 庄敏, 李迪. 病毒嵌合疫苗的研究进展 [J]. 国外医学 (免疫学分册), 2004 (3): 137-141.
- [38] LYOO K, JOO H, CALDWELL B, et al. Comparative efficacy of three commercial PCV2 vaccines in conventionally reared pigs [J]. Vet J, 2011, 189 (1): 58-62.
- [39] OPRIESSNIG T, PATTERSON A R, ELSENER J, et al. Influence of maternal antibodies on efficacy of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination to protect pigs from experimental infection with PCV2 [J]. Clin Vaccine Immunol, 2008, 15 (3): 397-401.
- [40] 杨晓明. 联合接种和联合疫苗研究进展 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41 (1): 120-126.
- [41] 陈昌海, 连拯民, 王相子, 等. 猪瘟病毒-猪圆环病毒 2 型疫苗联合免疫效果的评价 [J]. 畜牧与兽医, 2022, 54 (2): 119-123.
- [42] 张召, 马红伟, 魏烨, 等. 猪瘟活疫苗、猪圆环病毒 2 型基因工程疫苗和猪肺炎支原体灭活疫苗三种疫苗联合免疫效果的评估 [J]. 现代牧业, 2021, 5 (1): 40-43.
- [43] RADMEHRI M, TALEBI A, AMEGHI R A, et al. Comparative study on the efficacy of MF 59, ISA70 VG, and nano-aluminum hydroxide adjuvants, alone and with nano-selenium on humoral immunity induced by a bivalent newcastle + avian influenza vaccine in chickens [J]. Arch Razi Inst, 2021, 76 (5): 1213-1220.
- [44] GUO J, HOU L, ZHOU J, et al. Porcine circovirus type 2 vaccines: commercial application and research advances [J]. Viruses, 2022, 14 (9): 2005.
- [45] 赵本进, 何锡忠, 林鸯, 等. 猪圆环病毒 2 型灭活疫苗佐剂选择 [J]. 国外畜牧学 (猪与禽), 2023, 43 (4): 56-61.
- [46] 孙莹慧, 赵玉惠, 夏叶, 等. 猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗的佐剂筛选 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2023 (2): 10-13.
- [47] 刘新月, 栗利芳, 王振豹, 等. 猪圆环病毒 2 型合成肽疫苗佐剂筛选与免疫保护性研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50 (3): 1068-1080.
- [48] LI L, PETROVSKY N. Molecular adjuvants for DNA vaccines [J]. Curr Issues Mol Biol, 2017, 22: 17-40.
- [49] FU F, LANG Y, LI X, et al. Evaluation of the enhancing ability of

three adjuvants for DNA vaccination using the porcine circovirus type 2 ORF2 (capsid) gene in mice [J]. *Virus Res*, 2013, 171 (1): 247-251.

[50] JEONG J, PARK C, CHOI K, et al. Comparison of three commercial one-dose porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines in a herd with concurrent circulation of PCV2b and mutant PCV2b [J]. *Vet Microbiol*, 2015, 177 (1/2): 43-52.

[51] 黄亚平, 陈铠. 两种 PCV2 疫苗免疫方案对田间感染 PCV2d 保护效力的比较 [J]. *猪业科学*, 2017, 34 (5): 32-33.

[52] LI J, YU T, ZHANG F, et al. Inactivated chimeric porcine circovirus (PCV) 1-2 vaccines based on genotypes 2b and 2d exhibit similar immunological effectiveness in protecting pigs against challenge with PCV2b strain 0233 [J]. *Arch Virol*, 2017, 162 (1): 235-246.

[53] KANG S J, KANG H, YOU S H, et al. Genetic diversity and different cross-neutralization capability of porcine circovirus type 2 isolates recently circulating in South Korea [J]. *BMC Vet Res*, 2020, 16 (1): 334.

[54] REINER G, HOFMEISTER R, WILLEMS H. Genetic variability of porcine circovirus 2 (PCV2) field isolates from vaccinated and non-vaccinated pig herds in Germany [J]. *Vet Microbiol*, 2015, 180 (1/2): 41-48.

[55] MCKEE A S, MACLEOD M K, KAPPLER J W, et al. Immune mechanisms of protection: can adjuvants rise to the challenge? [J]. *BMC Biol*, 2010, 8: 37.

[56] 陈善真, 赵焱, 李中圣, 等. 含有 Th 细胞表位的合成 PCV2 ORF2 Cap 多肽抗原的表达及免疫原性分析 [J]. *畜牧兽医学报*, 2015, 46 (12): 2273-2281.

[57] SHEN H G, HALBUR P G, OPRIESSNIG T. Prevalence and phylogenetic analysis of the current porcine circovirus 2 genotypes after implementation of widespread vaccination programmes in the USA [J]. *J Gen Virol*, 2012, 93 (Pt 6): 1345-1355.

• 信息 •

21 种畜牧、兽医科学类中国科技核心期刊中《畜牧与兽医》综合评价总分排名第 10

《2023 年版中国科技期刊引证报告（核心版）自然科学卷》以《中国科技论文与引文数据库》（CSTPCD）为基础，采用科学客观的研究方法与评价方式，遴选中国自然科学领域各学科分类重要期刊作为统计来源期刊。2023 年版引证报告共收录了中国（不含港澳台）正式出版的 1 996 种中文期刊和 155 种英文期刊，其中畜牧、兽医科学类期刊共收录 21 种，包括 19 本中文期刊和 2 本英文期刊，《畜牧与兽医》综合评价总分排名第 10。21 种期刊主要指标详见附表。

附表 2023 年畜牧、兽医科学类期刊主要指标

序号	刊名	核心总被引频次			核心影响因子			综合评价总分		学科扩散指标	学科影响指标	红点指标
		数值	排名	离均差率	数值	排名	离均差率	数值	排名			
1	ANIMAL NUTRITION	591	19	-0.66	1.160	4	0.29	43.6	6	4.95	0.76	0.00
2	JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY	958	14	-0.45	1.451	2	0.61	48.3	2	6.67	0.86	0.00
3	蚕业科学	618	18	-0.64	0.475	20	-0.47	30.5	15	7.48	0.29	0.14
4	动物医学进展	1 540	9	-0.11	0.644	16	-0.29	41.7	7	16.24	0.86	0.58
5	动物营养学报	7 147	1	3.12	2.100	1	1.33	77.6	1	15.00	1.00	0.80
6	家畜生态学报	1 253	11	-0.28	0.827	12	-0.08	39.3	9	8.48	0.95	0.47
7	经济动物学报	259	21	-0.85	0.583	18	-0.35	29.7	16	4.14	0.67	0.48
8	粮食与饲料工业	823	15	-0.53	0.633	17	-0.30	28.8	19	7.48	0.67	0.22
9	饲料工业	2 088	6	0.20	0.885	9	-0.02	41.0	8	10.33	0.90	0.74
10	饲料研究	2 872	4	0.66	1.169	3	0.30	29.1	17	10.14	0.90	0.70
11	畜牧兽医学报	2 391	5	0.38	1.041	7	0.15	44.6	5	11.90	0.95	0.58
12	畜牧与兽医	1 487	10	-0.14	0.699	15	-0.22	38.7	10	10.24	0.90	0.60
13	畜牧与饲料科学	741	16	-0.57	0.502	19	-0.44	32.8	13	8.52	0.86	0.48
14	中国动物传染病学报	654	17	-0.62	1.071	5	0.19	28.3	20	5.76	0.76	0.55
15	中国家禽	1 877	8	0.08	0.866	10	-0.04	33.9	12	7.71	0.86	0.58
16	中国兽药杂志	524	20	-0.70	0.418	21	-0.54	24.3	21	8.33	0.81	0.30
17	中国兽医科学	1 007	13	-0.42	0.786	13	-0.13	31.3	14	7.00	0.90	0.54
18	中国兽医学报	1 924	7	0.11	0.832	11	-0.08	38.1	11	11.24	0.86	0.56
19	中国畜牧兽医	3 203	3	0.85	0.984	8	0.09	46.9	3	14.86	0.95	0.60
20	中国畜牧杂志	3 301	2	0.91	1.052	6	0.17	45.5	4	13.33	0.95	0.65
21	中国预防兽医学报	1 171	12	-0.32	0.755	14	-0.16	28.9	18	6.43	0.81	0.48
21 种期刊平均值		1 735			0.902							

注：数据来自中国科学技术信息研究所《2023 年版中国科技期刊引证报告（核心版）自然科学卷》。