维普资讯 http://www.cqvip.com

20-24

第8卷第1期
1993年3月

中国病毒学
VIROLOGICA SINICA

Vol.8 No.1
Mar.1993

流行性乙型脑炎减毒活疫苗（SA_{14}-14-2）对免疫抑制剂处理小白鼠的致病性和免疫原性

贾丽丽　郑　铮　俞永新

（中国药品生物制品检定所，北京 100050）

(4)

R512.32
R373.31

提　要

免疫抑制剂环磷酰胺处理的12—14克三周龄小白鼠免疫功能抑制后，皮下注射乙脑SA_{14}-14-2减毒活疫苗，未见小鼠出现特异性死亡。同时发现对活疫苗和死疫苗的免疫反应明显不同，处理后小鼠对活苗免疫仍有较好的免疫力，保护率为56%（三次抑制）和80%（二次抑制）；而死疫苗免疫力明显下降，未抑制组为100%，抑制后降到10～20%。若小白鼠经乙脑活苗、死苗免疫后四周已建立免疫力后，再用环磷酰胺处理，并用强毒株P_3攻毒，则对免疫反应影响不明显，两种疫苗均表现有较好的保护作用。

关键词：乙脑　减毒活疫苗　免疫抑制剂　致病性　免疫原性

乙脑减毒株SA_{14}-14-2及其疫苗对12～14克三周龄小白鼠脑内和皮下或腹腔注射均不引起死亡[1,2]。对T淋巴细胞免疫功能缺陷型裸鼠，腹腔或皮下注射也无致病性[3]。本文为了进一步了解14-2活疫苗对免疫抑制机体的安全性和免疫抑制小鼠对乙脑活疫苗和灭活疫苗的免疫反应性，用环磷酰胺处理小鼠，抑制免疫功能后进行试验，现将结果报道如下。

材料与方法

一、疫苗：乙脑减毒活疫苗系用SA_{14}-14-2株生产，病毒滴度为6.5 $logTCID_{50}$/0.5ml或5.4 log pfu/0.5ml（成都生物制品研究所）；乙脑灭活疫苗系用P_3株生产，效价（ID_{50}）为0.00006ml（武汉生物制品研究所）。

二、病毒：乙脑强毒株P_3作为攻击毒。

三、动物：昆明系小白鼠。

四、免疫抑制剂：环磷酰胺（注射用），上海第十二制药厂生产。注射时用0.9%NaCl盐水稀释，按每次1.5mg/10g体重，皮下注射。

结　果

一、乙脑弱毒株对免疫抑制小白鼠致病力的影响

本文于1991年12月9日收到，1992年6月13日修回。

维普资讯 http://www.cqvip.com

用12～14克健康昆明系小鼠，每只鼠每次1.5mg/10g体重，皮下注射环磷酰胺，隔日一次，共二次或三次，第一次注射环磷酰胺后的第二天皮下注射SA_{14}-14-2活疫苗0.1ml，观察小鼠存活情况14天，结果见表1。

表1. 乙脑SA_{14}-14-2活疫苗对免疫抑制小鼠的致病性

Table 1. Pathogenicity of SA_{14}-14-2 live vaccine for cytoxan-treated mice

试验次号 No. of test	试验组 Test groups 环磷酰胺+活疫苗 Cytoxan+live vaccine	对照组 Control groups 单注射环磷酰胺 Cytoxan treated only	单注射活疫苗 Live vaccine only
1	0/15*	0/15*	0/15
2	5/15**	5/15**	0/15
3	9/20**	8/20**	0/20

注1. 环磷酰胺注射剂量和次数 Dose and No. of cytoxan

* 1.5mg/10g×2；** 1.5mg/10g×3

2. 死亡鼠数/实验鼠数 No. of died mice/No. of tested mice

结果表明环磷酰胺二次处理（1.5m /10g×2），再注射活苗组和只注射活苗组，均无小鼠特异发病死亡。环磷酰胺三次处理（1.5mg/10g×3）后再注射活苗组和只注射环磷酰胺组均有部分小鼠死亡。为证实其是否因乙脑病毒引起的死亡，在第二次试验中把所有死亡小鼠分别取脑，做空斑试验，检查活毒，结果均为阴性，表明死亡小鼠为环磷酰胺引起的非特异性死亡。

二、环磷酰胺处理的小鼠对接种乙脑减毒活疫苗和灭活疫苗的免疫反应比较

用免疫抑制剂环磷酰胺处理成年昆明系小鼠，1.5mg/10g体重，隔日皮下注射二或三次。首次抑制后第三天注射乙脑活疫苗0.1ml，皮下一次，灭活疫苗0.1ml，皮下二次，间隔一周。第一次免疫后的第14天以3.16 $\log LD_{50}$ P_3株攻击，腹腔0.3ml，同时脑内注射2%小牛血清Hanks液，观察21天，结果见表2。

表2. 乙脑活疫苗和死疫苗对免疫抑制小鼠的免疫保护效果

Table 2. The protective effect of JE live and killed vaccines in cytoxan-treated mice

疫苗 Vaccines	处理次数 No. of Treatment	死亡数 Mortality	攻击后结果 Results of challenging 保护率(%) Protective rate	保护率差 Difference of rate
活苗 Live vaccine	2	2/10	80	10
	—	1/10	90	
	3	3/7	56	31.5
	—	1/8	87.5	
灭活苗 Killed vaccine	2	9/10	10	90
	—	0/10	100	
	3	4/5	20	80
	—	0/10	100	
攻击毒对照 Unvaccinated control	2	10/12	16.6	—
	—	9/10	10	
	3	8/9	11.1	—
	—	9/10	10	

维普资讯 http://www.cqvip.com

从表2结果可见，小鼠免疫功能被不同程度抑制后，对乙脑活疫苗和灭活疫苗的免疫反应的影响有明显不同。灭活疫苗免疫，无论二次或三次免疫抑制，保护率明显降低，未抑制组与抑制组小鼠存活率差值为80～90%；而对活疫苗免疫，二次抑制对保护率基本无影响，三次抑制后虽有一定影响，但仍有56%的保护作用，未抑制组与抑制组存活率差值仅为10～31.5%。

三、乙脑活疫苗和灭活疫苗免疫后免疫抑制剂对保护效果的影响

小鼠经乙脑活疫苗（1—2次）和灭活疫苗（2—3次）免疫后四周，再用环磷酰胺处理三次，隔日一次，第一次免疫抑制后的第3天用P_3株腹腔攻毒，剂量为3.17log LD_{50}，观察动物保护效果（见表3）。

表3. 乙脑活疫苗和灭疫苗免疫后小鼠经环磷酰胺处理的保护效果

Table 3. The protective effect of live and killed vaccines after the vaccined mice was treated by cytoxan

疫苗 Vaccine	免疫次数 No. of Vaccination	处理次数 No. of Treatment	攻击后结果 Results of challenging	
			死亡数 Mortality	保护率 Protective rate %
活苗	1	2	1/7	85.71
		—	0/8	100.00
Live vaccine		3	1/15	93.33
		—	0/10	100.00
	2	2	0/8	100.00
		—	0/8	100.00
灭活苗	2	2	2/7	71.12
		—	0/8	100.00
Killed vaccine		3	2/13	84.62
		—	1/10	90.00
	3	2	0/8	100.00
		—	0/8	100.00
攻击病毒对照		2	9/10	—
	—	—	9/10	—
Unvaccinated control		3	12/12	—
		—	9/10	--

表3结果说明活疫苗免疫1—2次、灭活疫苗免疫2—3次后4周，再用免疫抑制剂处理小鼠对疫苗的保护效果均无明显影响。

讨 论

本实验以免疫抑制剂环磷酰胺处理小鼠，抑制其免疫功能后，再皮下接种乙脑活疫

维普资讯 http://www.cqvip.com

苗观察对小鼠的致病性。结果除个别因环磷酰胺作用引起的非特异性死亡以外，未发现病毒引起的小鼠死亡。这一结果与以往报道的乙脑14-2株对T淋巴细胞免疫功能缺陷的裸鼠腹腔或皮下感染后无致病性[3]的结果一致，进一步说明乙脑14-2减毒活疫苗的安全性。

环磷酰胺处理小鼠，抑制其免疫功能后，用活疫苗和灭活疫苗经皮下注射免疫，结果发现处理后小鼠对活疫苗免疫仍有较好免疫力，保护率为56%（三次抑制）和80%（二次抑制）；而灭活疫苗免疫后，保护率明显下降，未抑制组为100%，抑制组降为10—20%。这一现象与Price等报道用环磷酰胺和Langat减毒株所做的实验结果类似[4]。

以上结果表明我们所用的国产环磷酰胺亦具有免疫抑制作用。据报道小剂量环磷酰胺有抑制体液免疫的作用，而大剂量应用则可破坏体液和细胞两种免疫系统。环磷酰胺对活疫苗免疫作用的破坏明显低于灭活疫苗的免疫，可能由于体液免疫破坏后，细胞免疫仍起作用。而灭活疫苗的细胞免疫作用较差，因此不能产生免疫保护作用。

小鼠经两种疫苗免疫后四周，待其免疫力已建立后再进行环磷酰胺抑制处理和感染攻击，结果两种疫苗均表现有较好的保护作用，未见活疫苗与灭活疫苗间的差别。这一现象与陈伯权等报道的结果不一致[5]。可能与所用灭活疫苗质量或环磷酰胺不同有关，后者是用进口的，详情有待进一步研究。

本结果也进一步表明乙脑的活疫苗和灭活疫苗免疫的机理不完全相同。活疫苗可能更全面，包括体液免疫和细胞免疫[4,6]，因此当免疫功能受到部分抑制后，容易得到补偿，受影响较小。有关这两种疫苗的免疫机理还有待进一步深入研究。

参 考 文 献

〔1〕 俞永新等，1981，中华微生物学和免疫学杂志，1(2)：77。
〔2〕 王寿贵等，1990，病毒学报，6(1)：36。
〔3〕 俞永新等，1985，病毒学报，1(3)：203。
〔4〕 Price, W.H. et al, 1969, *Nature*, 222：1294.
〔5〕 Chen Boquian, 1987, JE d HFRS Bulletin, (2)：39.
〔6〕 张永和等，1982，中华微生物学和免疫学杂志，2(4)：214。

维普资讯 http://www.cqvip.com

Pathogenicity and Immunogenicity of Attenuated Japanese Encephalitis Vaccine (SA_{14}-14-2) in Immune-Inhibited Mice

Jia Lili Zheng Zheng Yu Yongxin

(National Institute for Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050)

In this study, three-week-old mice, 12—14g, were treated by cytoxan three times. They were then injected subcutaneously with SA_{14}-14-2 live vaccine, no mouse was killed by the attenuated virus.

When the immune-inhibited mice were immunized with the attenuated live vaccine and the inactivated JE vaccine, they exhibited different immune responses to the both vaccines. Those immunized with the attenuated live virus showed better protective effect (protective rate 56—80%) against JE virulent virus challenging than those immunized with the killed vaccine (protective rate 10—20%). However the uninhibited control mice showed no different protection by the immunization with the both vaccines.

When the cytoxan treatment was carried out after the immunity with vaccines was established for four weeks, both groups of mice immunized with either the live or the killed vaccine still exhibited a good protection against JE virulent virus challenging. No difference between the immunizations with live or killed vaccines was found.

Key words: Japanese encephalitis Attenuated live vaccine Immune-inhibited Pathogenicity Immunogenicity