doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.03.10

猫泛白细胞减少症疫苗的研究进展

冯二凯, 罗国良, 易立, 陈强, 王振军, 陈立志, 程世鹏, 程悦宁*

(中国农业科学院特产研究所, 长春 13012)

[收稿日期] 2021-10-10 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2022) 03-0075-06 [中图分类号] S859.797

[摘要] 猫泛白细胞减少症是一种由猫泛白细胞减少症病毒引起的, 猫科动物常见的接触性传染病, 临床发病率和死亡率均较高, 疫苗免疫接种是预防和控制该病最经济、最直接的措施。然而, 国内几无商业化宠物疫苗, 特别是猫用疫苗, 国外疫苗进口困难, 亟需开发新型宠物用高效疫苗。对国内外猫泛白细胞减少症疫苗现状及不同类型疫苗(灭活疫苗、减毒活疫苗等)的优缺点进行了综述与分析, 以期为我国猫泛白细胞减少症疫苗的研发提供参考。

[关键词] 猫泛白细胞减少症; 疫苗; 研究进展

Progress on Feline Panleukopenia Vaccine

FENG Er-kai, LUO guo-liang, YI Li, CHEN Qiang, WANG Zhen-jun,
CHEN Li-zhi, CHENG Shi-peng, CHENG Yue-ning*

(Institution of Specific Animal and Plant Science of Chinese Academic Science, Changchun 130112, China)

Corresponding author: CHENG Yue-ning, E-mail: 89331641@qq.com

Abstract: Feline panleukopenia, caused by feline panleukopenia virus (FPV), is a highly contagious infectious disease that characterized by leucopenia and hemorrhagic gastroenteritis, which severely affects the health of cat or large wild Felidae. Vaccine immunization is the most economical and direct measurement to prevent and control the disease. However, there is almost no commercialized pet vaccine in domestic, especially for cats, so a highly effective vaccines for pet use were urgent needed. In this paper, the research status, the pros and cons about FPV vaccine, either domestic or abroad, which including inactivated vaccine, attenuated live vaccine and live vector vaccine were summarized, so as to provide some useful reference for subsequent study of vaccine against FPV.

Key words: feline panleukopenia; vaccine; research progress

基金项目: 吉林省科技发展计划(20210202099 NC); 吉林省科技发展计划(20200402036 NC)

作者简介: 冯二凯, 博士研究生, 从事毛皮动物、宠物疫苗与诊断制剂开发。

通讯作者: 程悦宁。E-mail: 89331641@qq.com

猫泛白细胞减少症(Feline panleukopenia)又称猫传染性肠炎、猫瘟热或猫运动失调症,是一种由猫泛白细胞减少症病毒(Feline panleukopenia virus, FPV)感染引起的,以突发双相高热、呕吐、腹泻、脱水、白细胞严重减少、出血性肠炎为特征的急性、高度接触性传染病^[1]。本病在猫科动物中传播历史悠久,最早的文献报道可以追溯到1920s - 1930s^[2]。感染宿主不仅包括家养猫、犬^[3-4]、水貂^[5]、还包括野生动物,特别是一些珍稀野生动物如狮子^[6-7]、猴子^[8]、虎^[9]、豹^[10-11]等。该病不仅影响我国蓬勃发展的宠物行业的健康、稳定发展;而且严重威胁我国野生动物,特别是一些珍稀野生动物的资源保护,因而倍受关注。

在众多疫病防控策略中,疫苗免疫接种是预防和控制疾病发生、传播和流行最为重要、也最为经济的措施。而当前我国猫用药品、疫苗及诊断制剂主要依赖进口,特别是猫用疫苗,进口率100%。近年来,伴随着国内宠物市场的快速发展,宠物疫苗市场需求量显著增多;另一方面,由于受到新冠病毒疫情的影响,进口疫苗整体紧张,很多城市都出现疫苗荒,很多宠物主一苗难求。因此研制拥有自主知识产权的国产疫苗及诊断制剂迫在眉睫。本文对国内外关于猫泛白细胞减少症疫苗研究现状以及不同疫苗类型(灭活疫苗、活疫苗、基因工程疫苗等)的优缺点进行了综述与分析,为我国猫泛白细

胞减少症疫苗的研发提供参考。

1 传统疫苗

1.1 灭活疫苗 灭活疫苗是指通过加热或甲醛处理等物理或化学手段使病原丧失感染能力和毒力而只保持其免疫原性,并结合相应的免疫佐剂制备而成。灭活疫苗制备工艺简单、制备价格低廉等优势,成为许多疫病疫苗开发的首选。国外关于猫泛白细胞减少症灭活疫苗研究起步较早,20世纪50年代就有关于灭活疫苗的研究报道^[12]。早期灭活疫苗成分是患病动物的组织提取物^[13];伴随着技术的不断进步,灭活疫苗成分变成了病毒细胞培养物^[13-14]或者是减毒毒株细胞培养物^[15-17]。

因为灭活疫苗只能诱导机体产生体液免疫,而无细胞免疫应答反应,故需要多次免疫动物才能诱导动物产生免疫保护。单一病毒的灭活疫苗这对于犬、猫类宠物来说并非理想选择;但是因为灭活疫苗安全性高,无毒力返强风险等特点,是怀孕母畜及患病动物预防接种的不二之选。

多联灭活疫苗才是宠物疫苗开发的一个重要方向。据美国 USDA 公布数据,美国目前无猫泛白细胞减少症病毒灭活疫苗(单苗)注册销售;但批准在售的、含猫泛白细胞减少症病毒联苗(灭活疫苗)多达9种,种类包括三联苗3种、四联苗4种、和五联苗2种,具体见表1。

表1 国外含猫泛白细胞减少症病毒的灭活疫苗及其生产厂家

Tab 1 Inactivated vaccine containing feline panleukopenia virus and its manufacturers in USDA

序号	疫苗名称	类型	产品代码	生产企业
1	猫鼻气管炎 - 嵌杯病毒病 - 泛白细胞减少症疫苗	三联 灭活疫苗	16D5.20	勃林格殷格翰动物保健美国公司 美国礼蓝动保公司
			16D5.22	
			16D5.23	
2	猫鼻气管炎 - 嵌杯病毒病 - 泛白细胞减少症 - 衣原体疫苗	四联 灭活疫苗	16E5.20	勃林格殷格翰动物保健美国公司 美国礼蓝动保公司
3	猫白血病 - 鼻气管炎 - 嵌杯病毒病 - 泛白细胞减少症疫苗		15B5.21	
4	猫白血病 - 鼻气管炎 - 嵌杯病毒病 - 泛白细胞减少症 - 衣原体疫苗	五联 灭活疫苗	15B5.22	勃林格殷格翰动物保健美国公司 美国礼蓝动保公司
			1559.20	
			1559.23	

国内关于猫泛白细胞减少症疫苗研究起步较晚,仅有的研究也不是针对宠物用疫苗开发,而是针对野生保护动物老虎展开的^[18]。近年来,国内的宠物行业得到了快速发展,市场经济总量达到2000亿,

大大激发国内生物制品企业宠物用疫苗开发的热情,目前已有两家企业的猫用多联灭活疫苗(含猫泛白细胞减少症)获得临床批件(表2),未来将会陆续有多个猫用多联灭活疫苗获得临床实验许可。

表 2 国内含猫泛白细胞减少症多联灭活疫苗临床实验信息

Tab 2 Information of domestic feline multiple inactivated vaccine under clinical trial
National Veterinary Drug Basic Information Database

序号	疫苗名称	类型	申请单位	临床批件号
1	猫泛白细胞减少症、鼻气管炎、鼻结膜炎、狂犬病四联灭活疫苗(P12株+H13株+CC株+CVS-1株)	四联灭活疫苗	中国人民解放军军事医学科学院军事兽医研究所、辽宁益康生物股份有限公司、长春西诺生物科技有限公司、吉林嘉汇生物技术有限公司、武汉中博生物股份有限公司、吉林和元生物工程股份有限公司、浙江明月科技有限公司、哈尔滨元亨生物药业有限公司	2018017
2	猫鼻气管炎、猫鼻结膜炎、猫反白细胞减少症三联灭活疫苗(HB株+BJ株+ZJ株,冻干)	三联灭活疫苗	吉力生物科技有限公司、吉林正业生物制品股份有限公司、杭州动物药品厂、吉林吉力生物技术服务有限公司、吉力(浙江)检测服务有限公司	2021017

数据引自《国家兽药基础数据库》. 2021.09.30. <http://124.126.15.169:8081/cx/>

1.2 减毒疫苗 减毒活疫苗是指病原微生物经过各种处理后,其毒力单元结构发生改变,致病力减弱但仍然保持其免疫原性,进而利用此减毒株制备而成的疫苗。减毒疫苗优点是能在宿主体内复制、增殖,模拟病毒感染过程,不仅能够激发机体体液免疫应答,还能刺激机体产生细胞免疫应答,因此其具有使用剂量小、免疫周期长等优点,完美满足宠物、野生动物保护用疫苗的开发要求(接种对象要么属于体型较小动物,要么属于体型大且凶猛的动物,均不适宜多次、大剂量疫苗免疫)。

对于猫泛白细胞减少症减毒疫苗的开发,国外处于绝对领先地位。查阅文献发现,20世纪70年代初国外就有关于猫泛白细胞减少症减毒活疫苗的研究报道^[19],随后陆续出现多联减毒活疫苗的研究报道^[20-21]。国外减毒活疫苗的类型也多种多样,单苗(2种)、联苗(11种),具体信息如表3所示;国内迄今为止还未见有关于宠物用减毒活疫苗开发的研究报道以及疫苗注册信息。

基因重组是研发减毒活疫苗的另一途径,主要是通过现代分子生物学技术,对病原微生物的毒力

基因或结构进行改造从而实现病毒毒力减弱,并以此制备疫苗。然而,多年来关于猫泛白细胞减少症病毒基因重组研制减毒活疫苗的研究,无论是国内还是国外都鲜有报道。2019年国内军事兽医研究所的程楠等报道成功建立了虎源猫泛白细胞病毒HH-1/86株的感染性克隆^[22],这为开发弱毒猫泛白细胞减少症疫苗株奠定了坚实的基础。

2 基因工程疫苗

基因工程疫苗是指利用DNA重组技术,将病原的保护性抗原编码基因片段克隆定向插入细菌、酵母菌或哺乳动物细胞中,使之充分表达,经纯化后制得的疫苗。基因工程疫苗可分为重组亚单位疫苗,重组病毒载体疫苗、基因缺失或突变疫苗、核酸疫苗、合成肽疫苗以及转基因植物疫苗等几类,它们代表着疫苗研究的新途径。

2.1 重组抗原疫苗 猫泛白细胞减少症病毒属于典型的细小病毒,结构蛋白VP2是其主要衣壳蛋白,决定病原的抗原性、致病性以及宿主感染谱^[22]。因此VP2蛋白也就成为猫泛白细胞减少症病毒基因工程疫苗研究的靶标。

表 3 国外含猫泛白细胞减少症减毒活疫苗信息

Tab 3 Live attenuated vaccine containing feline panleukopenia virus and its manufacturers in USDA

序号	疫苗名称	类型	产品代码	生产企业
1	猫泛白细胞减少症疫苗	(单)活疫苗	1561.20	英特威公司 硕腾公司
			1561.23	钻石动物健康公司
			16D1.20	英特威公司 硕腾公司
2	猫鼻气管炎-嵌杯病毒病-泛白细胞减少症疫苗	三联活疫苗	16D1.21	勃林格殷格翰动物保健美国公司
				勃林格殷格翰动物保健美国公司
			16D1.22	英特威公司 美国礼蓝动保公司 钻石动物健康公司
			16D8.20	美国礼蓝动保公司
			16D8.21	勃林格殷格翰动物保健美国公司
			16E6.20	勃林格殷格翰动物保健美国公司 美国礼蓝动保公司
3	猫鼻气管炎-嵌杯病毒病-泛白细胞减少症-衣原体疫苗	四联活疫苗	16E1.20	默克动物健康公司 硕腾公司
			16E8.20	勃林格殷格翰动物保健美国公司
			16T9.20	勃林格殷格翰动物保健美国公司
4	猫鼻气管炎-嵌杯病毒病-泛白细胞减少症-狂犬病疫苗	四联活疫苗	16T9.R0	勃林格殷格翰动物保健美国公司
			1619.R1	勃林格殷格翰动物保健美国公司
5	猫鼻气管炎-嵌杯病毒病-泛白细胞减少症-衣原体-狂犬病疫苗	五联活疫苗	1619.R1	勃林格殷格翰动物保健美国公司

数据引自美国 USDA《Veterinary Biological Products》2020.04.01. <https://www.aphis.usda.gov/aphis/our-focus/animal-health/veterinary-biologics>

国内从 2008 年起,先后有李爽^[23]、于亚丽^[24]和田丽红^[25]等多位学者对猫泛白细胞病毒的 VP2 蛋白进行了原核表达研究,并证明其具有良好的抗原特性,为诊断抗原制备和亚单位疫苗制备奠定了基础。

近年来,病毒样颗粒疫苗研究成为了热点。已有文献报道成功构建猫泛白细胞减少症病毒样颗粒,并评价了其免疫效果^[26]。国外关于 VP2 蛋白原核或真核表达则鲜有报道。

2.2 重组病毒载体疫苗

猫泛白细胞重组病毒载体疫苗研究国外起步较早。Hu L 等在 1996 年^[27]和 1997 年^[28]分别报道了其借助痘病毒载体单独表达猫泛白细胞减少症病毒 VP2 蛋白,和共表达狂犬病毒糖蛋白和 VP2 蛋白的研究结果,表达产物能够诱导动物产生高水平中和抗体,并能够为强毒攻

击提供免疫保护。但迄今为止国外仍无猫泛白细胞减少症病毒载体疫苗问世。

国内关于猫泛白细胞重组病毒载体疫苗研究也相对较少。杨松涛等^[29]在 2007 年报道其利用犬腺病毒 2 型载体重组表达虎源猫泛白细胞减少症病毒 VP2 蛋白并取得不错的结果,两次免疫动物后中和抗体为 1:64 ~ 1:128,能够完全抵御强毒攻击,这提示我们可以开发泛白细胞减少症病毒的重组载体疫苗。

3 结语

在收入增长、人口老龄化、少子化等因素推动下,近年来国内宠物市场得到了快速扩张,带动了以宠物疫苗为代表的宠物医疗需求的大爆发。在背景下,国内各大生物制品企业纷纷转向宠物生物制品行业,加大对宠物生物制品开发投入。然而,

国内生物制品企业在布局宠物用生物制品过程中需要分析与借鉴国外宠物生物制品研发成功经验,找准自身优势,快速制定符合本企业发展的宠物生物制品研发方向,避免产品同质化研究,造成资源浪费。

本文简要地概述了不同类型生物制品(灭活疫苗、减毒活疫苗)的优缺点,并以猫泛白细胞减少症为例,收集了国外有关猫泛白细胞减少症常见商业化疫苗的类型数据,拟为开发出理想、高效宠物猫用疫苗奠定基础。理想的猫科动物用疫苗应具备免疫剂量小、免疫周期长,并且不添加佐剂等特点,因为疫苗的接种对象要么是犬、猫等小型动物,要么是老虎、狮子之类的大型珍稀野生动物,二者均不适合大剂量,多次免疫接种。不添加佐剂有利于减轻疫苗带来的严重副反应(接种部位溃烂、形成肉芽肿)。

综合目前国内宠物疫苗研发信息,发现绝大多数生物制品企业还是集中于多联灭活疫苗的开发,而对减毒活疫苗以及其他类型疫苗的关注不多,可能原因与灭活疫苗开发技术简单、研发周期短、研发投入较少有关,但是也很容易造成同质化研究,造成资源浪费。而且灭活的缺点也是显而易见的。近期,不少国内生物制品企业开始关注宠物病毒病毒样颗粒疫苗的研制,这将会是高效宠物用疫苗开发的一个重要方向。

参考文献:

[1] 陈博言. 兽医传染病学第五版[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 430-431.
Chen B Y. Veterinary infectious diseases Fifth Edition [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2006: 430-431.

[2] Truyen U, Parrish C R. Feline panleukopenia virus: its interesting evolution and current problems in immunoprophylaxis against a serious pathogen[J]. Vet Microbiol, 2013, 165(1/2): 29-32.

[3] Johnson R H, Spradbrow P B. Isolation from dogs with severe enteritis of a parvovirus related to feline panleucopaenia virus[J]. Australian Veterinary Journal, 1979, 55(3): 151-151.

[4] Hoang M, Wu C N, Lin C F, et al. Genetic characterization of feline panleukopenia virus from dogs in Vietnam reveals a unique

Thr101 mutation in VP2[J]. PeerJ, 2020, 8: e9752.

[5] Diao F F, Zhao Y F, Wang J L, et al. Molecular characterization of feline panleukopenia virus isolated from mink and its pathogenesis in mink[J]. Vet Microbiol, 2017, 205: 92-98.

[6] 乐正中, 虞天德, 龙耀中, 等. 非洲狮泛白细胞减少症的研究[J]. 贵州畜牧兽医, 1990(3): 7-8.
Yue Z Z, Yu T D, Long Y Z. et al. Study on panleukopenia in African lion[J]. Guizhou Animal Science and Veterinary Medicine, 1990, 3: 7-8.

[7] Mochizuki M, Hiragi H, Sueyoshi M, et al. Antigenic and genomic characteristics of parvovirus isolated from a lion (Panthera leo) that died of feline panleukopenia [J]. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 1996, 27(3): 416-420.

[8] Yang S T, Wang S J, Hao F, et al. Isolation and characterization of feline panleukopenia virus from a diarrheic monkey[J]. Vet Microbiol, 2010, 143(2-4): 155-159.

[9] 杨松涛, 王立刚, 戈锐, 等. 虎源猫泛白细胞减少症病毒的分鉴定[J]. 兽类学报, 2007, 27(2): 170-174.
Yang S T, Wang L G, Ge R, et al. Isolation and identification of Feline Panleukopenia virus in tiger[J]. Acta Theriologica Sinica, 2007, 27(2): 170-174.

[10] 高云英, 张永才, 任治斌, 等. 豹、猞猁疑似猫泛白细胞减少症的诊断[J]. 中国兽医科技, 1988, 4: 40-41.
Gao Y Y, Zhang Y C, Ren Z B, et al. Diagnosis of suspected feline panleukopenia in lynx and leopard [J]. Chinese Journal of Veterinary Science and Technology, 1988, 4: 40-41.

[11] 蔡家利, 张振兴, 蔡宝详, 等. 从云豹分离的一株猫泛白细胞减少症病毒的特性[J]. 病毒学报, 1988, 4(2): 176-177.
Cai J L, Zhang Z X, Cai B X. Properties of a feline panleukopenia virus isolated from a clouded leopard [J]. Chinese Journal of Virology, 1988, 4(2): 176-177.

[12] Wills G, Belcher J. The prevention of virus enteritis of mink with commercial feline panleukopenia vaccine [J]. J Am Vet Med Assoc, 1956, 128(11): 559-560.

[13] Povey R C. Feline panleukopenia - - which vaccine? [J]. J Small Anim Pract, 1973, 14(7): 399-406.

[14] Sampson G R, Counter F T, Schlegel B F, et al. Antibody response of cats vaccinated with an inactivated cell culture feline panleukopenia vaccine[J]. J Am Vet Med Assoc, 1972, 160(12): 1619-1621.

[15] Gorham J R, Hartsough G R, Burger D, et al. The preliminary use of attenuated feline panleukopenia virus to protect cats against panleukopenia and mink against virus enteritis[J]. Cornell Vet, 1965, 55(4): 559-566.

- [16] O'Reilly K J, Hitchcock L M. Further studies with a living attenuated vaccine against feline panleucopaenia [J]. *J Small Anim Pract*, 1974, 15(3): 157–163.
- [17] Pozza O, Giulioni A, Maccaferri V, *et al.* Control of an attenuated live vaccine against feline panleukopenia [J]. *Rivista di Zootecnia e Veterinaria*, 1980, 8(5): 354–362.
- [18] 于亚丽, 周明, 张进, 等. 虎源猫泛白细胞减少症病毒灭活疫苗的制备及初步应用 [J]. *微生物学报*, 2009, 49(5): 644–648.
- Yu Y L, Zhou M, Zhang J, *et al.* Preparation of the vaccine with inactivated Feline Panleukopenia Virus isolated from tiger and the preliminary application [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2009, 49(5): 644–648.
- [19] O'Reilly K J, Hitchcock L M. Persistence of antibody to feline panleucopaenia induced by a modified live virus vaccine [J]. *The Journal of Small Animal Practice*, 1976, 17(8): 549–550.
- [20] Lappin M R, Veir J, Hawley J, *et al.* Feline panleukopenia virus, feline herpesvirus – 1, and feline calicivirus antibody responses in seronegative specific pathogen – free cats after a single administration of two different modified live FVRCP vaccines [J]. *J Feline Med Surg*, 2009, 11(2): 159–162.
- [21] Lappin M R. Feline panleukopenia virus, feline herpesvirus – 1 and feline calicivirus antibody responses in seronegative specific pathogen – free kittens after parenteral administration of an inactivated FVRCP vaccine or a modified live FVRCP vaccine [J]. *J Feline Med Surg*, 2012, 14(2): 161–164.
- [22] Cheng N, Zhao Y, Han Q, *et al.*, Development of a reverse genetics system for a feline panleukopenia virus [J]. *Virus Genes*, 2019, 55(1): 95–103.
- [23] 李爽. 猫细小病毒分离鉴定与基因组序列分析及 VP2 基因的原核表达 [D]. 吉林大学, 2008.
- Li S. Isolation, identification and the genome cloning analysis of feline parvovirus and expression of VP2 gene in *E. coli* [D]. Jilin University, 2008.
- [24] 于亚丽, 华育平, 曾祥伟, 等. 虎源猫泛白细胞减少症病毒 VP1、VP2 和 NS1 基因的克隆与序列分析 [J]. *东北林业大学学报*, 2009, 37(1): 83–85.
- Yu Y L, Hua Y P, Zeng X W, *et al.* Cloning and sequence analysis of VP1, VP2, and NS1 genes of panleukopenia virus isolated from tiger [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2009, 37(01): 83–85.
- [25] 田丽红, 华育平. 虎源猫泛白细胞减少症病毒 VP2 基因的原核表达及其抗原特性 [J]. *中国兽医学报*, 2010, 30(5): 602–606.
- Tian L H, Hua Y P. Prokaryotic expression of feline panleukopenia virus (VP2) isolated from tiger and its antigenic characteristics [J]. *Chin J Vet Sci*, 2010, 30(5): 602–606.
- [26] Jiao C C, Zhang H L, Liu W, *et al.* Construction and immunogenicity of virus – like particles of feline parvovirus from the tiger [J]. *Viruses*, 2020, 12(3): 1–8.
- [27] Hu L B, Scott F W. Raccoon poxvirus feline panleukopenia virus VP2 recombinant protects cats against FPV challenge [J]. *Virology*, 1996, 218: 248–252.
- [28] Hu L B, Ngichabe C, Trimarchi C V, *et al.* Raccoon poxvirus live recombinant feline panleukopenia virus VP2 and rabies virus glycoprotein bivalent vaccine [J]. *Vaccine*, 1997, 15(12/13): 1466–1472.
- [29] Yang S T, Xia X Z, Qiao J, *et al.* Complete protection of cats against feline panleukopenia virus challenge by a recombinant canine adenovirus type 2 expressing VP2 from FPV [J]. *Vaccine*, 2008, 26(11): 1482–1487.

(编辑: 李文平)