

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.03.037

EB 病毒疫苗的研究进展*

邹军辉 万晓春 王 蒲[△]

(中国科学院深圳先进技术研究院 生物医药与技术研究所 广东 深圳 518055)

摘要:EB 病毒是一种感染最广泛的人类 γ 疱疹病毒,与传染性单核细胞增多症、鼻咽癌、Hodgkin's 淋巴瘤以及 Burkitt 淋巴瘤等发生密切相关。预防和治疗 EB 病毒相关疾病一直是研究的热点,预防性疫苗主要以病毒包膜糖蛋白 gp350 为靶点,刺激机体产生抗体以阻止病毒感染;已有多款疫苗进入临床试验,用于预防传染性单核细胞增多症和器官移植后淋巴增殖性紊乱等疾病,并取得良好的试验结果。治疗性疫苗则以病毒复制感染过程中表达的病毒核抗原(EBNAs)和潜伏膜蛋白(LMP1 和 LMP2)为免疫治疗靶点,刺激机体产生特异性细胞免疫应答,增强细胞毒性 T 细胞杀伤肿瘤作用。国内外均已有多款疫苗进入针对鼻咽癌等肿瘤免疫治疗的临床试验,试验结果表明疫苗兼具良好的安全性和免疫原性。本文还综述 EB 病毒疫苗研究的最新方法、策略和成果,并探讨其中可借鉴的技术和思路,为 EB 病毒疫苗的研究提供潜在可行的新途径。

关键词:EB 病毒;疫苗;预防;治疗

中图分类号:R392;R457.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-2673(2015)03-543-04

New Progress on Epstein-Barr Virus Vaccine Research*

ZOU Jun-hui, WAN Xiao-chun, WANG Pu[△]

(Institute of Biomedicine and Biotechnology, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen, Guangdong, 518055, China)

ABSTRACT: Epstein-Barr virus (EBV) is a human gamma herpes virus, infecting the most widespread of humans that has been linked to various lymphoid and epithelial cell malignancies, such as infectious mononucleosis (IM), nasopharyngeal carcinoma (NPC), Hodgkin's lymphoma and Burkitt lymphoma. Prevention and treatment of diseases related to EBV has been a hot research topic. The viral envelope glycoprotein gp350 that elicits neutralizing antibodies to prevent virus infection is a major target for preventive vaccine development. The clinical trials have demonstrated that IM and posttransplantation lymphoproliferative disorders (PTLD) could be effectively prevented by the vaccines. EBV nuclear antigens (EBNAs), latent membrane proteins 1 and 2 (LMP1 and LMP2) are immunotherapy targets that induce specific cellular immune response, enhance specific cytotoxic T lymphocyte responses and confer antitumor immunity. Immunotherapy vaccine trials for NPC have been performed in China and abroad and the results demonstrated that the vaccines have good safety and immunogenicity. In this paper, the newest merits of vaccines for EBV were summarized and the strategies and challenges for future EBV vaccine research and development were also discussed.

Key words: EBV; Vaccine; Prevention; Therapy

Chinese Library Classification (CLC): R392; R457.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-2673(2015)03-543-04

前言

19 世纪 50 年代,在疟疾流行区域,Burkitt 发现少数非洲儿童患有一种 B 细胞淋巴瘤(后被命名为 Burkitt 淋巴瘤);此后,在 1964 年,Epstein、Achong 和 Barr 在培养的 Burkitt 淋巴瘤细胞中观察到一种疱疹病毒^[1],即 EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)。随后,在多种疾病和肿瘤中均检测到 EB 病毒,如鼻咽癌、胃癌、Hodgkin's 淋巴瘤、传染性单核细胞增多症和获得性免疫缺陷综合征(AIDS)患者的口腔毛状白斑症等^[2,3]。世界卫生组织将 EB 病毒归为第一类致癌病毒,全球每年新增约 200,000 与 EB 病毒直接相关的肿瘤病例,其中在新增的 8200

例 Burkitt 肿瘤、930,000 例胃癌、62,000 例 Hodgkin 肿瘤和 80,000 例鼻咽癌中,与 EB 病毒相关的病例数目依次为 6700、84,000、28,000 和 78,000^[4,5]。EB 病毒在人群中感染非常普遍,全世界 95%左右的成年人被 EB 病毒感染^[6],大部分 EB 病毒感染发生在婴幼儿时期;但并不引起症状或只产生非特征性的症状,而是建立终生潜伏感染状态^[2,7]。EB 病毒作为一种致病病毒,由于其感染的广泛性和普遍性,全球相关领域科学家们一直致力于 EB 病毒疫苗的研发,以预防和治疗 EB 病毒感染所引起的各种疾病和肿瘤,通过将病毒蛋白以不同形式组合形成重组蛋白,极大地限度地阻断 EB 病毒感染和杀伤感染细胞,是 EB 病毒疫苗研究的发展方向,同时结合生物材料、纳米材料组

* 基金项目:深圳市知识创新计划基础研究项目(SY39410)

作者简介:邹军辉(1986-),男,硕士研究生,研究助理,病毒疫苗研究,E-mail: jh.zou@siat.ac.cn

[△] 通讯作者:王蒲, E-mail: pu.wang@siat.ac.cn

(收稿日期:2014-06-02 接受日期:2014-06-28)

装功能疫苗,也为 EB 病毒疫苗的研究注入新的活力;而 EB 病毒的感染具有强烈地种属特异性,只感染人类,导致缺乏有效地动物模型用于临床前评估疫苗预防和治疗效果,这也是目前 EB 病毒疫苗研究的难点。本文通过综述以 EB 病毒糖蛋白 gp350 为基础的多种预防性疫苗的临床试验结果和以病毒核抗原 EBNA_s、膜蛋白 LMP_s 为免疫治疗靶点疫苗的治疗效果,以及相应动物模型的构建和基础研究方面的成果,为研发新型的 EB 病毒疫苗提供潜在的解决方案。

1 EB 病毒

1.1 EB 病毒感染路径及致病性

EB 病毒是一种含 172 kb 基因组的人类 γ 疱疹病毒,其主要经体液接触途径进入人体;然后通过病毒包膜糖蛋白 gp350 与 B 淋巴细胞表面的 CD21 结合、以及糖蛋白 gp42 与人白细胞抗原结合而感染 B 淋巴细胞^[2,8],EB 病毒还能感染其它细胞,如上皮细胞,在某些情况下还能感染 T 淋巴细胞、自然杀伤细胞、平滑肌细胞和单核细胞等^[9]。EB 病毒感染人体后,刺激免疫系统,产生大量细胞因子,首先产生 γ -干扰素协同 NK 细胞抑制病毒感染的 B 淋巴细胞的复制,随后通过特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)杀伤被感染细胞。目前认为 T 细胞免疫应答对控制 EB 病毒感染起决定性作用,也为设计疫苗刺激机体 CTL 应答来治疗 EB 病毒相关疾病提供了依据。

EB 病毒感染早期一般无症状或产生非特征性症状,但感染青少年或年轻人后,可能导致单核细胞增多症;大概 1% 的 EB 病毒感染者会出现并发症,如脑炎、肝炎、溶血性贫血或血小板减小症。EB 病毒与多种肿瘤的发生发展密切相关,并具有地域性地特点,如鼻咽癌主要发生在我国南方地区,50 岁以上人群鼻咽癌发病率高达 50/100,000;EB 病毒相关的 Burkitt 淋巴瘤主要发生在位于赤道的非洲国家和新几内亚^[4,5]。

1.2 EB 病毒主要蛋白的研究

EB 病毒侵染细胞后,在复制感染过程中共表达 9 种蛋白,其中包括 6 种病毒核抗原(EBNA1, EBNA2, EBNA3a, EBNA3b, EBNA3c 和 EBNA-LP)以及三种潜伏膜蛋白(LMP1, LMP2A, LMP2B);还有两种 EBV 编码的核糖核酸(EBER1 和 EBER2)^[10]。EB 病毒的潜伏感染形式可分为潜伏 III 期、潜伏 II 期和潜伏 I 期,各个时期表达的蛋白有所不同,也分别与不同种类肿瘤的发生发展相关;潜伏 III 期表达:EBNA1, EBNA2, EBNA3, LMP1, LMP2, 与淋巴瘤的发生相关;潜伏 II 期表达:EBNA1, LMP1 和 LMP2, 与 Hodgkin's 淋巴瘤和非 Hodgkin's 淋巴瘤有关;潜伏 I 期表达:EBNA1, 与 Burkitt 淋巴瘤和胃癌密切相关。正由于各时期所表达蛋白不同和致瘤种类各异,因此,在研究特定肿瘤疫苗时,能够有更强地针对性,也可以将两种或多种蛋白整合,以提高疫苗治疗相关疾病和肿瘤的几率^[8,11]。

EBNA1 是 EB 病毒潜伏感染时表达的一种病毒核抗原,其能调节 EB 病毒的复制,增强病毒基因的转录;并能维持病毒基因组的稳定性,使病毒能以附加体的形式稳定存在于被感染的细胞内。EBNA1 包含多个 CD4 T 细胞的靶向表位,可由特异性 HLA II 类分子呈递给 T 细胞,从而使 EBNA1 成为治疗 EBV 相关疾病潜在的靶点。LMP1 是 EB 病毒潜伏蛋白中研究最透彻的,其表达可诱导 EB 病毒感染和初始 B 细胞活化等一系列变化。包含 HLA A2 限制性 LMP1 肽段的多肽疫苗,能

够有效诱发强的 CTL 应答,并在 HLA A2/Kb 小鼠体内逆转表达 LMP1 的肿瘤。LMP2 是一种具有促进生长活性的膜信号蛋白,包含 CD8 T 细胞靶向表位,由 HLA I 类分子呈递给 T 细胞。在多数 EB 病毒相关恶性疾病中,均表达 EBNA1、LMP1 和 LMP2,甚至只表达这三种蛋白,而且这三种蛋白都可诱导机体产生 CTL 反应;在治疗性疫苗的设计和研发中,通过对这编码这三种蛋白基因进行相应修饰和组合,诱发特异性 CTL 应答,达到治疗目的。

2 EB 病毒疫苗的研究现状

2.1 EB 病毒预防性疫苗的研究

EB 病毒疫苗的设想,最早可追溯到 1976 年,Epstein^[12] 首先提出用疫苗预防 EB 病毒相关的恶性肿瘤或减少其发病率。目前,大部分防治 EB 病毒感染疫苗的研究集中于 EB 病毒的包膜糖蛋白 gp350,不仅是因为 EB 病毒通过 gp350 与 CD21 结合感染细胞;而且 gp350 是 EB 病毒和被感染细胞上最丰富的糖蛋白,同时也是产生中和性抗体以抵御病毒感染首要的靶标。

2007 年,Sokal 等^[13]制备的重组 gp350 疫苗进行了 II 期临床试验,试验对象包括 181 位未被 EB 病毒感染、且身体健康的年轻人;试验结果表明:该疫苗预防由 EB 病毒感染引起的传染性单核细胞增多症的有效率达到 78%,并且产生的抗 gp350 抗体在体内留存时间超过 18 个月,同时该疫苗具有良好的安全性和免疫原性^[14],目前已着力于 III 期临床试验的设计^[4];但是该重组疫苗不能有效预防无症状的 EB 病毒感染。

2009 年,Rees 等^[15]以慢性肾功能衰竭、只能等待器官移植的患者为研究对象,进行了 gp350 疫苗 I 期临床试验,结果表明该疫苗具有良好地生物活性和免疫原性;试验过程中发现,由于研究对象对该疫苗的特定反应,使得从初次接种该疫苗到最终实施器官移植的中值时间为 24 周,从而延迟了移植手术的进行;后续临床试验需要在接种疫苗时使用配套改进地佐剂,以缩短从初次接种到移植的时间,以降低移植后患者体内 EB 病毒载量和患移植后淋巴增生性紊乱疾病的几率。

2013 年,Cui 等^[16]在构建 gp350 载体的时候,以(Gly4Ser1)3 为连接体将两段完全一样的 gp350 序列分割开;随后添加酿酒酵母 GCN4 亮氨酸拉链序列,利用其自连作用使 gp350 二聚体最终形成四聚体蛋白;并且所采用的 gp350 仅包括其前 470 个氨基酸序列,但包含有 CD21 的结合位点。在研究该四聚体 gp3501-470 的免疫原性和有效性时,以单体 gp3501-470 为对照,结果发现:四聚体形式的 gp350,其免疫原性比单体 gp350 强 25 倍,与 CD21 结合的效率比单体形式高 24 倍;实验结果也表明,所制备的四聚体 gp350 疫苗,能够有效预防 EB 病毒感染宿主细胞,从而具有作为预防性疫苗的潜力。

EB 病毒的预防性疫苗主要以 gp350 为靶抗原,通过接种后刺激机体产生中和性抗体以阻断病毒感染通路。确保疫苗的安全性和免疫原性是疫苗研发的首要原则,从上述临床结果可以看出,gp350 疫苗兼具良好的安全性和免疫原性,具有较好的预防效果;但对于无症状地或特定地 EB 病毒感染者不能有效地预防,使得疫苗的适用范围大大减小;具有更强免疫原性的多聚体 gp350 疫苗,或许是好的解决方案。

2.2 EB 病毒治疗性疫苗的研究

EB 病毒的核抗原 EBNA_s 和膜蛋白 LMP_s 能够诱发宿主

特异性地细胞免疫反应,为免疫治疗提供了基础。目前正在研究中的疫苗主要以 LMP1, LMP2, EBNA1 和 EBNA3 为靶抗原,通过单一或多个蛋白组合,构建病毒疫苗;接种后,诱导机体产生特异性 T 细胞免疫应答,通过特异性地细胞毒性 T 淋巴细胞作用清除表达相应靶抗原的肿瘤细胞,达到治疗效果。

2.2.1 以单一 EB 病毒蛋白为靶抗原的疫苗 2003 年, Duraiswamy 等^[17]通过重组一个痘病毒疫苗,其包含有编码源于 LMP1 的 HLA A2- 限制表位的多肽蛋白;以 EB 病毒相关的 Hodgkin's 疾病和鼻咽癌患者为对象的临床前试验结果表明该疫苗能够有效地被正常人的 LMP1 特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)识别,产生强烈地 CTL 应答;说明该疫苗能够通过免疫疗法治疗 EB 病毒相关的 Hodgkin 疾病和鼻咽癌。2012 年,尉秀霞等^[18]通过构建包含去除癌基因的 LMP1 Δ DNA 疫苗,并与携带 LMP1 Δ 基因的重组腺病毒疫苗联合接种;初步结果得到,单独的 LMP1 Δ 基因 DNA 疫苗能够诱导产生 LMP1 Δ 特异性的 CTL 应答;与携带 LMP1 基因的重组腺病毒疫苗联合使用后,能够提高特异性细胞免疫应答水平。

2009 年,杨松梅等^[19]联合使用 EB 病毒 LMP2 的 DNA 疫苗、腺联病毒疫苗和非复制 5 型腺病毒疫苗接种小鼠,该混合疫苗能够有效地诱导机体产生针对 EB 病毒相关鼻咽癌的特异性细胞免疫应答,从而为鼻咽癌的防治提供一种可行的疫苗策略。2012 年,曾毅院士主导研发的重组 LMP2 腺病毒疫苗就鼻咽癌的治疗进入 I 期临床试验,以验证该疫苗的安全性和生物活性。

2008 年, Elliott 等^[20]以 EB 病毒核抗原 3(EBNA3)上的 HLA B0801 限制性多肽 FLRGRAYGL 为基础,制备出可诱发特异性 CD8⁺ T 细胞应答的疫苗,并进入 I 期临床试验;该疫苗旨在诱导针对 EB 病毒感染的 T 细胞免疫应答,并有效刺激机体产生抗 EB 病毒相关的恶性肿瘤;小量样本临床试验结果也初步证明该疫苗能诱导机体产生病毒特异性 CD8⁺ T 细胞应答。

以单一病毒膜蛋白或核抗原为靶点的疫苗,在鼻咽癌的免疫治疗方面已取得重要进展;特别是我国自主研发治疗鼻咽癌的重组 LMP2 疫苗已进入临床试验,对我国进行鼻咽癌的防治具有重大意义,因为全球 80% 的鼻咽癌患者在中国。

2.2.2 以多种 EB 病毒蛋白为靶抗原的疫苗 2010 年, Lutzky 等^[21]在设计 EB 病毒疫苗时,为最大限度地提高机体的 T 细胞(包括 CD4 和 CD8)识别 EB 病毒的几率;利用重叠 PCR 技术将编码 EB 病毒核抗原 1 (EBNA1)、LMP1 和 LMP2 的基因整合,然后插入到腺病毒载体中;使其在鼻咽癌的免疫治疗中具有激活所有可能 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞应答的潜能,从而尽可能地识别并杀伤肿瘤细胞,达到治疗目的。

2012 年, Chia 等^[22]公布了在晚期转移性鼻咽癌患者身上使用一种腺病毒诱导的树突细胞疫苗的 II 期临床试验结果,该腺病毒表达部分缺失的 LMP1 和全长 LMP2,试验结果证实该疫苗兼具安全性和有效性。

Hui 等^[23]在 2013 年报道了在鼻咽癌患者使用重组改良的安卡拉痘苗(MVA-EL)的 I 期临床试验结果,该重组疫苗编码 EB 病毒的 EBNA1 和 LMP2,以刺激机体的 T 细胞免疫应答。试验实施过程中将不同剂量的疫苗接种不同的病人,结果发现,该疫苗具有明显地剂量效应,即接种疫苗量最多的患者,具有更强地针对 EBNA1 和 LMP2 的细胞免疫应答;并且兼具安

全性和良好的免疫原性、生物活性,为 II 期临床试验验证疫苗的临床效果、有效性提供坚实地基础。该疫苗已经从 2013 年 3 月开始进行为期三年的 Ib 期临床试验^[24],在更深入细致地研究疫苗安全性、免疫原性的同时,还将探讨免疫系统是如何对该疫苗产生应答、疫苗的副作用以及加强疫苗接种对免疫系统的效应等。

2.3 其它类型的疫苗

2011 年,德国的 Ruiss 等^[25]制备出一种类病毒材料,其结构与 EB 病毒类似,并以此获得一株细胞系,这个细胞系包括有基因修饰的 EB 病毒基因组;但是缺失所有潜在的病毒癌基因,只含有供装配、释放等必须的病毒蛋白。体内实验结果表明,这种基于 EB 病毒的材料具有很强地免疫原性,能有效刺激机体产生 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞免疫应答。因此这种类病毒材料不仅安全,也可以作为有效地 EB 病毒候选疫苗。这种以类病毒材料为载体,与前述 EB 病毒疫苗常用的腺病毒和痘病毒载体,兼具安全性和免疫原性,具体临床试验结果有待进一步研究;但无疑为 EB 病毒疫苗的研究提供更广地思路和途径。

2013 年 8 月, H. Polansky 和 E. Itzkovitz^[26]公布了一种抗多种病毒(包括 EB 病毒、人乳头瘤病毒、单纯疱疹病毒、人巨细胞病毒和丙型肝炎病毒)药物的上市后临床试验结果,药物名为: Gene-Eden-VIR。该药物包含有五种天然的物质成分: 槲皮黄酮、绿茶萃取物、肉桂萃取物、甘草萃取物和硒。根据对 60 位、年龄在 20 岁以上被感染个体的试验结果表明,该药物能够安全、有效地进行抗 EB 病毒、人乳头瘤病毒等病毒感染。

3 结论与展望

综上所述,EB 病毒疫苗的研制已经取得令人可喜的结果,多种疫苗已进入临床试验。然而,在疫苗的研究过程中依然存在一些困难: 1) 在肿瘤的发生发展期,缺乏一个好的肿瘤标志物^[4,5],使得后续的临床试验举步维艰。2) 在研究抗 EB 病毒感染和相关疾病时,缺乏相应地动物模型。因为 EB 病毒具有很强的种属特异性,且只感染人类。早在 1985 年, Epstein 等^[27]用 gp350 接种棉冠绒猴后,能够保护其不患 EB 病毒诱导的 B 细胞淋巴瘤;但是棉冠绒猴为濒危物种,使得这种动物模型的推广大大受限。2012 年, Zhang 等^[28]成功构建出一种临床前的小鼠动物模型,该小鼠能够表达被 B 细胞特异性结合的改型 EB 病毒 LMP1;实验结果也揭示了 LMP1 在体内被 EB 感染的 B 细胞的免疫监视和转化发挥重要作用,该模型也为 B 细胞淋巴瘤的治疗提供新策略。

随着科学技术的发展,病毒、疫苗及免疫佐剂等相关方面的研究不断深入,为 EB 病毒相关疾病和肿瘤的治疗提供了新的策略。Ogembo 等^[29]研究发现人补体受体 1(即 CD35)也可以做为 EB 病毒的受体,CD35 在 EB 病毒的初次免疫中扮演重要的角色,为解释病毒趋性及 gp350/220 作为 EB 病毒疫苗的重要性提供了良好的基础。与此同时,科学家们也致力于佐剂的研究,和疫苗联合作用,提高机体的抗肿瘤免疫。CpG 寡脱氧核苷酸序列能够通过 Toll 样受体 9 (TLR9) 激活机体的固有免疫,可以作为佐剂加强机体的抗感染和抗肿瘤免疫^[30,31]。Zuo 等^[32]于 2011 报道一种新的靶向基因疗法,用于治疗 EBV 相关的鼻咽癌;该方法采用 RNA 干扰技术,实验结果发现其构建的非病毒载体 mc-oriP-IFN γ 上的增强子 oriP 能够特异性地与鼻咽

癌细胞的 EBNA1 结合;从而使具有抑制肿瘤生长功能的 IFN γ 靶向到肿瘤部位发挥功能。在 EB 病毒疫苗的前期研究基础之上,以及与不断出现的最新研究成果和不同知识体系之间的相互借鉴、交融,对 EB 病毒的研究认识更加清晰、透彻,也为 EB 病毒相关疾病和肿瘤的预防和治疗,奠定了坚实的理论和实践基础。

参考文献(References)

- [1] Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma[J]. *Lancet*, 1964, 1(7335): 702-703
- [2] Cohen JI. Epstein-Barr virus infection [J]. *N. ENGL. J. MED*, 2000, 343(7): 481-492
- [3] George Miller. Book Review: Epstein-Barr virus [J]. *N. ENGL. J. MED*, 2006, 355(25): 2708-2709
- [4] Cohen JI, Fauci AS, Varmus H, et al. Epstein-Barr virus: an important vaccine target for cancer prevention[J]. *Sci. Transl. Med*, 2011, 3(107): 107fs107
- [5] Cohen JI, Mocarski ES, Raab-Traub N, et al. The need and challenges for development of an Epstein-Barr virus vaccine[J]. *Vaccine*, 2013, 31S: B194-B196
- [6] WHO. Viral Cancers. Epstein-Barr virus 2013 [N]; www.who.int/vaccine_research/diseases/viral_cancers/en/index1.html
- [7] Thompson MP, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer[J]. *Clinical Cancer Research*, 2004, 10(3): 803-821
- [8] Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2004, 4(10): 757-768
- [9] Hutt-Fletcher LM. Epstein-Barr virus entry[J]. *J. Virol*, 2007, 81: 7825-7832
- [10] Rowe M, Lear AL, Croom-Cater D, et al. Three pathways of Epstein-Barr virus gene activation from EBNA1-positive latency in B lymphocytes[J]. *J. Virol*, 1992, 66(1): 122-131
- [11] David A, Thorley-Lawson, Allday MJ. The curious case of the tumour virus: 50 years of Burkitt's lymphoma [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(12): 913-924
- [12] Epstein MA. Epstein -Barr virus--is it time to develop a vaccine program[J]. *J. Natl. Cancer Inst*, 1976, 56(4): 697-700
- [13] Sokal EM, Hoppenbrouwers K, Vandermeulen C, et al. Recombinant gp350 vaccine for infectious mononucleosis: a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the safety, immunogenicity, and efficacy of an Epstein-Barr virus vaccine in healthy young adults[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2007, 196(12): 1749-1753
- [14] Moutschen M, Leonard P, Sokal EM, et al. Phase I/II studies to evaluate safety and immunogenicity of a recombinant gp350 Epstein-Barr virus vaccine in healthy adults[J]. *Vaccine*, 2007, 25(24): 4697-4705
- [15] Rees L, Tizard EJ, Morgan AJ, et al. A phase I trial of Epstein-Barr virus gp350 vaccine for children with chronic kidney disease awaiting transplantation[J]. *Transplantation*, 2009, 88(8): 1025-1029
- [16] Cui X, Cao Z, Sen G, et al. A novel tetrameric gp350 1-470 as a potential Epstein-Barr virus vaccine [J]. *Vaccine*, 2013, 31(30): 3039-3045
- [17] Duraiswamy J, Sherritt M, Thomson SA, et al. Therapeutic LMP1 polyepitope vaccine for EBV-associated Hodgkin disease and nasopharyngeal carcinoma[J]. *Blood*, 2003, 101(8): 3150-3156
- [18] 尉秀霞, 王湛, 周玲, 等. 携带 EBV-LMP1 Δ 基因的 DNA 疫苗和腺病毒疫苗联合免疫效果研究 [J]. *中国病毒病杂志*, 2012, 2(4): 250-254
- [19] Wei Xiu-xia, Wang Zhan, Zhou Ling, et al. Construction of Epstein-Barr virus LMP1-deleted (LMP1 Δ) DNA vaccine and a preliminary study on the effect of its combination immunization with adenovirus vaccine[J]. *Chin J Viral Dis*, 2012, 2(4): 250-254
- [20] 杨松梅, 王湛, 周玲, 等. 携带 EBV-LMP2 基因的 DNA 疫苗腺相关病毒疫苗和腺病毒疫苗免疫小鼠的特异性细胞免疫应答[J]. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2009, 39(4): 342-345
- [21] Yang Song-mei, Wang Zhan, Zhou Ling, et al. Construction of Epstein-Barr virus LMP2 DNA vaccine, adeno-associated virus and the specific cellular immune response induced in mice immunization with adenovirus vaccine[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2009, 39(4): 342-345
- [22] Elliott SL, Suhrbier A, Miles JJ, et al. Phase I trial of a CD8 $^{+}$ T-cell peptide epitope-based vaccine for infectious mononucleosis [J]. *J. Virol*, 2008, 82(3): 1448-1457
- [23] Lutzky VP, Corban M, Heslop L, et al. Novel approach to the formulation of an Epstein-Barr virus antigen-based nasopharyngeal carcinoma vaccine[J]. *J. Virol*, 2010, 84(1): 407-417
- [24] Chia WK, Wang WW, Teo M, et al. A phase II study evaluating the safety and efficacy of an adenovirus-LMP1-LMP2 transduced dendritic cell vaccine in patients with advanced metastatic nasopharyngeal carcinoma[J]. *Annals of Oncology*, 2012, 23(4): 997-1005
- [25] Hui EP, Taylor GS, Jia H, et al. Phase I trial of recombinant modified vaccinia ankara encoding Epstein-Barr viral tumor antigens in nasopharyngeal carcinoma patients[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(6): 1676-1688
- [26] UK CR. A phase Ib trial of MVA-EBNA1/LMP2 vaccine in nasopharyngeal carcinoma[N]. 2013; <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01800071>. Accessed May, 2013
- [27] Ruiss R, Jochum S, Wanner G, et al. A virus-like particle-based Epstein-Barr virus vaccine[J]. *J. Virol*, 2011, 85(24): 13105-13113
- [28] Polansky H, Itzkovitz E. Gene-Eden-VIR is antiviral: results of a post marketing clinical study[J]. *Pharmacology & Pharmacy*, 2013, 4: 1-8
- [29] Epstein MA, Morgan AJ, Finerty S, et al. Protection of cottontop tamarins against Epstein-Barr virus-induced malignant lymphoma by a prototype subunit vaccine[J]. *Nature*, 1985, 318(6043): 287-289
- [30] Zhang B, Kracker S, Yasuda T, et al. Immune surveillance and therapy of lymphomas driven by Epstein-Barr virus protein LMP1 in a mouse model[J]. *Cell*, 2012, 148(4): 739-751
- [31] Ogembo JG, Kannan L, Ghiran L, et al. Human complement receptor type1/CD35 is an Epstein-Barr virus receptor[J]. *Cell Rep*, 2013, 3(2): 371-385
- [32] Bhardwaj N. TLR agonists: are they good adjuvants [J]. *Cancer J*. 2010, 16(4): 382-391
- [33] Krieg AM. Development of TLR9 agonists for cancer therapy [J]. *J. Chin. Invest*, 2007, 117(5): 1184-1194
- [34] Zuo Y, Wu J, Xu Z, et al. Minicircle-oriP-IFN γ : a novel targeted gene therapeutic system for EBV positive human nasopharyngeal carcinoma[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(5): e19407