

• 特邀综述 •

# 登革病毒单克隆中和抗体及其作用机制

程正<sup>1,2</sup>, 严景华<sup>2,3</sup>, 韩晓楠<sup>2\*</sup>

1 安徽大学 物质科学与信息技术研究院, 安徽 合肥 230601

2 中国科学院微生物研究所 中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室, 北京 100101

3 中国科学院大学, 北京 100049

程正, 严景华, 韩晓楠. 登革病毒单克隆中和抗体及其作用机制[J]. 生物工程学报, 2024, 40(12): 4311-4323.

CHENG Zheng, YAN Jinghua, HAN Xiaonan. Targets and mechanisms of neutralizing monoclonal antibodies against Dengue virus[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(12): 4311-4323.

**摘要:** 登革热是一种蚊媒传播的疾病, 在热带及亚热带地区流行, 由于全球人员流动的增加, 其流行范围逐年扩大。登革病毒是登革热的病原体, 通常 4 种血清型病毒共同流行, 第一次病毒感染产生的交叉反应性抗体会给其他血清型继发性感染带来很大风险, 目前还没有能提供完全保护的疫苗和抗病毒药物。近年来随着抗体技术的不断发展, 研究者已分离出大量针对登革病毒的单克隆抗体, 并通过基于结构的分析阐明了其中和表位。本文重点介绍了与登革病毒中和活性相关的关键表位, 并对这些表位在疫苗设计和治疗性抗体药物开发中的应用前景进行了展望, 有助于系统梳理登革病毒中和抗体的研究进展, 为推动新型疫苗和抗体药物的研发提供了理论基础与技术指导。

**关键词:** 登革热; 登革病毒; 抗体依赖增强; 中和抗体; 中和机制

## Targets and mechanisms of neutralizing monoclonal antibodies against Dengue virus

CHENG Zheng<sup>1,2</sup>, YAN Jinghua<sup>2,3</sup>, HAN Xiaonan<sup>2\*</sup>

1 Institutes of Physical Science and Information Technology, Anhui University, Hefei 230601, Anhui, China

2 CAS Key Laboratory of Pathogenic Microbiology & Immunology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** Dengue fever is a mosquito-borne disease prevalent in tropical and subtropical regions,

资助项目: 国家自然科学基金(92369202)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (92369202).

\*Corresponding author. E-mail: xhan@im.ac.cn

Received: 2024-02-18; Accepted: 2024-03-01

with its prevalence expanding due to increased global travel. The dengue virus, the causative agent of dengue fever, often co-circulates in the form of four distinct serotypes. Cross-reactive antibodies generated during a primary infection pose a significant risk during secondary infections with different serotypes, and fully protective vaccines and antiviral drugs are yet to be developed. Over the past decade, advances in antibody technology have led to the isolation of numerous monoclonal antibodies against dengue virus, with their neutralizing epitopes elucidated through structure-based analyses. This review highlights the key epitopes associated with neutralizing antibodies against dengue virus and discusses their potential applications in vaccine design and therapeutic antibody development. This review helps systematically summarize the progress in dengue virus neutralizing antibody research, providing a theoretical foundation and technical guidance for the development of novel vaccines and antibody therapeutics.

**Keywords:** Dengue fever; Dengue virus; antibody dependent enhancement; neutralizing antibody; neutralization mechanism

登革热(Dengue fever, DF)是一种由登革病毒(Dengue virus, DENV)引起的蚊媒传播疾病,过去仅在热带及亚热带地区流行,但近几十年随着全球旅行的增加和全球气候变暖加剧,登革热的流行范围不断扩大,发病率急剧上升,已成为亚洲和拉丁美洲很多国家导致严重疾病和死亡的主要原因之一。据统计,全球每年约有3.9亿人感染DENV,约9600万人出现临床症状<sup>[1-2]</sup>。在过去50年间,登革热的发病率增加了约30倍,传播范围也不断扩大。2019年,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)宣布登革热是全球十大健康威胁之一。近年来,我国登革热疫情以境外输入引起的本地传播疫情为主要特征,报告病例主要分布在广东、云南和浙江等南部地区<sup>[3]</sup>。2014年,广东省暴发了20多年来最严重的登革热疫情,全省病例超过4万例,并出现了一些危重甚至死亡病例。2015年和2017年,云南省和浙江省也分别出现了严重的登革热疫情,报告病例数均超过数千例。适合登革病毒传播的媒介伊蚊分布广泛。北方城市也多次出现DENV感染病例,提示我国依然面临登革热的威胁和挑战。

登革病毒属于黄病毒科黄病毒属,其基因

组为单股正链RNA,大小约为11 kb,仅含1个开放阅读框,可以翻译成1条多肽链,并在宿主和病毒自身蛋白酶的催化作用下分解为3个结构蛋白——核衣壳(capsid, C)蛋白、前体膜(premembrane, prM)蛋白和包膜(envelope, E)蛋白以及7个非结构蛋白——NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B、NS5<sup>[4]</sup>。成熟的登革病毒具有正二十面对称体结构,表面被180个E蛋白覆盖,每2个E蛋白形成一个反向平行的二聚体,3个E蛋白二聚体彼此平行排列形成一个筏结构,30个筏在病毒表面呈人字排列<sup>[5]</sup>。

登革病毒分为4种血清型(DENV1-DENV4),不同血清型之间氨基酸序列差异约为30%<sup>[6]</sup>。研发能够针对4种血清型产生均衡免疫应答的登革疫苗是该领域的难点之一。近几年相关研究展现出显著进展,目前已有2种疫苗获批使用:第一种是由赛诺菲巴斯德(Sanofi Pasteur)研发的全球首个获批的登革疫苗Dengvaxia (CYD-TDV),这是以黄热病毒疫苗YF17D的cDNA为骨架构建的四价嵌合疫苗。该疫苗于2015年上市,已在20多个国家获得许可,但目前Dengvaxia仅限用于9-45岁且曾感染过DENV的人群;第二种是由武田制药

(Takeda)研发的以减毒 DENV2 的 cDNA 为骨架构建的四价嵌合疫苗 Qdenga (TAK-003), 该疫苗已于 2022 年 8 月和 12 月分别在印尼(用于 9–45 岁人群)和欧盟(用于 4 岁以上人群)获批; 此外, 由美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)开发的 TV003/TV005 (LAVΔ30 或 TetraVax-DV)四价减毒活疫苗目前仍处于临床 III 期研究中, 其结果预计在 2025 年公布<sup>[7]</sup>。由巴西布坦坦研究所开发的 Butantan-DV 疫苗的三期临床试验数据显示, 该疫苗对 I 型和 II 型登革病毒感染具有良好保护作用<sup>[8]</sup>; 另一项在孟加拉国开展的关于 TV005 疫苗的临床研究则表明, 该疫苗在既往有登革病毒感染的受试者体内可提供针对四种血清型登革病毒的保护, 但对未感染过登革病毒者的长效保护能力较弱<sup>[9]</sup>。虽然已有产品上市, 但登革疫苗尚需长期使用效果的评估, 关于其他预防和治疗策略的研究仍不可缺少。

本文首先简要介绍了登革病毒主要表面蛋白 E 蛋白的结构特征, 总结了近年来发表的关于登革病毒进入细胞与复制成熟的机制的研究, 并重点梳理总结了登革病毒各中和表位抗体的特征, 综述了抗体发挥中和作用及导致抗体依赖的感染增强反应(antibody-dependent enhancement, ADE)的分子机制, 以期能够加深对登革抗体作用机制的理解, 为中和抗体治疗方法的开发及新型登革疫苗的免疫原设计提供启发。

## 1 登革病毒中和抗体的主要靶点——E 蛋白

登革病毒表面的 E 蛋白是一个 II 型膜融合蛋白, 同时还介导与宿主细胞表面特异性受体的结合, 是登革病毒中和抗体的主要靶蛋白。登革病毒 E 蛋白胞外段包含 3 个结构域, 分别为 DI、DII 和 DIII<sup>[10]</sup>, DI 是一个  $\beta$  筒状结构,

连接 DII 和 DIII (图 1A), 在 E 蛋白构象变化中发挥作用<sup>[11]</sup>; DII 是延伸的指状结构, 其末端有一个融合环(fusion loop, FL), 与 E 蛋白的二聚体化及酸性环境下病毒颗粒与内体膜的融合有关<sup>[12]</sup>; DIII 是 IgG 免疫球蛋白样折叠, 具有宿主细胞受体结合域, 在宿主细胞的识别和结合过程中起主要作用<sup>[13]</sup>。

在中性 pH 环境下, E 蛋白以二聚体形式存在, 当病毒入侵细胞被内吞后, 内体的酸性环境促使 E 蛋白结构发生改变, DIII 翻转, 将 FL 暴露, 3 个 E 蛋白的 FL 相互靠近, 同时 E 蛋白重排形成直立的三聚体, FL 插入内体膜并与之融合, 将病毒的遗传物质释放到细胞质中<sup>[10]</sup>。比较 E 蛋白融合前后的构象, 发现 DII 和 DIII 分别围绕 DI 旋转约 30° 和 70° (图 1A–1D)。

登革病毒基因组在复制和翻译后, 在内质网中性 pH 环境中新合成的遗传物质和结构蛋白装配成未成熟的病毒颗粒, 其包膜由 60 个 prM-E 三聚体覆盖, 以防止病毒颗粒过早发生膜融合<sup>[11]</sup>。未成熟病毒颗粒进入高尔基体的酸性环境后, prM 被宿主细胞的 furin 蛋白酶切割, pr 片段随后脱落, M 蛋白残留在病毒表面, 并在病毒颗粒分泌至中性 pH 过程中发生构象变化, 形成 M-E 同源二聚体, 完成病毒成熟过程。然而, 登革病毒的成熟过程并不高效, 在此前登革病毒制备过程中, 研究人员观察到一些病毒颗粒完全不成熟或部分成熟<sup>[14]</sup>。完全不成熟的病毒表面 E 蛋白呈三聚体排列, 但其融合环(fusion loop, FL)被 prM 蛋白覆盖, 因此本身不具有传染性。然而当其与 prM 抗体或某些 E 蛋白抗体结合后, 抗体可通过 Fc 端帮助病毒附着到带有 Fc 受体的细胞表面, 从而使病毒具有传染性<sup>[15–16]</sup>; 部分成熟的病毒颗粒表面 E 蛋白显示出两种构象<sup>[17]</sup>, 这可能是由局部没有完全分离的 prM 蛋白浓度决定的。虽然

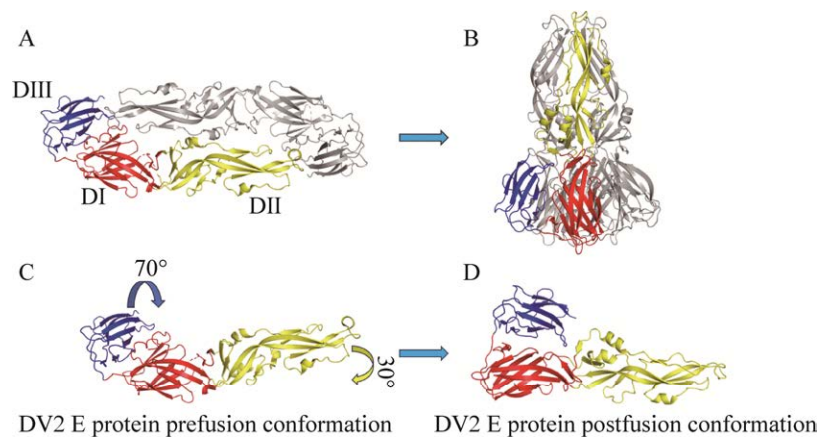


图1 登革病毒 E 蛋白在膜融合过程中的构象转变 A: E 蛋白二聚体融合前构象. B: E 蛋白三聚体融合后构象. C: E 蛋白单体融合前构象. D: E 蛋白单体融合后构象

Figure 1 Conformational change of E protein during the membrane fusion process. A: An E dimer in its prefusion conformation. B: An E trimer in its postfusion conformation. C: An E monomer in its prefusion conformation. D: An E monomer in its postfusion conformation.

上述病毒形态不同,但均具有传染性,在人体内对不同抗体的敏感性也有所差异<sup>[5]</sup>,这意味着某些单一抗体无法同时对人体中多种形态的登革病毒起到很好的保护作用。

## 2 登革病毒不同表位的中和抗体及其作用机制

过去数十年,尤其是近几年严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus, SARS-CoV-2)大流行中的研究与应用数据表明,单克隆抗体疗法是一种有效且可行的新发病毒性传染病预防和治疗策略。通过对抗体 Fc 区进行修饰,可显著延长抗体半衰期至数月<sup>[18]</sup>。关于抗体介导的对登革病毒感染保护机制的研究,在过去几十年间已得到全面且深入的探索,同时针对包括寨卡病毒、黄热病毒等其他黄病毒抗体的研究也在持续推进;研究人员发现一些具有中和活性的多克隆或单克隆抗体可保护实验动物免受登革病毒攻击,而另一些靶向特定表位

的弱中和抗体则会诱发 ADE,引发病毒血症加重病情,诱发这一显著差别的原因是不同中和抗体独特的中和机制与不同构象的登革病毒 E 蛋白之间作用模式的差异<sup>[19]</sup>。因此,登革病毒中和抗体的研究主要集中在其与 E 蛋白的相互作用机制上。

本文依据 E 蛋白表位特征梳理了已经发现的登革保护性抗体(图 2、表 1),对这些抗体尤其是近期发现并阐明中和表位及结构特征的单克隆抗体进行了重点分析,此外,还讨论了黄病毒特有的 ADE 现象的发生机制及其在抗体疗法和疫苗开发中的潜在影响。

### 2.1 靶向融合环的抗体与 ADE

黄病毒科病毒的 E 蛋白尽管在结构上具有高度相似性,但其序列保守性较低,不同病毒或同一病毒的不同血清型之间往往存在超过 30% 的序列差异<sup>[6]</sup>。然而,作为例外,在 E 蛋白 DII 结构域尖端的一段疏水融合环(fusion loop, FL)序列在黄病毒中高度保守,这是由于其融合蛋白具有几乎相同的膜融合机制。识别 FL 的抗体具有显著的广谱性。2011 年 Deng 等<sup>[20]</sup>发现

了2A10G6抗体,该抗体可以通过结合FL表位上D98-W101几个残基影响病毒颗粒与内体膜融合的过程,从而实现中和功能。其他靶向FL的抗体还包括3G9和E53等,体外实验表明,这类抗体对4种血清型的登革病毒具有交叉中和活性<sup>[21-22]</sup>,然而在成熟的登革病毒中,E蛋

白以二聚体的形式紧密地排列在病毒表面,FL表位埋藏在相邻E蛋白的疏水口袋内,导致该表位暴露不充分,这种结构特性使得FL抗体并无法有效结合完全成熟的登革病毒,相反它会结合原本无感染能力的未成熟病毒颗粒并协助其进入宿主的淋巴细胞<sup>[14]</sup>。

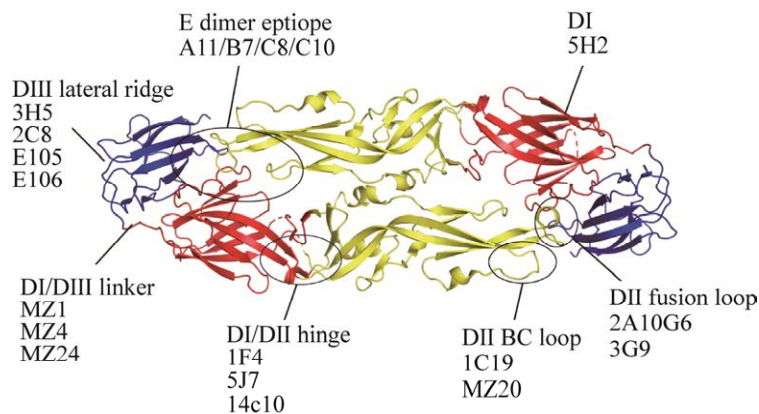


图2 登革病毒E蛋白表位图

Figure 2 Dengue virus epitope map.

表1 登革病毒各表位中和抗体汇总

Table1 Summary of neutralizing antibodies against Dengue virus from various epitopes

Antibody	Virus	Target epitope and key residues	Neutralization mechanism	Neutralization potency ( $IC_{50}$ , ng/mL)	References
2A10G6	DV1-4	DII FL (D98-W101)	Block membrane fusion	DV1-4: 1 500	[20]
3G9	DV1-4	DII FL (W101, F108)	Block membrane fusion	DV1: 240; DV2: 20; DV3: 730; DV4: 130	[21]
E53	DV1-4	DII FL (G104-L107, G109, K110) and BC Loop (C74, T76-E79)	Inhibit attachment	WNV: 150	[22]
1C19	DV1-4	DII BC loop (R73, G78, E79)	Block membrane fusion, competing with FL antibodies	DV1-3: <50 DV4: >3000	[23]
MZ20	DV1-4	DII BC loop (W101)	Not mentioned	DV2: 35	[24]
MZ1/ MZ2/ MZ4/ MZ24	DV1-4	DI/DIII linker from ZIKV (G181, G182, G184, K297, R299-S306, T335-P338, T366-T369)	Block the attachment and membrane fusion	MZ4-ZV: 8.3 MZ4-DV2: 20.9	[24]
5H2	DV4	DI (E172, K174, P176, D177, E180, R293)	Block the trimerization during membrane fusion	DV4: < 40	[25-26]
2C8/ 3H5	DV2	DIII lateral ridge (M301, T303-K305, E327, G328, P336-E338, K344, R345, G381-Q386)	Block the attachment and membrane fusion	DV2: < 10	[6]

(待续)

(续表 1)

Antibody	Virus	Target epitope and key residues	Neutralization mechanism	Neutralization potency ( $IC_{50}$ , ng/mL)	References
E106/ E105	DV1	DIII lateral ridge (E106, S305, K307, E309, K310, K325-D330, K361, E363)	Inhibit the rotation of DIII to prevent the rearrangement of the E protein	DV1: < 60	[27]
M366.6	DV1-4	DIII A strand (K305-E311), Q325, E327, K361, E383, G385	Not mentioned	DV1: 12 700; DV2: 4 570; DV3: 5 230; DV4: 23 300	[28]
4E11	DV1-4	DIII A strand (305-311)	Block the binding of E protein to target cell	DV1:54.7; DV2: 15.1; DV3: 216.7; DV4: 55.7	[29]
AB513	DV1-4	DIII A strand	Not mentioned	DV1: 67; DV2: 190; DV3: 97; DV4: 79;	[30]
2D22	DV2	EDE: DIII (K307, E309, K310, K335, E337, E362-P364), DI 150 loop (148-159) and FL(97-106) from another E protein	Lock the E protein dimer structure to prevent the rearrangement of the E protein	DV2: 105	[31-32]
A11/ B7/ C8/ C10	DV1-4	EDE: DII B strand (67-74), FL (97-106) and DI 150 loop (148-159), DIII A strand (306-314) from another E protein	Lock the E protein dimer structure to prevent the rearrangement of the E protein	DV1-4: < 20	[33-36]
SIgN-3C	DV2	Quaternary: DII (Q52, A224-Q227) on one E protein and DII (T69-R73, L82, N83, N103-G106) on another E protein	Inhibit DENV2 infection at a step post-virus attachment, likely fusion, could also inhibit attachment	DV2: 7	[37]
1F4	DV1	Quaternary: DI (L46, K47, E49, T51, N52, K136, S138, S155-E157, T160-T163, T165, T170-Q174, T176, D177) and DI/DII hinge (S273-T276)	Block the attachment, lock the DI/DII hinge to prevent the rearrangement of the E protein	DV1: 30	[32,38]
14c10	DV1	Quaternary: DI (T51, Q131, Y132, G159, T160, T165-Q167, E172, I173, L175, T275), DII (N52, G274) and DIII (L308, K310) from another E protein	Blocking virus attachment, at higher concentrations, it can also inhibit subsequent steps	DV1: < 500	[39]
5J7	DV3	Quaternary: DI/DII hinge (A50-T55, E123, K126, K128, V130, Q131, E133, N134, Q148), DIII (K307-E309) and DII (R73, C74, W101, G106, L196, T198, K200, N201, T223, T224, P227, T274, I276) from three different E protein	One antibody molecule can lock three E proteins, can block the attachment and membrane fusion	DV3: 5	[40]

黄病毒科病毒感染具有独特的 ADE 效应。感染登革病毒或接种疫苗后,免疫系统会针对 E 蛋白 DII 结构域末端的 FL 表位产生大量抗体,这类抗体在被感染者抗体库中占很大比例,但是中和活性不高<sup>[41]</sup>。当再次感染其他血清型病毒时,由于抗体浓度较低,这类交叉反应抗体无法有效清除病毒,反而通过其 Fc 段与部分巨噬细胞表面的 Fc $\gamma$  受体结合,诱导病毒通过内吞途径进入细胞,增强病毒的感染,最终导致患者出现病毒血症并显著增加重症和死亡比例<sup>[42]</sup>。除此之外,在多项细胞和动物水平的研究中,均观察到疫苗接种与包括寨卡病毒在内的其他黄病毒感染也会导致 ADE 现象<sup>[43-45]</sup>。因而对 FL 表位的改造是登革疫苗开发的一个重要思路。过去几年有多项研究进行了通过突变 FL 相关残基以消除 ADE 现象的尝试,但遗憾的是,突变体疫苗诱发的中和抗体水平也随之大幅下降,继而无法诱导消除性免疫<sup>[46]</sup>。但围绕 FL 开展免疫原的理性设计依然具有重要的科学和应用价值。

此外,2013 年 Smith 等<sup>[23]</sup>发现的 1C19 抗体结合邻近 FL 的 B 链和 C 链之间的连接环,该表位抗体的中和机制可能与 FL 抗体相同,即通过阻断膜融合来实现病毒中和,其中和活性要高于大部分 FL 抗体,同时,由于空间位阻效应,该类抗体会与 FL 抗体的结合会形成竞争,从而降低 ADE 风险。

另一类易引发 ADE 效应的抗体靶向未成熟病毒颗粒的 prM 蛋白表位。对登革病毒感染患者的记忆 B 细胞分析表明,约有 60% 的登革病毒抗体针对 prM 表位<sup>[41]</sup>,这些抗体有高度的交叉活性,可以结合 4 种血清型的登革病毒颗粒,但中和活性普遍较低,并容易诱发 ADE 效应<sup>[47-48]</sup>。这些抗体能使原本无感染能力的未完全成熟病毒颗粒通过内吞作用获得感染性<sup>[49-50]</sup>。

最近的研究还表明,部分成熟的传染性 prM<sup>+</sup>病毒颗粒可能加重原发性登革病毒感染的症状<sup>[51]</sup>。但无论何种形式,prM 抗体通常不被认为是具有保护作用的登革抗体,因此本文对此不作详细论述。

## 2.2 靶向 DIII 的抗体

在小鼠体内针对登革病毒不同血清型的特异性高效中和抗体主要靶向 E 蛋白的 DIII 区域,该区域的中和抗体分为两类:一类靶向 DIII 的 A $\beta$ -折叠股,这类抗体具有一定的交叉中和活性,但中和活性较低,代表性的抗体包括 4E11、AB513 等,其体外中和的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)范围为 50–200 ng/mL<sup>[29-30]</sup>;另一类靶向 DIII 的侧脊区,针对这一表位的抗体在小鼠的体内容易被诱导产生,具有非常强的中和活性,但是在人类中较少发现<sup>[6]</sup>。目前已发现的 DIII 侧脊区抗体包括 3H5 (DV2)、2C8 (DV2)、E105 (DV1)、E106 (DV2) 等。

E 蛋白 DIII 区域包含宿主细胞受体结合域,所以该区域的抗体可以通过阻断登革病毒与宿主细胞的结合实现中和效果,此外,DIII 结构域抗体在结合 E 蛋白后还能通过干扰 E 蛋白在膜融合过程中发生的重排进一步阻止病毒进入宿主细胞。值得注意的是,通过比对 3H5 和 2C8 这 2 个针对 DIII 抗体的结构发现,3H5 以更平行于病毒表面的方式结合在 DIII 的侧脊上,这种结合方式使其 Fc 端不像其他抗体那样突起,从而有效降低了 ADE 效应,同时,3H5 在内体酸性环境中仍能稳定结合 E 蛋白 DIII 区域阻止其构象变化,这使得其中和活性显著提高<sup>[6]</sup>,这一发现为治疗性抗体药物的选择提供了一种新的思路。

## 2.3 靶向 DI/DIII 连接处的抗体

2020 年 Dussupt 等<sup>[24]</sup>描述了一类结合新表位的人源抗体(MZ1、MZ2、MZ4、MZ24),这些抗体通过在感染过登革病毒的患者体内接种

寨卡疫苗后, 利用寨卡病毒颗粒和 E 蛋白组合筛选获得, 这类抗体对登革病毒的 4 种血清型都有中和活性, 尤其对 II 型登革病毒和寨卡病毒表现出较好的中和活性, 其中 MZ4 的中和活性最高, 对 II 型登革病毒和寨卡病毒的 IC<sub>50</sub> 达到了 20.9 ng/mL 和 8.3 ng/mL, 与目前发现的登革病毒中和活性最强的抗体相当; 这些抗体的结合部位主要位于 E 蛋白 DI 和 DIII 的连接区域。体外功能实验表明, G182 和 S368 是它的 2 个关键表位, 突变这 2 个残基会显著降低抗体中和活性。推测其中和机制是通过固定 DI 和 DIII 连接区域, 阻止病毒膜融合过程中 E 蛋白三聚化, 进而阻断了膜融合过程。

#### 2.4 E 蛋白二聚体结构依赖的抗原表位抗体

2015 年 Dejnirattisai 等<sup>[36]</sup>从继发性 II 型登革病毒感染患者的浆母细胞中分离出一组中和抗体(A11、B7、C8、C10)。这些抗体可以结合 E 蛋白的二聚体, 同时, 在可溶性 E 蛋白胞外域单体中加入时会诱导 E 蛋白二聚化<sup>[35-36]</sup>, 结构生物学研究表明, 这 4 个抗体的结合部位是一个 E 蛋白二聚体依赖的表位(E dimer epitope, EDE), 它们的结合部位大致相同, 只在是否与 N153 糖基化位点有相互作用方面存在差异, 因此可分为 EDE1 (C8、C10) 和 EDE2 (A11、B7) 这 2 类, 它们的结合部位包括二聚体中 1 个 E 蛋白 DII 上的 B 链和 FL, 以及另一个 E 蛋白 DI 的 150 环和 DIII 上的 A 链, 该表位与 prM 的结合区域高度重合, 因此在登革病毒 4 种血清型中高度保守, 这使得 EDE 抗体具有较强的交叉反应性<sup>[35]</sup>。此外, 这些抗体与病毒颗粒上 E 二聚体的亲和力高于与未完全分离的 prM 蛋白的结合。在部分成熟的病毒颗粒中, EDE 抗体能够取代 prM 结合 FL, 从而加速 prM 的分离, 稳定二聚体结构, 并阻止 E 蛋白在

膜融合过程中发生重排, 进而阻止病毒进入细胞<sup>[32]</sup>。然而并不是所有的 EDE 抗体都具有很强的交叉中和活性。例如 2012 年 de Alwis 等<sup>[32]</sup>发现的抗体 2D22, 其结合位点和上述 EDE 抗体有所不同, 主要覆盖 DIII, 而在相邻 E 蛋白 DII 上的结合位点更少。2D22 是一种 II 型登革病毒特异性抗体, 能够通过锁定登革病毒表面 E 蛋白的二聚体结构实现中和, 但其在 37 °C 下对登革病毒的扩展形态的结合能力有所减弱, 所以中和能力要弱于 A11 这一类 EDE 抗体。

#### 2.5 四级结构依赖的抗体

在针对登革病毒的人类单克隆抗体出现之前, 所有的中和表位均通过鼠源单抗映射<sup>[52]</sup>, 大多数鼠源单克隆中和抗体与 E 蛋白单体结合, 而后续研究发现, 人类针对登革病毒的高效中和抗体在体外实验中无法很好地结合单体 E 蛋白, 却能与病毒颗粒结合, 因此推测, 这些抗体的结合表位依赖于病毒表面 E 蛋白的四级结构<sup>[32]</sup>。2012 年 Teoh 等<sup>[39]</sup>报道了一种名为 14c10 的抗体, 该抗体从一名登革感染患者体内分离得到。体外功能实验表明, 14c10 是 I 型登革病毒的特异性中和抗体, 并且在亚中和浓度下仅对 I 型登革病毒有 ADE 效应, 值得注意的是, 14c10 对 5 种基因型的 I 型登革病毒的中和活性存在差异, IC<sub>50</sub> 从 5 ng/mL 到 1.505 ng/mL 不等; 电镜结构显示, 其结合表位包括一个 E 蛋白上的 DI 和 DI/DII 的铰链区以及相邻 E 蛋白上的 DIII, 尽管结合残基在不同血清型中有所差异, 但在 I 型登革病毒的 5 种基因型中均保守, 不同水平的中和活性可能反映了这些靶残基的暴露程度差异。延时共聚焦显微镜进一步揭示了 14c10 的中和机制, 该抗体可以诱导病毒颗粒聚集, 有效阻断病毒附着在细胞表面, 此外, 一组附着前后中和实验表明, 14c10 在病毒附着细胞后仍然发挥中和作



用,这与结构数据一致,即 14c10 能够锁定病毒表面 E 蛋白的四级结构,阻止膜融合过程中发生的重排。相较于在病毒附着前施加抗体,其在病毒附着后施加时的  $IC_{50}$  显著提高。这些结果表明,14c10 的主要中和机制是阻止病毒附着在宿主细胞上。

2015 年 Fibriansah 等<sup>[40]</sup>报道了一种 III 型登革病毒的特异性中和抗体 5J7,该抗体能够结合登革病毒的 4 种血清型,但对 III 型登革病毒中和活性显著高于其他血清型。体外结合实验表明,5J7 对病毒颗粒的亲和力远高于重组 E 蛋白的亲和力,体外中和实验显示,其对 III 型登革病毒的  $IC_{50}$  低至 5 ng/mL;通过逆转录聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)定量实验进一步验证,5J7 在病毒附着宿主细胞前和附着后均发挥中和作用,且在附着后的抑制效果更为显著。电镜结构显示,5J7 可以同时结合病毒表面的 3 个相邻的 E 蛋白,其结合部位分别位于 DI/DII 的铰链区、DIII 以及 DII 上包括 FL 的末端,这 3 个区域在病毒入侵宿主细胞过程中均发挥重要作用:DI/DII 铰链区参与 E 蛋白的重排,DIII 与受体结合相关,DII 的 FL 介导病毒与宿主细胞膜的融合。由于其独特的结合模式,仅需 60 个 5J7 抗体即可完全覆盖一个登革病毒颗粒表面,从而使其中和活性显著高于其他抗体。此外,2014 年 Fibriansah 等<sup>[38]</sup>报道了一种针对 I 型登革病毒的特异性中和抗体 1F4,其  $IC_{50}$  为 30 ng/mL,附着前后的中和实验表明,1F4 主要通过抑制附着后的过程来中和病毒,结构分析与实验结果一致,1F4 结合 E 蛋白单体的 DI/DII 的铰链区,该表位在膜融合时 E 蛋白的重排过程中起关键作用,尽管 1F4 的表位只涉及单个 E 蛋白,但其只能结合在病毒表面,而不与游离的 E 蛋白单体结合,这表明 E 蛋白某

些表位的结构在病毒颗粒表面与游离状态下存在显著差异。

需要指出的是,四级结构依赖的登革抗体也可能对其他黄病毒有交叉保护作用,例如 SIgN-3C 是一种针对 II 型登革病毒的中和抗体,同时在体内具有中和寨卡病毒的活性。但反过来,几种从寨卡病毒康复感染者体内分离的四级结构依赖的中和抗体(ZIKV-117<sup>[53]</sup>和 Z23 以及 Z3L1<sup>[54]</sup>),尽管对寨卡病毒有很高的中和活性,却对登革病毒的 4 种血清型不具有很好的保护效果。

### 3 总结与展望

迄今为止,尚未有针对登革病毒的单克隆抗体获批用于人类治疗,然而在新型冠状病毒与呼吸道合胞病毒等病原体的抗体疗法开发中积累的经验已证实,单克隆抗体疗法是预防病毒感染的有效手段<sup>[55-56]</sup>。鉴定结合登革病毒保护性表位结合的单克隆抗体,不仅能够加深对感染或免疫过程中体液免疫反应的理解,还可为单克隆抗体治疗策略的制定以及疫苗设计的优化和迭代提供重要信息。疫苗开发面临许多挑战,其中包括明确登革病毒感染期间的关键中和性 B 细胞表位,这是推进疫苗开发的重要基础之一。本文简要综述了登革病毒 E 蛋白的变构机制,并依据抗体结合表位与作用机制的不同,大致将中和抗体分为了 5 类。尽管如此,登革病毒中和抗体的整体特征仍需进一步深入地研究,探索潜在的全新中和表位与机制具有重大意义。同时,值得注意的是,本文对抗体的分类并非固定,一些抗体可能同时结合多个表位,并同时发挥中和作用。

理论上,已鉴定的中和抗体结合表位可通过反向疫苗学呈现,以诱导登革病毒抗体集中于保护性表位上,然而,登革病毒的特异性细

胞进入受体尚未明确, 尽管有多项研究鉴定出了多种黏附因子对于登革病毒入侵细胞中发挥重要作用, 但对其“真实”受体的寻找仍然具有重要科学价值。受限于“真实”受体的不明朗, 对于中和抗体如何阻断病毒与宿主细胞的结合仍无法给出分子层面的可信服的机制解释。这不仅阻碍了对中和抗体作用机制进行深入了解, 也为抗体疗法的开发及基于抗原结构的疫苗设计带来了阻碍。

与其他黄病毒类似, 登革病毒中和抗体通常具有 2 种活性: 中和活性与 ADE 活性。中和作用抑制病毒血症, 从而对登革病毒感染产生保护作用, 而 ADE 则增加病毒血症, 会加重病症。血清型特异性抗体通常表现出较高的中和活性, 但不能完全避免 ADE 风险。一些交叉抗体, 如 2H12、SIgN-3C 等, 在表现出较高中和活性的同时, ADE 效应较小; 此外, 某些四级结构特异的抗体也具有部分交叉中和作用, 且并未显示明显的 ADE 效应。靶向 DIII 的抗体普遍具有强中和活性, 且 ADE 风险较低; 然而, 由于人类几乎不针对 DIII 区域产生中和抗体, 推测该区域并非人类体液免疫反应的主要靶点<sup>[6]</sup>, 在被动免疫治疗中, 靶向非免疫显性表位可以避免对主动体液免疫反应的干扰<sup>[57-58]</sup>, 然而由于登革 4 种血清型的共同流行, DIII 区域的中和抗体大多是血清特异型抗体, 4 种抗体联用的成本较高, 可能并非最佳方案。在此后发现的 A11、B7、C8、C10 这 4 种 EDE 抗体对 4 种血清型的登革病毒均具有强中和活性, 它的结合部位覆盖 FL 表位, 能与 FL 抗体竞争结合 E 蛋白, 有效降低 ADE 风险, 并且有研究表明, 在 37 °C 条件下登革病毒表面 E 蛋白形态会发生改变, 呈现出与 28 °C 时非成熟颗粒不同的形态<sup>[59-60]</sup>, 依赖于病毒表面四级结构的中和抗体的作用效果可能会受此影响, 但是

EDE 抗体只局限于 E 蛋白的二聚体结构, 无论 E 二聚体排列如何, EDE 抗体都能结合并中和病毒, 因此 EDE 抗体有望用于开发被动免疫治疗的抗体药物。

本文重点关注了登革病毒单克隆抗体的中和作用并从分子层面总结了其保护机制。登革病毒疫苗的开发面临 4 种血清型交叉保护能力低以及 ADE 效应带来安全性问题的担忧等主要问题。针对抗体保护机制、受体发现、免疫原性与疫苗开发等领域的深入研究, 将为对抗登革病毒感染的新策略的开发提供帮助。这些研究最终可能会促成更快地开发针对登革病毒感染的治疗方案, 从而限制未来登革病毒的流行传播并降低其发病率和死亡率。

## REFERENCES

- [1] BRADY OJ, HAY SI. The global expansion of dengue: how *Aedes aegypti* mosquitoes enabled the first pandemic arbovirus[J]. Annual Review of Entomology, 2020, 65: 191-208.
- [2] BHATT S, GETHING PW, BRADY OJ, MESSINA JP, FARLOW AW, MOYES CL, DRAKE JM, BROWNSTEIN JS, HOEN AG, SANKOH O, MYERS MF, GEORGE DB, JAENISCH T, WILLIAM WINT GR, SIMMONS CP, SCOTT TW, FARRAR JJ, HAY SI. The global distribution and burden of dengue[J]. Nature, 2013, 496(7446): 504-507.
- [3] 北京市疾病预防控制中心登革热[EB/OL]. [2024-02-18]. <https://www.bjcdc.org/cdmodule/jkzt/jbss/crb/2023/35658.shtml>
- [4] LIU L. Fields virology[J]. 6th edition. Clinical Infectious Diseases, 2014, 59(4): 613.
- [5] LOK SM. The interplay of dengue virus morphological diversity and human antibodies[J]. Trends in Microbiology, 2016, 24(4): 284-293.
- [6] RENNER M, FLANAGAN A, DEJNIRATTISAI W, PUTTIKHUNT C, KASINRERK W, SUPASA P, WONGWIWAT W, CHAWANSUNTATI K, DUANGCHINDA T, COWPER A, MIDGLEY CM, MALASIT P, HUISKONEN JT, MONGKOLSAPAYA J, SCREATON GR, GRIMES JM. Characterization of a potent and highly unusual minimally enhancing antibody directed against dengue virus[J]. Nature Immunology, 2018, 19(11): 1248-1256.
- [7] PINTADO SILVA J, FERNANDEZ-SESMA A. Challenges on the development of a dengue vaccine: a comprehensive review of the state of the art[J]. Journal of General Virology, 2023, 104(3): 001831.

- [8] KALLÁS EG, CINTRA MAT, MOREIRA JA, PATIÑO EG, BRAGA PE, TENÓRIO JCV, INFANTE V, PALACIOS R, de LACERDA MVG, PEREIRA DB, Da FONSECA AJ, GURGEL RQ, COELHO ICB, FONTES CJF, MARQUES ETA, ROMERO GAS, TEIXEIRA MM, SIQUEIRA AM, BARRAL AMP, BOAVENTURA VS, et al. Live, attenuated, tetravalent butantan-dengue vaccine in children and adults[J]. *New England Journal of Medicine*, 2024, 390(5): 397-408.
- [9] WALSH MC R, ALAM MS, PIERCE KK, CARMOLLI M, ALAM M, DICKSON DM, BAK DM, AFREEN S, NAZIB F, GOLAM K, QADRI F, DIEHL SA, DURBIN AP, WHITEHEAD SS, HAQUE R, KIRKPATRICK BD. Safety and durable immunogenicity of the TV005 tetravalent dengue vaccine, across serotypes and age groups, in dengue-endemic Bangladesh: a randomised, controlled trial[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2024, 24(2): 150-160.
- [10] MODIS Y, OGATA S, CLEMENTS D, HARRISON SC. Structure of the dengue virus envelope protein after membrane fusion[J]. *Nature*, 2004, 427(6972): 313-319.
- [11] YU IM, ZHANG W, HOLDAWAY HA, LI L, KOSTYUCHENKO VA, CHIPMAN PR, KUHN RJ, ROSSMANN MG, CHEN J. Structure of the immature dengue virus at low pH primes proteolytic maturation[J]. *Science*, 2008, 319(5871): 1834-1837.
- [12] KLEIN DE, CHOI JL, HARRISON SC. Structure of a dengue virus envelope protein late-stage fusion intermediate[J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(4): 2287-2293.
- [13] CRILL WD, ROEHRIG JT. Monoclonal antibodies that bind to domain III of dengue virus E glycoprotein are the most efficient blockers of virus adsorption to Vero cells[J]. *Journal of Virology*, 2001, 75(16): 7769-7773.
- [14] CHERRIER MV, KAUFMANN B, NYBAKKEN GE, LOK SM, WARREN JT, CHEN BR, NELSON CA, KOSTYUCHENKO VA, HOLDAWAY HA, CHIPMAN PR, KUHN RJ, DIAMOND MS, ROSSMANN MG, FREMONT DH. Structural basis for the preferential recognition of immature flaviviruses by a fusion-loop antibody[J]. *The EMBO Journal*, 2009, 28(20): 3269-3276.
- [15] Da SILVA VOORHAM JM, RODENHUIS-ZYBERT IA, AYALA NUÑEZ NV, COLPITTS TM, van der ENDE-METSELAAR H, FIKRIG E, DIAMOND MS, WILSCHUT J, SMIT JM. Antibodies against the envelope glycoprotein promote infectivity of immature dengue virus serotype 2[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e29957.
- [16] RODENHUIS-ZYBERT IA, van der SCHAAR HM, Da SILVA VOORHAM JM, van der ENDE-METSELAAR H, LEI HY, WILSCHUT J, SMIT JM. Immature dengue virus: a veiled pathogen?[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(1): e1000718.
- [17] PLEVKA P, BATTISTI AJ, JUNJHON J, WINKLER DC, HOLDAWAY HA, KEELAPANG P, SITTISOMBUT N, KUHN RJ, STEVEN AC, ROSSMANN MG. Maturation of flaviviruses starts from one or more icosahedrally independent nucleation centres[J]. *EMBO Reports*, 2011, 12(6): 602-606.
- [18] ROBBIE GJ, CRISTE R, DALL'ACQUA WF, JENSEN K, PATEL NK, LOSONSKY GA, GRIFFIN MP. A novel investigational Fc-modified humanized monoclonal antibody, motavizumab-YTE, has an extended half-life in healthy adults[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, 57(12): 6147-6153.
- [19] LI Y, CHEN ZH, WU LL, DAI LP, QI JX, CHAI Y, LI SH, WANG QH, TONG Z, MA SF, DUAN XM, REN SN, SONG R, LIANG MF, LIU WJ, YAN JH, GAO GF. A neutralizing-protective supersite of human monoclonal antibodies for yellow fever virus[J]. *Innovation (Cambridge (Mass))*, 2022, 3(6): 100323.
- [20] DENG YQ, DAI JX, JI GH, JIANG T, WANG HJ, YANG HO, TAN WL, LIU R, YU M, GE BX, ZHU QY, QIN ED, GUO YJ, QIN CF. A broadly flavivirus cross-neutralizing monoclonal antibody that recognizes a novel epitope within the fusion loop of E protein[J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e16059.
- [21] KOTAKI T, KUROSU T, GRINYO-ESCUER A, DAVIDSON E, CHURROTIN S, OKABAYASHI T, PUIPROM O, MULYATNO KC, SUCIPTO TH, DORANZ BJ, ONO KI, SOEGIJANTO S, KAMEOKA M. An affinity-matured human monoclonal antibody targeting fusion loop epitope of dengue virus with *in vivo* therapeutic potency[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 12987.
- [22] NELSON S, JOST CA, XU Q, ESS J, MARTIN JE, OLIPHANT T, WHITEHEAD SS, DURBIN AP, GRAHAM BS, DIAMOND MS, PIERSON TC. Maturation of West Nile virus modulates sensitivity to antibody-mediated neutralization[J]. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(5): e1000060.
- [23] SMITH SA, de ALWIS AR, KOSE N, HARRIS E, IBARRA KD, KAHLE KM, PFAFF JM, XIANG XX, DORANZ BJ, de SILVA AM, AUSTIN SK, SUKUPOLVI-PETTY S, DIAMOND MS, JR CROWE JE. The potent and broadly neutralizing human dengue virus-specific monoclonal antibody 1C19 reveals a unique cross-reactive epitope on the bc loop of domain II of the envelope protein[J]. *mBio*, 2013, 4(6): e00873-13.
- [24] DUSSUPT V, SANKHALA RS, GROMOWSKI GD, DONOFRIO G, deLa BARRERA RA, LAROCCHA RA, ZAKY W, MENDEZ-RIVERA L, CHOE M, DAVIDSON E, McCracken MK, BRIEN JD, ABBINK P, BAI HJ, BRYAN AL, BIAS CH, BERRY IM, BOTERO N, COOK T, DORIA-ROSE NA, et al. Potent Zika and dengue cross-neutralizing antibodies induced by Zika vaccination in a dengue-experienced donor[J]. *Nature Medicine*, 2020, 26(2): 228-235.
- [25] COCKBURN JJB, NAVARRO SANCHEZ ME, GONCALVEZ AP, ZAITSEVA E, STURA EA, KIKUTI CM, DUQUERROY S, DUSSART P, CHERNOMORDIK LV, LAI CJ, REY FA. Structural insights into the neutralization mechanism of a higher primate antibody against dengue virus[J]. *The EMBO Journal*, 2012, 31(3): 767-779.

- [26] MEN RH, YAMASHIRO T, GONCALVEZ AP, WERNLY C, SCHOFIELD DJ, EMERSON SU, PURCELL RH, LAI CJ. Identification of chimpanzee Fab fragments by repertoire cloning and production of a full-length humanized immunoglobulin G1 antibody that is highly efficient for neutralization of dengue type 4 virus[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78(9): 4665-4674.
- [27] SHRESTHA B, BRIEN JD, SUKUPOLVI-PETTY S, AUSTIN SK, EDELING MA, KIM T, O'BRIEN KM, NELSON CA, JOHNSON S, FREMONT DH, DIAMOND MS. The development of therapeutic antibodies that neutralize homologous and heterologous genotypes of dengue virus type 1[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(4): e1000823.
- [28] HU D, ZHU ZY, LI S, DENG YQ, WU YL, ZHANG NN, PURI V, WANG CY, ZOU P, LEI C, TIAN XL, WANG YL, ZHAO Q, LI W, PRABAKARAN P, FENG Y, CARDOSA J, QIN CF, ZHOU XH, DIMITROV DS, YING TL. A broadly neutralizing germline-like human monoclonal antibody against dengue virus envelope domain III[J]. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(6): e1007836.
- [29] BUDIGI Y, ONG EZ, ROBINSON LN, ONG LC, ROWLEY KJ, WINNETT A, TAN HC, HOBBIE S, SHRIVER Z, BABCOCK GJ, ALONSO S, OOI EE. Neutralization of antibody-enhanced dengue infection by VIS513, a pan serotype reactive monoclonal antibody targeting domain III of the dengue E protein[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2018, 12(2): e0006209.
- [30] ROBINSON LN, THARAKARAMAN K, ROWLEY KJ, COSTA VV, CHAN KR, WONG YH, ONG LC, TAN HC, KOCH T, CAIN D, KIRLOSKAR R, VISWANATHAN K, LIEW CW, TISSIRE H, RAMAKRISHNAN B, MYETTE JR, BABCOCK GJ, SASISEKHARAN V, ALONSO S, CHEN JZ, et al. Structure-guided design of an anti-dengue antibody directed to a non-immunodominant epitope[J]. *Cell*, 2015, 162(3): 493-504.
- [31] FIBRIANSAH G, IBARRA KD, NG TS, SMITH SA, TAN JL, LIM XN, OOI JSG, KOSTYUCHENKO VA, WANG JQ, de SILVA AM, HARRIS E, CROWE JE Jr, LOK SM. DENGUE VIRUS. Cryo-EM structure of an antibody that neutralizes dengue virus type 2 by locking E protein dimers[J]. *Science*, 2015, 349(6243): 88-91.
- [32] de ALWIS R, SMITH SA, OLIVAREZ NP, MESSER WB, HUYNH JP, WAHALA WMPB, WHITE LJ, DIAMOND MS, BARIC RS, CROWE JE Jr, de SILVA AM. Identification of human neutralizing antibodies that bind to complex epitopes on dengue virions[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(19): 7439-7444.
- [33] FERNANDEZ E, DEJNIRATTISAI W, CAO B, SCHEAFFER SM, SUPASA P, WONGWIWAT W, ESAKKY P, DRURY A, MONGKOLSAPAYA J, MOLEY KH, MYSOREKAR IU, SCREATON GR, DIAMOND MS. Human antibodies to the dengue virus E-dimer epitope have therapeutic activity against Zika virus infection[J]. *Nature Immunology*, 2017, 18(11): 1261-1269.
- [34] 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[J]. *Nature*, 2016, 536(7614): 48-53.
- [35] ROUVINSKI A, GUARDADO-CALVO P, BARBA-SPAETH G, DUQUERROY S, VANEY MC, KIKUTI CM, NAVARRO SANCHEZ ME, DEJNIRATTISAI W, WONGWIWAT W, HAOUZ A, GIRARD-BLANC C, PETRES S, SHEPARD WE, DESPRÈS P, ARENZANA-SEISDEDOS F, DUSSART P, MONGKOLSAPAYA J, SCREATON GR, REY FA. Recognition determinants of broadly neutralizing human antibodies against dengue viruses[J]. *Nature*, 2015, 520(7545): 109-113.
- [36] DEJNIRATTISAI W, WONGWIWAT W, SUPASA S, ZHANG XK, DAI XH, ROUVINSKI A, JUMNAINSONG A, EDWARDS C, QUYEN NTH, DUANGCHINDA T, GRIMES JM, TSAI WY, LAI CY, WANG WK, MALASIT P, FARRAR J, SIMMONS CP, ZHOU Z, REY FA, MONGKOLSAPAYA J, et al. A new class of highly potent, broadly neutralizing antibodies isolated from viremic patients infected with dengue virus[J]. *Nature Immunology*, 2015, 16(2): 170-177.
- [37] ZHANG SJ, LOY T, NG TS, LIM XN, CHEW SY V, TAN TY, XU MH, KOSTYUCHENKO VA, TUKIJAN F, SHI J, FINK K, LOK SM. A human antibody neutralizes different flaviviruses by using different mechanisms[J]. *Cell Reports*, 2020, 31(4): 107584.
- [38] FIBRIANSAH G, TAN JL, SMITH SA, de ALWIS AR, NG TS, KOSTYUCHENKO VA, IBARRA KD, WANG JQ, HARRIS E, de SILVA A, CROWE JE Jr, LOK SM. A potent anti-dengue human antibody preferentially recognizes the conformation of E protein monomers assembled on the virus surface[J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2014, 6(3): 358-371.
- [39] TEOH EP, KUKKARO P, TEO EW, LIM APC, TAN TT, YIP A, SCHUL W, AUNG M, KOSTYUCHENKO VA, LEO YS, CHAN SH, SMITH KGC, CHAN AHY, ZOU G, OOI EE, KEMENY DM, TAN GK, NG JKW, NG ML, ALONSO S, et al. The structural basis for serotype-specific neutralization of dengue virus by a human antibody[J]. *Science Translational Medicine*, 2012, 4(139): 139ra83.
- [40] FIBRIANSAH G, TAN JL, SMITH SA, de ALWIS R, NG TS, KOSTYUCHENKO VA, JADI RS, KUKKARO P, de SILVA AM, CROWE JE, LOK SM. A highly potent human antibody neutralizes dengue virus serotype 3 by binding across three surface proteins[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 6341.
- [41] DEJNIRATTISAI W, JUMNAINSONG A, ONSIRISAKUL N, FITTON P, VASANAWATHANA S, LIMPITIKUL W, PUTTIKHUNT C, EDWARDS C,

- DUANGCHINDA T, SUPASA S, CHAWANSUNTATI K, MALASIT P, MONGKOLSAPAYA J, SCREATON G. Cross-reacting antibodies enhance dengue virus infection in humans[J]. *Science*, 2010, 328(5979): 745-748.
- [42] HALSTEAD SB, O'ROURKE EJ. Antibody-enhanced dengue virus infection in primate leukocytes[J]. *Nature*, 1977, 265(5596): 739-741.
- [43] KATZELNICK LC, GRESH L, HALLORAN ME, MERCADO JC, KUAN G, GORDON A, BALMASEDA A, HARRIS E. Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans[J]. *Science*, 2017, 358(6365): 929-932.
- [44] HALSTEAD SB, O'ROURKE EJ. Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1977, 146(1): 201-217.
- [45] HALSTEAD SB. Dengvaxia sensitizes seronegatives to vaccine enhanced disease regardless of age[J]. *Vaccine*, 2017, 35(47): 6355-6358.
- [46] DAI LP, XU K, LI JH, HUANG QR, SONG J, HAN YX, ZHENG TY, GAO P, LU XC, YANG HB, LIU KF, XIA QF, WANG QH, CHAI Y, QI JX, YAN JH, GAO GF. Protective Zika vaccines engineered to eliminate enhancement of dengue infection *via* immunodominance switch[J]. *Nature Immunology*, 2021, 22(8): 958-968.
- [47] SMITH SA, ZHOU Y, OLIVAREZ NP, BROADWATER AH, de SILVA AM, JR CROWE JE. Persistence of circulating memory B cell clones with potential for dengue virus disease enhancement for decades following infection[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(5): 2665-2675.
- [48] BELTRAMELLO M, WILLIAMS KL, SIMMONS CP, MACAGNO A, SIMONELLI L, QUYEN NTH, SUKUPOLVI-PETTY S, NAVARRO-SANCHEZ E, YOUNG PR, de SILVA AM, REY FA, VARANI L, WHITEHEAD SS, DIAMOND MS, HARRIS E, LANZAVECCHIA A, SALLUSTO F. The human immune response to dengue virus is dominated by highly cross-reactive antibodies endowed with neutralizing and enhancing activity[J]. *Cell Host & Microbe*, 2010, 8(3): 271-283.
- [49] HALSTEAD SB. Neutralization and antibody-dependent enhancement of dengue viruses[J]. *Advances in Virus Research*, 2003, 60: 421-467.
- [50] LEI HY, YEY TM, LIU HS, LIN YS, CHEN SH, LIU CC. Immunopathogenesis of dengue virus infection[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2001, 8(5): 377-388.
- [51] DOWD KA, SIROHI D, SPEER SD, VanBLARGAN LA, CHEN RE, MUKHERJEE S, WHITENER BM, GOVERO J, ALESHNICK M, LARMAN B, SUKUPOLVI-PETTY S, SEVVANA M, MILLER AS, KLOSE T, ZHENG AH, KOENIG S, KIELIAN M, KUHN RJ, DIAMOND MS, PIERSON TC. prM-reactive antibodies reveal a role for partially mature virions in dengue virus pathogenesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2023, 120(3): e2218899120.
- [52] SUKUPOLVI-PETTY S, AUSTIN SK, PURTHA WE, OLIPHANT T, NYBAKKEN GE, SCHLESINGER JJ, ROEHRIG JT, GROMOWSKI GD, BARRETT AD, FREMONT DH, DIAMOND MS. Type- and sub-complex-specific neutralizing antibodies against domain III of dengue virus type 2 envelope protein recognize adjacent epitopes[J]. *Journal of Virology*, 2007, 81(23): 12816-12826.
- [53] SAPPARAPU G, FERNANDEZ E, KOSE N, CAO B, FOX JM, BOMBARDI RG, ZHAO HY, NELSON CA, BRYAN AL, BARNES T, DAVIDSON E, MYSOREKAR IU, FREMONT DH, DORANZ BJ, DIAMOND MS, CROWE JE. Neutralizing human antibodies prevent Zika virus replication and fetal disease in mice[J]. *Nature*, 2016, 540(7633): 443-447.
- [54] WANG QH, YANG HB, LIU XQ, DAI LP, MA T, QI JX, WONG G, PENG RC, LIU S, LI JF, LI SH, SONG J, LIU JY, HE JH, YUAN H, XIONG Y, LIAO Y, LI JH, YANG JP, TONG Z, et al. Molecular determinants of human neutralizing antibodies isolated from a patient infected with Zika virus[J]. *Science Translational Medicine*, 2016, 8(369): 369ra179.
- [55] SHI R, SHAN C, DUAN XM, CHEN ZH, LIU PP, SONG JW, SONG T, BI XS, HAN C, WU LN, GAO G, HU X, ZHANG YN, TONG Z, HUANG WJ, LIU WJ, WU GZ, ZHANG B, WANG L, QI JX, et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2[J]. *Nature*, 2020, 584(7819): 120-124.
- [56] SIMOES EAF, GROOTHUIS JR, CARBONELL-ESTRANY X, RIEGER CHL, MITCHELL I, FREDRICK LM, KIMPEN JLL. Palivizumab prophylaxis, respiratory syncytial virus, and subsequent recurrent wheezing[J]. *The Journal of Pediatrics*, 2007, 151(1): 34-42.e1.
- [57] SIEGRIST CA, CORDOVA M, BRANDT C, BARRIOS C, BERNEY M, TOUGNE C, KOVARIK J, LAMBERT PH. Determinants of infant responses to vaccines in presence of maternal antibodies[J]. *Vaccine*, 1998, 16(14/15): 1409-1414.
- [58] SIBER GR, WERNER BG, HALSEY NA, REID R, ALMEIDO-HILL J, GARRETT SC, THOMPSON C, SANTOSHAM M. Interference of immune globulin with measles and rubella immunization[J]. *The Journal of Pediatrics*, 1993, 122(2): 204-211.
- [59] ZHANG XZ, SHENG J, PLEVKA P, KUHN RJ, DIAMOND MS, ROSSMANN MG. Dengue structure differs at the temperatures of its human and mosquito hosts[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(17): 6795-6799.
- [60] FIBRIANSAH G, NG TS, KOSTYUCHENKO VA, LEE J, LEE S, WANG JQ, LOK SM. Structural changes in dengue virus when exposed to a temperature of 37 °C[J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(13): 7585-7592.

(本文责编 郝丽芳)