

## 特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2022-069

## 蚊媒黄病毒传播机制及疫苗与药物研发进展

余茜<sup>1</sup>, 刘建英<sup>2</sup>, 程功<sup>1,2</sup>

(1 清华大学医学院, 北京 100084; 2 深圳湾实验室, 广东 深圳 518132)

**摘要:** 蚊媒病毒可通过蚊虫叮咬在宿主和蚊虫媒介之间传播循环。由蚊媒传播的病毒达数百种之多, 每年可造成数亿人感染, 这些病毒感染可引起严重的人类疾病, 如出血热、关节炎、脑炎和脑膜炎等, 严重者可导致死亡。蚊媒病毒大部分为 RNA 病毒, 其中黄病毒科的蚊媒病毒流行最为广泛, 包括登革病毒、寨卡病毒、黄热病毒、乙型脑炎病毒和西尼罗病毒等。目前虽然已有针对少数蚊媒黄病毒的有效疫苗, 例如预防黄热病病毒和乙型脑炎病毒的疫苗, 但仍然没有针对大多数蚊媒黄病毒的有效预防性疫苗和抗病毒疗法。因此, 全面了解蚊媒黄病毒在脊椎动物宿主与蚊虫之间的感染与传播的机制, 可能为抗蚊媒黄病毒的疫苗与药物研发提供新的思路与目标, 从而使我们能够更有效地预测和控制蚊媒黄病毒在自然界传播和流行, 为应对蚊媒黄病毒造成的公共卫生威胁提供新的解决方案。本文首先描述了蚊媒黄病毒的生物学特性和流行病学特性, 接下来介绍了蚊媒黄病毒的传播途径与媒介模型, 并进一步全面总结了目前对蚊媒黄病毒在宿主和媒介之间传播机制及病毒在蚊虫媒介中的感染机制的研究, 同时针对蚊媒黄病毒的新型疫苗研发和药物筛选策略, 对未来针对蚊媒黄病毒的机制研究与抗病毒策略开发进行了展望。

**关键词:** 蚊媒黄病毒; 蚊虫媒介; 感染与传播; 致病机制; 疫苗与药物

**中图分类号:** Q939.93 **文献标志码:** A

## Research progress in mosquito-borne flaviviruses transmission and the development of vaccines and drugs

YU Xi<sup>1</sup>, LIU Jianying<sup>2</sup>, CHENG Gong<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100084, China; <sup>2</sup>Shenzhen Bay Laboratory, Shenzhen 518132, Guangdong, China)

**Abstract:** Mosquito-borne viruses transmit between hosts and mosquito carriers through mosquito biting, which cause hundreds of millions of infections each year. These viral infections result in serious human diseases such as hemorrhagic fever, biphasic fever, arthritis, encephalitis and meningitis, which can lead to death if proper treatment is not available. Most mosquito-borne viruses are RNA viruses, with the flavivirus family as the most prevalent ones,

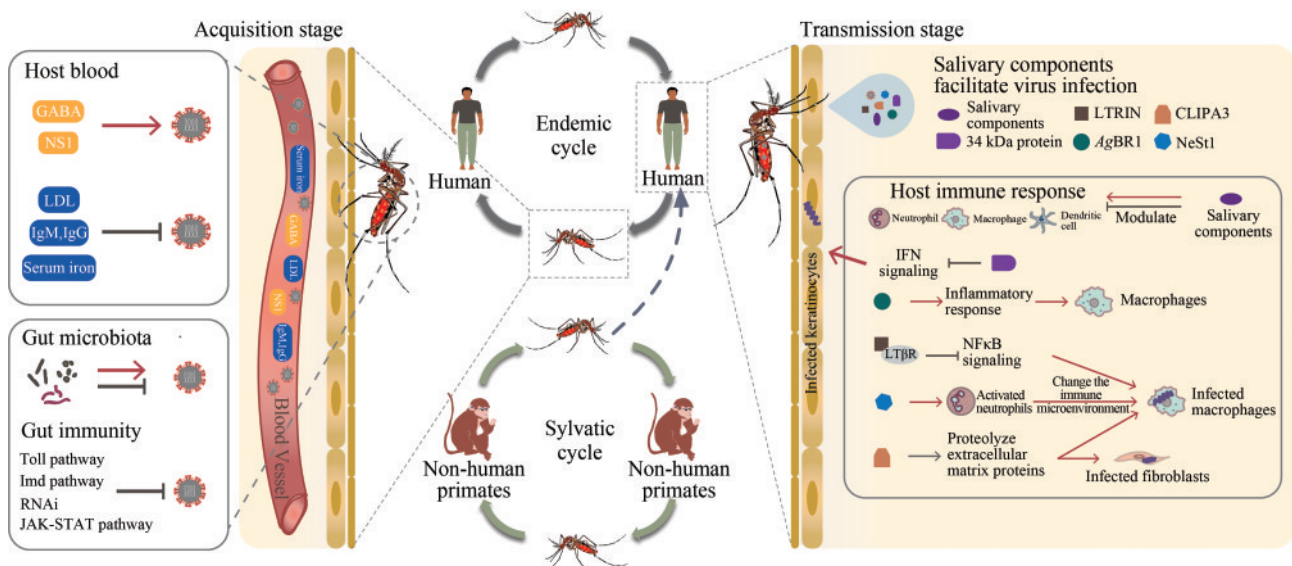
收稿日期: 2022-12-06 修回日期: 2023-01-16

基金项目: 国家自然科学基金 (32188101, 31825001, 81730063); 国家重点研发计划 (2021YFC2300200)

引用本文: 余茜, 刘建英, 程功. 蚊媒黄病毒传播机制及疫苗与药物研发进展[J]. 合成生物学, 2023, 4(2): 347-372

Citation: YU Xi, LIU Jianying, CHENG Gong. Research progress in mosquito-borne flaviviruses transmission and the development of vaccines and drugs [J]. Synthetic Biology Journal, 2023, 4(2): 347-372

including dengue virus, Zika virus, yellow fever virus, Japanese encephalitis virus and West Nile virus. Although there are effective vaccines for a few mosquito-borne flaviviruses, such as those for yellow fever virus and Japanese encephalitis virus, there are still no effective preventive vaccines and antiviral therapies for most mosquito-borne flaviviruses. Therefore, a comprehensive understanding of the mechanisms underlying the infection and transmission of mosquito-borne flaviviruses between vertebrate hosts and mosquitoes would provide insights for vaccine and drug development, enabling us to more effectively predict and control the transmission of mosquito-borne flavivirus and occurrence of the epidemics in the future, and providing solutions for addressing the public health threats posed by arboviruses. In this article, we firstly describe the biological and epidemiological characteristics of mosquito-borne flaviviruses, introduce the transmission routes and carrier models of mosquito-borne flaviviruses, and summarize the current research on the transmission and infection mechanisms of mosquito-borne flaviviruses between hosts and carriers. Furthermore, we highlight the development of novel vaccines and strategies for screening drugs to fight against mosquito-borne flaviviruses, providing an outlook for future research and development of vaccines and antiviral drugs.



**Keywords:** mosquito-borne flavivirus; mosquito vector; infection and transmission; pathogenesis; vaccine and drug

作为一种常见的吸血昆虫，蚊子可通过叮咬传播多种疾病，其中大多疾病的病原体为病毒。携带病毒的蚊虫通过叮咬将病毒传播给宿主，蚊子再通过吸食含病毒的血液来获取病毒，使蚊媒病毒在“宿主-蚊子”之间传播循环。通过蚊虫媒介传播的病毒达数百种之多，每年可造成数亿人感染，这些病毒感染可引起严重的人类疾病，如出血热、关节炎、脑炎和脑膜炎等，严重者可导致死亡<sup>[1]</sup>。蚊媒病毒大部分为RNA病毒，主要属于黄病毒科、披膜病毒科、呼肠孤病毒科和布尼

亚病毒目中的多个科，在自然界中通过蚊虫媒介传播给脊椎动物宿主<sup>[2]</sup>。许多蚊子传播的虫媒病毒已在全世界广泛流行并引发了重大的公共卫生问题，其中黄病毒科的蚊媒病毒流行最为广泛。登革病毒（Dengue virus, DENV）主要由埃及伊蚊和白纹伊蚊传播，分布范围包括全球一百多个国家，是目前流行范围最广的蚊媒病毒。登革病毒每年大约感染4亿人次，世界上超过1/4的人口都生活在登革病毒流行的地区<sup>[3]</sup>。寨卡病毒（Zika virus, ZIKV）是伊蚊传播的蚊媒病毒，

2015年起在美洲大流行并逐渐扩散至全球,成为国际关注的公共卫生事件<sup>[4-5]</sup>。此外,许多嗜神经病毒,如西尼罗病毒(West Nile virus, WNV)和日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)由库蚊传播,在过去几十年中的传播过程中也伴随着高死亡率和发病率<sup>[6-8]</sup>。目前虽然已有针对少数蚊媒黄病毒的有效疫苗,例如预防黄热病病毒和乙型脑炎病毒的特效疫苗,但仍然没有针对大多数蚊媒黄病毒的有效预防性疫苗和抗病毒疗法<sup>[9-10]</sup>。因此,全面了解蚊媒黄病毒在脊椎动物宿主与蚊虫之间的感染与传播的机制,可能为抗蚊媒黄病毒的疫苗与药物研发提供新的思路与目标,从而使我们能够更有效地预测和控制蚊媒黄病毒在自然界传播和流行,为应对蚊媒黄病毒造成的公共卫生威胁提供新的解决方案。

## 1 蚊媒黄病毒概述

### 1.1 蚊媒黄病毒的生物学特性

黄病毒科包括四个属:黄病毒属(*Flavivirus*)、瘟疫病毒属(*Pestivirus*)、肝炎病毒属(*Hepacivirus*)和趋肝性病毒属(*Pegivirus*)。其中由媒介蚊虫传播的黄病毒主要属于黄病毒属,可导致人类和动物宿主的疾病和死亡,其感染症状包括从发烧、全身不适到出血热和致命性脑炎等等<sup>[11]</sup>。黄病毒颗粒的形态为约50 nm的球形,其基因组是一条长度大约10.8 kb的未分段的正义单链RNA,编码3个结构蛋白和7个非结构蛋白,与核衣壳包装在一起,被宿主来源的脂质双分子层包裹,该双分子层上锚定有由2种糖蛋白构成的180个拷贝的包膜糖蛋白<sup>[12]</sup>。黄病毒的基因组只有1个大的开放读码框(open reading frame, ORF)可编码1个大的多聚蛋白。该多聚蛋白从N端到C端的结构域依次为:衣壳蛋白(C)、前体膜蛋白(prM)和包膜蛋白(E),紧随其后的是非结构蛋白NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B和NS5,它们对病毒RNA的复制过程至关重要。黄病毒颗粒由3种病毒结构蛋白(C、prM和E)、宿主脂质包膜和病毒基因组RNA组装而成。E蛋白具有3个结构域(E-DI、E-DII和E-DIII),其在被翻译后不久就会与

前体膜蛋白(prM)相互作用,从而使E蛋白在内质网(ER)中折叠。在成熟的病毒上,E蛋白通过相邻的E-DII之间的相互作用排列成反平行的二聚体<sup>[13]</sup>。每个成熟病毒颗粒中包含90个E蛋白二聚体,并以“人”字形排列,具有二十面体的对称性。衣壳蛋白(C)是一种小的螺旋形蛋白,其表面可以结合病毒核酸或宿主脂质,并辅助病毒基因组被病毒颗粒的包裹<sup>[14]</sup>。

病毒RNA复制发生在受感染细胞的细胞质中<sup>[15]</sup>。在最初感染和释放基因组RNA后,黄病毒的基因组由粗面内质网上的核糖体翻译为一个含有结构和非结构蛋白的病毒多聚蛋白,并被固定在ER膜上。接下来,这个多聚蛋白被宿主信号酶(在内质网腔中)和病毒蛋白酶NS3及其辅助因子NS2B(在细胞质中)切割<sup>[16-17]</sup>。切割后,NS1、prM和E存在于内质网腔中,而C、NS3和NS5则定位于细胞质<sup>[18]</sup>。NS2A/B和NS4A/B是跨膜蛋白,多次跨越内质网膜。在初始切割后,C定位于细胞质,但仍与内质网相连;被翻译成蛋白后,prM和E会很快在内质网腔中形成稳定的异二聚体<sup>[15, 19]</sup>。NS1和prM蛋白在内质网腔中被糖基化,包括登革病毒在内的部分黄病毒的E蛋白也会被糖基化<sup>[20]</sup>。

黄病毒的组装始于病毒基因组RNA的衣壳化,即核衣壳的形成。该过程受膜结合衣壳蛋白和内质网腔中的prM-E异二聚体调节,最初形成未成熟的病毒颗粒<sup>[21]</sup>。未成熟病毒颗粒在被运输到反式高尔基体的过程中,由于pH值的降低,导致prM-E异二聚体内的构象变化并使病毒颗粒表面变平。这使得prM能够被宿主依赖性弗林蛋白酶切割,从而产生成熟的病毒颗粒<sup>[22]</sup>。除了成熟病毒颗粒的释放以外,在黄病毒感染期间经常观察到第2种所谓的亚病毒颗粒的产生。这些更小而光滑的颗粒在内质网中组装,并经历与未成熟病毒颗粒类似的翻译后修饰。亚病毒颗粒缺乏核衣壳,仅由脂质膜以及prM、E蛋白组成,也被称为prM-E颗粒<sup>[15, 23]</sup>。黄病毒E蛋白被认为是黄病毒的免疫显性表位,因为该亚病毒颗粒也能够诱导中和抗体的产生<sup>[15]</sup>。

### 1.2 蚊媒黄病毒的传播流行

蚊媒黄病毒主要由伊蚊属、库蚊属的蚊虫媒

介传播, 可导致人类严重疾病。在过去的70年中, 蚊媒黄病毒在全球范围内迅速而广泛地传播: 登革病毒每年感染大约4亿人, 世界上超过四分之一的人口生活在登革病毒的流行区域<sup>[3]</sup>; 西尼罗病毒疫情2000年暴发, 导致500万人感染; 寨卡病毒疫情2015年暴发, 并迅速扩散到80多个国家和地区, 造成400万人感染<sup>[5, 8]</sup>。尽管有针对黄热病的商用疫苗, 但黄热病病毒的持续传播仍是严峻的公共卫生挑战<sup>[24-26]</sup>。

黄病毒的流行能力涉及众多因素, 这些因素包括其蚊虫媒介的特性、城市化规划不当导致的蚊虫大量繁殖、蚊虫媒介的地理扩张以及广泛的全球旅行等等<sup>[27-28]</sup>。除了节肢动物和人类之外, 黄病毒还可以感染多种脊椎动物, 影响畜牧业的发展<sup>[29-32]</sup>, 这些脊椎动物宿主同时也是蚊媒黄病毒传播中的重要一环<sup>[33]</sup>。

### 1.3 重要致病的蚊媒黄病毒

#### 1.3.1 登革病毒

登革病毒主要通过蚊虫媒介埃及伊蚊传播, 在全球大多数热带和亚热带地区地方性流行。在过去50年中, 登革热感染的全球发病率增加了30多倍, 在埃及伊蚊分布的多个地区登革病毒持续对当地人类健康造成威胁<sup>[34]</sup>。据文献报道, 西太平洋地区的城市登革热发病率显著增加<sup>[35]</sup>。在东南亚, 登革热病例数的增加主要归因于人口的快速增长和城市化, 而在美洲登革病毒的重新出现则被认为与埃及伊蚊的栖息地扩展有关<sup>[36-37]</sup>。除了历史上暴发流行过登革热的地区以外, 登革病毒还成功地传播到了较新的生态环境, 这同样可能是由于埃及伊蚊的分布范围在逐步扩大<sup>[38]</sup>。例如, 自2004年以来, 尼泊尔温带地区也曾出现过多种登革病毒血清型的流行记录<sup>[39-40]</sup>。

另一个令人担忧的现实是, 由白纹伊蚊作为媒介的登革病毒的传播率和规模都在逐渐增加。从历史上看, 白纹伊蚊本来是登革病毒的次要媒介, 很少导致登革病毒的大规模暴发。然而, 近期由白纹伊蚊传播的I型登革病毒(DENV1)导致了人类公共卫生史上最大规模的疫情之一, 2014年中国广州有超过37 000例实验室确诊病例, 说明白

纹伊蚊具有作为登革病毒媒介在城市环境中引发大规模疫情的潜力<sup>[41]</sup>。此外, 由于白纹伊蚊在各种气候条件下生存的能力较强, 其扩散也促进了登革热疫情在全球的重新出现。2014年, 日本东京暴发登革热本土疫情(I型登革病毒引发), 其传播媒介为白纹伊蚊<sup>[42-43]</sup>。而在埃及伊蚊分布已显著减少的欧洲, 白纹伊蚊也进一步对地中海地区构成威胁<sup>[44]</sup>。自2010年以来, 在包括克罗地亚、意大利和法国在内的多个地中海国家及地区, 以及最近在荷兰和西班牙都发现了感染登革病毒的病例。尽管病例数量有限, 但2015年在法国尼姆暴发的疫情表明, 该地区再次出现登革热病例很可能与白纹伊蚊在当地的繁殖相关<sup>[45]</sup>。

#### 1.3.2 寨卡病毒

在2007年雅普岛(Yap island)的疫情暴发之前, 寨卡病毒并不被人们所关注。在此之前, 人们通常认为寨卡病毒的感染表现为轻度发热性疾病<sup>[46]</sup>。寨卡病毒的突然出现和暴发流行为我们示范了一种鲜为人知且研究不足的病原体是如何对全球范围内的人类健康造成严峻威胁的。由于寨卡疫情的暴发, 我们对于寨卡病毒的传播和发病机制的了解在过去几年间呈现指数级增长。

第一个意外发现是寨卡病毒可通过多种传播途径在人与人之间传播。尽管病例数量有限, 但寨卡病毒是第一个被发现在人类之间通过性传播的蚊媒病毒<sup>[47]</sup>。这些观察结果后来得到了流行病学证实和动物模型的补充, 多项研究表明, 在受感染的人类和非人类灵长类动物的生殖器官和体液中检测到了传染性病毒颗粒和病毒基因组<sup>[48]</sup>。然而, 这种传播途径是否有助于寨卡病毒的城市循环和丛林循环中的传播与维持, 仍然有待研究。

在法属波利尼西亚疫情暴发期间, 还出现了从未出现过的严重寨卡病毒感染并发症<sup>[49]</sup>。据研究表明, 格林巴利综合征等神经性疾病很可能由寨卡病毒感染所引起。同时, 孕妇妊娠期间感染寨卡病毒引起的新生儿小头畸形症也被证明和寨卡病毒感染有关<sup>[50]</sup>。人类对寨卡病毒和其他相关黄病毒(例如登革病毒)的免疫反应具有高度交叉反应性, 而登革病毒由于抗体依赖性增强反应(ADE效应), 会造成登革热重症的概率上升。寨

卡病毒的出现是否对登革病毒流行病学造成长期影响仍有待观察<sup>[51]</sup>。

### 1.3.3 黄热病毒

作为黄病毒科的原型成员，黄热病毒在人类中引起病毒性出血热的历史由来已久。除了历史上在非洲流行以外，黄热病毒是人类公共卫生史上第一个达成洲际传播的蚊媒病毒<sup>[52]</sup>。20世纪上半叶对其传播方式的研究和减毒活疫苗的研制，深刻影响了多种蚊媒病毒的流行病学研究。

埃及伊蚊是黄热病毒城市传播的主要媒介物种，这一发现为蚊媒病毒的媒介控制策略提供了重要基础。抑制埃及伊蚊种群成为了控制黄热病的有效策略，随后在美洲根除埃及伊蚊的努力进一步降低了美洲黄热病的发病率，最后一次已知的黄热病城市传播发生在1997年的玻利维亚<sup>[53]</sup>。迄今为止，蚊媒控制仍然是公共卫生部门应对蚊媒病毒疫情暴发的一个重要组成部分。

黄热病毒减毒活疫苗17D的开发是控制蚊媒病毒最为成功的例子之一。第二次世界大战结束时启动的疫苗接种计划使黄热病疫情流行地区的发病率显著下降<sup>[54]</sup>，高覆盖率的疫苗接种成功地抑制了黄热病毒在拉丁美洲的城市传播<sup>[55]</sup>；在西非，由于疫苗覆盖率大幅提高，黄热病发病率同样也显著下降<sup>[56]</sup>。为了有效控制感染者的流动，切断黄热病毒的传播链条，现在一些国家和地区需要提供疫苗接种证明才能入境。尽管病媒控制和疫苗接种已被证明可以有效控制黄热病疫情，但在撒哈拉以南的非洲和拉丁美洲仍有黄热病再次出现的报道<sup>[57]</sup>。由于17D疫苗具有出色的安全性和免疫原性，接种疫苗仍然是控制黄热病的最有效方法，然而此前曾出现过几次全球黄热病疫苗库存的严重短缺<sup>[58]</sup>，所以应用现代疫苗技术，研发新型抗蚊媒病毒策略，将为黄热病防控提供新的手段<sup>[59]</sup>。

### 1.3.4 乙型脑炎病毒

乙型脑炎病毒是亚洲地区病毒性脑炎的首要病因。目前估计有30亿人口生活在有乙型脑炎发病风险的24个国家（主要分布在东南亚区域和西太平洋区域）。三带喙库蚊是乙脑最重要的媒介蚊种，其主要滋生于水塘和漫水稻田中，并在夜间叮咬人畜。乙脑每年发病约67 900例，其中约

51 000例发生在0~14岁的儿童，我国是乙型脑炎病毒的高发区<sup>[60]</sup>。

20世纪60年代我国最早开始使用乙脑灭活疫苗，80年代后期我国开始推广使用乙脑减毒活疫苗SA14-14-2。与黄热病类似，疫苗接种计划显著减少了人类感染乙型脑炎病毒的病例数。尽管在人类中的发病率和死亡率有所下降，乙型脑炎病毒在禽类和猪类等宿主中的丛林循环仍然活跃。乙型脑炎病毒的流行病学也在不断发生新的变化，在多个国家的病例中显示出多种基因型的共同传播。在东亚，属于基因型I进化枝b(GI-b)的毒株已逐渐取代基因型III(GIII)，并成为该地区自20世纪90年代以来流行的主要基因型。经过几十年的隐秘传播，基因型V(GV)也已在该地区被多次检测到。目前，对GI-b和GV的出现并替换掉GIII的分子机制仍然知之甚少，并且实验室研究表明GI-b和GV也可以被媒介（库蚊）有效地传播<sup>[61-62]</sup>，GI-b与GIII的致病性也没有明显差异<sup>[63-66]</sup>。

虽然没有直接证据表明目前获得许可的乙型脑炎疫苗不能提供针对异源基因型乙型脑炎病毒的保护。但数据表明，在疫苗接种率很高的国家中，地方性乙型脑炎病毒基因型的变化与乙型脑炎的人类病例数增加呈现高度相关的关系<sup>[67-68]</sup>。乙型脑炎病毒在自然界中的传播与维持主要是通过丛林循环实现的，因此这也警示我们，不仅要通过疫苗接种预防蚊媒黄热病疫情流行，同时还必须监测蚊媒黄热病毒在丛林循环的动物宿主中的出现与传播<sup>[65-66, 69-71]</sup>。

### 1.3.5 西尼罗病毒

西尼罗病毒最初是从非洲乌干达的一位发热病人体内分离而得名，此后数年间，主要在非洲、欧洲、西亚/中亚等地流行，主要引起人发热，并未引起重视。在1999年西尼罗病毒被传播至美洲后，才出现了危及人类生命的病例报道。此后该病毒在北美洲持续蔓延传播，到2003年全美48个州共报道了9862例感染病例，284例死亡。2012年美国暴发了自2004年以来最严重的西尼罗病毒感染疫情，全美有38个州报告人类感染案例，其中包括41例死亡报告。迄今为止，美国已有至少300万人感染西尼罗病毒，死亡1700多例<sup>[72]</sup>。

西尼罗病毒在自然界中主要通过“蚊虫-鸟-蚊

虫”传播循环而存在下来，库蚊是西尼罗病毒的主要媒介物种，鸟类则是其中间宿主，在欧洲、非洲和亚洲，西尼罗病毒感染引起的鸟类死亡很罕见，但在美洲，该病毒对鸟类具有高致病性，目前已在250多种死亡和濒临死亡的鸟类中检测出该病毒<sup>[73]</sup>。人和马是西尼罗病毒的终末宿主，感染后多数没有症状，约20%的病例表现出西尼罗热和（或）西尼罗病毒性脑炎症状，严重者会影响中枢神经系统，甚至造成死亡<sup>[73]</sup>。

走出非洲的西尼罗病毒不仅建立了新的地方性传播循环，而且还在北美继续演变为不同的基因型。例如1999年在纽约流行的基因型为NY99，随着时间推移，又出现以NA/WN02、SW/WN03为代表的新基因型毒株，2012年在得克萨斯州大暴发的西尼罗病毒就属于NA/WN02基因型<sup>[74]</sup>。在欧洲，西尼罗病毒地方性毒株属于其谱系1a下的一个独立群，该毒株也导致了当地人类发病率的显著增加<sup>[75-76]</sup>。虽然我们仍不清楚西尼罗病毒的不同株系在各个地区快速扩张分布的具体机制，但可以肯定其中一个关键因素是，西尼罗病毒能够感染多种蚊虫来适应不同的生态条件，从而为其扩展传播范围提供有力优势。

## 2 蚊媒黄病毒传播与媒介感染

### 2.1 丛林循环和城市循环

蚊媒黄病毒在自然界的传播过程主要分为两个模式：丛林循环和城市循环（图1）。以登革病

毒为例，登革病毒的城市循环主要涉及人类宿主和埃及伊蚊，以及作为次要媒介的白纹伊蚊和其他伊蚊，而丛林循环则主要发生在非洲或者马来西亚的森林栖息地中，主要涉及非人类灵长类动物宿主和几种不同的伊蚊<sup>[77]</sup>。尽管埃及伊蚊在城市传播中起着更大的作用，但作为次级媒介的白纹伊蚊和一些其他伊蚊在实验室条件下对登革病毒也十分易感。不同的埃及伊蚊和白纹伊蚊的地理种群之间对于病毒的易感性和传播效率也有很大差异<sup>[78-79]</sup>。

在西非的几个国家的多种伊蚊（*Aedes spp.*）蚊种中都能分离出登革病毒<sup>[5, 33]</sup>，基因序列上不同于所有城市循环分离株，并且在进化上被认为是不同的分支<sup>[77, 80]</sup>。在马来西亚，登革病毒的四种血清型在当地的*Aedes niveus*蚊种或非人类灵长类动物中均被检测发现<sup>[81-82]</sup>。有研究认为城市循环中的登革病毒株系是从丛林循环登革病毒株系（该株系在非人类灵长类动物宿主和非埃及伊蚊或白纹伊蚊中进行流行传播）进化而来的。但是，通过对20世纪60年代和70年代在马来西亚热带森林中分离得到的登革1、2、4型血清型病毒的包膜（E）蛋白基因进行完整测序，系统发育分析表明，登革1、2、4型血清型病毒的城市循环毒株谱系的进化过程独立于亚洲-大洋洲地区丛林循环中的登革病毒株系，该分化大约发生在100~1500年前<sup>[81-82]</sup>。

### 2.2 实验室媒介感染与检测

蚊媒黄病毒依赖在脊椎动物宿主和蚊虫之间的传播循环生存，血餐对于蚊媒黄病毒在宿主与

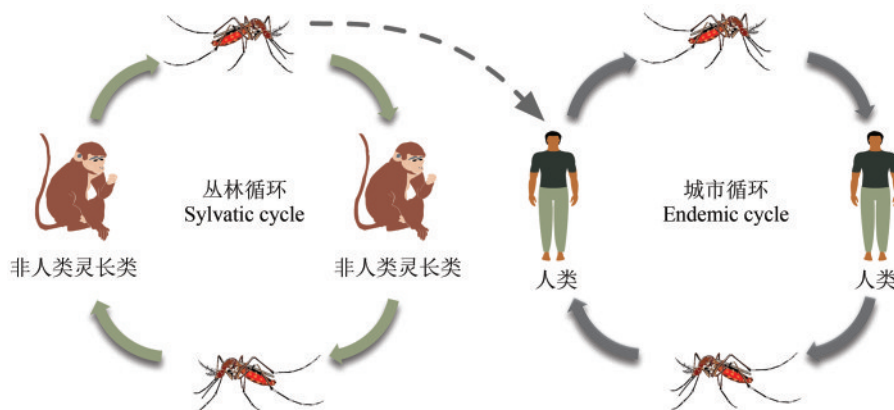


图1 蚊媒黄病毒的丛林循环和城市循环示意图

Fig. 1 Sylvatic and endemic cycles of mosquito-borne flavivirus

媒介之间的传播至关重要<sup>[83]</sup>。作为一种吸血节肢动物，蚊子会偶然接触受病毒感染的宿主，通过血餐吸食宿主血液；随后，宿主血液中的病毒会感染蚊子肠道的上皮细胞，然后扩散至蚊子的血淋巴和唾液腺中，随着下一次叮咬将病毒传播至新的哺乳动物宿主。一般来说，在实验室使用人工膜饲喂血餐时，血餐中的病毒滴度至少需要 $10^4$  PFU/mL（PFU为嗜斑形成单位）才能使蚊子感染<sup>[84]</sup>。值得注意的是，使用感染病毒的小鼠饲喂比用含有相同滴度病毒的人工血餐饲喂的蚊子更容易感染病毒<sup>[85]</sup>。蚊子的中肠是抵御蚊媒病毒入侵的主要屏障，其抗病毒作用主要包括肠道免疫、肠道微生物菌群和肠道物理屏障等<sup>[86]</sup>。与之相反，蚊子体腔中的组织，如血淋巴，对蚊媒病毒具有高度易感性<sup>[87]</sup>。在西尼罗病毒传播过程中，库蚊在试探叮咬和吸食活体宿主时，在血管外注射的病毒剂量从小于5 PFU至 $10^{6.6}$  PFU不等，在血管内注射的病毒剂量约为 $10^{0.7} \sim 10^{3.9}$  PFU<sup>[88]</sup>。一般来说，淡色库蚊每叮咬一口的平均唾液量为4.7 nL，而埃及伊蚊的平均唾液量为6.8 nL<sup>[89]</sup>。研究表明，蚊子唾液腺中的病毒滴度与其叮咬一次的唾液量没有相关性<sup>[89]</sup>。尽管蚊子主要通过吸血感染蚊媒黄病毒并将蚊媒黄病毒再次传播给宿主，但近期的一项研究表明，蚊子幼虫在繁殖期间可能从人类尿液中感染寨卡病毒，这表明某些特定的蚊媒黄病毒可能存在另一种不依赖血液传播的生命周期<sup>[90]</sup>。

目前针对某些蚊媒黄病毒没有有效疫苗或治疗方法，因此只能利用杀虫剂等方法防控蚊虫媒介和防止人类宿主被叮咬以达到控制蚊媒黄病毒疫情的效果。在优化这些针对蚊媒黄病毒的防控手段之前，我们需要准确地评估传播特定黄病毒的蚊子物种以及其易感性，从而根据物种特性制定精确的应对方案。这通常需要在实验室里对蚊虫媒介效能（特定蚊虫物种对特定病毒的易感性和传播能力）进行评估，以及在疫情暴发期间检测自然界感染的野生蚊子种群两种手段相结合来完成。决定特定蚊种传播效率的一个关键因素是外潜伏期，即蚊虫从第一次感染性血餐到再次进食时唾液中出现可以进行传播的病毒的最短时间。外潜伏期对于蚊虫媒介效能的影响非常关键，因

为蚊子的死亡率通常很高，外潜伏期越短蚊子越有可能在死亡前传播病毒。例如，在里约热内卢，主要由埃及伊蚊传播登革病毒和寨卡病毒，其雌性日存活率估计只有71%~89%<sup>[91]</sup>。因此，较短的外潜伏期大大增加了受感染的雌性蚊子在存活期间传播病毒的机会，从而使蚊媒黄病毒的感染链得以延续和放大。

通常情况下，在评估蚊虫媒介效能的实验中，会向雌性蚊子提供呈现病毒血症的实验动物作为血餐，或含有感染性病毒颗粒的人工血餐，其中的病毒滴度类似人类病毒血症水平。这些蚊子在血餐后会被饲养在利于病毒复制的饲养条件下。一定时间后，通过量化蚊子个体或中肠对病毒的感染水平、病毒从中肠扩散至血淋巴血球或体腔的效率（通常通过对其腿部取样，其中包含蚊虫的血淋巴）以及暴露在血淋巴中的唾液腺（或人工收集的唾液）的感染水平来评估其传播潜力。但在实验室中得到的媒介效能数据和实际的流行病学数据之间缺乏一致性。为了克服媒介效能评估中的实验限制（例如人工动物模型和血液来源），研究人员让蚊子直接叮咬自然感染登革病毒的病人，然后检测蚊虫病毒感染情况<sup>[92]</sup>。然而，这种方法存在一定的局限性，毕竟能在疫情流行地区工作并接触到这样的病人群体的研究人员仍是少数。

## 2.3 病毒在蚊虫媒介中的感染机制

### 2.3.1 蚊虫媒介辅助病毒感染机制

蚊虫媒介对蚊媒黄病毒的获取，即病毒从受感染的宿主传播到蚊虫的过程，是病毒生命周期中的重要环节。受感染宿主血液循环中的病毒颗粒通过血餐被带入蚊虫中肠之后，病毒首先需要克服中肠屏障，在肠道上皮细胞中建立感染，然后才能进行系统性扩增。蚊媒病毒在蚊子中肠的上皮细胞中最初复制后，扩散到蚊子血淋巴中。血淋巴循环促进了病毒对组织的系统性入侵，如对脂肪体、卵巢、唾液腺和神经系统的感染<sup>[87]</sup>。蚊媒黄病毒利用多种策略完成对蚊子组织的系统性感染，从而使蚊子能够有效地携带和传播病毒（图2B）<sup>[93]</sup>。研究表明，多种蚊子的C型凝集素在登革病毒和西尼罗病毒感染中起着促进易感性的

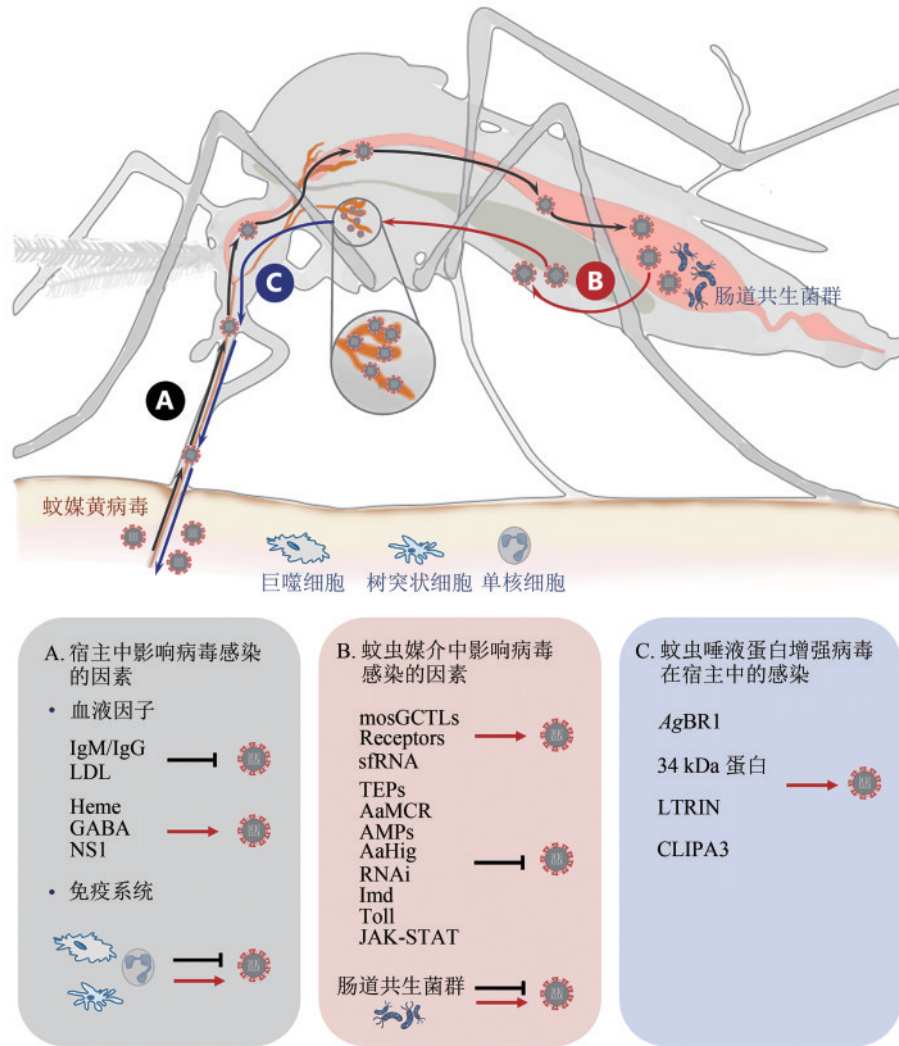


图2 宿主和蚊虫中影响病毒感染与传播的因素与机制

Fig. 2 Factors and mechanisms for virus infection and transmission in hosts and mosquitoes

作用<sup>[94-95]</sup>。一种埃及伊蚊的C型凝集素，即蚊子半乳糖特异性C型凝集素-1(mosGCTL-1)，以钙依赖的方式与西尼罗病毒相互作用。这种“mosGCTL-病毒”复合物随后与蚊子蛋白酪氨酸磷酸酶-1(mosPTP-1)相互作用，后者是埃及伊蚊中人类CD45的同源物，从而使病毒附着在细胞膜上，以便病毒进入<sup>[94]</sup>。此外，另外9个mosGCTL类似物也可以促进登革病毒对埃及伊蚊的感染<sup>[95]</sup>。此外，一些蚊子蛋白，如抗增殖蛋白(prohibitin)<sup>[96]</sup>、热休克相关蛋白<sup>[97]</sup>和层析蛋白结合蛋白<sup>[98]</sup>，可能作为蚊子感染登革病毒的假定受体。一种富含半胱氨酸的毒液蛋白(CRVP379)可以与蚊子的抗增殖蛋白结合，从而促进登革病毒在蚊子中的复制<sup>[99]</sup>。最近，越来越多的证据表明，蚊媒病毒编

码了蚊子体内抗病毒免疫途径的拮抗剂。登革病毒的NS4B蛋白通过调节宿主的RNAi因子来干扰siRNA的处理，从而有利于病毒的复制<sup>[100]</sup>。除了蛋白因子，非编码的亚基因组病毒RNA(sfRNA)也对病毒在蚊子中的复制有贡献。黄病毒在感染宿主细胞期间可以产生丰富的亚基因组病毒RNA。sfRNA通过协助克服蚊子中肠屏障促进了西尼罗病毒在库蚊中的感染和传播率<sup>[101]</sup>。黄病毒的sfRNA直接与RNAi成分相互作用，抑制培养细胞和蚊子中的RNAi通路<sup>[102]</sup>。此外，登革病毒亚基因组RNA抑制蚊子唾液腺中Toll介导的免疫，增加登革病毒的复制，从而促进蚊子对病毒的传播<sup>[103]</sup>。

### 2.3.2 蚊虫媒介抗病毒感染机制

虽然蚊子血淋巴中的细胞和组织通常表现出对蚊媒黄病毒的易感性<sup>[104-105]</sup>，但它们也同时承担着对病毒识别和清除的功能。同时，蚊子也具备许多细胞和体液免疫策略，以防止大量病毒复制引起的病理性后果（图2B）<sup>[86]</sup>。有研究报道，由补体样蛋白介导的细胞外模式识别机制可以抑制埃及伊蚊对黄病毒的感染<sup>[106-107]</sup>。蚊子中的一组含硫酯的蛋白（TEPs）与哺乳动物的C3蛋白有进化上的一致性<sup>[108-109]</sup>。在蚊子的血淋巴中，TEP家族的一个成员被命名为大球蛋白补体相关因子（*AaMCR*），显示出对登革病毒感染的抗病毒免疫活性<sup>[94, 107]</sup>。然而，*AaMCR*不能直接与病毒表面相互作用，*AaMCR*采用带有补体控制蛋白结构域的清道夫受体来结合登革病毒，随后通过诱导多种AMP来抑制病毒感染。在蚊子的神经系统中，一种神经元特异性的补体相关因子，被命名为Hikaru genki（Hig），通过干扰病毒进入细胞来控制登革病毒和乙型脑炎病毒的复制<sup>[106]</sup>。除了体液抗病毒系统外，组织中的免疫信号级联（即RNAi、Toll、Imd和JAK-STAT途径）也可能通过诱导AMP或其他抗病毒效应物来抑制病毒的复制<sup>[110]</sup>。总的来说，由于病毒和蚊虫宿主间的相互协同和拮抗，病毒可以在蚊子的组织中有效地复制和传播，但又不引起对蚊虫明显不利的影响。在自然界中，这种相互适应使蚊子成为许多人类病毒的理想载体。蚊子能承受长期的病毒感染而不产生实质性的有害影响。以前的研究发现，病毒衍生的DNA（vDNA）在蚊子对蚊媒病毒感染的耐受性中起着至关重要的作用，从而促进了蚊媒病毒的传播和扩散<sup>[105]</sup>。事实上，昆虫有一种复杂的基于RNAi的系统免疫，由类似巨噬细胞的血淋巴细胞介导。血淋巴细胞从受感染的细胞中吸收dsRNA，然后通过内源转座子逆转录酶产生病毒衍生的互补DNA（vDNA）。这些vDNA是重新合成病毒的siRNA的模板，siRNA在类似外泌体的囊泡中分泌，而这些vDNA则可以促进由RNAi介导的抗病毒免疫反应<sup>[111-112]</sup>。

### 2.3.3 蚊媒黄病毒与肠道微生物菌群

在血餐之后，蚊子的肠道是蚊媒病毒感染的

关键性位点。错综复杂的肠道生态环境，包括局部免疫和肠道共生微生物，与肠道上皮细胞对蚊媒病毒感染的整个过程密切相关，因此可能在调节蚊媒病毒感染方面发挥着关键作用（图2B）<sup>[113-114]</sup>。研究表明，蚊子肠道中的共生微生物菌群可以调节蚊子肠道上皮细胞中的病毒复制。属于色菌属的共生细菌在埃及伊蚊体内的定植抑制了蚊子对登革病毒的感染<sup>[114-116]</sup>。喂食引入另一种蚊子肠道共生细菌*Proteus sp.*菌株，可上调该蚊虫肠道上皮细胞中抗菌肽基因的表达，从而抑制蚊虫对登革病毒的感染<sup>[117]</sup>。更有意思的是，某些共生肠道细菌的存在促进了蚊媒病毒感染。例如，*Serratia marcescens*是巴西、巴拿马和中国广州登革热流行地区的伊蚊中常见的一种共生细菌。*S. marcescens*通过一种名为SmEnhancin的分泌蛋白促进伊蚊对蚊媒病毒的感染。该蛋白可以消化蚊子肠道上皮的膜结合黏蛋白，从而使登革病毒和寨卡病毒等蚊媒黄病毒克服肠道物理屏障，促进病毒的传播<sup>[113]</sup>。此外，喂食引入另一种沙雷氏菌，即*Serratia odorifera*，也使蚊子对登革病毒的感染高度敏感。其机制可能涉及一种*S. odorifera*的分泌型多肽、蚊子抗增殖蛋白和登革病毒之间的特定相互作用<sup>[118]</sup>。然而，*S. odorifera*多肽是否会在其他蚊媒病毒感染中发挥同样的作用仍然未知。

除了共生细菌外，真菌也可能调节蚊子对蚊媒黄病毒的易感性。最近的一项研究发现，一种塔拉菌属真菌在埃及伊蚊肠道中的定植增强了蚊子对登革病毒的感染，这可能是由于对蚊子肠道中消化酶和胰蛋白酶活性的调控<sup>[119]</sup>。一种昆虫病原真菌*Beauveria bassiana*可以激活Toll途径和JAK-STAT途径控制的效应基因，从而抑制埃及伊蚊对登革病毒的感染<sup>[120]</sup>。另一项研究发现，当埃及伊蚊与一种轻度毒力的黑霉菌（*Metarhizium anisopliae*）共同感染时，其对登革病毒的传播能力会降低<sup>[121]</sup>。综上所述，蚊子对蚊媒黄病毒的感染会受到定植在蚊子肠道内的多种共生微生物的显著影响。

## 2.4 病毒在动物宿主和媒介中循环传播的机制

### 2.4.1 病毒从哺乳动物宿主传播到蚊虫媒介的辅助因子

蚊媒黄病毒对蚊虫的感染能力由多种因素决

定, 如蚊虫肠道免疫和宿主血液中的成分等。作为一种食血昆虫, 蚊子通过血餐从受感染的宿主那里获取大量的血液。因此, 宿主的血液成分很有可能会调节蚊子肠道的免疫和生理状态, 从而调节蚊子对病毒的易感度(图2A)。研究表明, 一些宿主的血液因子能够调节黄病毒在蚊虫肠道上皮细胞中的复制。例如, 宿主血液中针对登革病毒包膜蛋白的免疫球蛋白M和免疫球蛋白G的滴度增加可能使得蚊子的登革病毒感染率降低<sup>[122]</sup>。另一项研究表明, 低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)作为一种高丰度的人类血液成分, 在较为严重登革病毒病例感染期间表达量会降低。从宿主血液获得的LDL可以被蚊子中肠上皮细胞内吞, 并在血液消化过程中积聚在上皮细胞中, 从而抑制埃及伊蚊对病毒的感染<sup>[123]</sup>。此外, 一种血红细胞代谢物可以诱导与氧化还原代谢有关的基因的表达, 从而引发蚊子肠道内能量代谢和免疫基因的大幅表达变化, 以调节蚊虫对病毒的易感度<sup>[124]</sup>。近期一项研究报道, 蚊虫对血液蛋白的消化过程能够通过激活蚊子体内的 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)能信号来促进蚊媒黄病毒的复制。GABA可以通过谷氨酸的脱羧作用生成。蚊子吸食血液后, 血液蛋白质消化产生的谷氨酸会导致GABA大量产生, 从而促进病毒复制<sup>[83]</sup>。除了宿主的血液成分外, 病毒还利用其自身在宿主血液中分泌的非结构蛋白来有效地克服不利的肠道环境, 从而促进病毒的复制。黄病毒非结构性蛋白-1(NS1)是一种病毒编码的非结构性蛋白, 受病毒感染的宿主血液中会大量分泌该蛋白。当蚊子吸食被感染的宿主血液时, 血液中的大量NS1被一起吸食到蚊虫中肠里, 而NS1通过抑制肠道免疫, 例如活性氧的产生以及Janus激酶(JAK)-信号转导和转录激活剂(STAT)途径, 帮助病毒克服肠道免疫屏障, 从而使蚊子能够对黄病毒更加易感<sup>[125-126]</sup>。

#### 2.4.2 病毒从蚊虫媒介传播到哺乳动物宿主的辅助因子

为了吸食宿主血液, 蚊子需要反复穿刺寻找宿主皮肤真皮层内的血管, 与此同时, 感染性病毒颗粒随着蚊虫唾液被注入宿主体内<sup>[127]</sup>。皮肤内成纤维细胞<sup>[128]</sup>和一些免疫细胞, 比如树突状细

胞<sup>[129]</sup>、单核细胞<sup>[130]</sup>和巨噬细胞<sup>[131-132]</sup>, 被认为是感染初期对蚊媒黄病毒最易感的细胞类群。不同的病毒种类对不同的宿主细胞类型有自己的倾向性<sup>[129-130, 132-136]</sup>。在第一轮病毒复制后, 受感染的树突状细胞迁移到淋巴结, 然后在次级淋巴组织中进行第二轮病毒复制<sup>[137]</sup>。随后, 由这些细胞产生的子代病毒扩散到宿主的血液循环中, 进一步传播。有意思的是, 蚊子不仅仅是被动地将病毒从一个人传播至另一个人, 其唾液蛋白与病毒一起被注射到宿主的真皮层中后, 会促进蚊媒黄病毒的复制和扩散(图2C), 从而使病毒血症发展得更加迅速, 导致随后的疾病后遗症也更加严重<sup>[138]</sup>。例如, 给实验动物同时接种西尼罗病毒和蚊子唾液腺提取物, 与单独接种病毒相比, 导致的病毒血症更高, 对神经元侵袭更严重, 死亡率也更高<sup>[138-139]</sup>。与直接注射病毒相比, 人源化小鼠在被登革病毒感染的蚊子叮咬后呈现出更高和更持久的病毒血症, 并表现出更严重的病理表征, 包括发热和血小板减少<sup>[140]</sup>。

唾液成分有利于蚊子有效地获取宿主的血液<sup>[141]</sup>, 同时也通过调节宿主的免疫反应来促进蚊媒病黄毒传播<sup>[141-142]</sup>。近期的一项研究发现, 埃及伊蚊的唾液蛋白AgBR1能够诱导被叮咬小鼠皮肤的早期炎症反应, 从而促进寨卡病毒的传播。针对AgBR1的抗血清可以部分保护感染寨卡病毒的小鼠<sup>[143]</sup>, AgBR1抗血清的被动免疫也抑制了被西尼罗病毒感染的蚊子叮咬的小鼠的早期局部炎症反应, 在感染的早期阶段减轻了西尼罗病毒血症, 延迟了病毒感染引起的体重下降, 并延长了小鼠的中位生存时间<sup>[144]</sup>。

在蚊媒黄病毒感染的早期阶段, 先天免疫反应在限制病毒复制和致病方面起着关键作用。蚊子的几种唾液因子已被确认可以调节人类宿主细胞中的早期病毒复制。蚊子的唾液因子可能通过靶向I型干扰素(IFN)途径影响抗病毒基因的表达, 促进病毒在受感染细胞中的复制。一项体外研究表明, 埃及伊蚊唾液中的一种分子量34 kDa的蛋白可以通过抑制干扰素信号传导来增强登革病毒在人类角质细胞中的复制<sup>[145]</sup>。同时, 蚊子唾液在干扰素受体缺陷型小鼠中同样能够增强登革病毒的免疫原性和致病性<sup>[140, 146]</sup>。除了干扰素途

径, 埃及伊蚊中的一种唾液因子 LTRIN 通过与淋巴毒素- $\beta$ 受体 (LT $\beta$ R) 结合, 干扰 NF- $\kappa$ B 信号和随后产生的下游炎症细胞因子, 从而促进寨卡病毒传播<sup>[147]</sup>。

除了调节免疫反应外, 蚊子唾液还可能通过增强病毒附着、诱导细胞迁移和调节宿主血管通透性而促进宿主对蚊媒黄病毒的感染。研究发现, 埃及伊蚊唾液中的一种名为 CLIPA3 的丝氨酸蛋白酶可通过水解细胞外基质蛋白, 增加病毒对硫酸肝素蛋白聚糖的附着, 诱导细胞迁移, 从而增强登革病毒的感染<sup>[148]</sup>。除了这些直接调节病毒复制的机制外, 蚊子的唾液还可能通过调节血管通透性影响病毒在宿主体内的传播<sup>[149]</sup>。

## 2.5 协助病毒在蚊虫和动物宿主之间传播的进化与突变

蚊媒黄病毒疫情反复出现的一个重要原因是病毒的适应性进化和基因突变使其致病性更强, 并且能够更加广泛地流行。蚊媒病毒属于 RNA 病毒, 缺乏有效的复制纠错机制, 其 RNA 依赖性 RNA 聚合酶 (RDRP) 存在易出错的特性, 使 RNA 病毒倾向于获得更多的遗传多样性<sup>[150]</sup>, 这促进了病毒基因组的高突变率和重组, 蚊媒病毒因此进一步获得对环境变化或宿主免疫的适应性<sup>[151]</sup>。

与其他蚊媒病毒相比, 登革病毒有更多的序列和遗传多样性信息。登革病毒主要由 4 个血清型组成, 尽管最近有第 5 个血清型的报道, 但尚未得到充分证实<sup>[152]</sup>。根据完整的包膜蛋白基因, DENV-1 目前被分为 4~5 个基因型, 包括 1 个丛林支系<sup>[80, 153-154]</sup>。DENV-2 被分为 6 个亚型: 丛林型、美洲型、世界型、亚洲 I 型、亚洲 II 型和亚洲-美洲型<sup>[153, 155]</sup>, 2 个亚洲亚型有时被归纳为 1 个亚洲基因型<sup>[156]</sup>。DENV-3 被分为 4 个基因型 (I~IV)<sup>[157-158]</sup>, 有时包括第 5 个 V 基因型<sup>[153]</sup>。最后, DENV4 被分为 2 个地方性基因型 (I、II) 和 1 个丛林基因型, 在 4 种血清型中表现出最低的遗传多样性<sup>[153, 159-160]</sup>。

感染后与登革出血热/登革休克综合征 (DHF/DSS) 相联系最多的登革病毒血清型为 DENV-2<sup>[161-166]</sup>, 其次是 DENV-1 和 DENV-3<sup>[161, 167-169]</sup>。DENV-4 是临

床表现最温和的, 尽管它也能导致严重的疾病<sup>[164]</sup>。一些系统发育研究已经被用来推断病毒分子进化在驱动流行病方面的作用。对亚洲和美洲基因型 DENV-2 的综合测序发现了几个关键的核苷酸差异, 特别是在包膜蛋白中的第 390 位氨基酸以及 5' 和 3' 非翻译区 (UTR)<sup>[170]</sup>。用美洲基因型中的 D390 替换亚洲基因型中的 N390 后, 病毒在人类巨噬细胞和树突状细胞中的复制会减弱, 而用美洲基因型的 5'UTR 和 3'UTR 替换亚洲基因型的 5'UTR 和 3'UTR, 则会抵消这种减弱现象<sup>[171-172]</sup>。另一个近期的例子发生在尼加拉瓜, 研究发现当地登革热病例的严重程度与原本的 DENV-2 NI-1 支系被 NI-2B 支系取代有关。NI-1 支系起源于亚洲/美洲, NS4B 中 N245S 的单点氨基酸突变使得 NI-1 进化为 NI-2 支系; 而另外 5 个突变 (E 中的 M492V, NS1 中的 L279F, 以及 NS5 中的 K200Q、T290I 和 R401K) 则推动 NI-2 进化为了更具传染性的 NI-2B 支系<sup>[173]</sup>。另一项研究表明, 在 2001 年和 2002 年期间, 中国台湾 DENV-2 导致的严重 DHF 病例有所增加。一年内两次暴发的病毒基因组分析显示, 在 E、NS1、NS4A 和 NS5 基因中总共有 5 个核苷酸变化<sup>[174]</sup>。

在寨卡病毒的进化中同样存在类似的现象, 系统发育研究表明, 寨卡病毒在遗传进化上分为非洲支系和亚洲/美洲支系<sup>[175-176]</sup>。近期在密克罗尼西亚、南太平洋岛屿和美洲暴发的疫情是由亚洲/美洲支系引起的<sup>[175]</sup>。包括登革病毒和寨卡病毒在内的许多黄病毒的 NS1 蛋白是由宿主细胞分泌的, 在急性感染期间大量存在于宿主血液中<sup>[125, 177-179]</sup>。除了协助黄病毒在宿主体内的存活外, 当与病毒一起被蚊虫吸食时, NS1 能够通过调节蚊子中肠免疫屏障而增强病毒在蚊子体内的感染性<sup>[125]</sup>。因此, 影响 NS1 分泌的病毒基因突变可能影响病毒从宿主到媒介的传播。研究发现, 最新的美洲支系寨卡病毒的 NS1 中的 A188V 突变使得宿主中 NS1 分泌能力增强, 从而促进了病毒对蚊子的感染与传播, 可能在一定程度上促成了最近一次寨卡病毒在南美的暴发流行<sup>[126]</sup>。另一项研究还表明, 寨卡病毒衣壳蛋白 (C-T106A) 的突变通过促进寨卡病毒的有效组装, 大大增加了寨卡病毒在其传播周期中的流行潜力。该 T106A 突变使得寨卡病

毒更易于通过蚊虫媒介传播,同时对人类免疫细胞和免疫缺陷小鼠模型的感染力也进一步增强<sup>[180]</sup>。另外一些基因变化则会影响病毒致病性,使病毒在哺乳动物宿主中更具传染性或引起更严重的症状<sup>[181]</sup>。病毒 prM 蛋白的 S139N 突变已被证明会加剧寨卡病毒感染的神经性症状,这一突变可能会提高寨卡病毒对神经祖细胞的感染性并促进细胞凋亡<sup>[182]</sup>。2013 年寨卡病毒传播到美洲之前发生的另一个包膜蛋白中的突变 (E-V473M) 已被发现可以增强病毒的神经毒性、母婴传播和病毒血症,从而促进其城市传播循环<sup>[183]</sup>。

### 3 蚊媒黄病毒疫苗研发

与其他病毒感染一样,疫苗接种是预防和控制黄病毒传播和流行的最重要手段。蚊媒黄病毒的疫苗开发一直具有挑战性,因为交叉免疫和抗体依赖性增强效应的存在,疫苗设计需要针对各种相关血清型都具有保护性。尽管我们已经为其中一些病毒开发了成熟的商用疫苗,但其中的大多数依然为效率较低的灭活疫苗或安全性存有顾虑的减毒活疫苗,在儿童及具有免疫能力缺陷人群上使用存在较高风险。黄病毒疫苗开发的另一个挑战是,最需要这些疫苗的相对贫困的地区,因为经济落后,难以负担昂贵的疫苗和接种费用,

只有降低疫苗生产、保存和运输成本才能使这些目标人群获得有效保护<sup>[184]</sup>。

#### 3.1 经典的蚊媒黄病毒疫苗策略

目前已有针对三种蚊媒黄病毒的疫苗获得许可,分别是针对 YFV、JEV 和 DENV (表 1)。

针对 YFV 的 17D 疫苗是一种源自野生型毒株 Asibi 的减毒活疫苗,自 20 世纪 30 年代以来一直用于预防黄热病<sup>[189]</sup>。就 JEV 而言,有三种可用的疫苗:减毒活疫苗、灭活疫苗和嵌合体活疫苗<sup>[190]</sup>。Dengvaxia 是针对 DENV 的唯一获得上市许可的疫苗。它是一种使用 ChimeriVAX 系统构建的减毒活疫苗,将编码 YFV 17D 的 prM 和 E 蛋白的基因替换为其他黄病毒的基因。对于 Dengvaxia 来说,通过结合四种嵌合病毒的四价疫苗,可同时诱导产生针对登革病毒的四个血清型的抗体,对不同血清型同时提供保护<sup>[191]</sup>。

虽然对这些蚊媒黄病毒疫苗的安全性和有效性已经进行了一定程度的评估和验证,但仍会出现严重的罕见不良反应。黏液性和神经性疾病为接种 YFV 疫苗后的罕见案例<sup>[192-195]</sup>,而小鼠脑源性 JEV 疫苗与罕见但严重的脑脊髓炎案例有关<sup>[196]</sup>。就登革热疫苗 Dengvaxia 而言,其疗效低于预期(47%~83%,取决于血清类型)<sup>[197]</sup>。此外,在血清阴性的 2~8 岁儿童中应用该疫苗与患严重登革

表 1 针对蚊媒黄病毒的预防性疫苗

Table 1 Preventive vaccines against mosquito-borne flavivirus

疫苗名称	疫苗种类	抗原	针对病毒种类	疫苗开发阶段	开发者
17D	减毒活疫苗	E 蛋白	YFV	已获得许可	[185]
SA14-14-2	减毒活疫苗	E 蛋白	JEV	已获得许可	CDIBP
TV003	减毒活疫苗	prM-E	DENV 1~4	临床三期	NIAID
DENVax	减毒活疫苗	prM-E	DENV 1~4	临床三期	Takeda
TDENV-PIV	灭活疫苗	C-prM-E-NS1/3/5	DENV 1~4	临床一期	GSK, Fiocruz & WRAIR
ZPIV	灭活疫苗	E 蛋白	ZIKV	临床一期	WRAIR/NIAID
CYD-TDV(Dengvaxia)	重组疫苗	prM-E	DENV 1~4	已获得许可	Sanofi Pasteur
ChimeriVax-WN02	重组疫苗	prM-E	WNV	临床二期	Sanofi Pasteur
V180	重组疫苗	E 蛋白	DENV 1~4	临床一期	Merck
ZIKV-VLP	VLPs	C-prM-E-NS2B/NS3	ZIKV	动物实验	[186]
DENV-VLP	VLPs	prM-E	DENV 1~4	临床前	[187]
GLS-5700	DNA 疫苗	prM-E/NS1	ZIKV	临床一期	Inovio GeneOne
IgEsig-prM-E-LNP	mRNA 疫苗	prM-E	ZIKV	动物实验	[188]

热的风险具有相关性<sup>[198]</sup>。因此,提高现有疫苗的安全性和有效性,以及开发针对其他既定或新出现的蚊媒黄病毒的新疫苗,研发新型的抗蚊媒抗病毒疫苗策略,仍然是该领域的一项重要挑战。

黄病毒之间的血清学交叉反应是疫苗设计需要考虑的另一个关键因素。由于结构上的相似性,感染黄病毒时产生的抗体可以与黄病毒属的其他成员发生交叉反应。异型抗体不能中和病毒,但可引起抗体依赖性感染增强(ADE)。在ADE中,非中和的交叉反应抗体将病毒引向目标细胞,促进病毒复制,在某些情况下,将会导致更严重的疾病。不同黄病毒的细胞和动物模型<sup>[199-202]</sup>,以及登革热和寨卡病毒的人类模型<sup>[203-204]</sup>都表明了ADE现象的存在,这也显示出开发一种重要蚊媒黄病毒的多联通用疫苗的重要性。

正如最近的COVID-19大流行所表明的那样,仅有有效的疫苗是不够的,可制造性、稳定性、成本以及疫苗从研发到投入使用的周期,都决定着该疫苗能否及时有效控制蚊媒黄病毒的传播。目前黄病毒疫苗的产量很低,原因是蚊媒黄病毒属于包膜病毒,其病毒颗粒在常温下的稳定性低,灭活和减毒疫苗的生产工艺开发较为复杂。理想的疫苗应该具有较低的成本,在环境温度下较为稳定,以便于分配到需要疫苗的地区。因此,我们亟需研发一些新型蚊媒黄病毒疫苗策略来克服这些困难。

## 3.2 新型的黄病毒疫苗策略

### 3.2.1 DNA、RNA和亚单位疫苗

DNA疫苗是一种通过注射含有编码抗原的DNA序列的基因工程质粒来预防疾病的技术,通过DNA在细胞内的转录和表达,直接产生抗原,从而引起保护性免疫反应。这种疫苗平台易于制造,无需冷链的环境温度且模仿病毒的自然感染。目前,有一种针对登革病毒的DNA疫苗,通过在质粒载体中克隆prM和E基因的插入,将编码抗原的重组质粒基因引入抗原呈递细胞(APCs),与MHC I类分子结合,诱导保护性细胞毒性免疫反应<sup>[205]</sup>,但是其诱导的抗体滴度很低,免疫反应也不像预期的那样活跃。研究发现,Vaxfectin(一种

基于脂质的佐剂)可以提高免疫原性,并提高疫苗对登革病毒感染的保护<sup>[206]</sup>。寨卡病毒疫苗GLS-5700,也是使用DNA疫苗作为骨架,编码寨卡病毒的prM和E蛋白,从而诱导体内产生高滴度抗体<sup>[9]</sup>。mRNA疫苗是另一种新兴的高效疫苗,在防控此次新冠疫情过程中发挥重要作用。IgEsig-prM-E-LNP是一种mRNA疫苗,通过化学方法将修饰过的核苷1-甲基假尿苷、5'和3'非翻译区与poly-A、人IgE(信号序列IgEsig)和核苷修饰过的ZIKV全长prM-E基因合成,并封装在脂质纳米颗粒(LNPs)内,将这种疫苗应用于感染寨卡病毒的小鼠,可以有效诱发免疫反应<sup>[207]</sup>。DNA和mRNA这两种核酸疫苗的另一个优势是:它们的生产不借助细胞,可以在短时间内非常大规模地生产;其生产周期也明显短于传统的灭活和减毒疫苗。同时,核酸疫苗在设计时更容易有针对性地针对目标抗原进行改造,来提高其抗原活性,降低副作用。但这些疫苗也存在着一些短板。DNA疫苗本身是否会和宿主基因组发生重组,其安全性还需要得到进一步的验证。目前常用的mRNA疫苗的保存和运输均需要保持低温冷链,其成本较高。

减毒疫苗和病毒载体疫苗只需要一次或者少量次数接种,就可以产生高免疫源性,并且其在成本方面有着得天独厚的优势。在蚊媒黄病毒的疫苗设计中,腺病毒、委内瑞拉马脑炎病毒、减毒麻疹病毒等多种病毒载体都有被应用。将西尼罗病毒毒株的E蛋白嵌合到麻疹病毒中,免疫动物后可以检测到西尼罗病毒的分泌E蛋白和抗西尼罗病毒抗体<sup>[208]</sup>。同样,4种血清型的登革病毒的E蛋白也可以被克隆到麻疹病毒中。这种疫苗策略可以同时产生针对4种血清型登革病毒的中和抗体,并能够刺激增强免疫反应,起到较好保护效果<sup>[209]</sup>。腺病毒载体也被应用到寨卡病毒疫苗设计中,该嵌合病毒疫苗可以刺激寨卡病毒E蛋白的表达,促进在体内产生免疫球蛋白,并且可以通过胎盘屏障以保护胎儿<sup>[9]</sup>。

病毒样颗粒(virus-like particles, VLP)疫苗可以模仿真实病毒的组织结构和构象,针对具有多蛋白结构的病毒依然有效,且其缺乏病毒的基因组,安全性较高。VLP疫苗具有良好的免疫特性,诱

导先天性和适应性免疫反应的能力出色。寨卡病毒 VLP 疫苗的颗粒由三个结构蛋白和两个非结构蛋白 (NS2B/NS3) 组成, 这种 VLP 可以自我组装成与寨卡病毒类似的颗粒, 在动物上免疫后, 可以诱导出高滴度的中和抗体<sup>[186]</sup>。除了保持原生表位结构外, VLP 疫苗还可以通过修改某些基因来减少交叉反应。在一种针对登革病毒的 VLP 疫苗设计中, 通过共同表达 prM 和 E 蛋白, 设计了针对四种血清型的 VLP, 并在 E 蛋白的融合环中引入了 F108A 突变以减少 ADE 现象<sup>[187]</sup>。

### 3.2.2 传播阻断疫苗

传播阻断疫苗已被证明是一种颇有前途的新型疫苗设计手段。与传统疫苗不同的是, 利他性传播阻断疫苗旨在防止包括蚊子在内的病媒在接种疫苗的脊椎动物宿主身上获得血餐时被感染, 从而降低媒介对病毒的传播能力。传播阻断疫苗

主要针对病毒在蚊虫媒介内发育阶段表面表达的分子或针对蚊虫媒介自身表达的能够帮助病毒感染蚊虫的分子, 设计能阻断蚊媒病毒完成其传播循环的疫苗<sup>[210]</sup>。为了控制蚊媒病毒疾病的传播, 传播阻断疫苗需要被接种到脊椎动物宿主体内, 产生针对性的抗体来阻断病毒从受感染宿主向蚊虫媒介的传播, 来保护其他动物免受感染。

传播阻断疫苗的优势是, 它们能够在病毒进入蚊子的早期阶段阻断病毒, 相比其他策略而言更具有可持续性和生态清洁性, 不会破坏物种间的生态平衡。对蚊媒病毒高发地区的人群和进入该地区的人进行传播阻断疫苗的免疫, 可以有效防控病毒向其他低风险地区的扩散。表2中列举出了目前可作为针对蚊媒黄病毒的传播阻断疫苗开发目标的潜在候选因子及其在蚊子对病毒感染过程中的功能。

表2 蚊媒黄病毒传播阻断疫苗开发的潜在候选因子

Table 2 Candidates of transmission-blocking vaccines for mosquito-borne flavivirus

候选因子	蚊虫媒介	对病毒感染的影响	机制与功能
$\alpha$ -葡萄糖苷酶	埃及伊蚊	抑制 DENV-2 的复制和传播	$\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂能够抑制内质网出芽病毒的复制 <sup>[211]</sup> ; 这种酶在蚊子中肠细胞被 DENV-2 的感染中起作用 <sup>[212]</sup>
羧肽酶 B-1 (CPB-1)	埃及伊蚊	抑制蚊子中的 DENV-2 感染	与沉积在内质网腔内膜上的 E 蛋白结合并抑制 DENV-2 的 RNA 封装, 从而抑制病毒在内质网上的出芽, 并可能干扰未成熟病毒向高尔基体网络的运输 <sup>[210,213]</sup>
富含半胱氨酸的毒液蛋白	埃及伊蚊	登革病毒感染蚊虫的过程中需要这种蛋白	与抑制素蛋白相互作用; 登革病毒对埃及伊蚊的感染需要这种蛋白质 <sup>[99]</sup>
糖蛋白 (Glycoproteins)	蚊虫	阻断目标病毒	潜在的普遍疾病传播阻断目标 <sup>[214]</sup>
热休克蛋白 60 (Hsp60)	埃及伊蚊	Hsp60 蛋白影响 DENV-2 对蚊虫的感染	感染了 DENV-2 的埃及伊蚊中 Hsp60 的水平上调 <sup>[212]</sup>
蚊子半乳糖特异性 C 型凝集素-1 (mosGCTL-1)	埃及伊蚊、致倦库蚊	抑制蚊子中西尼罗病毒的感染	参与西尼罗病毒对细胞的附着过程, 免疫沉淀实验表明, 该蛋白与西尼罗病毒颗粒相互作用并结合 <sup>[94]</sup>
蚊子半乳糖特异性 C 型凝集素-3 (mosGCTL-3)	埃及伊蚊	抑制蚊子中登革病毒的感染	通过与登革病毒 E 蛋白相互作用调节病毒进入细胞的过程 <sup>[95]</sup>
蚊子半乳糖特异性 C 型凝集素-7 (mosGCTL-7)	埃及伊蚊	mosGCTL-7 介导乙型脑炎病毒感染	mosGCTL-7 在乙型脑炎病毒 E 蛋白的 N154 位点与 N-聚糖结合。病毒感染需要 mosGCTL-7 能够识别病毒 N-聚糖 <sup>[215]</sup>
蚊子半乳糖特异性 C 型凝集素-15, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 32	埃及伊蚊	抑制蚊子中登革病毒的感染	通过与登革病毒 E 蛋白相互作用调节病毒进入细胞的过程 <sup>[95]</sup>
蚊子蛋白酪氨酸磷酸酶-1 (mosPTP-1)	伊蚊、库蚊	mosPTP-1 参与西尼罗病毒和乙型脑炎病毒的内吞作用	分泌蛋白 mosGCTL-1 通过与病毒相互作用并将其桥接至 mosPTP-1 细胞受体来增强西尼罗病毒感染 <sup>[216]</sup> ; mosPTP-1 可促进埃及伊蚊中的乙型脑炎病毒感染 <sup>[215]</sup>
唾液蛋白	埃及伊蚊	抑制或增强登革病毒感染	参考 2.3.2 节

## 4 抗蚊媒黄病毒药物研发

黄病毒的10个蛋白质中,每一个都在病毒的生命周期中起着关键的作用,包括病毒进入、复制、组装和成熟等过程。因此,我们可以根据蛋白质在病毒生命周期中的特点和作用以及病毒蛋白质的结构来开发抗蚊媒黄病毒的药物。

### 4.1 针对蚊媒黄病毒进入与膜融合过程的抑制剂

病毒进入宿主细胞是病毒产生后代的必要条件,因为它自身没有足够的生理条件使其复制。因此,我们可以针对这一过程开发阻止病毒进入宿主细胞的抑制剂,这种策略可能规避药物的细胞毒性和对细胞周期造成的各种负面影响,并使病毒颗粒更容易被免疫系统清除。通常这一类抑制剂针对的病毒蛋白目标为E蛋白,由于E蛋白同时在黄病毒进入细胞和膜融合两个过程中发挥作用,如果病毒在进入过程中逃逸了药物的抑制作用,针对E蛋白的抑制剂还有可能抑制病毒复制生命周期的下游步骤,例如在胞内的释放等。

E蛋白的主要构象变化和明确的分子结构,包括融合前和融合后的构象变化,为抑制剂的设计提供了几个目标。E蛋白有三个结构域,这三个结构域由一个多肽连接体连接,多肽连接体的铰链运动在病毒未成熟期、成熟期和融合期转化时E蛋白的重新排列中起着关键作用。在E蛋白的D I和D II结构域之间的铰链处存在一个配体结合囊。在DENV-2的晶体结构中观察到,*N*-辛基- $\beta$ -D-葡萄糖苷( $\beta$ -OG)位于E蛋白单体的D I和D II之间的一个疏水区域。附近的环路(ki)通过运动控制口袋变形,口袋的开口可以结合 $\beta$ -OG区域,靠近疏水区的ki环路和ij环路形成盐桥和氢键,协助D II融合肽向宿主膜迁移,从而促进融合。因此,设计一个能与口袋结合形成更多氢键的小分子,可能会在E蛋白到达高尔基体之前引起E蛋白的构象变化<sup>[217]</sup>,从而破坏病毒颗粒的合成和E介导的膜融合,例如JBJ-01-162-04就是针对病毒这个阶段设计的药物<sup>[218]</sup>。

另一个研究采用分子对接程序筛选了通过 $\beta$ -OG口袋对E蛋白进行抑制的135 000个化合物,

对筛选结果的最优化合物进行了针对DENV和YFV的抗病毒效力和细胞毒性测试,发现几种抑制剂在多种黄病毒中显示出微摩尔级别的抑制作用<sup>[219]</sup>。这些结果表明,对化合物库进行程序虚拟筛选是发现新型抑制剂的有效方法。此外,这项研究说明以保守的蛋白质区域为目标,有可能开发出针对多种黄病毒感染的有效广谱抑制剂。

除了针对 $\beta$ -OG口袋区域,还可以针对E蛋白的茎干区设计多肽抑制剂。茎干区是E蛋白C端的一个保守区域,与其在膜上的锚定区域相邻,对黄病毒的膜融合过程至关重要<sup>[220]</sup>。有一种多肽抑制剂是根据融合后的登革病毒E蛋白的保守序列的特异性结合相互作用而设计的,该区域的E蛋白序列在登革病毒的四种血清型和其他黄病毒中都相对保守。这些多肽抑制剂的独特之处在于,它们是在病毒进入细胞后对其进行抑制,而不阻止病毒的进入过程。据推测,这些多肽能够在病毒被细胞吞入时与病毒体非特异性地结合,当病毒颗粒暴露在低pH值环境中导致构象重排时,能够诱发这些多肽对病毒的紧密结合,并抑制膜融合过程<sup>[221]</sup>。另一项类似的研究通过经生物学验证的计算机建模技术,根据登革病毒E蛋白的融合前结构进行了类似的设计<sup>[222]</sup>。这些研究不仅验证了针对黄病毒膜融合过程的抑制剂是潜在的抗病毒药物,也验证了计算机辅助小分子从头设计的有效性。

### 4.2 针对蚊媒黄病毒复制过程的抑制剂

病毒蛋白酶深度参与了病毒基因组RNA的复制过程,因此被认为是重要的抗病毒药物目标之一。NS3蛋白酶是一种类似胰蛋白酶的丝氨酸蛋白酶,是黄病毒中最重要的蛋白酶之一,在基因组复制和蛋白质折叠中发挥重要作用。同时,NS2B的一个短肽是NS3蛋白酶的重要辅助因子。NS3的活性位点上有三个重要的氨基酸,即丝氨酸、组氨酸和天冬氨酸<sup>[223]</sup>。高通量筛选已被用于筛选可能改变活性位点残基的底物肽,从而有可能抑制黄病毒。通过高通量筛选设计的底物肽的抑制剂已经在西尼罗病毒感染中进行了测试。化合物3是一种具有有限细胞毒性的异生抑制剂,可以阻断NS2B和NS3之间的相互作用<sup>[224-225]</sup>。NS3解旋酶可

以打开两条核酸链之间的氢键。设计抑制双链螺旋结构功能的药物的一种方法是破坏 ATP 酶的活性，阻断能量供应。人们发现，ST-610 抑制剂符合这一标准，可以在登革病毒的细胞培养过程中阻止 ATP 水解<sup>[226]</sup>。另一种抗病毒策略是阻止黄病毒与核酸的结合。目前已设计出一种含有蛋白酶切割位点的短肽，可竞争性地抑制 NS3 蛋白酶的活性，从而有可能使 NS3 的解旋酶活性失效<sup>[227]</sup>。伊维菌素是一种广泛的抗蠕虫病药物，以病毒的解旋酶为目标，已被证明是黄热病毒复制的抑制剂<sup>[228]</sup>。此外，短肽酶可以作为抑制性配体来覆盖黄病毒蛋白的某些特定位点，如含有赖氨酸头和精氨酸头的二价抑制剂。这些抑制剂可以占据 NS3 的特定结合位点，从而阻碍病毒基因的复制<sup>[229]</sup>。

黄病毒 NS5 蛋白的 N 端甲基转移酶和 C 端 RNA 依赖性 RNA 聚合酶 (RdRp)，对病毒的基因组稳定、高效翻译和免疫逃逸至关重要，是非常合适的药物开发靶向目标<sup>[230-232]</sup>。甲基转移酶是一个紧凑的球形折叠单体，其核心域为 S-腺苷蛋氨酸 (SAM) 提供结合位点，参与黄病毒 RNA 的加帽过程<sup>[233]</sup>。结构表征进一步显示在 SAM 附近有一个保守的疏水口袋，这也为设计抑制剂提供了更多的可能性<sup>[234]</sup>。研究发现，4-氟苯基，一种 SAM 类似物，通过占据 cap-0-腺苷的碱基和 2'-OH 的结合位点，阻断了 RNA 的甲基化，抑制了病毒的复制<sup>[235-236]</sup>。NSC12155 也是一种甲基转移酶抑制剂，它与甲基转移酶的 SAM 辅助因子位点结合，对 WNV、DENV-2 和 JEV 发挥抑制作用<sup>[237-238]</sup>。黄病毒的 NS5-RdRp 也被认为是一个主要的药物靶点，RdRp 的 C 端含有三个结构域，控制模板结合通道的体积，以确保 ssRNA 能进入活性位点，其中 RdRp 附近的起始环的变构口袋也可用于设计针对变构调节的小型核苷抑制剂，以抑制病毒复制<sup>[235]</sup>。索非布韦 (sofosbuvir) 是一种核苷酸聚合酶抑制剂，在临床上用于对抗与寨卡病毒有亲缘关系的丙型肝炎病毒<sup>[239]</sup>。细胞培养和动物的相关研究证明，索非布韦也可以抑制黄热病毒和寨卡病毒感染过程中的病毒基因组复制<sup>[239-240]</sup>。此外，索非布韦的早期治疗增加了寨卡病毒感染动物的存活率，而且还可以防止急性神经运动障碍的发

生。FDA 已批准这种药物作为 NS5B 聚合酶核苷的抑制剂来用于治疗寨卡病毒感染<sup>[241]</sup>。通过高通量技术筛选，研究人员发现另外一些 RdRp 的抑制剂，并对其结构进行了优化合成<sup>[242]</sup>。化合物 21 是一种 2,6-二氨基嘌呤衍生物，它修饰了喹啉和 2,6-二氨基嘌呤支架，具有抗三种血清型登革病毒的活性<sup>[227]</sup>。此外，NS5 和 NS3 之间的相互作用同样也是开发针对黄病毒的抗病毒治疗策略的一个可能的突破点。

### 4.3 针对蚊媒黄病毒组装过程的抑制剂

在黄病毒颗粒到达高尔基体之前，prM 和 E 蛋白在宿主细胞中被弗林蛋白酶切割，从而使病毒颗粒成熟。目前，一种已开发的多基化合物，4-(胍甲基)-苯乙酰-Arg-Tle-Arg-4-aminobenzoenylamide (MI-1148)，是一种弗林蛋白酶抑制剂，它能够阻断其酶活作用，从而抑制病毒感染<sup>[243]</sup>。这种抑制剂的效力很高，但动物实验表明，该抑制剂的治疗范围有限。根据这一设计思路，通过优化一些关键的氨基酸，将来可能会开发出更成熟的弗林蛋白酶抑制剂，用于广谱阻断多种黄病毒的成熟。此外，低 pH 值会触发 E 蛋白的重排，使病毒成熟并释放到血清中。基于这一机制，研究人员可能会设计一些药物，使环境呈碱性并破坏病毒的成熟。根据这一概念设计的氯喹，已经在抗疟方面发挥作用<sup>[244]</sup>。同样地，使细胞内部环境碱化的药物可以用来阻断病毒 E 蛋白的重排，来抑制病毒核酸的释放。硫酸莪术是根据高六价硫酸肝素的机理设计的小分子，可以作用于 E 蛋白的细胞受体和宿主靶蛋白，有效阻止病毒的进入，并有效避免 ADE 现象<sup>[226]</sup>。

目前，针对黄病毒 C 蛋白及其在病毒颗粒组装过程中作用的抗病毒化合物相对较少。在一项关于登革病毒的研究中，一种新型的低分子量化合物 ST-148 可以与 C 蛋白相互作用并阻断其活性，可以在 AG129 小鼠的非致死性登革病毒感染模型中显著降低小鼠的病毒血症和重要器官中的病毒载量<sup>[245]</sup>。有研究表明，抑制黄病毒 C 蛋白可以显著阻碍病毒颗粒的产生<sup>[246]</sup>。因此，黄病毒 C 蛋白也是一个潜在的有效抗病毒药物开发目标。

#### 4.4 针对蚊媒黄病毒免疫逃逸过程的抑制剂

为了应对宿主的抗病毒机制，病毒已经进化出特定的策略，通过产生或结合补体调节分子或补体阻断分子来逃逸补体的中和作用<sup>[247]</sup>。蚊媒黄病毒的NS1是一种保守的糖蛋白，被认为在黄病毒的免疫逃逸中发挥作用，它可以通过与补体蛋白及其调节因子的相互作用，减弱三种通路的补体激活<sup>[248]</sup>。在登革病毒的NS1中发现了两个保守的N-糖基化位点N130和N207。相关研究表明，当这两个糖基化位点发生突变时，NS1在血清中的分泌会减少，其功能变得不稳定<sup>[249]</sup>。因此，NS1的这两个糖基化位点作为潜在的目标，可能为药物设计提供新的思路。例如，(n-nonyl)-deoxygalactonojirimycin (NN-DNJ) 为一种亚胺糖衍生物，可以显著减少NS1的分泌<sup>[249-250]</sup>。NS1蛋白六聚体结构的中间是一个疏水通道，朝向内侧的疏水键很高，其中富含脂质，可能协助病毒感染宿主细胞。近年来，关于疏水通道和脂质导向的抗病毒目标的研究取得了很大进展。烟酸（一种甘油酯合成抑制剂）可以改善复制复合体微环境中的脂质浓度，并通过二酰基甘油酰转移酶2的作用减少NS1的分泌。与烟酸一样，甲基- $\beta$ -环糊精（一种胆固醇分离化合物）也可以改善复制复合物微环境中的脂质浓度，减少NS1的分泌<sup>[250]</sup>。

## 5 总结与展望

由于缺乏安全高效的抗病毒药物和疫苗，我们仍然面临着蚊媒黄病毒疫情反复暴发的威胁。世界上大多数地区的人们都处于黄病毒流行的区域，人们的生命安全、公共卫生和全球经济均受到蚊媒黄病毒的影响。因此，我们有必要提前研究不同蚊媒黄病毒的流行特点、传播途径和传播与感染机制，从而针对性地研发抗病毒策略、储备抗病毒药物。蚊媒黄病毒生命周期中的病毒的传播和获取是决定病毒在自然界中生存的两个重要基本过程。蚊媒黄病毒在和宿主千百万年的适应性进化中，演化出一系列策略来有效地完成其生命周期。在蚊媒黄病毒传播过程中，蚊子唾液在病毒的传播和发病机制中发挥着关键性的作用，

宿主中的多种因子也会辅助蚊媒病毒的感染和传播。尽管近年来，针对蚊媒黄病毒传播机制的研究取得了一系列的进展，宿主因子和媒介因子在蚊媒黄病毒感染传播过程中的精细调控机制仍有待全面了解。不同的蚊媒黄病毒由不同的蚊种特异性携带和传播的原因，蚊媒病毒在昆虫上的受体，蚊媒病毒如何调控蚊虫媒介的各项生理功能来促进病毒的传播和扩散等等问题也依然没有得到有效解答。蚊虫媒介体表和中肠中的共生微生物如何与蚊媒病毒以及蚊虫自身免疫相互作用，共同维持稳态的机制也依然在重重迷雾之中。更深入地研究蚊媒黄病毒生命周期中的各个重要阶段中的重要宿主、媒介和病毒因子，解析它们发挥作用的机制和相互之间的调控网络，能帮助人们更好地理解蚊媒黄病毒的生存策略，为蚊媒病毒传染病的防控提供新的重要靶点和思路。即使在目前全球新冠疫情的影响下，我们也仍然应该时刻保持警惕，加快针对蚊媒黄病毒的基础研究和抗病毒疫苗、药物的开发，为未来潜在的新发和突变蚊媒黄病毒流行做好准备。

## 参 考 文 献

- [1] WEAVER S C, REISEN W K. Present and future arboviral threats[J]. *Antiviral Research*, 2010, 85(2): 328-345.
- [2] WEAVER S C, BARRETT A D T. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(10): 789-801.
- [3] BHATT S, GETHING P W, BRADY O J, et al. The global distribution and burden of dengue[J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 504-507.
- [4] GAO G F. From "A"IV to "Z"IKV: attacks from emerging and re-emerging pathogens[J]. *Cell*, 2018, 172(6): 1157-1159.
- [5] PIERSON T C, DIAMOND M S. The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes[J]. *Nature*, 2018, 560(7720): 573-581.
- [6] GOULD E A, SOLOMON T. Pathogenic flaviviruses[J]. *Lancet*, 2008, 371(9611): 500-509.
- [7] HEGDE N R, GORE M M. Japanese encephalitis vaccines: immunogenicity, protective efficacy, effectiveness, and impact on the burden of disease[J]. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2017, 13(6): 1320-1337.
- [8] ROEHRIG J T. West Nile virus in the United States - a historical perspective[J]. *Viruses*, 2013, 5(12): 3088-3108.
- [9] COLLINS M H, METZ S W. Progress and works in progress:

- update on flavivirus vaccine development[J]. *Clinical Therapeutics*, 2017, 39(8): 1519-1536.
- [10] SCHERWITZL I, MONGKOLSAPAJA J, SCREATON G. Recent advances in human flavivirus vaccines[J]. *Current Opinion in Virology*, 2017, 23: 95-101.
- [11] SIMMONDS P, BECHER P, BUKH J, et al. ICTV virus taxonomy profile: Flaviviridae[J]. *The Journal of General Virology*, 2017, 98(1): 2-3.
- [12] BURKE D S, MONATH T P. *Flavivirus*[M]//KNIPE D M and HOWLEY P M. *Field virology*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 852-921.
- [13] KOSTYUCHENKO V A, LIM E X Y, ZHANG S J, et al. Structure of the thermally stable Zika virus[J]. *Nature*, 2016, 533(7603): 425-428.
- [14] BYK L A, GAMARNIK A V. Properties and functions of the dengue virus capsid protein[J]. *Annual Review of Virology*, 2016, 3(1): 263-281.
- [15] MUKHOPADHYAY S, KUHN R J, ROSSMANN M G. A structural perspective of the flavivirus life cycle[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(1): 13-22.
- [16] FALGOUT B, PETHEL M, ZHANG Y M, et al. Both nonstructural proteins NS2B and NS3 are required for the proteolytic processing of dengue virus nonstructural proteins[J]. *Journal of Virology*, 1991, 65(5): 2467-2475.
- [17] PERERA R, KUHN R J. Structural proteomics of dengue virus[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2008, 11(4): 369-377.
- [18] WESTAWAY E G, MACKENZIE J M, KHROMYKH A A. Kunjin RNA replication and applications of Kunjin replicons[J]. *Advances in Virus Research*, 2003, 59: 99-140.
- [19] LORENZ I C, ALLISON S L, HEINZ F X, et al. Folding and dimerization of tick-borne encephalitis virus envelope proteins prM and E in the endoplasmic reticulum[J]. *Journal of Virology*, 2002, 76(11): 5480-5491.
- [20] KELLY E P, GREENE J J, KING A D, et al. Purified dengue 2 virus envelope glycoprotein aggregates produced by baculovirus are immunogenic in mice[J]. *Vaccine*, 2000, 18(23): 2549-2559.
- [21] ZHANG Y, CORVER J, CHIPMAN P R, et al. Structures of immature flavivirus particles[J]. *The EMBO Journal*, 2003, 22(11): 2604-2613.
- [22] YU I M, ZHANG W, HOLDAWAY H A, et al. Structure of the immature dengue virus at low pH primes proteolytic maturation[J]. *Science*, 2008, 319(5871): 1834-1837.
- [23] LORENZ I C, KARTENBECK J, MEZZACASA A, et al. Intracellular assembly and secretion of recombinant subviral particles from tick-borne encephalitis virus[J]. *Journal of Virology*, 2003, 77(7): 4370-4382.
- [24] FARIA N R, KRAEMER M G, HILL S C, et al. Genomic and epidemiological monitoring of yellow fever virus transmission potential[J]. *Science*, 2018, 361(6405): 894-899.
- [25] INGELBEEN B, WEREGEMERE N A, NOEL H, et al. Urban yellow fever outbreak-Democratic Republic of the Congo, 2016: towards more rapid case detection[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2018, 12(12): e0007029.
- [26] LING Y, CHEN J, HUANG Q, et al. Yellow fever in a worker returning to China from Angola, March 2016[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2016, 22(7): 1317-1318.
- [27] YOUNG P. *Arboviruses: a family on the move*[M]// HILGENFELD R, VASUDEVAN S G. *Dengue and Zika: control and antiviral treatment strategies*. Singapore: Springer, 2018: 1-10.
- [28] TABACHNICK W J. Climate change and the arboviruses: lessons from the evolution of the dengue and yellow fever viruses[J]. *Annual Review of Virology*, 2016, 3(1): 125-145.
- [29] MANSFIELD K L, HERNÁNDEZ-TRIANA L M, BANYARD A C, et al. Japanese encephalitis virus infection, diagnosis and control in domestic animals[J]. *Veterinary Microbiology*, 2017, 201: 85-92.
- [30] MCLEAN R G, UBICO S R, BOURNE D, et al. West Nile virus in livestock and wildlife[M]//MACKENZIE J, BARRETT A, DEUBEL V eds. *Japanese encephalitis and West Nile viruses*. 2002, 267:271-308.
- [31] VENTER M. Assessing the zoonotic potential of arboviruses of African origin[J]. *Current Opinion in Virology*, 2018, 28: 74-84.
- [32] ZHANG W, CHEN S, MAHALINGAM S, et al. An updated review of avian-origin Tembusu virus: a newly emerging avian Flavivirus[J]. *The Journal of General Virology*, 2017, 98(10): 2413-2420.
- [33] PANDIT P S, DOYLE M M, SMART K M, et al. Predicting wildlife reservoirs and global vulnerability to zoonotic Flaviviruses[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 5425.
- [34] WHO. Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020[EB/OL].[2022-12-01]. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75303/9789241504034\\_eng.pdf;jsessionid=F594B0B8ED14E465810AE5871FE084F6?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75303/9789241504034_eng.pdf;jsessionid=F594B0B8ED14E465810AE5871FE084F6?sequence=1).
- [35] GUO C C, ZHOU Z X, WEN Z H, et al. Global epidemiology of dengue outbreaks in 1990—2015: a systematic review and meta-analysis[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 317.
- [36] STRUCHINER C J, ROCKLÖV J, WILDER-SMITH A, et al. Increasing dengue incidence in Singapore over the past 40 years: population growth, climate and mobility[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136286.
- [37] BRATHWAITE DICK O, SAN MARTÍN J L, MONTOYA R H, et al. The history of dengue outbreaks in the Americas[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2012, 87(4): 584-593.
- [38] DHIMAL M, GAUTAM I, JOSHI H D, et al. Risk factors for

- the presence of chikungunya and dengue vectors (*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*), their altitudinal distribution and climatic determinants of their abundance in central Nepal[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2015, 9(3): e0003545.
- [39] PANDEY B D, RAI S K, MORITA K, et al. First case of Dengue virus infection in Nepal[J]. *Nepal Medical College Journal: NMCJ*, 2004, 6(2): 157-159.
- [40] MALLA S, THAKUR G D, SHRESTHA S K, et al. Identification of all dengue serotypes in Nepal[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14(10): 1669-1670.
- [41] YANG L, CHEN Y, YAN H C, et al. A survey of the 2014 dengue fever epidemic in Guangzhou, China[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2015, 4(9): e57.
- [42] KOBAYASHI D, MUROTA K, FUJITA R, et al. Dengue virus infection in *Aedes albopictus* during the 2014 autochthonous dengue outbreak in Tokyo metropolis, Japan[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2018, 98(5): 1460-1468.
- [43] 関なおみ, 岩下裕子, 本涼子, ほか. 東京都における Dengue 熱国内感染事例の発生について[J/OL]. *日本公衆衛生雑誌*, 2015, 62(5): 238-250[2022-12-01]. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jph/62/5/62\\_14-102/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jph/62/5/62_14-102/_article/-char/ja/).  
SEKI N, IWASHITA Y, MOTO R, et al. An autochthonous outbreak of dengue type 1 in Tokyo, Japan 2014[J/OL]. *Japanese Journal of Public Health*, 2015, 62(5): 238-250[2022-12-01]. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jph/62/5/62\\_14-102/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jph/62/5/62_14-102/_article/-char/ja/).
- [44] DUCHEYNE E, TRAN MINH N N, HADDAD N, et al. Current and future distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in WHO Eastern Mediterranean Region[J]. *International Journal of Health Geographics*, 2018, 17(1): 4.
- [45] SUCCO T, LEPARC-GOFFART I, FERRÉ J B, et al. Autochthonous dengue outbreak in Nîmes, south of France, July to September 2015[J]. *Eurosurveillance*, 2016, 21(21): pii=30240.
- [46] DUFFY M R, CHEN T H, HANCOCK W T, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2009, 360(24): 2536-2543.
- [47] FOY B D, KOBYLINSKI K C, FOY J L C, et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17(5): 880-882.
- [48] KURSCHIEDT F A, MESQUITA C S S, DAMKE G M Z F, et al. Persistence and clinical relevance of Zika virus in the male genital tract[J]. *Nature Reviews Urology*, 2019, 16(4): 211-230.
- [49] OEHLER E, WATRIN L, LARRE P, et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome — case report, French Polynesia, December 2013[J]. *Euro Surveill*, 2014, 19(9): 20720.
- [50] HALSTEAD S B. Chapter 3-Chikungunya and Zika Disease [M/OL]// *Chikungunya and Zika Viruses*. HIGGS S, VAN-LANDINGHAM D L, POWERS A M, ed. Pittsburgh: Academic Press, 2018: 69-85[2022-12-01]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128118658000039>.
- [51] VALIANT W G, LALANI T, YUN H C, et al. Human serum with high neutralizing antibody titers against both Zika and dengue virus shows delayed *in vitro* antibody-dependent enhancement of dengue virus infection[J]. *Open Forum Infectious Diseases*, 2018, 5(7): ofy151.
- [52] BRYANT J E, HOLMES E C, BARRETT A D T. Out of Africa: a molecular perspective on the introduction of yellow fever virus into the Americas[J]. *PLoS Pathogens*, 2007, 3(5): e75.
- [53] VAN DER STUYFT P, GIANELLA A, PIRARD M, et al. Urbanisation of yellow fever in Santa Cruz, Bolivia[J]. *Lancet*, 1999, 353(9164): 1558-1562.
- [54] BARRETT A D T. Yellow fever live attenuated vaccine: a very successful live attenuated vaccine but still we have problems controlling the disease[J]. *Vaccine*, 2017, 35(44): 5951-5955.
- [55] SHEARER F M, MOYES C L, PIGOTT D M, et al. Global yellow fever vaccination coverage from 1970 to 2016: an adjusted retrospective analysis[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2017, 17(11): 1209-1217.
- [56] GARSKE T, VAN KERKHOVE M D, YACTAYO S, et al. Yellow fever in Africa: estimating the burden of disease and impact of mass vaccination from outbreak and serological data[J]. *PLoS Medicine*, 2014, 11(5): e1001638.
- [57] MONATH T P, VASCONCELOS P F C. Yellow fever[J]. *Journal of Clinical Virology*, 2015, 64: 160-173.
- [58] BARRETT A D T. Yellow fever in Angola and beyond — the problem of vaccine supply and demand[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2016, 375(4): 301-303.
- [59] CASEY R M, HARRIS J B, AHUKA-MUNDEKE S, et al. Immunogenicity of fractional-dose vaccine during a yellow fever outbreak - final report[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2019, 381(5): 444-454.
- [60] ZHENG Y Y, LI M H, WANG H Y, et al. Japanese encephalitis and Japanese encephalitis virus in mainland China[J]. *Reviews in Medical Virology*, 2012, 22(5): 301-322.
- [61] DE WISPELAERE M, DESPRÈS P, CHOUMET V. European *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* are competent vectors for Japanese encephalitis virus[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2017, 11(1): e0005294.
- [62] HUANG Y J S, HETTENBACH S M, PARK S L, et al. Differential infectivities among different Japanese encephalitis virus genotypes in *Culex quinquefasciatus* mosquitoes[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2016, 10(10): e0005038.
- [63] SCHUH A J, WARD M J, LEIGH BROWN A J, et al. Dynamics of the emergence and establishment of a newly dominant genotype of Japanese encephalitis virus throughout Asia[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(8): 4522-4532.

- [64] FAN Y C, LIN J W, LIAO S Y, et al. Virulence of Japanese encephalitis virus genotypes I and III, Taiwan[J/OL]. *Emerging Infectious Diseases*, 2017, 23(11): 1883-1886[2022-12-01]. <https://doi.org/10.3201/eid2311.161443>.
- [65] PARK S L, HUANG Y J S, LYONS A C, et al. North American domestic pigs are susceptible to experimental infection with Japanese encephalitis virus[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 7951.
- [66] RICKLIN M E, GARCÍA-NICOLÁS O, BRECHBÜHL D, et al. Japanese encephalitis virus tropism in experimentally infected pigs[J]. *Veterinary Research*, 2016, 47: 34.
- [67] SUNWOO J S, JUNG K H, LEE S T, et al. Reemergence of Japanese encephalitis in South Korea, 2010-2015[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2016, 22(10): 1841-1843.
- [68] HEFFELFINGER J D, LI X, BATMUNKH N, et al. Japanese encephalitis surveillance and immunization-Asia and Western Pacific regions, 2016[J]. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2017, 66(22): 579-583.
- [69] NEMETH N, BOSCO-LAUTH A, OESTERLE P, et al. North American birds as potential amplifying hosts of Japanese encephalitis virus[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2012, 87(4): 760-767.
- [70] LYONS A C, HUANG Y J S, PARK S L, et al. Shedding of Japanese encephalitis virus in oral fluid of infected swine[J]. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 2018, 18(9): 469-474.
- [71] RICKLIN M E, GARCÍA-NICOLÁS O, BRECHBÜHL D, et al. Vector-free transmission and persistence of Japanese encephalitis virus in pigs[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 10832.
- [72] CDC. West Nile virus final cumulative maps & data for 1999-2021 [EB/OL]. [2023-01-10]. <https://www.cdc.gov/westnile/stats-maps/cumMapsData.html>.
- [73] PETERSEN L R, BRAULT A C, NASCI R S. West Nile virus: review of the literature[J]. *JAMA*, 2013, 310(3): 308-315.
- [74] DAVIS C T, EBEL G D, LANCIOTTI R S, et al. Phylogenetic analysis of North American West Nile virus isolates, 2001-2004: evidence for the emergence of a dominant genotype[J]. *Virology*, 2005, 342(2): 252-265.
- [75] MAY F J, DAVIS C T, TESH R B, et al. Phylogeography of West Nile virus: from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(6): 2964-2974.
- [76] REITER P. West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future[J]. *Euro Surveillance*, 2010, 15(10): 19508.
- [77] GUBLER D J, TRENT D W. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas[J]. *Infectious Agents and Disease*, 1993, 2(6): 383-393.
- [78] GUBLER D J, NALIM S, TAN R, et al. Variation in susceptibility to oral infection with dengue viruses among geographic strains of *Aedes aegypti*[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1979, 28(6): 1045-1052.
- [79] GUBLER D J, ROSEN L. Variation among geographic strains of *Aedes albopictus* in susceptibility to infection with dengue viruses[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1976, 25(2): 318-325.
- [80] RICO-HESE R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature[J]. *Virology*, 1990, 174(2): 479-493.
- [81] RUDNICK A. Studies of the ecology of dengue in Malaysia: a preliminary report[J]. *Journal of Medical Entomology*, 1965, 2(2): 203-208.
- [82] RUDNICK A, MARCHETTE N J, GARCIA R. Possible jungle dengue — recent studies and hypotheses[J]. *Japanese Journal of Medical Science & Biology*, 1967, 20 Suppl: 69-74.
- [83] ZHU Y B, ZHANG R D, ZHANG B, et al. Blood meal acquisition enhances arbovirus replication in mosquitoes through activation of the GABAergic system[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 1262.
- [84] SOUZA-NETO J A, POWELL J R, BONIZZONI M. *Aedes aegypti* vector competence studies: a review[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2019, 67: 191-209.
- [85] ROUNDY C M, AZAR S R, ROSSI S L, et al. Variation in *Aedes aegypti* mosquito competence for Zika virus transmission[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2017, 23(4): 625-632.
- [86] CHENG G, LIU Y, WANG P H, et al. Mosquito defense strategies against viral infection[J]. *Trends in Parasitology*, 2016, 32(3): 177-186.
- [87] FRANZ A W E, KANTOR A M, PASSARELLI A L, et al. Tissue barriers to arbovirus infection in mosquitoes[J]. *Viruses*, 2015, 7(7): 3741-3767.
- [88] STYER L M, KENT K A, ALBRIGHT R G, et al. Mosquitoes inoculate high doses of West Nile virus as they probe and feed on live hosts[J]. *PLoS Pathogens*, 2007, 3(9): 1262-1270.
- [89] SANCHEZ-VARGAS I, HARRINGTON L C, BLACK W C IV, et al. Analysis of salivary glands and saliva from *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* infected with chikungunya viruses[J]. *Insects*, 2019, 10(2): 39.
- [90] DU S Y, LIU Y, LIU J Y, et al. *Aedes* mosquitoes acquire and transmit Zika virus by breeding in contaminated aquatic environments[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 1324.
- [91] MACIEL-DE-FREITAS R, CODEÇO C T, LOURENÇO-DE-OLIVEIRA R. Daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2007, 76(4): 659-665.
- [92] WHITEHORN J, KIEN D T H, NGUYEN N M, et al. Comparative susceptibility of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* to dengue virus infection after feeding on blood of viremic hu-

- mans: implications for public health[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2015, 212(8): 1182-1190.
- [93] BARROWS N J, CAMPOS R K, LIAO K C, et al. Biochemistry and molecular biology of flaviviruses[J]. *Chemical Reviews*, 2018, 118(8): 4448-4482.
- [94] CHENG G, COX J, WANG P H, et al. A C-type lectin collaborates with a CD45 phosphatase homolog to facilitate West Nile virus infection of mosquitoes[J]. *Cell*, 2010, 142(5): 714-725.
- [95] LIU Y, ZHANG F C, LIU J Y, et al. Transmission-blocking antibodies against mosquito C-type lectins for dengue prevention[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(2): e1003931.
- [96] KUADKITKAN A, WIKAN N, FONGSARAN C, et al. Identification and characterization of prohibitin as a receptor protein mediating DENV-2 entry into insect cells[J]. *Virology*, 2010, 406(1): 149-161.
- [97] SALAS-BENITO J, REYES-DEL VALLE J, SALAS-BENITO M, et al. Evidence that the 45 kD glycoprotein, part of a putative dengue virus receptor complex in the mosquito cell line C6/36, is a heat-shock related protein[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2007, 77(2): 283-290.
- [98] SAKOONWATANYOO P, BOONSANAY V, SMITH D R. Growth and production of the dengue virus in C6/36 cells and identification of a laminin-binding protein as a candidate serotype 3 and 4 receptor protein[J]. *Intervirology*, 2006, 49(3): 161-172.
- [99] LONDONO-RENTERIA B, TROUPIN A, CONWAY M J, et al. Dengue virus infection of *Aedes aegypti* requires a putative cysteine rich venom protein[J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(10): e1005202.
- [100] KAKUMANI P K, PONIA S S, S R K, et al. Role of RNA interference (RNAi) in dengue virus replication and identification of NS4B as an RNAi suppressor[J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(16): 8870-8883.
- [101] GÖERTZ G P, FROS J J, MIESEN P, et al. Noncoding subgenomic flavivirus RNA is processed by the mosquito RNA interference machinery and determines West Nile virus transmission by culex pipiens mosquitoes[J]. *Journal of Virology*, 2016, 90(22): 10145-10159.
- [102] MOON S L, DODD B J T, BRACKNEY D E, et al. Flavivirus sfRNA suppresses antiviral RNA interference in cultured cells and mosquitoes and directly interacts with the RNAi machinery[J]. *Virology*, 2015, 485: 322-329.
- [103] POMPON J, MANUEL M, NG G K, et al. Dengue subgenomic flaviviral RNA disrupts immunity in mosquito salivary glands to increase virus transmission[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(7): e1006535.
- [104] PARIKH G R, OLIVER J D, BARTHOLOMAY L C. A haemocyte tropism for an arbovirus[J]. *The Journal of General Virology*, 2009, 90(Pt 2): 292-296.
- [105] GOIC B, STAPLEFORD K A, FRANGEUL L, et al. Virus-derived DNA drives mosquito vector tolerance to arboviral infection[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12410.
- [106] XIAO X P, ZHANG R D, PANG X J, et al. A neuron-specific antiviral mechanism prevents lethal flaviviral infection of mosquitoes[J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(4): e1004848.
- [107] XIAO X P, LIU Y, ZHANG X Y, et al. Complement-related proteins control the flavivirus infection of *Aedes aegypti* by inducing antimicrobial peptides[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(4): e1004027.
- [108] BLANDIN S, SHIAO S H, MOITA L F, et al. Complement-like protein TEPI is a determinant of vectorial capacity in the malaria vector *Anopheles gambiae*[J]. *Cell*, 2004, 116(5): 661-670.
- [109] SHOKAL U, ELEFThERIANOS I. Evolution and function of thioester-containing proteins and the complement system in the innate immune response[J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 759.
- [110] KINGSOLVER M B, HUANG Z J, HARDY R W. Insect antiviral innate immunity: pathways, effectors, and connections[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2013, 425(24): 4921-4936.
- [111] TASSETTO M, KUNITOMI M, ANDINO R. Circulating immune cells mediate a systemic RNAi-based adaptive antiviral response in *Drosophila*[J]. *Cell*, 2017, 169(2): 314-325.e13.
- [112] GOIC B, VODOVAR N, MONDOTTE J A, et al. RNA-mediated interference and reverse transcription control the persistence of RNA viruses in the insect model *Drosophila*[J]. *Nature Immunology*, 2013, 14(4): 396-403.
- [113] WU P, YU X, WANG P, et al. Arbovirus lifecycle in mosquito: acquisition, propagation and transmission[J]. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2019, 21: e1.
- [114] RAMIREZ J L, SHORT S M, BAHIA A C, et al. *Chromobacterium Csp\_P* reduces malaria and dengue infection in vector mosquitoes and has entomopathogenic and *in vitro* anti-pathogen activities[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(10): e1004398.
- [115] SARAIVA R G, FANG J R, KANG S, et al. Aminopeptidase secreted by *Chromobacterium* sp. Panama inhibits dengue virus infection by degrading the E protein[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2018, 12(4): e0006443.
- [116] YU X, TONG L Q, ZHANG L M, et al. Lipases secreted by a gut bacterium inhibit arbovirus transmission in mosquitoes[J]. *PLoS Pathogens*, 2022, 18(6): e1010552.
- [117] RAMIREZ J L, SOUZA-NETO J, TORRES COSME R, et al. Reciprocal tripartite interactions between the *Aedes aegypti* midgut microbiota, innate immune system and dengue virus influences vector competence[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2012, 6(3): e1561.
- [118] APTE-DESHPANDE A, PAINGANKAR M, GOKHALE M D, et al. *Serratia odorifera* a midgut inhabitant of *Aedes aegypti*

- mosquito enhances its susceptibility to dengue-2 virus[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40401.
- [119] ANGLERÓ-RODRÍGUEZ Y I, TALYULI O A, BLUMBERG B J, et al. An *Aedes aegypti*-associated fungus increases susceptibility to dengue virus by modulating gut trypsin activity[J]. *eLife*, 2017, 6: e28844.
- [120] DONG Y M, MORTON J C Jr, RAMIREZ J L, et al. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* activate toll and JAK-STAT pathway-controlled effector genes and anti-dengue activity in *Aedes aegypti*[J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2012, 42(2): 126-132.
- [121] GARZA-HERNÁNDEZ J A, RODRÍGUEZ-PÉREZ M A, SALAZAR M I, et al. Vectorial capacity of *Aedes aegypti* for dengue virus type 2 is reduced with co-infection of *Metarhizium anisopliae*[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2013, 7(3): e2013.
- [122] NGUYEN N M, THI HUE KIEN D, TUAN T V, et al. Host and viral features of human dengue cases shape the population of infected and infectious *Aedes aegypti* mosquitoes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(22): 9072-9077.
- [123] WAGAR Z L, TREE M O, MPOY M C, et al. Low density lipoprotein inhibits flavivirus acquisition in *Aedes aegypti*[J]. *Insect Molecular Biology*, 2017, 26(6): 734-742.
- [124] BOTTINO-ROJAS V, TALYULI O A, JUPATANAKUL N, et al. Heme signaling impacts global gene expression, immunity and dengue virus infectivity in *Aedes aegypti*[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135985.
- [125] LIU J Y, LIU Y, NIE K X, et al. Flavivirus NS1 protein in infected host sera enhances viral acquisition by mosquitoes[J]. *Nature Microbiology*, 2016, 1: 16087.
- [126] LIU Y, LIU J Y, DU S Y, et al. Evolutionary enhancement of Zika virus infectivity in *Aedes aegypti* mosquitoes[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 482-486.
- [127] WU P, YU X, WANG P H, et al. Arbovirus lifecycle in mosquito: acquisition, propagation and transmission[J]. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2019, 21: e1.
- [128] WICHIT S, DIOP F, HAMEL R, et al. *Aedes aegypti* saliva enhances chikungunya virus replication in human skin fibroblasts via inhibition of the type I interferon signaling pathway[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2017, 55: 68-70.
- [129] CERNY D, HANIFFA M, SHIN A, et al. Selective susceptibility of human skin antigen presenting cells to productive dengue virus infection[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(12): e1004548.
- [130] SCHMID M A, HARRIS E. Monocyte recruitment to the dermis and differentiation to dendritic cells increases the targets for dengue virus replication[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(12): e1004541.
- [131] HAMEL R, DEJARNAC O, WICHIT S, et al. Biology of Zika virus infection in human skin cells[J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(17): 8880-8896.
- [132] SCHAEFFER E, FLACHER V, PAPAGEORGIOU V, et al. Dermal CD14<sup>+</sup> dendritic cell and macrophage infection by dengue virus is stimulated by interleukin-4[J]. *The Journal of Investigative Dermatology*, 2015, 135(7): 1743-1751.
- [133] MACDONALD G H, JOHNSTON R E. Role of dendritic cell targeting in Venezuelan equine encephalitis virus pathogenesis[J]. *Journal of Virology*, 2000, 74(2): 914-922.
- [134] GARDNER C L, BURKE C W, TEFAY M Z, et al. Eastern and Venezuelan equine encephalitis viruses differ in their ability to infect dendritic cells and macrophages: impact of altered cell tropism on pathogenesis[J]. *Journal of Virology*, 2008, 82(21): 10634-10646.
- [135] DAIVISON A M, KING N J C. Accelerated dendritic cell differentiation from migrating Ly6C(lo) bone marrow monocytes in early dermal West Nile virus infection[J]. *Journal of Immunology*, 2011, 186(4): 2382-2396.
- [136] WU S J L, GROUARD-VOGEL G, SUN W, et al. Human skin Langerhans cells are targets of dengue virus infection[J]. *Nature Medicine*, 2000, 6(7): 816-820.
- [137] DIAMOND M S, SHRESTHA B, MEHLHOP E, et al. Innate and adaptive immune responses determine protection against disseminated infection by West Nile encephalitis virus[J]. *Viral Immunology*, 2003, 16(3): 259-278.
- [138] STYER L M, LIM P Y, LOUIE K L, et al. Mosquito saliva causes enhancement of West Nile virus infection in mice[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(4): 1517-1527.
- [139] SCHNEIDER B S, SOONG L, GIRARD Y A, et al. Potentiation of West Nile encephalitis by mosquito feeding[J]. *Viral Immunology*, 2006, 19(1): 74-82.
- [140] COX J, MOTA J, SUKUPOLVI-PETTY S, et al. Mosquito bite delivery of dengue virus enhances immunogenicity and pathogenesis in humanized mice[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(14): 7637-7649.
- [141] SCHNEIDER B S, HIGGS S. The enhancement of arbovirus transmission and disease by mosquito saliva is associated with modulation of the host immune response[J]. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2008, 102(5): 400-408.
- [142] PINGEN M, SCHMID M A, HARRIS E, et al. Mosquito biting modulates skin response to virus infection[J]. *Trends in Parasitology*, 2017, 33(8): 645-657.
- [143] URAKI R, HASTINGS A K, MARIN-LOPEZ A, et al. *Aedes aegypti* AgBR1 antibodies modulate early Zika virus infection of mice[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(6): 948-955.
- [144] URAKI R, HASTINGS A K, BRACKNEY D E, et al. AgBR1 antibodies delay lethal *Aedes aegypti*-borne West Nile virus infection in mice[J]. *Npj Vaccines*, 2019, 4: 23.

- [145] SURASOMBATPATTANA P, EKCHARIYAWAT P, HAMEL R, et al. *Aedes aegypti* saliva contains a prominent 34 kDa protein that strongly enhances dengue virus replication in human keratinocytes[J]. The Journal of Investigative Dermatology, 2014, 134(1): 281-284.
- [146] MCCracken M K, CHRISTOFFERSON R C, CHISENHALL D M, et al. Analysis of early dengue virus infection in mice as modulated by *Aedes aegypti* probing[J]. Journal of Virology, 2014, 88(4): 1881-1889.
- [147] JIN L, GUO X M, SHEN C B, et al. Salivary factor LTRIN from *Aedes aegypti* facilitates the transmission of Zika virus by interfering with the lymphotoxin- $\beta$  receptor[J]. Nature Immunology, 2018, 19(4): 342-353.
- [148] CONWAY M J, WATSON A M, COLPITTS T M, et al. Mosquito saliva serine protease enhances dissemination of dengue virus into the mammalian host[J]. Journal of Virology, 2014, 88(1): 164-175.
- [149] SCHMID M A, GLASNER D R, SHAH S, et al. Mosquito saliva increases endothelial permeability in the skin, immune cell migration, and dengue pathogenesis during antibody-dependent enhancement[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(6): e1005676.
- [150] MOYA A, HOLMES E C, GONZÁLEZ-CANDELAS F. The population genetics and evolutionary epidemiology of RNA viruses[J]. Nature Reviews Microbiology, 2004, 2(4): 279-288.
- [151] DOLAN P T, WHITFIELD Z J, ANDINO R. Mechanisms and concepts in RNA virus population dynamics and evolution[J]. Annual Review of Virology, 2018, 5(1): 69-92.
- [152] MUSTAFA M S, RASOTGI V, JAIN S, et al. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): a new public health dilemma in dengue control[J]. Medical Journal Armed Forces India, 2015, 71(1): 67-70.
- [153] DÍAZ F J, BLACK W C IV, FARFÁN-ALE J A, et al. Dengue virus circulation and evolution in Mexico: a phylogenetic perspective[J]. Archives of Medical Research, 2006, 37(6): 760-773.
- [154] ZHANG C L, MAMMEN M P Jr, CHINNAWIROTPISAN P, et al. Clade replacements in dengue virus serotypes 1 and 3 are associated with changing serotype prevalence[J]. Journal of Virology, 2005, 79(24): 15123-15130.
- [155] LEWIS J A, CHANG G J, LANCIOTTI R S, et al. Phylogenetic relationships of dengue-2 viruses[J]. Virology, 1993, 197(1): 216-224.
- [156] RICO-HESE R, HARRISON L M, NISALAK A, et al. Molecular evolution of dengue type 2 virus in Thailand[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1998, 58(1): 96-101.
- [157] MESSER W B, GUBLER D J, HARRIS E, et al. Emergence and global spread of a dengue serotype 3, subtype III virus[J]. Emerging Infectious Diseases, 2003, 9(7): 800-809.
- [158] LANCIOTTI R S, LEWIS J G, GUBLER D J, et al. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses[J]. The Journal of General Virology, 1994, 75 ( Pt 1): 65-75.
- [159] WANG E, NI H, XU R, et al. Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses[J]. Journal of Virology, 2000, 74(7): 3227-3234.
- [160] LANCIOTTI R S, GUBLER D J, TRENT D W. Molecular evolution and phylogeny of dengue-4 viruses[J]. The Journal of General Virology, 1997, 78 ( Pt 9): 2279-2284.
- [161] BALMASEDA A, HAMMOND S N, PÉREZ L, et al. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2006, 74(3): 449-456.
- [162] BURKE D S, NISALAK A, JOHNSON D E, et al. A prospective study of dengue infections in Bangkok[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1988, 38(1): 172-180.
- [163] GUZMÁN M G, KOURÍ G, VALDÉS L, et al. Enhanced severity of secondary dengue-2 infections: death rates in 1981 and 1997 Cuban outbreaks[J]. Revista Panamericana De Salud Publica=Pan American Journal of Public Health, 2002, 11(4): 223-227.
- [164] NISALAK A, ENDY T P, NIMMANNITYA S, et al. Serotype-specific dengue virus circulation and dengue disease in Bangkok, Thailand from 1973 to 1999[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2003, 68(2): 191-202.
- [165] SANGKAWIBHA N, ROJANASUPHOT S, AHANDRIK S, et al. Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in rayong, Thailand: I . the 1980 outbreak[J]. American Journal of Epidemiology, 1984, 120(5): 653-669.
- [166] THEIN S, AUNG M M, SHWE T N, et al. Risk factors in dengue shock syndrome[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1997, 56(5): 566-572.
- [167] GRAHAM R R, JUFFRIE M, TAN R, et al. A prospective sero-epidemiologic study on dengue in children four to nine years of age in Yogyakarta, Indonesia I . studies in 1995—1996[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1999, 61(3): 412-419.
- [168] HARRIS E, VIDEA E, PÉREZ L, et al. Clinical, epidemiologic, and virologic features of dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2000, 63(1/2): 5-11.
- [169] MESSER W B, VITARANA U T, SIVANANTHAN K, et al. Epidemiology of dengue in Sri Lanka before and after the emergence of epidemic dengue hemorrhagic fever[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2002, 66(6): 765-773.
- [170] LEITMEYER K C, VAUGHN D W, WATTS D M, et al. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis[J].

- Journal of Virology, 1999, 73(6): 4738-4747.
- [171] COLOGNA R, RICO-HESSER R. American genotype structures decrease dengue virus output from human monocytes and dendritic cells[J]. Journal of Virology, 2003, 77(7): 3929-3938.
- [172] PRYOR M J, CARR J M, HOCKING H, et al. Replication of dengue virus type 2 in human monocyte-derived macrophages: comparisons of isolates and recombinant viruses with substitutions at amino acid 390 in the envelope glycoprotein[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2001, 65(5): 427-434.
- [173] OHAINLE M, BALMASEDA A, MACALALAD A R, et al. Dynamics of dengue disease severity determined by the interplay between viral genetics and serotype-specific immunity[J]. Science Translational Medicine, 2011, 3(114): 114-128.
- [174] CHEN H L, LIN S R, LIU H F, et al. Evolution of dengue virus type 2 during two consecutive outbreaks with an increase in severity in southern Taiwan in 2001—2002[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2008, 79(4): 495-505.
- [175] MUSSO D, GUBLER D J. Zika virus[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2016, 29(3): 487-524.
- [176] ENFISSI A, CODRINGTON J, ROOSBLAD J, et al. Zika virus genome from the Americas[J]. Lancet, 2016, 387(10015): 227-228.
- [177] WINKLER G, RANDOLPH V B, CLEAVES G R, et al. Evidence that the mature form of the flavivirus nonstructural protein NS1 is a dimer[J]. Virology, 1988, 162(1): 187-196.
- [178] ALCON S, TALARMIN A, DEBRUYNE M, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2002, 40(2): 376-381.
- [179] GUO M J, HUI L X, NIE Y W, et al. ZIKV viral proteins and their roles in virus-host interactions[J]. Science China Life Sciences, 2021, 64(5): 709-719.
- [180] YU X, SHAN C, ZHU Y B, et al. A mutation-mediated evolutionary adaptation of Zika virus in mosquito and mammalian host[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2021, 118(42): e2113015118.
- [181] ZHU Z, CHAN J F W, TEE K M, et al. Comparative genomic analysis of pre-epidemic and epidemic Zika virus strains for virological factors potentially associated with the rapidly expanding epidemic[J]. Emerging Microbes & Infections, 2016, 5(1): 1-12.
- [182] YUAN L, HUANG X Y, LIU Z Y, et al. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly[J]. Science, 2017, 358(6365): 933-936.
- [183] SHAN C, XIA H J, HALLER S L, et al. A Zika virus envelope mutation preceding the 2015 epidemic enhances virulence and fitness for transmission[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(33): 20190-20197.
- [184] GEERLING E, STEFFEN T L, BRIEN J D, et al. Current flavivirus research important for vaccine development[J]. Vaccines, 2020, 8(3): 477.
- [185] THEILER M, SMITH H H. The use of yellow fever virus modified by *in vitro* cultivation for human immunization[J]. The Journal of Experimental Medicine, 1937, 65(6): 787-800.
- [186] BOIGARD H, ALIMOVA A, MARTIN G R, et al. Zika virus-like particle (VLP) based vaccine[J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2017, 11(5): e0005608.
- [187] URAKAMI A, NGWE TUN M M, MOI M L, et al. An envelope-modified tetravalent dengue virus-like-particle vaccine has implications for flavivirus vaccine design[J]. Journal of Virology, 2017, 91(23): e01181-e01117.
- [188] RICHNER J M, HIMANSU S, DOWD K A, et al. Modified mRNA vaccines protect against Zika virus infection[J]. Cell, 2017, 168(6): 1114-1125.e10.
- [189] COLLINS N D, BARRETT A D T. Live attenuated yellow fever 17D vaccine: a legacy vaccine still controlling outbreaks in modern day[J]. Current Infectious Disease Reports, 2017, 19(3): 14.
- [190] SATCHIDANANDAM V. Japanese encephalitis vaccines[J]. Current Treatment Options in Infectious Diseases, 2020, 12(4): 375-386.
- [191] GUY B, BARRERE B, MALINOWSKI C, et al. From research to phase III: preclinical, industrial and clinical development of the Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine[J]. Vaccine, 2011, 29(42): 7229-7241.
- [192] THOMAS R E. Yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease: current perspectives[J]. Drug Design, Development and Therapy, 2016, 10: 3345-3353.
- [193] DEM MARTINS R, PAVÃO A L B, DE OLIVEIRA P M N, et al. Adverse events following yellow fever immunization: report and analysis of 67 neurological cases in Brazil[J]. Vaccine, 2014, 32(49): 6676-6682.
- [194] BREUGELMANS J G, LEWIS R F, AGBENU E, et al. Adverse events following yellow fever preventive vaccination campaigns in eight African countries from 2007 to 2010[J]. Vaccine, 2013, 31(14): 1819-1829.
- [195] MCMAHON A W, EIDEX R B, MARFIN A A, et al. Neurologic disease associated with 17D-204 yellow fever vaccination: a report of 15 cases[J]. Vaccine, 2007, 25(10): 1727-1734.
- [196] BURCHARD G D, CAUMES E, CONNOR B A, et al. Expert opinion on vaccination of travelers against Japanese encephalitis[J]. Journal of Travel Medicine, 2009, 16(3): 204-216.
- [197] HADINEGORO S R, ARREDONDO-GARCÍA J L, CAPEDING M R, et al. Efficacy and long-term safety of a dengue vac-

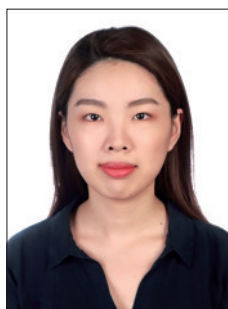
- cine in regions of endemic disease[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2015, 373(13): 1195-1206.
- [198] SRIDHAR S, LUEDTKE A, LANGEVIN E, et al. Effect of dengue serostatus on dengue vaccine safety and efficacy[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2018, 379(4): 327-340.
- [199] GEORGE J, VALIANT W G, MATTAPALLIL M J, et al. Prior exposure to Zika virus significantly enhances peak dengue-2 viremia in rhesus macaques[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 10498.
- [200] DEJNIRATTISAI W, SUPASA P, WONGWIWAT W, et al. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with Zika virus[J]. *Nature Immunology*, 2016, 17(9): 1102-1108.
- [201] BARDINA S V, BUNDUC P, TRIPATHI S, et al. Enhancement of Zika virus pathogenesis by preexisting anti-flavivirus immunity[J]. *Science*, 2017, 356(6334): 175-180.
- [202] FOWLER A M, TANG W W, YOUNG M P, et al. Maternally acquired Zika antibodies enhance dengue disease severity in mice[J]. *Cell Host & Microbe*, 2018, 24(5): 743-750.
- [203] KATZELNICK L C, GRESH L, HALLORAN M E, et al. Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans[J]. *Science*, 2017, 358(6365): 929-932.
- [204] KATZELNICK L C, NARVAEZ C, ARGUELLO S, et al. Zika virus infection enhances future risk of severe dengue disease[J]. *Science*, 2020, 369(6507): 1123-1128.
- [205] RAVIPRAKASH K, PORTER K R, KOCHER T J, et al. Dengue virus type 1 DNA vaccine induces protective immune responses in rhesus macaques[J]. *The Journal of General Virology*, 2000, 81(Pt 7): 1659-1667.
- [206] KHETARPAL N, KHANNA I. Dengue fever: causes, complications, and vaccine strategies[J]. *Journal of Immunology Research*, 2016, 2016: 6803098.
- [207] WONG G, GAO G F. An mRNA-based vaccine strategy against Zika[J]. *Cell Research*, 2017, 27(9): 1077-1078.
- [208] JIMÉNEZ DE OYA N, ESCRIBANO-ROMERO E, BLÁZQUEZ A B, et al. Current progress of avian vaccines against west Nile virus[J]. *Vaccines*, 2019, 7(4): 126.
- [209] KHOU C, PARDIGON N. Identifying attenuating mutations: tools for a new vaccine design against flaviviruses[J]. *Intervirology*, 2017, 60(1/2): 8-18.
- [210] LONDONO-RENTERIA B, TROUPIN A, COLPITTS T M. Arbovirosis and potential transmission blocking vaccines[J]. *Parasites & Vectors*, 2016, 9(1): 516.
- [211] WU S F, LEE C J, LIAO C L, et al. Antiviral effects of an iminosugar derivative on flavivirus infections[J]. *Journal of Virology*, 2002, 76(8): 3596-3604.
- [212] TCHANKOUO-NGUETCHEU S, KHUN H, PINCET L, et al. Differential protein modulation in midguts of *Aedes aegypti* infected with chikungunya and dengue 2 viruses[J]. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13149.
- [213] THAM H W, BALASUBRAMANIAM V R M T, TEJO B A, et al. CPB<sub>1</sub> of *Aedes aegypti* interacts with DENV2 E protein and regulates intracellular viral accumulation and release from midgut cells[J]. *Viruses*, 2014, 6(12): 5028-5046.
- [214] DINGLASAN R R, VALENZUELA J G, AZAD A F. Sugar epitopes as potential universal disease transmission blocking targets[J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, 35(1): 1-10.
- [215] LIU K, QIAN Y J, JUNG Y S, et al. mosGCTL-7, a C-type lectin protein, mediates Japanese encephalitis virus infection in mosquitoes[J]. *Journal of Virology*, 2017, 91(10): e01348-e01316.
- [216] PERERA-LECOIN M, MEERTENS L, CARNEC X, et al. Flavivirus entry receptors: an update[J]. *Viruses*, 2014, 6(1): 69-88.
- [217] PERERA R, KHALIQ M, KUHN R J. Closing the door on flaviviruses: entry as a target for antiviral drug design[J]. *Antiviral Research*, 2008, 80(1): 11-22.
- [218] LI P C, JANG J, HSIA C Y, et al. Small molecules targeting the flavivirus E protein with broad-spectrum activity and antiviral efficacy *in vivo*[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2019, 5(3): 460-472.
- [219] KAMPMANN T, YENNAMALLI R, CAMPBELL P, et al. *In silico* screening of small molecule libraries using the dengue virus envelope E protein has identified compounds with antiviral activity against multiple flaviviruses[J]. *Antiviral Research*, 2009, 84(3): 234-241.
- [220] ZHANG W, CHIPMAN P R, CORVER J, et al. Visualization of membrane protein domains by cryo-electron microscopy of dengue virus[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2003, 10(11): 907-912.
- [221] COSTIN J M, JENWITHEESUK E, LOK S M, et al. Structural optimization and *de novo* design of dengue virus entry inhibitory peptides[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, 4(6): e721.
- [222] ALTMAYER R. Virus attachment and entry offer numerous targets for antiviral therapy[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2004, 10(30): 3701-3712.
- [223] DIGHE S N, EKWUDU O, DUA K, et al. Recent update on anti-dengue drug discovery[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 176: 431-455.
- [224] KANG C B, KELLER T H, LUO D H. Zika virus protease: an antiviral drug target[J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(10): 797-808.
- [225] NITSCHKE C. Proteases from dengue, West Nile and Zika viruses as drug targets[J]. *Biophysical Reviews*, 2019, 11(2): 157-165.
- [226] KOK W M. New developments in flavivirus drug discovery[J]. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2016, 11(5): 433-445.
- [227] RAY D, SHI P Y. Recent advances in flavivirus antiviral drug discovery and vaccine development[J]. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 2006, 1(1): 45-55.

- [228] MASTRANGELO E, PEZZULLO M, DE BURGHGRAEVE T, et al. Ivermectin is a potent inhibitor of flavivirus replication specifically targeting NS3 helicase activity: new prospects for an old drug[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, 67(8): 1884-1894.
- [229] BOLLATI M, ALVAREZ K, ASSENBERG R, et al. Structure and functionality in flavivirus NS-proteins: perspectives for drug design[J]. *Antiviral Research*, 2010, 87(2): 125-148.
- [230] CHATRIN C, TALAPATRA S K, CANARD B, et al. The structure of the binary methyltransferase-SAH complex from Zika virus reveals a novel conformation for the mechanism of mRNA capping[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(3): 3160-3171.
- [231] ZHOU Y S, RAY D, ZHAO Y W, et al. Structure and function of flavivirus NS5 methyltransferase[J]. *Journal of Virology*, 2007, 81(8): 3891-3903.
- [232] AFAQ S, ATIYA A, MALIK A, et al. Analysis of methyltransferase (MTase) domain from Zika virus (ZIKV)[J]. *Bioinformatics*, 2020, 16(3): 229-235.
- [233] BRECHER M, CHEN H, LI Z, et al. Identification and characterization of novel broad-spectrum inhibitors of the flavivirus methyltransferase[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2015, 1(8): 340-349.
- [234] NOBLE C G, LI S H, DONG H P, et al. Crystal structure of dengue virus methyltransferase without *S*-adenosyl-L-methionine[J]. *Antiviral Research*, 2014, 111: 78-81.
- [235] WANG B X, THURMOND S, HAI R, et al. Structure and function of Zika virus NS5 protein: perspectives for drug design[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2018, 75(10): 1723-1736.
- [236] JAIN R, BUTLER K V, COLOMA J, et al. Development of a *S*-adenosylmethionine analog that intrudes the RNA-cap binding site of Zika methyltransferase[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 1632.
- [237] LIM S V, RAHMAN M B A, TEJO B A. Structure-based and ligand-based virtual screening of novel methyltransferase inhibitors of the dengue virus[J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, 12(Suppl 13): S24.
- [238] BRECHER M, CHEN H, LIU B B, et al. Novel broad spectrum inhibitors targeting the flavivirus methyltransferase[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0130062.
- [239] SIQUEIRA-BATISTA R, DE SOUZA BAYÃO T, DO CARMO CUPERTINO M, et al. Sofosbuvir use for yellow fever: a new perspective treatment[J]. *Pathogens and Global Health*, 2019, 113(5): 207-208.
- [240] BULLARD-FEIBELMAN K M, GOVERO J, ZHU Z, et al. The FDA-approved drug sofosbuvir inhibits Zika virus infection[J]. *Antiviral Research*, 2017, 137: 134-140.
- [241] FERREIRA A C, ZAVERUCHA-DO-VALLE C, REIS P A, et al. Sofosbuvir protects Zika virus-infected mice from mortality, preventing short- and long-term sequelae[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 9409.
- [242] JACOBS S, DELANG L E, VERBEKEN E, et al. A viral polymerase inhibitor reduces Zika virus replication in the reproductive organs of male mice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(9): 2122.
- [243] IVANOVA T, HARDES K, KALLIS S, et al. Optimization of substrate-analogue furin inhibitors[J]. *ChemMedChem*, 2017, 12(23): 1953-1968.
- [244] SKRZYPEK R, CALLAGHAN R. The "pushmi-pullyu" of resistance to chloroquine in malaria[J]. *Essays in Biochemistry*, 2017, 61(1): 167-175.
- [245] BYRD C M, DAI D C, GROSENBACH D W, et al. A novel inhibitor of dengue virus replication that targets the capsid protein[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, 57(1): 15-25.
- [246] QIN C F, QIN E D. Capsid-targeted viral inactivation can destroy dengue 2 virus from within *in vitro*[J]. *Archives of Virology*, 2006, 151(2): 379-385.
- [247] STOERMER K A, MORRISON T E. Complement and viral pathogenesis[J]. *Virology*, 2011, 411(2): 362-373.
- [248] AKEY D L, BROWN W C, JOSE J, et al. Structure-guided insights on the role of NS1 in flavivirus infection[J]. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 2015, 37(5): 489-494.
- [249] SOMNUKE P, HAUHART R E, ATKINSON J P, et al. *N*-linked glycosylation of dengue virus NS1 protein modulates secretion, cell-surface expression, hexamer stability, and interactions with human complement[J]. *Virology*, 2011, 413(2): 253-264.
- [250] WATTERSON D, MODHIRAN N, YOUNG P R. The many faces of the flavivirus NS1 protein offer a multitude of options for inhibitor design[J]. *Antiviral Research*, 2016, 130: 7-18.



**通讯作者:** 程功(1981—),男,长聘教授,博士生导师。长期开展针对虫媒病毒等新发病毒性传染病致病机理、感染传播机制与抗病毒免疫及疫苗研发等领域的研究。

E-mail: gongcheng@tsinghua.edu.cn



**第一作者:** 余茜(1994—),女,博士研究生。主要研究方向为蚊媒病毒的进化及其对病毒感染与传播能力的影响。

E-mail: yuq16@mails.tsinghua.edu.cn