

DOI:10.12405//j.issn.2097-1486.2022.01.007

不同技术路线研发新型冠状病毒疫苗的特性和研究进展

钱曼云¹, 李亚峰^{2,3,4*}

1. 山西医科大学 基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 山西 太原 030001
2. 山西医科大学 第五临床医学院(山西省人民医院)中心实验室, 山西 太原 030012
3. 肾脏病山西省重点实验室, 山西 太原 030012
4. 山西医科大学 微生态研究院, 山西 太原 030001

摘要:席卷全球的新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19, 以下简称新冠肺炎)疫情给全人类的生命健康安全带来巨大威胁, 传播速度快、感染率高是新冠肺炎的典型特点, 据历史经验, 及时接种疫苗可以有效阻止疫情传播。在疫情爆发后, 积极有效地启动研发新型冠状病毒(SARS-CoV-2)疫苗成为全球科学家及科研机构的共同目标。在疫苗研发和设计的过程中, 一些经获批使用的 SARS-CoV-2 疫苗具有较好的安全性和免疫原性, 其临床试验已证实了具有良好的保护效力。根据 SARS-CoV-2 疫苗研发的技术路线不同, 疫苗主要包括灭活疫苗(inactivated virus vaccine)、重组蛋白疫苗(recombinant protein vaccine)、病毒载体疫苗(viral vector-based vaccine)和核酸疫苗(nucleic acid vaccine)等。本文对各类疫苗优缺点和研制进展进行综述, 阐述 SARS-CoV-2 疫苗所面临的一些问题, 为疫苗后续的改进提供有益借鉴。

关键词:新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 疫苗

中图分类号: R392 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-1486(2022)01-0071-09

Characteristics and Research Progress of SARS-CoV-2 Vaccine Developed by Different Technical Routes

QIAN Manyun¹, LI Yafeng^{2,3,4*}

1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medicine, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China
2. The Fifth Hospital of Shanxi Medical University (The Shanxi People's Hospital), Central lab, Taiyuan 030012, China
3. Shanxi Key Laboratory of Nephrology, Taiyuan 030012, China
4. Institute of Microecology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: The global epidemic of coronavirus coronavirus 2019(COVID-19) has brought great threat to the life and the health of human beings. The rapid spread and high infection rate are typical characteristics of new coronavirus pneumonia; timely vaccination can effectively prevent the spread of the epidemic. After the outbreak of the epidemic, the active and effective launch of research and development of SARS-CoV-2 vaccine has become a common goal of scientists and research institutions around the world. In the course of vaccine development and design, some approved SARS-CoV-2 vaccines have good safety and immunogenicity, and their clinical trials have proved their protective efficacy. According to the different technical route of development of SARS-CoV-2 vaccine, vaccines mainly include inactivated vaccine, recombinant protein

* 通信作者

基金项目: 山西省卫生健康委科研课题计划任务书(15)

收稿日期: 2022-04-13; 修回日期: 2022-05-11

vaccine, viral vector-based vaccine and nucleic acid vaccine. In this paper, the advantages and disadvantages of all kinds of vaccines and the development of SARS-CoV-2 vaccine were reviewed, and some problems of SARS-CoV-2 vaccine were discussed.

Key words: SARS-CoV-2; COVID-19; vaccine

由 SARS-CoV-2 引发感染的新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19, 以下简称新冠肺炎)全世界各国肆虐蔓延,全世界人民的生命健康安全及经济社会安定受到了极大影响。感染该病毒后,典型的临床表现为发热、咳嗽、呼吸困难,若严重时可能会出现急性呼吸窘迫综合征、多器官衰竭甚至休克等症状^[1]。然而至今还没有针对新冠肺炎的特效药,因此非药物性的外在干预和 SARS-CoV-2 疫苗的研发成为防控该疫情的有效手段。外在干预主要体现在个人做到坚持佩戴口罩、经常洗手、与人保持相对安全的距离,公共设施注重消毒和重点疫情监管等工作。若想实现群体免疫屏障,阻断病毒进一步传播及降低死亡率,疫苗的研发生产和接种成为最佳手段^[2-3]。本文从机体免疫反应及 SARS-CoV-2 的结构来阐述 SARS-CoV-2 各类疫苗的研究特点及相关进展。

1 机体免疫反应

人体接触 SARS-CoV-2 后,会引发非特异性免疫反应和特异性免疫反应。机体天然具有非特异性免疫反应,其可以非特异性清除入侵的病原体,主要是通过物理手段和机体细胞吞噬作用。物理手段阻挡病原体入侵的部位有皮肤、消化道以及呼吸道黏膜细胞;若物理手段没有阻断成功,机体会通过吞噬细胞(树突状细胞、巨噬细胞和中性粒细胞)吞噬作用来识别病原体、刺激免疫反应及清除病原微生物,进而抵御病原体的入侵^[4-5]。引起细胞免疫反应的 T 淋巴细胞和体液免疫反应的 B 淋巴细胞属于特异性免疫反应,细胞感染了病原体后,将病原体抗原呈递给淋巴细胞,通过产生抗体与细胞毒性 T 细胞将病原体清除,然后产生记忆淋巴细胞。当机体再次感染病原体时,记忆淋巴细胞识别病原体通过再次产生抗体激起体液免疫反应和生成细胞毒性 T 细胞刺激细胞免疫反应,最后将入侵机体的病原体消除^[6]。

2 新型冠状病毒的结构特点

冠状病毒(Coronaviruses)属于冠状病毒科中的冠状病毒亚科,该亚科包括 α 、 β 、 δ 和 γ 4 个属,冠

状病毒基因组(27—32 kb)是一种单链正链 RNA (+ssRNA),比其他任何 RNA 病毒都大。SARS-CoV-2 作为冠状病毒家族的一员,最近被测序,其基因组大小约为 29.9kb。SARS-CoV-2 的基因组编码 4 种结构蛋白、16 种非结构蛋白和辅助蛋白,其中结构蛋白包括:核衣壳(nucleocapsid, N)蛋白、膜(membrane, M)蛋白、包膜(envelope, E)蛋白和刺突(spike, S)蛋白^[7]。N 蛋白参与 mRNA 转录与复制, M 蛋白与病毒包膜形成有关, E 蛋白作为主要的毒性因子,在炎症介质的分泌中发挥重要作用^[8]。SARS-CoV-2 进入宿主细胞是由 S 蛋白介导的, S 蛋白形成从病毒表面突出的同源三聚体, S 蛋白是冠状病毒进入的关键,因此它是一个有吸引力的抗病毒靶点。S 蛋白由两个功能亚基组成,包括 S1 和 S2 亚基。S1 亚基由 N-末端结构域(NTD)和受体结合区(RBD)组成, S1 亚基的功能与宿主细胞上的受体结合; S2 亚基包括融合肽(FP)、七肽重复序列 1(HR1)、中心螺旋(CH)、连接区(CD)、七肽重复序列 2(HR2)、跨膜区(TM)和细胞质尾部(CT), S2 亚基的功能是融合病毒和宿主细胞的膜。位于 S1 和 S2 亚基交界处的裂解位点称为 S1/S2 酶切位点,对于所有冠状病毒来说,宿主蛋白在 S2 裂解部位裂解 S 蛋白来激活蛋白质,这是通过不可逆的构象变化融合病毒和宿主细胞膜的关键。N-连接的多糖对于适当的折叠、中和抗体和广泛地修饰 S 蛋白三聚体是至关重要的。S1 和 S2 亚基保持非共价结合,不同种类的冠状病毒利用 S1 亚单位中的特殊结构域识别不同的进入受体。SARS-CoV-2 在感染机体的情况下,进入宿主细胞,他们通过 RBD 识别宿主细胞上的受体血管紧张素转换酶 2(ACE2)。S 蛋白有两种结构形式,包括闭合状态和开放状态,在闭合状态下,三个识别基序不会从三个 S 蛋白质子体形成的界面上突出;在开放状态下, RBD 处于“向上”构象,开放状态对于 SARS-CoV-2 和宿主细胞膜的融合是必要的,促进 SARS-CoV-2 进入宿主细胞。进入宿主细胞的 SARS-CoV-2 的 RNA 基因组在细胞质中释放,通过转录翻译成各种蛋白质,最后进行组装和释放以致进一步感染^[9-11]。SARS-CoV-2 传染性高的主要原因在于 SARS-CoV-2 对 ACE2

的亲合力非常高^[12],因此加速疫苗的研发用来刺激机体产生主动免疫成为预防 SARS-CoV-2 感染的最佳手段。

3 各类疫苗特点概述

3.1 灭活疫苗

灭活疫苗在疫苗的研发和生产中拥有最经典、成熟的技术,主要是在体外对病毒进行灭活后输入到人体内,刺激人体产生免疫反应^[13]。该类疫苗采用的是传统的疫苗研制工艺,首先通过细胞培养病毒,不同的病毒所选择的细胞种类也不同,常用的鸡胚细胞适用于培养流感病毒和麻疹病毒,非洲绿猴肾(Vero)细胞常用于培养脊髓灰质炎病毒和狂犬病毒,培养肠道病毒 71 型病毒和甲肝病毒一般选择人二倍体细胞。然后用物理或化学方法处理病毒,经处理后的病毒基因组丧失致病力不具有感染性,但是保留了病毒的结构,该病毒仍具有抗原性^[14]。

灭活疫苗有很多优点,首先是生产灭活疫苗的工艺简单,并且制备和生产工艺成熟,有已上市的成熟产品^[15];其次该种疫苗生产的速度较快,稳定性较好、质量标准可控^[16];另外灭活疫苗的安全性很高,病毒完全灭活,非常适合免疫力较低下的人群;灭活疫苗具有良好的免疫原性,保留了病毒的结构,能够刺激机体对病毒多种结构成分产生免疫应答^[17]。灭活疫苗存在的缺点也应该得以重视,首先是安全问题,在疫苗的研发和生产操作过程中需要接触活病毒^[18],这无疑使研发人员和生产人员面临严重的生物安全问题,因此对灭活工艺和生产过程中所需要的生物安全设施和生物安全等级要求较高^[19];灭活病毒疫苗通常主要激活体液免疫,不能刺激有效的细胞免疫反应,并且体液免疫应答较弱,保护时效性较短,随着时间的延长,免疫保护效果会减弱,因此需要联合佐剂多次接种^[20];接种灭活疫苗后,有可能出现注射部位疼痛等不良反应^[21]。

国药集团中国生物北京生物制品研究所研发的 BBIBP-CorV、北京科兴中维生物技术公司研发的 Corona Vac 以及印度 Bharat Biotech 公司研发 BBV152 均属于 SARS-CoV-2 灭活疫苗。BBIBP-CorV 的安全性和免疫原性 1/2 期试验结果显示, BBIBP-CorV 对健康人具有较好的耐受性和免疫原性。对 SARS-CoV-2 的快速体液反应在第一次接种后第 4 天开始出现,所有参与者在第 42 天都发现了 100% 的血清阳转率^[22];在 18 岁以下人群中接种新冠肺炎灭活疫苗 BBIBP-CorV 的安全性和免疫原

性 1/2 期试验结果表明,对 3 至 17 岁的参与者具有良好的耐受性。在第一次接种疫苗后,对 SARS-CoV-2 的体液反应被激发,到第 56 天,所有参与者的血清阳转率达到 100%^[23];两剂 BBIBP-CorV 灭活病毒疫苗能够在所有健康的成年人中诱导适度的抗 SARS-CoV-2 抗体和强烈的综合 T 细胞反应^[24];2021 年 5 月 7 日, BBIBP-CorV 获得世界卫生组织(WHO)紧急使用授权并纳入全球紧急使用清单。Corona Vac 的商品名为“克尔来福”,2021 年 2 月 5 日, Corona Vac 疫苗获国家药品监督管理局批准附条件上市^[25];2021 年 6 月 1 日,世界卫生组织宣布, SARS-CoV-2 灭活疫苗“克尔来福”正式通过世卫组织紧急使用认证^[17]。SARS-CoV-2 灭活疫苗 BBV152 在 I 期临床研究中有为 15% 受试者出现不良反应^[26], II 期临床试验结果显示接种该疫苗总体耐受良好^[27], BBV152 的有效性、安全性和批量免疫原性:一项随机、双盲、对照、III 期试验的中期结果表明, BBV152 是一种完整的病毒粒子灭活 SARS-CoV-2 疫苗,在两剂 BBV152 中第二剂接种 14 天后进行的最终方案分析中,有症状的新冠肺炎病的疫苗疗效为 77.8%,对重症新冠肺炎的更高疗效为 93.4%^[28]。

3.2 重组蛋白疫苗

重组蛋白疫苗的制备原理是:首先在体外进行载体构建,选择目标病毒的目的基因将其构建在表达载体上,然后将构建好的表达蛋白载体转化到受体细胞中,受体细胞一般包含细菌、酵母和昆虫细胞,转化成功后,通过一定的诱导作用,表达出大量抗原蛋白,最后经分离和纯化后制备出所需要的重组蛋白疫苗^[29-30]。乙肝疫苗、戊肝疫苗和宫颈癌疫苗是常见的重组蛋白疫苗^[31]。

与上述的病毒疫苗相比,重组蛋白疫苗最大的优势就是其安全性较高,生产制备过程不会接触完整的病毒^[32];该疫苗的生产成本较低,因此在大规模生产方面具有显著优势^[32]。重组蛋白疫苗的目标抗原有两种形式:一种是以受体结合结构域作为抗原,另一种是以载体蛋白与受体结合结构域形成的融合物作为抗原,这两种重组蛋白疫苗在新型疫苗研发中成为重点方向之一^[9];根据临床试验结果显示,接种重组蛋白疫苗的受试者出现的不良反应较轻^[10]。重组蛋白疫苗最大的缺点就是免疫原性不强,如何有效地提高重组蛋白疫苗的免疫原性是疫苗研发中面临的重要难题。目前常用的措施是借助病毒样颗粒(virus-like particles, VLP)构建技术

和佐剂两种方式以提高免疫原性。病毒类重组蛋白疫苗的制备采用 VLP 构建技术,通过将重组蛋白在体外自组装成类病毒颗粒,从而达到增强免疫原性的目的^[33];在 SARS-CoV-2 重组蛋白疫苗的构建中,通过添加佐剂来增强免疫原性,使选择的目标抗原基因表达的抗原蛋白应能诱导更强的特异性免疫反应和构建健康且持久的免疫保护^[34-36]。

SARS-CoV-2 结构中的 S 蛋白是感染人体细胞的关键蛋白,其可以结合机体细胞上的 ACE2 受体,S 蛋白作为目标抗原蛋白,可在体外表达构建,然后再用于疫苗的制备^[37]。美国诺瓦瓦克斯(Novavax)公司研发的全长重组 SARS-CoV-2 糖蛋白纳米颗粒疫苗 NVX-CoV-2373,是由 S 蛋白和 Matrix-M 佐剂组成,增加 Matrix-M 佐剂目的是增强免疫反应,Matrix-M 佐剂可以诱导辅助性 T 细胞(Th1)反应,并且有助于减少疫苗的使用剂量^[38]。在我国研发 SARS-CoV-2 重组蛋白疫苗的团队有中国科学院微生物研究所高福团队和严景华团队,该团队选择的抗原是 RBD 二聚体抗原,该抗原特有的结构并且没有外源标签,目前已拥有自主知识产权^[32]。另外由安徽智飞/中国科学院微生物研究所研发的 SARS-CoV-2 重组蛋白疫苗在国内已经上市^[17]。

3.3 病毒载体疫苗

病毒载体疫苗是由病毒的抗原基因和病毒载体组成的疫苗,在疫苗的研发生产过程中病毒抗原基因是以目标基因的形式插入到对人体无伤害的病毒载体中^[39]。腺病毒、慢病毒、疱疹病毒和流感病毒等是常用的病毒载体^[40]。SARS-CoV-2 病毒载体疫苗中腺病毒载体疫苗应用广泛,因此以腺病毒载体疫苗为例介绍该类疫苗的设计及研发步骤:首先对目的基因进行处理,将含有目的基因的序列与质粒进行组装,形成携带目的基因的质粒载体;然后利用基因工程技术制备出重组腺病毒骨架重组复合体,该重组骨架是由带有外源保护性目的基因质粒载体与腺病毒载体质粒进行重组而成;酶切法鉴定筛选正确的克隆后,进行重组腺病毒体外转染,利用脂质体法将目的病毒转染到人胚肾细胞 HEK293 中;HEK293 细胞中带有 E1 基因,利用该基因的表达可以在较短时间内包装生产出相应的腺病毒载体,然后经过扩大生产以实现病毒颗粒大量供应^[41]。SARS-CoV-2 腺病毒载体疫苗包括重组腺病毒 26 型(RAd26)和重组腺病毒 5 型(RAd5)两个载体成分^[42],接种疫苗后,腺病毒载体疫苗进入人

体细胞,该疫苗通过在人体细胞内表达翻译出抗原蛋白,以刺激机体体液免疫反应以及细胞免疫反应^[43]。

病毒载体疫苗可诱导良好的细胞免疫,该疫苗自身可激发免疫反应,可以同时刺激体液免疫和细胞免疫,在没有佐剂的参与下就能实现较强的免疫效果^[9,36];这类疫苗的另一优点为易生产制备、生产成本较低容易实现量产^[15];该类疫苗有多种给药方式:肌肉注射、皮内接种和鼻腔接种等^[31]。病毒载体疫苗作为新型疫苗重点研发方向之一也存在一些问题,其中最难克服的问题是“预存免疫”(preexisting immunity),预存免疫是指未感染某一病原体的个体存在对该病原体的免疫力。以腺病毒载体疫苗为例进行阐述:腺病毒载体应用广泛,其中人血清型腺病毒 AdHu2 和 AdHu5 型最为常见;由于人体中广泛存在着针对人血清型腺病毒的中和抗体,在接种疫苗后,中和抗体会发挥作用攻击腺病毒,因此一定量的腺病毒载体疫苗失去效能^[31]。

中国康希诺/军科院的 Ad5-nCoV、美国强生公司(Janssen)的 Ad26. COV2. S、英国阿斯利康/牛津大学的 AZD1222 和俄罗斯的 Sputnik V 均属于已上市的非复制型 SARS-CoV-2 腺病毒载体疫苗。由中国康希诺生物股份公司联合军事科学院一起研发的 Ad5-nCoV,在 2020 年 3 月 16 日宣布 I 期临床研究正式启动^[44];2021 年 2 月 25 日,国家药品监督管理局公开宣布批准 Ad5-nCoV 疫苗附条件上市。美国强生制药公司通过利用腺病毒载体 Ad26 研发出 Ad26. COV2. S,该疫苗一次 III 期临床试验数据显示,其预防中重度感染有效率和重度感染有效率分别为 66.9% 和 76.7%^[45];接种该疫苗会出现不良反应,轻中度的不良反应有头痛、乏力和肌痛^[45],严重时会出现血栓性血小板减少症病例;2021 年 4 月 13 日,美国疾病预防控制中心(CDC)联合美国食品药品监督管理局(FDA)给出一致建议,应该暂停该疫苗的接种^[46]。2020 年 12 月 30 日,英国紧急授予 AZD1222 疫苗的使用权,该疫苗首剂低剂量接种且第 2 剂按照标准剂量进行接种,其护效力为 90%^[47];与 Ad26. COV2. S 类似,AZD1222 也存在一定的安全隐患,接种 AZD1222 的受试者也出现了不同程度的病症,例如血栓性血小板减少症^[48-49]。考虑到该疫苗接种后带来的副作用,许多国家相继暂停了接种 AZD1222 疫苗^[50]。

3.4 DNA 疫苗

DNA 疫苗属于近年来新流行的核酸疫苗,该疫

苗的研究机制是根据已知的病毒目标抗原的基因DNA序列,在体外构建DNA质粒。接种疫苗后,DNA进入人体细胞核并在细胞核中通过转录产生可以编码目标抗原的mRNA,mRNA在细胞质中与核糖体结合通过翻译表达出目标抗原,目标抗原诱导宿主体内产生体液免疫反应和细胞免疫反应,人体的免疫反应被激活,从而达到抵御病毒的作用^[51-52]。

DNA疫苗的优点包括可诱导体液免疫和细胞免疫,能够刺激机体良好的免疫反应;另外DNA疫苗研发和生产周期短,能够短时间内供应;最后DNA疫苗稳定性较高,适应于偏远地区的使用^[53]。DNA疫苗最大的缺点就是DNA进入人体细胞核后存在整合到染色体上的风险^[54];接种该类疫苗后,可能会出现一些自身免疫性疾病等不良反应,包括:系统性红斑狼疮、类风湿关节炎和多发性硬化症等^[31];由于DNA疫苗属于核酸疫苗,接种疫苗后会不断的产生抗原,进而导致免疫耐受。

DNA疫苗在预防流感病毒、艾滋病毒和乙型肝炎病毒等方面被广泛研究,目前还没有针对预防人类疾病的DNA疫苗上市,DNA疫苗仅在兽药中获得使用权^[52,55-56]。SARS-CoV-2 DNA疫苗的研发也成为预防SARS-CoV-2的重点措施。其中著名的INO-4800是由美国Inovio公司联合中国艾棣维欣基于SARS-CoV-2毒株基因序列共同快速研发设计出的DNA疫苗,INO-4800是国内率先进入临床试验的DNA疫苗^[32]。INO-4800是以S蛋白为靶点的DNA疫苗,I期试验的结果显示,接种两次疫苗后,94%的参与者机体产生中和抗体和T细胞免疫反应,并且引起的不良反应较低^[57]。

3.5 mRNA疫苗

mRNA疫苗作为第三代疫苗具有很大的开发潜力,mRNA疫苗也是核酸疫苗,首先在体外构建mRNA序列,该mRNA包含可以编码目标抗原的基因序列。接种疫苗后,mRNA序列被人体细胞摄取,在细胞质中通过翻译表达出目标抗原蛋白,目标抗原蛋白被免疫细胞识别后,刺激免疫反应产生特异性抗体。mRNA疫苗通过诱导机体产生体液免疫反应和细胞免疫反应,达到免疫保护效果^[58]。

mRNA疫苗相较于DNA疫苗更安全,其不会整合到染色体上,并且可以通过代谢途径降解,因此可以避免治疗性突变^[59];接种mRNA疫苗后,可以刺激机体产生体液免疫反应和细胞免疫反应,具有良好的免疫效力;通过体外构建遗传物质便可以生

产出mRNA疫苗,因此mRNA疫苗生产周期短且生产成本较低,适合大量生产以应对突发传染性疾 病^[58];脂质体和纳米颗粒载体技术在mRNA疫苗中广泛应用,在mRNA给药途径问题上有重要突破^[60]。mRNA疫苗最大的难题在于如何提高稳定性,一方面是mRNA疫苗在人体内容易被核糖核酸酶降解,另一方面是储存该种疫苗环境要求非常高,需要超低温条件保存以降低mRNA分解^[39,58];mRNA疫苗作为一种新的疫苗技术,其技术成熟度不高,在递送技术方面,将mRNA高效地导入机体细胞还面临着诸多挑战^[58]。

新冠肺炎疫情发生后,各国均开始加速SARS-CoV-2 mRNA疫苗的研发和生产,利用脂质多聚物纳米(LPP)载体制备SARS-CoV-2 mRNA疫苗制剂的技术是由斯微生物公司研发,并且运用广泛,LPP的双层纳米粒能够更好地包载和保护mRNA,使mRNA分子随着聚合物的降解逐步释放^[61]。美国对mRNA疫苗有深入研究,在该领域一直处于领先地位,如BNT162和mRNA-1273 SARS-CoV-2疫苗均是由美国研制。BNT162是一种脂质纳米颗粒制成的RNA疫苗^[62-63],由美国辉瑞/BioNTech/复星医药研发而成,在II/III期临床试验中针对安全性和有效性评估结果显示,BNT162疫苗有效性为95%,并且在接种该疫苗之后,可能出现轻度的不良反应,严重不良反应的现象很少^[64-65],BNT162 SARS-CoV-2疫苗已经获得WHO紧急使用认证。mRNA-1273是美国莫德纳公司(Moderna)联合美国国家过敏症和传染病研究所(NIAID)共同研发的SARS-CoV-2疫苗,脂质纳米颗粒封装的mRNA-1273疫苗属于RNA疫苗^[66],mRNA-1273疫苗III期临床试验结果显示疫苗的有效性可达94.1%^[66],在接种该疫苗后无安全隐患,出现的不良反应也短暂,良好的有效率、安全性以及稳定性是mRNA-1273 SARS-CoV-2疫苗获得WHO紧急使用认证的关键。

4 思考与展望

新冠肺炎疫情爆发以来,在全世界各国科学家及科研机构的共同努力下,快速掌握了SARS-CoV-2的结构特征和致病机制,SARS-CoV-2疫苗也得以快速研制。鉴于疫苗与病毒本身存在密切关系,对疫苗的研发和生产依然需要长时间的监测和改进。根据疫苗不同的设计类型,在设计SARS-CoV-2疫苗时需要思考的问题也不同。

保证 SARS-CoV-2 疫苗的稳定性与安全性是研发疫苗的关键。一般疫苗的研发包括前期设计研发和临床实验两个阶段,首先通过病毒株的分离获取免疫原,然后设计疫苗结构通过试验检测免疫效应和毒理效果;最后在临床开展双盲实验和 I、II、III 期试验等。完成整个周期需要较长时间,鉴于新冠肺炎疫情的特殊性,短时间内便研发出多种 SARS-CoV-2 疫苗。这些疫苗对人体能否有足够的保护作用以及持久性值得更深入的研究。

虽然我们了解 SARS-CoV-2 的结构特征,但是对 SARS-CoV-2 的认识还有欠缺。在新冠肺炎疫情不断传播的过程中,预防 SARS-CoV-2 感染最有效的措施是接种 SARS-CoV-2 疫苗。由于新冠肺炎疫情在全球肆虐爆发,SARS-CoV-2 的结构已经发生了突变。病毒的突变很大程度上会威胁疫苗的研发,目前部分疫苗对变异的 SARS-CoV-2 仍然有效,若发生多种形式的突变或较大程度的突变,传播速度有可能更快,已经接种的疫苗也有可能失效。因此应该加强力度来监控病毒的突变,以便及时有效地改进疫苗。

不管是为了增强免疫原性而选择各种佐剂,还是考虑到给药途径所选择的载体,都应该考虑其是否会带给机体带来危害。新冠肺炎疫情传播速度快且极大地损害了人们的生命安全和财产安全,面对全世界范围内对 SARS-CoV-2 疫苗的广泛需求,在研发疫苗时,疫苗生产条件和周期也是值得考虑的,具有安全性高、稳定性高、免疫效果好、免疫时间长,生产成本低和生产时间短等的 SARS-CoV-2 疫苗是我们致力追求的。

SARS-CoV-2 结构中的 S 蛋白、S1 亚基和 RBD 是 SARS-CoV-2 疫苗设计中选择的关键靶点,根据结构不同研发设计疫苗,进而评价疫苗的有效性、安全性等,也具有一定的研究意义。随着对 SARS-CoV-2 的认识更加深入以及疫苗研制技术的不断突破,相信 SARS-CoV-2 疫苗将会不断创新并最终实现全世界摆脱 COVID-19 疫情的愿望。

参考文献:

- [1] 陈一晖,李武. 新冠肺炎(Covid-19)的临床症状、临床分类与诊断[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(08):3904-3907. DOI:10.13417/j.gab.039.003904.
- [2] IZDA V, JEFFRIES MA, SAWALHA AH. COVID-19: A review of therapeutic strategies and vaccine candidates [J]. *Clin Immunol*, 2021, 222:108634. DOI: 10.1016/j.j. clim. 2020. 108634.
- [3] KEEHNER J, HORTON LE, PFEFFER MA, *et al.* SARS-CoV-2 Infection after Vaccination in Health Care Workers in California [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(18):1774-1775. DOI: 10.1056/NEJMc2101927.
- [4] LEE HJ, WOO Y, HAHN TW, *et al.* Formation and Maturation of the Phagosome: A Key Mechanism in Innate Immunity against Intracellular Bacterial Infection [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(9):1298. DOI: 10.3390/microorganisms8091298.
- [5] ROSALES C, URIBE-QUEROL E. Phagocytosis: A Fundamental Process in Immunity [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 9042851. DOI: 10.1155/2017/9042851.
- [6] ZABEL F, FETTELSCHOSS A, VOGEL M, *et al.* Distinct T helper cell dependence of memory B-cell proliferation versus plasma cell differentiation [J]. *Immunology*, 2017, 150(3):329-342. DOI: 10.1111/imm.12688.
- [7] 杨玉莹,左代英. 新型冠状病毒疫苗研发进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(07):762-769. DOI:10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2021.0143.
- [8] ALTURKI SO, ALTURKI SO, CONNORS J, *et al.* The 2020 Pandemic: Current SARS-CoV-2 Vaccine Development [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1880. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01880.
- [9] LIU X, LIU C, LIU G, *et al.* COVID-19: Progress in diagnostics, therapy and vaccination [J]. *Theranostics*, 2020, 10(17):7821-7835. DOI: 10.7150/thno.47987.
- [10] WON JH, LEE H. The Current Status of Drug Repositioning and Vaccine Developments for the COVID-19 Pandemic [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24):9775. DOI:10.3390/ijms21249775.
- [11] TUMBAN E. Lead SARS-CoV-2 Candidate Vaccines: Expectations from Phase III Trials and Recommendations Post-Vaccine Approval [J]. *Viruses*, 2020, 13(1):54. DOI: 10.3390/v13010054.
- [12] TREGONING JS, BROWN ES, CHEESEMAN HM, *et al.* Vaccines for COVID-19 [J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 202(2):162-192. DOI: 10.1111/cei.13517.
- [13] 付钰倩,芦增增,黄妙惠. 新型冠状病毒肺炎免疫反应与疫苗开发的研究进展[J]. 福建轻纺, 2021(06):2-7+12. DOI:10.3969/j.issn.1007-550X.2021.06.001.
- [14] 白仲虎,李昕然,王荣斌,等. 哺乳动物细胞生产人用灭活疫苗相关技术进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41(10):1986-1993. DOI:10.11844/cjcb.2019.

- 10.0016.
- [15] 金翔,俞庆龄,张璐楠,等. 针对新型冠状病毒的 DNA 疫苗研究进展[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(21): 2425-2433. DOI: 10.3969/j.issn.1003-3734.2020.21.006.
- [16] MULLIGAN MJ. An Inactivated Virus Candidate Vaccine to Prevent COVID-19 [J]. *JAMA*, 2020, 324(10):943-945. DOI: 10.1001/jama.2020.15539.
- [17] 桓瑜,毕玉海. 2019 新型冠状病毒疫苗研究进展及展望[J]. 中国科学:生命科学, 2022, 52(02):237-248. DOI:10.1360/SSV-2021-0082.
- [18] 黄苏玥,沈银忠. 新型冠状病毒疫苗的研发进展[J]. 上海医药, 2021, 42(17):16-21. DOI:10.3969/j.issn.1006-1533.2021.17.005.
- [19] HOLMES KV. SARS coronavirus: a new challenge for prevention and therapy [J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(11):1605-9. DOI:10.1172/JCI18819.
- [20] DENG Y, LAN J, BAO L, *et al.* Enhanced protection in mice induced by immunization with inactivated whole viruses compare to spike protein of middle east respiratory syndrome coronavirus [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7(1): 60. DOI: 10.1038/s41426-018-0056-7.
- [21] WU Z, HU Y, XU M, *et al.* Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac) in healthy adults aged 60 years and older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2021, 21(6): 803-812. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30987-7.
- [22] XIA S, ZHANG Y, WANG Y, *et al.* Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV; a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2021, 21(1):39-51. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30831-8.
- [23] XIA S, ZHANG Y, WANG Y, *et al.* Safety and immunogenicity of an inactivated COVID-19 vaccine, BBIBP-CorV, in people younger than 18 years: a randomised, double-blind, controlled, phase 1/2 trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2022, 22(2):196-208. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00462-X.
- [24] VÁLYI-NAGY I, MATULA Z, GÖNCZI M, *et al.* Comparison of antibody and T cell responses elicited by BBIBP-CorV (Sinopharm) and BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) vaccines against SARS-CoV-2 in healthy adult humans [J]. *Geroscience*, 2021, 43(5):2321-2331. DOI:10.1007/s11357-021-00471-6.
- [25] 史长城,李晴宇,朱洁瑾,等. 新型冠状病毒肺炎疫苗的临床研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(21):2748-2753. DOI:10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.21.019.
- [26] ELLA R, VADREUVU KM, JOGDAND H, *et al.* Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBV152; a double-blind, randomised, phase 1 trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2021, 21(5):637-646. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00070-0.
- [27] ELLA R, REDDY S, JOGDAND H, *et al.* Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBV152: interim results from a double-blind, randomised, multicentre, phase 2 trial, and 3-month follow-up of a double-blind, randomised phase 1 trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2021, 21(7):950-961. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00070-0.
- [28] ELLA R, REDDY S, BLACKWELDER W, *et al.* Efficacy, safety, and lot-to-lot immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine (BBV152): interim results of a randomised, double-blind, controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2021, 398(10317):2173-2184. DOI:10.1016/S0140-6736(21)02000-6.
- [29] KARPINSKI TM, OŻAROWSKI M, SEREMAK-MROZIKIEWICZ A, *et al.* The 2020 race towards SARS-CoV-2 specific vaccines [J]. *Theranostics*, 2021, 11(4):1690-1702. DOI: 10.7150/thno.5369.
- [30] LI YD, CHI WY, SU JH, *et al.* Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19 [J]. *J Biomed Sci*, 2020, 27(1):104. DOI:10.1186/s12929-020-00695-2.
- [31] 廖盼,肖义军. 新冠病毒疫苗研发策略与进展概述[J]. 生物学教学, 2021, 46(05):8-10. DOI:10.3969/j.issn.1004-7549.2021.05.003.
- [32] 方朝东,张玉辉,吴浩飞,等. 新型冠状病毒肺炎疫苗研究进展概述[J]. 中国药师, 2020, 23(09):1826-1830. DOI:10.3969/j.issn.1008-049X.2020.09.037.
- [33] ROLDÃO A, MELLADO MC, CASTILHO LR, *et al.* Virus-like particles in vaccine development [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2010, 9(10):1149-1176. DOI: 10.1586/erv.10.115.
- [34] CAO Y, ZHU X, HOSSEN MN, *et al.* Augmentation of vaccine-induced humoral and cellular immunity by a physical radiofrequency adjuvant [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):3695. DOI: 10.1038/s41467-018-06151-y.
- [35] KAUR SP, GUPTA V. COVID-19 Vaccine: A comprehensive status report [J]. *Virus Res*, 2020, 288:

198114. DOI:10.1016/j.virusres.2020.198114.
- [36] WANG J, PENG Y, XU H, *et al.* The COVID-19 Vaccine Race: Challenges and Opportunities in Vaccine Formulation [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2020, 21(6):225. DOI:10.1208/s12249-020-01744-7.
- [37] BHAT EA, KHAN J, SAJJAD N, *et al.* SARS-CoV-2: Insight in genome structure, pathogenesis and viral receptor binding analysis - An updated review [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 95:107493. DOI:10.1016/j.intimp.2021.107493.
- [38] KEECH C, ALBERT G, CHO I, *et al.* Phase 1-2 Trial of a SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Nanoparticle Vaccine [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(24):2320-2332. DOI: 10.1056/NEJMoa2026920.
- [39] 李晓瑞,李兴航,严汉池. 新型冠状病毒疫苗的研发现状及展望[J]. 中国生物制品学杂志, 2021, 34(05): 602-606. DOI:10.13200/j.cnki.cjb.003343.
- [40] HUMPHREYS IR, SEBASTIAN S. Novel viral vectors in infectious diseases [J]. *Immunology*, 2018, 153(1):1-9. DOI:10.1111/imm.12829.
- [41] BOS R, RUTTEN L, VAN DER LUBBE JEM, *et al.* Ad26 vector-based COVID-19 vaccine encoding a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 Spike immunogen induces potent humoral and cellular immune responses [J]. *NPJ Vaccines*, 2020, 5: 91. DOI: 10.1038/s41541-020-00243-x.
- [42] LOGUNOV DY, DOLZHIKOVA IV, ZUBKOVA OV, *et al.* Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia [J]. *Lancet*, 2020, 396(10255): 887-897. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31866-3.
- [43] 成传刚,慕婷,袁军,等. 重组病毒载体疫苗研究进展[J]. 中国病毒病杂志, 2018, 8(04):318-328. DOI:10.16505/j.2095-0136.2018.0024.
- [44] ZHU FC, LI YH, GUAN XH, *et al.* Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial [J]. *Lancet*, 2020, 395(10240):1845-1854. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31208-3.
- [45] HEININGER U. Efficacy of Single-Dose Ad26. COV2. S Vaccine against Covid-19 [J]. *N Engl J Med*, 2021, 385(3):288. DOI:10.1056/NEJMc2107809.
- [46] SHAY DK, GEE J, SU JR, *et al.* Safety Monitoring of the Janssen (Johnson & Johnson) COVID-19 Vaccine - United States, March-April 2021 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2021, 70(18): 680-684. DOI:10.15585/mmwr.mm7018e2.
- [47] VOYSEY M, CLEMENS SAC, MADHI SA, *et al.* Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK [J]. *Lancet*, 2021, 397(10269): 99-111. DOI:10.1016/S0140-6736(20)32661-1.
- [48] GREINACHER A, THIELE T, WARKENTIN TE, *et al.* Thrombotic Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCov-19 Vaccination [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(22):2092-2101. DOI: 10.1056/NEJMoa2104840.
- [49] MCCRAE KR. Thrombotic thrombocytopenia due to SARS-CoV-2 vaccination [J]. *Cleve Clin J Med*, 2021. DOI: 10.3949/ccjm.88a.ccc078.
- [50] WISE J. Covid-19: European countries suspend use of Oxford-AstraZeneca vaccine after reports of blood clots [J]. *BMJ*, 2021, 372:n699. DOI:10.1136/bmj.n699.
- [51] KUTZLER MA, WEINER DB. DNA vaccines: ready for prime time [J]. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(10): 776-88. DOI:10.1038/nrg2432.
- [52] PARDI N, HOGAN MJ, PORTER FW, *et al.* mRNA vaccines - a new era in vaccinology [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(4):261-279. DOI:10.1038/nrd.2017.243.
- [53] 赵琪,安静,陈辉. 登革病毒 DNA 疫苗的研究进展[J]. 军事医学, 2016, 40(11):923-926. DOI:10.7644/j.issn.1674-9960.2016.11.017.
- [54] 于琨,安丽平,王伟,等. 流感疫苗的研究进展[J]. 现代预防医学, 2017, 44(14):2644-2646+2650. DOI: CNKI;SUN;XDYF.0.2017-14-037.
- [55] SUSCHAK JJ, WILLIAMS JA, SCHMALJOHN CS. Advancements in DNA vaccine vectors, non-mechanical delivery methods, and molecular adjuvants to increase immunogenicity [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2017, 13(12): 2837-2848. DOI: 10.1080/21645515.2017.1330236.
- [56] MASCOLA JR, FAUCI AS. Novel vaccine technologies for the 21st century [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(2):87-88. DOI:10.1038/s41577-019-0243-3.
- [57] QIAN C, LIU X, XU Q, *et al.* Recent Progress on the Versatility of Virus-Like Particles [J]. *Vaccines (Basel)*, 2020, 8(1): 139. DOI: 10.3390/vaccines8010139.
- [58] 葛华,蒋丽勇,刘术,等. COVID-19 mRNA 疫苗关键技术及产品进展分析[J]. 军事医学, 2020, 44(04):

- 264-268. DOI: 10.7644/j.issn.1674-9960.2020.04.005.
- [59] MCIVOR RS. Therapeutic delivery of mRNA: the medium is the message [J]. *Mol Ther*, 2011, 19(5): 822-823. DOI:10.1038/mt.2011.67.
- [60] MIAO L, LI L, HUANG Y, *et al.* Delivery of mRNA vaccines with heterocyclic lipids increases anti-tumor efficacy by STING-mediated immune cell activation [J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(10): 1174-1185. DOI: 10.1038/s41587-019-0247-3.
- [61] PASTOR F, BERRAONDO P, ETXEBERRIA I, *et al.* An RNA toolbox for cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(10):751-767. DOI: 10.1038/nrd.2018.132.
- [62] KLIMEK L, JUTEL M, AKDIS CA, *et al.* ARIA-EAACI statement on severe allergic reactions to COVID-19 vaccines - An EAACI-ARIA Position Paper [J]. *Allergy*, 2021, 76(6): 1624-1628. DOI: 10.1111/all.14726.
- [63] POLACK FP, THOMAS SJ, KITCHIN N, *et al.* Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(27): 2603-2615. DOI: 10.1056/NEJMc2036242.
- [64] OLIVER SE, GARGANO JW, MARIN M, *et al.* The Advisory Committee on Immunization Practices' Interim Recommendation for Use of Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine - United States, December 2020 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2020, 69(50):1922-1924. DOI:10.15585/mmwr.mm6950e2.
- [65] WALSH EE, FRENCK RW JR, FALSEY AR, *et al.* Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(25): 2439-2450. DOI: 10.1056/NEJMoa2027906.
- [66] BADEN LR, EL SAHLY HM, ESSINK B, *et al.* Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine [J]. *N Engl J Med*, 2021 Feb 4, 384(5): 403-416. DOI:10.1056/NEJMoa2035389.



李亚峰,男,山西省人民医院肾内科主任医师,博士生导师,省优专家;美国天普大学博士后;国家十三五重大专项项目负责,第十三届中华全国青年联合会委员,第九届山西省科协委员,山西省青年科技人才协会秘书长等;Biomolecules,Frontiers in Cardiovascular Medicine,Frontiers in Physiology,《中国分脏病学》等国际国内学术杂志编委、审稿;目前主要从事黏膜屏障损伤参与IgA肾病的机制研究工作;主持国家和省部级项目10余项,其中包括国家自然科学基金3项,十三五重大项目1项;在Arthritis Rheumatol,Ann Rheum Dis,J Hematol Oncol,Protein Cell等期刊发表论文60余篇(其中以第一/通讯作者收录SCI论文20余篇),获得国家发明专利8项,参与出版著作1部;曾获山西省“三晋英才”支持计划拔尖骨干人才、山西省学术技术带头人、山西省高等学校优秀青年学术带头人、山西省青年岗位能手、山西省优秀科技工作者、山西最美科技工作者、山西省“五小”创新大赛一等奖。E-mail:yafengli@sxmu.edu.cn

(责任编辑:杨东东)