

关于新冠病毒疫苗研发的思考

陈 则

(湖南师范大学 生命科学学院, 中国湖南 长沙 410081)

摘 要: 新冠病毒(SARS-CoV-2)疫苗能否研发成功引起全社会关注。目前,大多数新冠肺炎病人可以自然康复,没有明确证据证明新冠病毒可以长期在体内潜伏,而且康复的患者血清可以治疗新冠肺炎病人,这些都预示着新冠病毒疫苗研发可能会成功。另一方面,新冠病毒疫苗研发也可能失败,主要原因是疫苗可能引起抗体依赖增强(antibody-dependent enhancement, ADE),即疫苗诱导的抗体可能增强病毒的感染能力。另外,疫苗也可能引起免疫性肺损伤。当前,疫苗的种类很多,包括传统型的疫苗和新型疫苗。从理论上来说,所有已经有的疫苗种类和技术都可以尝试用在新冠病毒疫苗的研究上。

关键词: 新冠病毒;灭活疫苗;基因工程疫苗;核酸疫苗

中图分类号: Q939.91, R373.1

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2020)04-0259-04

Thoughts on COVID-19 Related Vaccine Research

CHEN Ze

(College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, Hunan, China)

Abstract: Whether the new coronavirus (SARS-CoV-2) vaccine will be successfully developed has attracted attention of the whole world. In general, most infected patients can clear the virus from their bodies and finally recover, and the convalescent plasma collected from recovered people has a therapeutic effect on severe cases of COVID-19. These facts indicate that the viral infection can induce protective immunity in humans, and that vaccines would be successfully developed. However, there is a major concern that vaccination to the virus may cause antibody-dependent enhancement (ADE), which would result in failure of the vaccine development. And immune-mediated lung injury may be another concern about the virus vaccines. Nowadays, there are many types of vaccines, including traditional vaccines and novel ones. In theory, all types of vaccines and various methods can be tried in the research and development of SARS-CoV-2 vaccines.

Key words: SARS-CoV-2; inactivated vaccine; genetically engineered vaccine; nucleic acid vaccine

(*Life Science Research*, 2020, 24(4): 259~262)

新冠病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)疫苗能否研发成功是一个既简单又复杂的问题。其能够研发成功的理由有以下三点: 1) 大多数新冠肺炎病人可以清除体内病毒(而 HIV 病人是无法清除体内病毒的), 自然康复; 2) 目前没有明确证据证明新冠病毒可以长期在体内潜伏; 3) 康复的患者血清可以治疗新冠肺炎病人。通过采集部分新冠肺炎康复者血浆, 国内已经成功制备出用于临床治疗的特免血

浆。患者接受特免血浆治疗后临床症状和体征明显好转^[1-2]。这些均预示新冠病毒疫苗研发可能会成功。新冠病毒疫苗研发可能失败的主要顾虑是疫苗可能引起抗体依赖增强(antibody-dependent enhancement, ADE)^[3], 也就是说疫苗诱导的抗体可能增强病毒的感染能力。有关 SARS 疫苗的研究表明, 灭活的冠状病毒或全长 S 蛋白作为疫苗接种后可能引起 ADE 或免疫性肺损伤^[4]。如果没有 ADE 现象, 大概率近期(可能明年初)会有新冠

病毒疫苗;如果存在 ADE, 新冠病毒疫苗研发可能长路漫漫。

理论上所有已经有的疫苗种类和技术都可以应用在新冠病毒疫苗的研究上, 包括第一代传统型疫苗(如灭活疫苗和减毒活疫苗)、第二代基因工程疫苗以及第三代核酸疫苗(DNA 和 RNA 疫苗)^[5]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)官网已经备案的 100 多个新冠肺炎疫苗项目就包含了这三代不同类型的疫苗。目前已有 16 个疫苗进入临床试验, 其中 5 个来自中国^[6], 包括两个中国生物技术股份有限公司(简称“中国生物”)旗下的灭活疫苗。这些疫苗大多还处于一期安全性研究阶段, 少数疫苗关键的三期有效性研究目前已在疾病流行国家开展。下面对几类主要的疫苗类型的特点予以简单的介绍。

1 灭活疫苗(inactivated vaccine)

灭活疫苗属于第一代疫苗, 是当前世界范围内最广泛使用的疫苗之一^[7]。它是指使用化学灭活剂将病毒灭活, 使它们失去感染性而制备成的疫苗。作为传统型疫苗, 灭活疫苗使用历史长, 制备工艺成熟, 在人类疾病的预防中起到了重要作用。然而, 灭活疫苗在儿童、老年人、慢性病患者等高危人群中提供的保护率可能相对较低; 适用于疫苗生产的病毒株的制备和鉴定以及疫苗生产工艺都比较复杂, 且周期较长; 疫苗保护效果受制于疫苗株与流行株表面抗原的匹配程度。另外, 在灭活疫苗生产中由于毒株具有致病性, 其安全性问题也是一个挑战。

2 基因工程疫苗(genetically engineered vaccine)

基因工程疫苗被称为第二代疫苗, 是指利用分子生物学原理和技术, 将病毒基因片段(或表位序列)克隆入合适的表达载体, 在体外表达病毒抗原后经纯化制备而成的疫苗, 或用能够表达病毒抗原的活的重组载体本身制成的疫苗。常见的基因工程疫苗包括重组亚单位疫苗(recombinant subunit vaccine)、病毒样颗粒疫苗(virus-like particle-based vaccine)、活病毒载体疫苗(viral vector-based vaccine)等。

2.1 重组亚单位疫苗

重组亚单位疫苗是指通过选择合适的表达系统(如大肠杆菌、酵母、哺乳动物细胞或杆状病毒

等)表达病毒抗原蛋白(或其表位), 如新冠病毒的 S 蛋白或者受体结合域(receptor-binding domain, RBD), 并将纯化的表达产物按照一定工艺制备而成的疫苗。由于其易于大规模快速生产, 且成本低廉, 所以受到疫苗研发人员的青睐, 特别是在大流行期间, 借助成熟的分子生物技术和生物发酵技术, 即可在短时间内研制并生产出大量的疫苗, 以满足大规模接种之需。目前, 基于不同靶抗原的基因工程亚单位疫苗的有效性已经在多项研究中得以证实^[8]。

2.2 病毒样颗粒疫苗

病毒样颗粒(virus-like particle, VLP)是由病毒的一种或多种结构蛋白(一般为衣壳蛋白)自行装配而成的类似病毒粒子完整结构的空心颗粒。多种病毒的结构蛋白, 如流感病毒的基质蛋白 M1、HIV 的核心蛋白 Gag、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的核心抗原 HBcAg、人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)的主要衣壳蛋白 L1 等, 都具有自行组装成 VLP 的功能^[9]。VLP 在形态结构上与原始病毒粒子相似, 具有很强的免疫原性。另外, VLP 本身缺少遗传物质, 不能自主复制, 也不具有感染性, 因而具有良好的安全性。更重要的是, VLP 在结构上允许外源基因片段的插入, 并能在各种不同的表达系统中自动组装成将外源性抗原(或表位)高密度展示在其表面的嵌合型病毒样颗粒。鉴于此, 无论是其本身作为一种疫苗形式, 还是作为一种新型疫苗递送载体, VLP 都成为新冠病毒疫苗研发的一个热点。

2.3 活病毒载体疫苗

活病毒载体疫苗常用的病毒载体有腺病毒(adenovirus)、痘病毒(poxvirus)和水疱性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)等。

腺病毒有诸多优点, 如宿主范围广泛、对人体低致病性、病毒基因组相对容易操作、允许插入的外源基因容量大、病毒扩增速度快、病毒颗粒比较稳定、冻干后无需冷藏等, 目前已经成为最常用的病毒载体之一。在人类腺病毒的 50 多个血清型中, 腺病毒 5 型(adenovirus type 5, Ad5)来源的重组载体被广泛地应用于疫苗或基因治疗药物的临床研究^[10]。虽然重组人腺病毒载体疫苗在实验动物体内取得了较好的免疫效果, 但是在多数人体内存在的不同程度地针对载体的抗体势必会影响疫苗抗原在体内诱导的免疫应答或限制载体疫苗的多次接种, 这是当前腺病毒载体疫苗研究中所

面临的一个主要问题^[11]。尽管这种抗载体效应对疫苗有效性的具体影响程度还不是很清楚, 研究者们还是在减少抗载体免疫效应上做了不少工作, 包括对载体进行化学修饰和改造、构建嵌合病毒载体、开发新型非人类腺病毒载体等。随着研究的深入, 在对腺病毒载体进行了不断改进和完善后, 基于不同腺病毒载体的疫苗将成为一种简单、高效、经济和安全的疫苗类型。

人类在使用痘苗病毒(vaccinia virus)制备的疫苗消除了天花之后, 就尝试将其作为一种新的病毒载体。痘苗病毒具有成为理想载体的多个特性, 它们易于操作, 费用低廉, 可以容纳较大外源DNA的插入, 可以冻干, 口服后可以诱导黏膜和系统性的免疫反应。然而, 痘苗病毒疫苗接种后体内会产生针对痘苗病毒的抗体, 这可能会影响针对外源蛋白的免疫反应的诱导。为此, 科学家们对来源于其他物种的与痘苗病毒相似但无交叉反应的痘病毒进行了研究, 比如金丝雀痘病毒(canarypox virus, CPV)和鸡痘病毒(fowlpox virus)。与重组痘苗病毒相比, 这些重组载体在人体内诱导的免疫反应相对较弱; 但是, 这些痘病毒载体疫苗接种后在人群中的传播和循环对于免疫力极度低下者也是一个潜在的威胁。为了解决这个问题, 新型的复制缺陷型的减毒痘苗病毒, 例如安卡拉(Ankara)病毒株, 成为痘病毒载体疫苗的主要载体^[12]。重组改良型安卡拉株(modified vaccinia virus Ankara, MVA)是高度减毒的复制缺陷型痘苗病毒, 在生物安全一级实验室条件下即可进行操作。MVA作为疫苗载体的安全性和有效性已经在多种人或动物的病毒性疾病研究中得到证实。

水疱性口炎病毒(VSV)属于弹状病毒科水疱病毒属, 是有包膜的单股负链RNA病毒。VSV可以自然感染马、牛和猪等家畜并引发疾病, 但很少感染人, 人偶尔感染VSV后通常也无明显症状。VSV在人群中的低感染率和低致病性赋予了其作为一种新型人用病毒载体的潜能。VSV作为一种疫苗载体在多种疫苗研究中都得到广泛应用。1997年, Kretzschmar等^[13]在VSV的G基因上、下游分别插入流感病毒血凝素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(neuraminidase, NA)的基因, 利用反向遗传学技术成功获得表达HA/NA蛋白的重组VSV, 并证明嵌合与重组病毒表面的HA和NA均具有完整的生物学活性。另外, 该课题组还通过将VSV病毒G蛋白的胞内区截短或去除, 对

病毒进行了减毒, 同时这也消除了载体接种后产生的抗载体抗体反应^[14]。

3 核酸疫苗(nucleic acid vaccine)

核酸疫苗被称为第三代疫苗, 是20世纪90年代初期才诞生的一类新型疫苗。该疫苗以核酸的形式呈现, 分为DNA疫苗和RNA疫苗。DNA疫苗是指将含有病毒抗原基因的真核表达质粒, 通过肌肉注射、基因枪注射等方法导入机体内, 使其在机体内表达抗原蛋白, 从而激发机体免疫系统产生针对病毒编码蛋白的特异性免疫应答反应^[15]。DNA疫苗具有生产工艺简单、贮藏运输简便等优点, 并具有同时诱导体液免疫和细胞免疫的潜能, 因此近年来DNA疫苗被作为一种新型的疫苗而得到广泛的研究。同时, 基于mRNA免疫策略的研究也越来越多, 人们在不同的临床前模型中证明了其特异性的免疫保护作用。基于mRNA的疫苗代表了一种新的疫苗类型^[16]。鉴于mRNA疫苗在生产周期、生产成本、安全性等方面的多种优势, 随着人们对新冠病毒致病机理研究的深入以及分子生物学技术的不断发展, mRNA疫苗将会在预防新冠肺炎中发挥一些作用。

总之, 不同类型的疫苗各有特点。灭活疫苗由于研发路径和制备工艺成熟, 目前由我国研发的全球首个新冠病毒灭活疫苗已率先进入临床三期试验。随着人们对新冠病毒感染与免疫、致病机制、传播机制等分子病毒学基础研究的深入, 以及近年来基因工程技术的发展和疫苗技术的逐渐成熟, 基因工程疫苗和核酸疫苗这些新型疫苗的研究与开发也会取得重要的实质性进展。当前, 新型疫苗及其技术工艺的研发应该着重于缩短疫苗研发与生产周期、提高应急生产能力、提高疫苗免疫原性与保护效率、改进疫苗递送方式以及增强疫苗免疫保护谱和佐剂使用等方面。另外, 为应对新冠病毒可能发生的各种变异, 针对病毒基因中高度保守的基因序列或者表位等设计和制备能够诱导广谱和持久免疫的通用疫苗(universal vaccine), 也是当前新冠病毒疫苗研发的重要方向之一^[17-18]。

2020年以来, 这场突如其来的新冠病毒大流行让人们对新冠病毒疫苗研究充满期待, 随着疫情的延续, 病毒防控难度超出许多病毒专家的预估, 上述各种形式疫苗的研发会层出不穷, 它们的安全性和有效性数据将随着时间的推移呈现在

我们面前。我们期待传统疫苗或基于新技术的新型疫苗会在不久的将来能够为防控新冠病毒提供帮助,这也将提升人类在疫苗研发方面的认知和能力。

参考文献(References):

- [1] SHEN C, WANG Z, ZHAO F, *et al.* Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma[J]. JAMA, 2020, 323(16): 1582-1589.
- [2] DUAN K, LIU B, LI C, *et al.* Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2020, 117(17): 9490-9496.
- [3] TETRO J A. Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses?[J]. Microbes and Infection, 2020, 22(2): 72-73.
- [4] WANG S F, TSENG S P, YEN C H, *et al.* Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2014, 451(2): 208-214.
- [5] 石云, 王宁, 邹全明. 新型冠状病毒疫苗研发进展与挑战[J]. 中华预防医学杂志(SHI Yun, WANG Ning, ZOU Quan-ming. Progress and challenge of vaccine development against 2019-novel coronavirus (2019-nCoV)[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2020, 54(6): 614-619.
- [6] World Health Organization. Novel-coronavirus-landscape-covid-19-24062020[EB/OL]. [2020-06-28]. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>.
- [7] GAO Q, BAO L, MAO H, *et al.* Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2[J]. Science, 2020, 369(6499): 77-81.
- [8] WANG N, SHANG J, JIANG S, *et al.* Subunit vaccines against emerging pathogenic human coronaviruses[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 298.
- [9] HAYNES J R. Influenza virus-like particle vaccines[J]. Expert Review of Vaccines, 2009, 8(4): 435-445.
- [10] ZHU F C, LI Y H, GUAN X H, *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]. The Lancet, 2020, 395(10240): 1845-1854.
- [11] 庄秋传. 腺病毒载体在预存高滴度抗腺病毒中和抗体机体内的应用[D]. 广州: 中国科学院华南植物园(ZHUANG Qiu-chuan. Application of Adenoviral Vectors When High Titers of Vector Specific Neutralizing Antibodies Preexist[D]. Guangzhou: South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, 2008.
- [12] VOLZ A, SUTTER G. Modified vaccinia virus Ankara: history, value in basic research, and current perspectives for vaccine development[J]. Advances in Virus Research, 2017, 97: 187-243.
- [13] KRETZSCHMAR E, BUONOCORE L, SCHNELL M J, *et al.* High-efficiency incorporation of functional influenza virus glycoproteins into recombinant vesicular stomatitis viruses[J]. Journal of Virology, 1997, 71(8): 5982-5989.
- [14] ROBERTS A, BUONOCORE L, PRICE R, *et al.* Attenuated vesicular stomatitis viruses as vaccine vectors[J]. Journal of Virology, 1999, 73(5): 3723-3732.
- [15] SMITH T R F, PATEL A, RAMOS S, *et al.* Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19[J]. Nature Communications, 2020, 11: 2601.
- [16] WANG F, KREAM R M, STEFANO G B. An evidence based perspective on mRNA-SARS-CoV-2 vaccine development[J]. Medical Science Monitor, 2020, 26: e924700-1-e924700-8.
- [17] OJHA R, GUPTA N, NAIK B, *et al.* High throughput and comprehensive approach to develop multi-epitope vaccine against minacious COVID-19[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 151: 105375.
- [18] HAR-NOY M, OR R. Allo-priming as a universal anti-viral vaccine: protecting elderly from current COVID-19 and any future unknown viral outbreak[J]. Journal of Translational Medicine, 2020, 18: 196.