

· 双清论坛:重大疾病疫苗研究的关键科学问题 ·

疫苗免疫原的研究进展和趋势

李婷婷 柳欣林 张芝晴 何茂洲
张天英 顾颖 李少伟 夏宁邵*

厦门大学 国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心/公共卫生学院/生命科学学院, 厦门 361102

[摘要] 疫苗是预防和控制传染病最为经济有效的手段,也是肿瘤、代谢性疾病、老年认知性疾病等慢性病具有潜力的防治手段。免疫原作为疫苗最为关键的要素,决定了疫苗效应的特异性和靶向性。以新型冠状病毒全球大流行为代表的重大、多发、高发、新发传染病的持续出现,给疫苗研发带来了巨大的挑战。免疫原选择和设计的理论依据不足是创新疫苗研究的共性关键科学问题。本文梳理了国内外近年来在疫苗免疫原研究方面的进展,指出在新一代疫苗革命背景下免疫原研究趋势和研究前沿。结合当前复杂免疫原的研究难点,提出了未来工作的建议,如:利用现代疫苗学相关的交叉前沿和创新,重点开展新型疫苗靶标发现、免疫原性精准设计理论、新型免疫增强或调控技术、仿人免疫评价体系和人体疫苗免疫应答机制等领域的工作。

[关键词] 疫苗;免疫原;免疫原性;理性设计

疫苗作为人类医学史上最突出的成就之一,是预防和控制传染病最为经济有效的手段,每年可挽救近600万人的生命,其中包括300万儿童^[1, 2]。近20年来,疫苗可预防疾病的种类以大约每两年一个的速度在持续增加,现已超过40种。其中人乳头瘤病毒疫苗对相关高度癌前病变预防效果的显现和前列腺癌治疗性疫苗的上市标志着疫苗的健康效应从传统的预防传染病向防治其他疾病进一步拓展^[3, 4]。与此同时,为提高接种便捷性、减少接种次数,不断有新的多联多价疫苗问世。此外,各国对恶性肿瘤治疗性疫苗、高血压疫苗、避孕疫苗等非传染病疫苗的探索以及对核酸疫苗、精准设计重组活载体疫苗等新疫苗类型的探索在近年来也取得了长足的进步^[1, 5-7]。2019年12月1日我国首个《疫苗法》正式生效,标志着新型疫苗的研发已成为我国健康战略、国家安全战略、产业结构优化升级战略、精准扶贫战略的重要组成部分。

疫苗研究的三大核心要素包括:免疫原、佐剂、疫苗与机体互作^[8]。其中免疫原决定了所诱导免疫应答的特异性和效应的靶向性。传统的疫苗技术多



夏宁邵 教授,厦门大学公共卫生学院院长、分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室主任、国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心主任。长期开展分子病毒学和疫苗研究。主持研制出全球首个戊肝疫苗、首个国产宫颈癌疫苗。发表SCI论文300余篇,其中以通讯或共同通讯作者在NEJM、Lancet、Science Translational Medicine、Nature Microbiology、Cell Host & Microbe、PNAS等高水平期刊发表论文20余篇。以第一完成人获国家技术发明二等奖、国家科技进步二等奖、全国创新争先奖等奖励。



李婷婷 博士,厦门大学公共卫生学院博士后。

采用减毒/灭活的病原体或者分离对于病原体感染至关重要的蛋白/多糖作为免疫原,后者配合能有效刺激抗体产生但难以诱导细胞免疫应答的铝佐剂(磷酸铝或氢氧化铝),通过注射或口服递送至机体,

收稿日期:2020-05-28;修回日期:2020-07-14

* 通信作者,Email:nsxia@xmu.edu.cn

本文受到国家自然科学基金重大项目(81991491)的资助。

诱导免疫状态正常的个体产生保护性抗体应答。这一技术策略尽管有效,但已经难以应对当前的高难度创新疫苗研发^[9],尤其在面对更为复杂的新发突发病原、多基因型/高变异性病原或者当个体存在不同预存免疫的情况下,免疫原选择和设计的理论依据不足是创新疫苗研究的共性关键科学问题。

疫苗免疫原研究的重大挑战和重大需求,驱动免疫原研究逐步从以减毒、灭活疫苗等为代表的传统疫苗学,走向以重组颗粒疫苗为代表的反向疫苗学。近年来逐步向以结构疫苗学、合成生物学、核酸疫苗等为代表的更加精准、理性设计的方向发展^[5, 10-13]。在发展过程中,涌现出众多经典研究案例,如重组戊型肝炎疫苗、肠道病毒 71 型(EV71)灭活疫苗、重组乙肝疫苗、呼吸道合胞病毒(RSV)疫苗设计、密码子改造活疫苗、埃博拉病毒疫苗、mRNA 疫苗等^[14-18]。可以说,疫苗免疫原研究逐步进入理性设计时代^[19-21]。

1 疫苗免疫原研究进展

疫苗免疫原分为天然免疫原和人工改造免疫原。传统的灭活/减毒疫苗多采用完整的天然病原组分作为免疫原,结合疫苗、重组亚单位疫苗和病毒样颗粒疫苗等现代疫苗学技术能通过人工改造免疫原实现有效的保护性免疫应答。以下将综述近年来的免疫原研究进展。

1.1 天然免疫原

1.1.1 灭活疫苗

灭活疫苗免疫原,是一种传统的疫苗免疫原制备方法,即通过物理或化学等方式处理天然病毒或细菌来获得无感染活性的免疫原。较其他免疫原获得方式,直接灭活获得的免疫原具有研发周期短、安全性高且制备工艺成熟等优点。尤其在面对新发突发传染病时,通过灭活获得疫苗免疫原常是疫苗研发的首选。目前上市的灭活疫苗包括百白破疫苗、流行性感疫苗、狂犬病疫苗、乙型肝炎疫苗、流行性脑脊髓膜炎疫苗、伤寒疫苗、钩体病疫苗、鼠疫疫苗、流感全病毒灭活疫苗、脊髓灰质炎灭活疫苗和甲肝灭活疫苗等。

近年来,我国在新发传染病的灭活疫苗免疫原研发中取得较大进展。2015 年,我国基于 Vero 细胞研制了全球首个 Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗,打破了国际垄断,为全球根除脊髓灰质炎作出重要贡献。2016 年,针对 EV71 引起的手足口病,我国率先研制出 EV71 灭活疫苗,临床数据显示其针对

EV71 感染导致的手足口病保护率在 90% 以上^[18, 22, 23]。另外,我国研发的甲肝灭活疫苗现已走向国际,成为全球通过 WHO 预认证的甲肝疫苗产品。近期,新型冠状病毒(SARS-CoV-2)肆虐全球,北京科兴生物制品有限公司开发了灭活 SARS-CoV-2 病毒候选疫苗(PiCoVacc)。该灭活疫苗可在小鼠、大鼠和非人类灵长类动物模型中诱导 SARS-CoV-2 特异性中和抗体且没有产生抗体依赖性感染增强(ADE),这表明该疫苗免疫原安全有效,有望成为强效的新冠疫苗接种免疫原^[24]。同时,由国药集团中国生物武汉生物制品研究所、北京生物制品研究所、北京科兴和中国医学科学院研发的新型冠状病毒灭活疫苗,均在国际上处于领先地位,正处于 I 期或 II 期临床试验研究中。

1.1.2 天然提取亚单位疫苗免疫原

天然分离病毒和细菌等的特殊毒素、多糖和蛋白质成分可以作为有效的亚单位疫苗免疫原。天然提取的亚单位疫苗免疫原组分单一,无需引入其他无关抗原,可以有效减少疫苗接种带来的副反应。但是单一的亚单位免疫原较难刺激机体产生持续的强效免疫保护,常需加入合适的佐剂来增强刺激机体的免疫应答。目前利用天然提取亚单位免疫原的已上市和在研疫苗主要包括伤寒 Vi 多糖疫苗、A 群/C 群脑膜炎球菌多糖疫苗、ACYW135 群脑膜炎球菌多糖疫苗、b 型流感嗜血杆菌多糖疫苗和 23 价肺炎球菌多糖疫苗等。

1.2 人工改造免疫原

1.2.1 减毒疫苗免疫原

减毒疫苗免疫原是将病原体经基因工程或其他方式改造减毒后,仍能完整保留其抗原性的一类免疫原。减毒疫苗免疫原可以刺激机体产生特异性记忆 B 细胞和记忆 T 细胞,获得长期或终生保护作用。与灭活疫苗免疫原比较,减毒疫苗免疫原具有免疫力强、作用时间长等优点。但减毒疫苗免疫原有效期短、热稳定性差,对运输和保存条件要求严格。目前已上市的减毒疫苗包括脊髓灰质炎减毒疫苗、麻疹风联合减毒疫苗、麻疹风联合减毒疫苗、麻疹腮腺炎联合减毒疫苗、水痘减毒疫苗、麻疹减毒疫苗、风疹减毒疫苗、冻干甲型肝炎减毒疫苗和乙脑减毒疫苗等。随着现代分子生物学技术的发展,人们利用反向疫苗学等手段通过敲除病原体毒力基因相关片段来制备减毒免疫原,如我国自主研发的敲除毒力基因的新型水痘减毒疫苗(VZV-7D)现已获得临床试验批件。尽管已上市口服减毒脊髓灰质炎

疫苗能有效预防脊髓灰质炎病毒传播,但其存在毒力恢复的风险。针对该问题, Yeh 等人通过对 Sabin2 毒株基因组元件定向改造获得了一种新型脊髓灰质炎疫苗免疫原(nOPV2)。在 I 期临床试验中,该疫苗效果良好,比上市 Sabin 株疫苗更稳定、更有效^[25]。通过对脊髓灰质炎病毒生物学详细了解后,合理设计的新型减毒免疫原有望为世界消除脊髓灰质炎带来新的曙光。默沙东公司研制的口服五价重配轮状病毒减毒活疫苗(RotaTeq),其免疫原包含有五种人—牛轮状病毒重配株,可用于预防血清型 G1、G2、G3、G4 和 G9 导致的婴幼儿轮状病毒肠胃炎,多项临床试验结果显示该疫苗具有良好的安全性和免疫保护效果^[26]。美国西奈山伊坎医学院 Florian 研究团队在通用流感疫苗设计中提出构建嵌合 HA(cHA)免疫原的设计方法^[27],通过增强诱导针对保守 HA 茎部区结构域的抗体来增强免疫系统的偏好,从而扩大了茎部区的预存免疫。这些 cHA 由异源的禽类 HA 头域组成,被移植到当前季节性流感病毒的 HA 茎域上。由于人体中对外来的 HA 头部区不存在预先免疫,但 HA 茎部区结构域已有免疫反应,因此可以用来构建和扩增针对保守的 HA 茎的抗体^[28]。已有研究证明,基于 cHA 的疫苗候选免疫原可在多种动物模型中引起广泛的保护性抗体应答,目前基于 cHA 的减毒疫苗正在开展临床试验^[29]。此外,减毒李斯特单核细胞增生菌和减毒沙门菌产生的疫苗免疫原还显示了治疗和预防肿瘤、糖尿病等慢性疾病的应用前景^[30-31]。

1.2.2 新型活疫苗免疫原

虽然灭活和减毒方式获得的免疫原具有很强的免疫原性,但是某些病原微生物经过结构改造和减毒处理,其免疫原性或大大降低,或因残留病毒活性产生安全隐患,或因工艺复杂而不具普适性。我国周德敏团队“活病毒转化为疫苗及治疗性药物的通用方法”的研究,以流感病毒为模型,成功研发了复制缺陷型病毒新型活疫苗免疫原制备技术^[15]。该新型活疫苗免疫原保留病毒完整结构和感染力,将病毒基因组中的一个或多个三联遗传密码子突变为终止密码,使病毒在宿主体内的繁殖复制机制失效。新型活疫苗免疫原具有与野生型病毒类似的结构和感染活性,能够诱导产生强而广的体液免疫、细胞免疫和粘膜免疫反应,产生免疫保护的作用,是具有广泛治疗前景的抗病毒药物。

1.2.3 多糖结合疫苗免疫原

考虑到由于多糖类免疫原效果较弱,由此导致

抗生素滥用及耐药性出现等原因,研究人员在多糖免疫原基础上发展了多糖结合免疫原,即将病原体多糖共价连接至合适的蛋白载体制备成糖蛋白,以提高其免疫原性。多糖结合疫苗与多糖疫苗刺激机体产生的免疫保护机制完全不同,前者能同时诱发非 T 细胞依赖免疫反应和 T 细胞依赖免疫反应,进而产生持久、强效的免疫保护效果。目前制备多糖结合疫苗免疫原的常用方法包括两种,即化学交联法和生物合成法。使用化学交联法上市的疫苗有 b 型流感嗜血杆菌(Hib)多糖结合疫苗、脑膜炎奈瑟球菌多糖结合疫苗和肺炎球菌多糖结合疫苗等。近年来,随着生物技术的快速发展,生物合成法更加简单、经济和高效。如痢疾志贺菌 1 型结合疫苗是第一个采用生物合成法研制的疫苗,其以铜绿假单胞菌的外毒素 A 作为载体蛋白,已完成 I 期临床试验。我国在 2019 年批准上市了全球第二个、国内首个 13 价肺炎球菌多糖结合疫苗(沃森生物),满足了我国对肺炎疫苗的迫切需求。

1.2.4 基因工程疫苗免疫原

(1) 多肽疫苗免疫原

多肽疫苗免疫原是基于对病原关键功能蛋白的深入认识确定抗原决定簇氨基酸序列,进而在体外合成具有免疫原性的多肽片段。在多肽疫苗免疫原设计中,可将多种不同的多肽片段或复杂的非连续多肽集合到一个载体骨架中,有望诱导针对多种病原的免疫保护性应答。多肽疫苗生产可控性高、技术安全,且无毒副作用成分(脂多糖、毒素)。目前已有多种抗病毒多肽疫苗和抗肿瘤多肽疫苗进入临床试验。

法国 Dereuddre-Bosquet 团队在食蟹猴模型中评价了脂肽 HIV-LIPO-5(5 条脂肽组成)和重组修饰痘苗病毒安卡拉(rMVA-HIV)的免疫原性^[32], HIV-LIPO-5 单独免疫可诱导显著的抗 HIV-1 血清抗体滴度,相关临床试验(NCT02038842)已完成。杜克大学医学院 Alam 团队报道通过设计和合成了类似于天然 Env 膜蛋白上 V3 糖的广谱中和抗体表位的多肽免疫原 Man9-V3,可以结合 V3 糖依赖性广谱中和抗体,亲和力同抗体与 gp140 三聚体结合相当,在恒河猴中免疫 Man9-V3 可诱导 V3 糖靶向的抗体应答^[33]。以色列 BiondVax 公司开发出一种流感多肽疫苗 M-001,包含 HA、NP 和 M1 的保守表位多肽,针对季节性流感和大流行的人类流感病毒,在 7 组临床试验中可诱导 T 细胞和 B 细胞免疫应答,对多种毒株具有免疫保护,显示出良好的安全

性和耐受性^[34, 35],是目前进展最快的通用流感疫苗免疫原研究。

(2) 重组亚单位疫苗免疫原

重组亚单位疫苗免疫原通常是通过定向改造,在体外重组表达病原体的关键保护性功能蛋白,诱发机体产生保护性免疫应答,具有安全性高和稳定性好的优点。近年来随着结构生物学、系统疫苗学和免疫组学等前沿学科和理论的发展,重组亚单位疫苗免疫原逐步走向精准设计的新阶段。

重组 B 群脑膜炎球菌免疫原设计和 RSV 免疫原设计是基于结构设计广谱保护免疫原的经典案例;通过解析 B 群脑膜炎球菌表面上的脂蛋白-H 因子结合蛋白(fHbp)多种变体结构,基于该精确结构信息设计出的能同时交叉保护多种变体的新型免疫原,完整重塑了其他天然变体表位信息,最终获得了能广谱保护 B 群脑膜炎感染的新型免疫原^[36-38];厦门大学夏宁邵团队与美国国立卫生院(NIH)合作,基于解析获得的 RSV 与高效抗体的高分辨率复合物结构,改造 RSV 的 F 蛋白,使其稳定在融合前状态,随后通过多种突变组合优化,最终获得了理想的 RSV 疫苗候选亚单位免疫原,这一工作入选了 *Science* 评选的年度十大科学突破^[19]。该思路正应用于新型冠状病毒疫苗开发,昆士兰大学的研究团队提出了一种可以稳定新冠病毒表面 Spike 膜蛋白融合前构象的疫苗设计思路^[39]。通过在膜蛋白胞外区添加被称为“分子钳”的结构稳定基序,最终可获得近似天然结构的 Spike 蛋白,适用于多种包膜病毒的重组疫苗免疫原设计。利用该技术研发的新冠疫苗正在开展临床前研究。

第三军医大学邹全明团队研发的口服幽门螺旋杆菌疫苗采用尿素酶(UreB)亚单位活性片段、热休克蛋白(HspA)以及鞭毛粘附素蛋白 A(HpaA)构建融合基因,以 LT 无毒突变体为佐剂,是一种多亚单位分子内佐剂粘膜疫苗。它是全球首个获批的幽门螺旋杆菌疫苗,III 期临床数据显示该疫苗安全有效,一年内的保护率为 71.8%,三年内保护率为 55.8%^[40]。在结核亚单位疫苗研究方面,葛兰素史克公司的 M72/AS01E 候选疫苗含有来自两种结核分枝杆菌抗原(MTB32A 和 MTB39A)的 M72 重组融合免疫原,并结合了佐剂系统 AS01,II 期临床试验研究结果证实该疫苗在结核潜伏感染的 HIV 阴性成人中可显著降低肺结核发病率;在接种疫苗后的 3 年内,疫苗的总保护效力为 50%,且特异性免疫应答可持续 3 年^[41]。此外,俄罗斯联邦卫生部加

麦利亚联邦流行病学和微生物学研究中心研发的重组亚单位结核病疫苗 GamTBvac 采用含有右旋糖酐结合域修饰的 Ag85a、ESAT6-CFP10 MTB 免疫原和 CpG ODN 佐剂,在 I 期临床实验显示良好的安全性和耐受性^[42]。在带状疱疹疫苗免疫原研究方面,葛兰素史克公司研制的一种新型非活、重组亚单位佐剂疫苗 Shingrix,由水痘带状疱疹病毒的糖蛋白 gE 重组蛋白辅以新型佐剂 AS01B 组成,III 期临床实验显示 Shingrix 疫苗在 50 岁及以上人群能有效降低 97.2%带状疱疹感染风险,预防效力相比于早前上市的 Zostavax 疫苗有明显提高^[43]。该疫苗于 2017 年获得美国 FDA 批准上市。

在人类免疫缺陷病毒(HIV)重组亚单位免疫原研究方面,美国 Scripps 研究所的 Julien 和 Lyumkis 等人采用 HIV-1 A 型病毒株 BG505 进行 Env 三聚体突变改造(即 BG505 SOSIP. 664),首次解析了高分辨率结构,有效促进了类天然三聚体免疫原的改造设计^[44, 45]。类天然 gp140 三聚体在小鼠、兔子和恒河猴模型中能刺激产生中和抗体应答,相比非天然的 Env 蛋白具有更强的免疫原性和刺激中和抗体的能力。Jardine 等人设计的 eOD-GT8 及利用纳米颗粒铁蛋白形成自组装颗粒,可以有效激活 VRC01 类抗体的胚系基因^[46, 47]。美国 NIH 的 Xu 和 Kong 团队设计了 FP8 偶联载体蛋白 KLH 的免疫原(FP8-KLH),通过 FP8-KLH 初免、gp140 三聚体加强的免疫方式,实现了中和抗体中和谱从 31%提高至 59%^[48, 49]。

在流感重组亚单位免疫原研究方面,美国 Crucell 疫苗研究所的 Antonietta 等人基于结构的理性设计思路和构建文库的方法^[50],通过删除 HA 头域构建茎部区的亚单位,并在结构上进行定点突变设计,获得可稳定的 mini-HA 候选分子,结果显示这种策略设计的免疫原可以在跨型和跨亚型致死性攻击模型中完全保护小鼠,并减少食蟹猴在亚致死条件下的发烧。美国国家过敏症和传染病研究所(NIAID)的研究团队基于该思路设计的铁蛋白纳米颗粒载体^[51, 52],同样也在动物实验中显示出跨亚型交叉保护效果。这些研究代表了应用结构生物学设计通用流感疫苗的可行性,但由于这种 HA 不能保留全长 HA 蛋白的功能,因此免疫原依赖于重组表达或载体蛋白的形式。目前重组免疫原 mini-HA 在铁蛋白颗粒上的安全性和免疫原性正在临床试验验证中(NCT03814720)。NIAID 研究团队还报道了一种完全不同的依赖镶嵌纳米粒子的方法^[53],通

过在铁蛋白颗粒上镶嵌了多种亚型的 HA 受体结合域(RBD),相邻的 RBD 是异型的。该方法颠覆了单型免疫优势,可刺激其他优势的交叉反应性 B 细胞应答。这种新颖的免疫原利用了 B 细胞上受体交联的特点,能更有效地激活识别不同 HA 之间保守表位的 B 细胞,以实现最佳的细胞活化和增殖。动物实验中显示这种免疫原与单独同型镶嵌的颗粒混合物相比,可以诱导更广泛的抗体反应。这种创新性思路证明基于头部区免疫原仍是通往通用流感疫苗的重要途径。

在包膜病毒的重组亚单位免疫原设计中,糖基化是需要考虑的重要因素。研究人员发现糖基化程度不同的免疫原可刺激产生不同程度的免疫反应,因为功能性蛋白表面复杂的、大的糖基会遮蔽关键表位,使病毒躲避抗体识别,而通过去糖基或降低糖基侧链长度的方式可能暴露重要保守表位,如流感病毒 HA 表面聚糖的数量和构型会影响免疫反应的广谱性,用酶处理的仅含一个 N-乙酰葡萄糖的 HA 在小鼠体内可诱导针对异源毒株的交叉保护效果^[54-56];在丙型肝炎(HCV)疫苗免疫原设计中,发现不同宿主来源的免疫原糖基化不同会影响疫苗效力,来源于昆虫细胞的 E2 免疫原与哺乳动物相比,糖基化程度较低,多为寡甘露聚糖,但其免疫原性更强^[57]。

(3) 病毒样颗粒免疫原

病毒样颗粒(VLP)是由病毒的一种或多种结构蛋白在体内或体外自组装形成的不含遗传物质的多聚体纳米颗粒,具有多个利于疫苗开发或作为递送载体的特征,如 VLP 与天然病毒颗粒具有相似的构象,能够很好地模拟天然病毒的抗原表位,同时不含病毒遗传物质,无法进行复制和扩增,因此不具有致病性和传染性。在免疫原性方面,仅数十纳米大小的 VLP 表面排列着高度有序的重复表位,这一结构特点十分有利于树突状细胞(DC)的吞噬和抗原呈递,从而能够有效地诱导机体产生强烈的细胞和体液免疫反应^[58]。因此 VLP 有望成为兼具免疫原性和安全性的一种理想候选疫苗免疫原,此外它还可作为载体携带外源抗原或递送佐剂等加强对免疫系统的刺激。目前已上市的乙型肝炎疫苗、人乳头瘤病毒疫苗和戊型肝炎疫苗等基因工程疫苗均采用病毒样颗粒形式^[19, 59-61]。此外,针对诺如病毒、流感病毒、HIV 等病原体的 VLP 疫苗已进入不同阶段的临床试验。

厦门大学夏宁邵团队利用结构疫苗学的方法,

基于人乳头瘤病毒(HPV)的型别特异性结构基础以及 HPV 型别分子进化和结构保守性的关系,设计了能够针对三种型别 HPV 的嵌合 VLP 免疫原,在食蟹猴模型中能诱导高水平的三型交叉中和抗体,这种基于结构信息指导的嵌合免疫原设计为研发涵盖所有高危型别 HPV 的更广谱的新一代 HPV 二十价疫苗奠定了关键技术基础,为多型别病毒疫苗的研制提供了新的思路^[62]。美国 Novavax 公司利用杆状病毒-昆虫细胞表达系统可以表达多亚基的优势,设计了流感 VLP 疫苗免疫原。该技术通过体外重组表达和组装外形接近天然病毒的包膜纳米颗粒,可包含 HA、NA 和 M1 等蛋白。基于该技术的 H7N9 禽流感疫苗,目前正在临床 II 期试验(NCT01897701)。在该系统上开发的流感季节性疫苗 NanoFlu 采用 HA 的纳米颗粒,搭配 Matrix-M 佐剂,在雪貂体内可诱导中和抗体和细胞免疫应答,正在开展临床试验,近期已宣布达到 III 期临床终点(NCT03293498)。基于该平台的新新型冠状病毒 S 蛋白的重组颗粒疫苗 NVX-COV2373 即将启动临床 I 期试验。

Mosquirix 被认为是第一种针对恶性疟原虫(红细胞前期)的 VLP 疫苗,III 期临床试验显示该疫苗使 5~17 个月大的儿童的严重疟疾减少了约 50%,展示出良好的安全性及有效性,能够诱导产生水平适中的 CD4⁺ T 细胞及针对环孢子蛋白(CSP)的抗体^[63]。近期基于 VLP 形式的疟疾疫苗 R21 也进入了 I/II 期临床试验^[64]。针对埃博拉病毒的 VLP 疫苗也在开发中,其中一种候选疫苗 EBOV GP VLP 已在 I 期临床试验中进行了测试,初步结果表明两剂免疫方案显示出较高安全性和免疫原性。此外,诸如轮状病毒、基孔肯雅病毒、诺如病毒和肠道病毒等的预防或治疗性疫苗开发也随着 VLP 免疫原系统的成熟而逐渐发展,有望解决更多人类疾病。

1.2.5 表达型免疫原

(1) 重组载体疫苗免疫原

重组载体疫苗是将有效免疫原目的基因导入活载体中,使目的基因随重组载体在宿主细胞中增殖而大量表达,进而刺激机体产生免疫保护作用的活疫苗。这类疫苗更接近病原体的天然感染过程,能同时诱导高效的体液免疫和细胞免疫应答。目前用于制备新型重组载体疫苗的载体主要源自牛结核杆菌、霍乱弧菌、痘病毒、改良安卡拉痘病毒(MVA)、流感病毒和腺病毒等。这些疫苗载体可归为细菌载体、病毒载体、原虫载体(Protozoal

Vectors), 其中病毒载体疫苗可进一步分为复制型病毒载体疫苗和非复制型病毒载体疫苗^[65]。

2019 年全球首个埃博拉疫苗 Ervebo 获批上市, 该疫苗由经过基因工程改造的水疱性口炎病毒 (VSV) 和埃博拉病毒表面的重要糖蛋白表达载体组成。临床试验 (NCT02503202) 显示, Ervebo 对在暴露于确诊人群前即时接受了疫苗接种的个体的保护效果高达 100%, 而在延迟 21 天接种的 1429 名受试者中, 有 10 人感染^[66, 67]。同时, 我国军事科学院军事医学研究院陈薇团队利用基因重组技术研制的具有完全自主知识产权的创新性“重组埃博拉病毒疫苗(腺病毒载体)”也已获得新药注册, 该疫苗的 II 期临床试验结果显示其具有高度免疫原性, 至少有 96% 以上受试者能产生特异性抗体^[68]。

在 HIV-1 相关的载体疫苗研发方面, 美国 and 泰国公共卫生部等机构开展的 RV144 临床试验是目前首个显示具有 31.2% 保护性的 HIV-1 疫苗试验。RV144 疫苗包括了金丝雀痘病毒载体递送 gag-pol-env 和 B/E 型 gp120 蛋白 (ALVAC-HIV/AIDS VAX B/E)^[69]。美国 NIAID 在 RV144 基础上进行优化, 在南非开展了一项 II/III 期临床试验 HVTN702 (NCT02968849)。该疫苗包括 ALVAC-HIV 与双价 C 型 gp120 蛋白, 并用 MF59 佐剂代替了 RV144 试验中的铝佐剂。但遗憾的是, 这项临床试验并未像 RV144 一样显示保护效果, HIV-1 主要抗原蛋白的高度糖基化和序列高度变异性给 HIV-1 疫苗研发带来了极大挑战, 病毒载体的使用能一定程度辅助或加强免疫原对免疫系统的刺激。HIV-1 疫苗的研发还需要更多新颖高效的免疫原的助力。

新冠肺炎 (COVID-19) 全球大流行之际, 陈薇团队构建了 SARS-CoV-2 重组腺病毒疫苗 Ad5-nCoV, 基于该疫苗 I 期临床试验的安全数据开展了 II 期临床试验, 成为全球首个启动 II 期临床试验的新冠疫苗接种疫苗。这种重组腺病毒新冠疫苗接种疫苗属于非复制型病毒载体疫苗。同时, 复制型载体也被运用于 SARS-CoV-2 疫苗研发中, 厦门大学夏宁邵团队联合香港大学陈鸿霖团队等共同研发鼻喷减毒流感病毒载体新冠疫苗接种疫苗, 该疫苗基于流感病毒减毒活疫苗载体 DelNS1^[70], 将编码 SARS-CoV-2 表面抗原的基因整合到流感病毒载体的基因组中。这类同时含有 SARS-CoV-2 和流感病毒表面抗原的重组流感病毒载体新冠疫苗接种疫苗, 正在进行临床前研究。

重组载体除在病毒性疾病预防上被广泛运用, 也被运用于癌症防治。Transgene 公司联合 NEC

公司, 由 NEC 的 AI 系统预测和选择肿瘤新抗原, 并将这些新抗原基因整合到改良型痘苗病毒 (MVA) 载体的基因中, 制备了重组抗肿瘤疫苗, 以使患者产生针对高特异性肿瘤突变的免疫应答, 其 I 期临床试验的开展意味着抗肿瘤疫苗接种研究步入了新的阶段。

(2) 核酸疫苗免疫原

核酸疫苗, 分为 DNA 疫苗和 RNA 疫苗两种, 其免疫机体后能诱导机体中 T 细胞的增殖、细胞因子的释放、细胞毒性 T 细胞杀伤作用的激活, 产生特异性免疫应答, 进而起到预防或治疗疾病的效果。在 DNA 疫苗研究方面, 近年来涌现出许多研究成果, 如流感病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒、肿瘤防治、基因治疗自身免疫和变态反应等。在 RNA 疫苗研究方面, 寨卡病毒、埃博拉病毒、流感病毒、狂犬病病毒和 HIV-1 等 mRNA 疫苗陆续进入临床试验。

在 DNA 疫苗研究中, 美国 NIAID 开展的一项 I 期临床试验 (NCT01578889), 参与者在第 0、1 和 3 月接种 HIV-1 多抗原 DNA 疫苗 (gag/pol/env/nef/tat/vif) (HIVMAG) 和 pIL-12 质粒 DNA, 在第 6 月接种减毒重组 VSV 载体 (表达 HIV-1 Gag)。相比于对照组, 高剂量 pIL-12 提高 CD8⁺ T 细胞应答宽度; VSV 加强后可提高 Gag 特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞应答, 加强后 6~9 个月应答宽度降低, 但仍维持 CD8⁺ T 细胞应答率。此外, 还有 HIV-1 Gag 保守区 DNA 疫苗也在临床试验中 (NCT03560258)。流感 DNA 疫苗临床研究包括三价季节性流感 DNA 疫苗、单价流感大流行疫苗、通用流感疫苗以及基于不同免疫策略的流感 DNA 疫苗等。DNA 疫苗的安全性和有效性也将在这些临床研究完成后得到验证。Smith 等人报道了基于 H5 的 DNA 疫苗, 可以诱导针对 H5 特异性的抗体应答, 具有血凝抑制; 在大多数个体中, 也诱导了特异性的 T 细胞应答。此外, 该疫苗还比传统的鸡胚来源的疫苗生产周期更短, 具有明显的产能优势^[71]。一项 I 期临床试验 (NCT01498718) 采用季节性流感 DNA 初免, 三价灭活疫苗 (TIV) 加强免疫, VRC-FLUDNA061-00-VP 疫苗包含了三个闭环状 DNA 质粒, 编码 A/California/04/2009 (H1N1)、A/Perth/16/2009 (H3N2) 和 B/Brisbane/60/2008 三种毒株的 HA。该疫苗相比单独的季节性三价灭活疫苗产生了更强的免疫应答^[72]。此外, 当前临床试验中还包含了寨卡病毒预防性疫苗 GLS-5700

(NCT02809443, NCT02887482)、乙肝治疗性疫苗 INO-1800 (NCT02431312)、HSV-2 治疗性疫苗 (NCT02837575) 等。在目前 COVID-19 全球大流行的背景下, Inovio 公司已设计出 DNA 疫苗 INO-4800, 并与中国企业艾棣维欣、康泰生物合作开展 INO-4800 的动物实验及临床前研究。

在 mRNA 疫苗的研究中, Pardi 等人制备了一种核苷修饰 mRNA-LNP HIV Env 疫苗, 能诱导恒河猴体内产生高水平的 Env 特异性 IgG 抗体滴度, 还能诱发强烈的抗体依赖细胞毒性作用 (ADCC)^[73]。Melo 等人开发了 DOTAP 脂质纳米粒 SAM 疫苗, 该疫苗表达了 HIV Env gp120 蛋白, 并与 lumazine 合成酶融合, 从而形成了 60-mer 蛋白纳米粒, 能诱导产生抗原特异性 IgG^[74]。核苷修饰 mRNA-LNP 编码全长流感 H10 和 H7 HAs 的 I 期临床试验 (NCT03076385 和 NCT03345043) 结果显示疫苗安全性良好, 能在健康成年人体内诱导体液免疫反应^[75, 76]。在寨卡和其他黄病毒 mRNA 疫苗研究方面, Richner 等人研究发现 prM-E mRNA-LNP 疫苗在小鼠模型中能诱导保护性免疫反应, 通过抑制胎盘感染和胎儿感染, 能抵御寨卡病毒引发的先天性疾病^[77]。该疫苗已进入临床试验 (NCT03014089)。在狂犬病 mRNA 疫苗研究方面, Lutz 等人使用 LNPs 进行 RABV-G mRNA 递送, 在小鼠模型和非人灵长类动物模型中均能诱导持久的中和抗体应答^[16]。葛兰素史克公司使用的 RABV-G SAM 疫苗已进入临床试验 (NCT04062669)。埃博拉病毒 mRNA 疫苗研究方面, Chahal 等人开发了一种树状大分子纳米颗粒的 mRNA 复制子编码 EBOV 糖蛋白 (GP), 在小鼠致死性攻毒实验中诱导了保护性免疫反应。Meyer 在豚鼠模型中发现 EBOV GP 编码 mRNA-LNPs 能诱导产生高水平的 GP 特异性中和抗体^[78]。在 SARS-CoV-2 的 mRNA 研究方面, 美国 NIH 和 Moderna 公司研发的 mRNA-1273 疫苗进入临床试验, 健康志愿者注射了第一针试验疫苗, 这是全球率先获批进入临床试验的 COVID-19 疫苗之一。

2 未来的工作

尽管近年来在重大传染病免疫原方面取得了诸多进展, 但是面对以艾滋、流感为代表的复杂传染病和以新冠肺炎为代表的新发突发传染病, 由于缺乏深入认识, 仍然无法快速获得有效疫苗。如何深入认识病毒靶标蛋白的结构、功能和致病机制并理性

设计疫苗免疫原, 使之产生有效、持久和广谱保护的免疫应答是创新疫苗研究的关键科学问题。疫苗学经验型研究模式已达到极限, 传统疫苗学面临巨大挑战, 正在发生基于免疫学前沿理论和现代生物技术融合的第三次疫苗革命。未来的疫苗免疫原研究需利用现代疫苗学相关的交叉前沿和创新, 重点开展新型疫苗靶标发现、免疫原性精准设计理论、新型免疫增强或调控技术、仿人免疫评价体系和人体疫苗免疫应答机制等领域的工作。

针对艾滋、结核等复杂病原体感染导致的重大传染病、新发突发传染病和肿瘤、自身免疫病等慢性疾病, 结合临床和实验室模型研究, 综合运用多组学、自动化高通量功能性筛选等手段, 发展各领域独特的或通用的疫苗免疫原靶标筛选与发现新理论新技术; 针对免疫原性弱、诱导负向免疫应答等疫苗免疫原难题, 利用结构生物学、免疫学、生命多组学、计算机科学、人工智能等多学科交叉理论和技术, 多维度整合基于实验室模型和人群层面的疫苗组学数据, 解码免疫原的内在属性和效应调控, 多层次阐明“一级序列—三维结构—免疫原性—生物学效应”之间的关系, 着重阐明“免疫原性”的科学内涵, 促进免疫原的精准设计和免疫聚焦; 针对疫苗免疫应答弱、持续时间短、特定人群的免疫系统不成熟或免疫衰老、疫苗诱导负向免疫应答类型等问题, 结合系统生物学、化学、材料学、药剂学等学科, 开辟新理论和新思路, 探索新型佐剂和递送系统等免疫增强和免疫调控技术, 适应策略多样化、精准化的发展趋势; 考虑种属间免疫系统的差异、发病机制的差异, 建立基于人源化动物模型或智能仿真的拟人免疫评价体系, 加深对相关疾病免疫原致病机制的研究和认识, 提高新型疫苗免疫原临床前研发效率和转化成功率; 全时空、多维度、系统化的疫苗免疫应答动态过程描绘和调控机制阐释, 着重加强人体疫苗免疫应答机制研究。

3 结语

本文归纳了在新一代疫苗革命背景下的免疫原研究的特点与难点, 梳理了天然免疫原和人工改造免疫原的国内外研究动态, 指出深入理解免疫原致病机制以及理性设计免疫原将是未来发展趋势, 也是研制高难度创新疫苗的基础。面对艾滋、流感为代表的复杂传染病和以新冠肺炎为代表的新发突发传染病的挑战以及我国健康战略的重大需求, 一方面要着力发展功能靶标发现、免疫原设计和免疫应

答机制的研究,深入理解免疫原性与保护效应之间的内在关联;另一方面要促进系统疫苗学相关学科理论和前沿技术的深度融合,加强疫苗学的学科建设,培养一批有创新活力的交叉学科人才,促进我国的创新疫苗研究。

参 考 文 献

- [1] Koff WC, Burton DR, Johnson PR, et al. Accelerating next-generation vaccine development for global disease prevention. *Science*, 2013, 340(6136): 1232910—1232910.
- [2] Rappuoli R, Pizza M, Del Giudice G, et al. Vaccines, new opportunities for a new society. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(34): 12288—12293.
- [3] Delany I, Rappuoli R, De Gregorio E. Vaccines for the 21st century. *Embo Molecular Medicine*, 2014, 6(6): 708—720.
- [4] Pouyanfar S, Müller M. Human papillomavirus first and second generation vaccines-current status and future directions. *Biological Chemistry*, 2017, 398(8): 871—889.
- [5] Sesterhenn F, Bonet J, Correia BE. Structure-based immunogen design-leading the way to the new age of precision vaccines. *Current Opinion Structural Biology*, 2018, 51: 163—169.
- [6] Alter G, Barouch D. Immune correlate-guided HIV vaccine design. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(1): 25—33.
- [7] Strauss J, Madan RA. Therapeutic vaccines for prostate cancer: recent advances and future directions. *Expert Review of Vaccines*, 2016, 15(7): 907—914.
- [8] Slifka MK, Amanna I. How advances in immunology provide insight into improving vaccine efficacy. *Vaccine*, 2014, 32(25): 2948—2957.
- [9] Grimm SK, Ackerman ME. Vaccine design: emerging concepts and renewed optimism. *Current Opinion in Biotechnology*, 2013, 24(6): 1078—1088.
- [10] Lanzavecchia A, Fruhwirth A, Perez L, et al. Antibody-guided vaccine design: identification of protective epitopes. *Current Opinion Immunology*, 2016, 41: 62—67.
- [11] Gourlay L, Peri C, Bolognesi M, et al. Structure and computation in immunoreagent design: from diagnostics to vaccines. *Trends in Biotechnology*, 2017, 35(12): 1208—1220.
- [12] Frey S, Castro A, Arsiwala A, et al. Bionanotechnology for vaccine design. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 52: 80—88.
- [13] Rey FA, Lok SM. Common features of enveloped viruses and implications for immunogen design for next-generation vaccines. *Cell*, 2018, 172(6): 1319—1334.
- [14] Zhu FC, Wurie AH, Hou LH, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in Sierra Leone: a single-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet*, 2017, 389(10069): 621—628.
- [15] Si LL, Xu H, Zhou XY, et al. Generation of influenza A viruses as live but replication-incompetent virus vaccines. *Science*, 2016, 354(6316): 1170—1173.
- [16] Lutz J, Lazzaro S, Habbeddine M, et al. Unmodified mRNA in LNPs constitutes a competitive technology for prophylactic vaccines. *NPJ Vaccines*, 2017, 2(1): 29.
- [17] Schiller JT, Müller M. Next generation prophylactic human papillomavirus vaccines. *The Lancet Oncology*, 2015, 16(5): e217—e225.
- [18] Zhu FC, Xu WB, Xia JL, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China. *New England Journal of Medicine*, 2014, 370(9): 818—828.
- [19] McLellan JS, Chen M, Leung S, et al. Structure of RSV fusion glycoprotein trimer bound to a prefusion-specific neutralizing antibody. *Science*, 2013, 340(6136): 1113—1117.
- [20] Koff WC, Gust ID, Plotkin SA. Toward a human vaccines project. *Nature Immunology*, 2014, 15(7): 589—592.
- [21] Rappuoli R, Bottomley MJ, D'oro U, et al. Reverse vaccinology 2.0: human immunology instructs vaccine antigen design. *Journal of Experimental Medicine*, 2016, 213(4): 469—481.
- [22] Zhu FC, Meng FY, Li JX, et al. Efficacy, safety, and immunology of an inactivated alum-adjunct enterovirus 71 vaccine in children in China: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet*, 2013, 381(9882): 2024—2032.
- [23] Li R, Liu L, Mo Z, et al. An inactivated enterovirus 71 vaccine in healthy children. *The New England Journal of Medicine*, 2014, 370(9): 829—837.
- [24] Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Rapid development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*, 2020, 369(6499): 77—81.
- [25] Yeh MT, Bujaki E, Dolan PT, et al. Engineering the live-attenuated polio vaccine to prevent reversion to virulence. *Cell Host & Microbe*, 2020, 27(5): 736—751.

- [26] Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, et al. Global, regional and national estimates of rotavirus mortality in children < 5 years of age, 2000-2013. *Clinical Infectious Diseases*, 2016, 62: S96—S105.
- [27] Krammer F, Pica N, Hai R, et al. Chimeric hemagglutinin influenza virus vaccine constructs elicit broadly protective stalk-specific antibodies. *Journal of Virology*, 2013, 87 (12): 6542—6550.
- [28] Ellebedy AH, Krammer F, Li GM, et al. Induction of broadly cross-reactive antibody responses to the influenza HA stem region following H5N1 vaccination in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(36): 13133—13138.
- [29] Bernstein DI, Guptill J, Naficy A, et al. Immunogenicity of chimeric haemagglutinin-based, universal influenza virus vaccine candidates: interim results of a randomised, placebo-controlled, phase 1 clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 2020, 20(1): 80—91.
- [30] Shahabi V, Reyes-Reyes M, Wallecha A, et al. Development of a *Listeria monocytogenes* based vaccine against prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(9): 1301—1313.
- [31] Husseiny MI, Rawson J, Kaye A, et al. An oral vaccine for type 1 diabetes based on live attenuated *Salmonella*. *Vaccine*, 2014, 32(20): 2300—2307.
- [32] Dereuddre-Bosquet N, Baron ML, Contreras V, et al. HIV specific responses induced in nonhuman primates with ANRS HIV-Lipo-5 vaccine combined with rMVA-HIV prime or boost immunizations. *Vaccine*, 2015, 33(20): 2354—2359.
- [33] Alam SM, Ausedat B, Vohra Y, et al. Mimicry of an HIV broadly neutralizing antibody epitope with a synthetic glycopeptide. *Science Translation Medicine*, 2017, 9(381).
- [34] van Doorn E, Liu H, Ben-Yedidia T, et al. Evaluating the immunogenicity and safety of a BiondVax-developed universal influenza vaccine (Multimeric-001) either as a standalone vaccine or as a primer to H5N1 influenza vaccine Phase IIb study protocol. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96 (11): e6339.
- [35] Lowell GH, Ziv S, Bruzil S, et al. Back to the future: Immunization with M-001 prior to trivalent influenza vaccine in 2011/12 enhanced protective immune responses against 2014/15 epidemic strain. *Vaccine*, 2017, 35(5): 713—715.
- [36] Schneider MC, Prosser BE, Caesar JJE, et al. *Neisseria meningitidis* recruits factor H using protein mimicry of host carbohydrates. *Nature*, 2009, 458(7240): 890—893.
- [37] Scarselli M, Cantini F, Santini L, et al. Epitope mapping of a bactericidal monoclonal antibody against the factor H binding protein of *Neisseria meningitidis*. *Journal of Molecular Biology*, 2009, 386(1): 97—108.
- [38] Scarselli M, Arico B, Brunelli B, et al. Rational design of a meningococcal antigen inducing broad protective immunity. *Science Translational Medicine*, 2011, 3(91): 91ra62.
- [39] Ngwuta JO, Chen M, Modjarrad K, et al. Prefusion F-specific antibodies determine the magnitude of RSV neutralizing activity in human sera. *Science Translation Medicine*, 2015, 7(309): 309ra162.
- [40] Zeng M, Mao XH, Li JX, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an oral recombinant *Helicobacter pylori* vaccine in children in China: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet (London, England)*, 2015, 386(10002): 1457—1464.
- [41] Tait DR, Hatherill M, Van Der Meeren O, et al. Final analysis of a trial of M72/AS01E vaccine to prevent tuberculosis. *The New England Journal of Medicine*, 2019, 381(25): 2429—2439.
- [42] Vasina DV, Klyemenov DA, Manuylov VA, et al. First-in-human trials of GamTBvac, a recombinant subunit tuberculosis vaccine candidate: safety and immunogenicity assessment. *Vaccines (Basel)*, 2019, 7(4): 166.
- [43] Lal H, Cunningham AL, Godeaux O, et al. Efficacy of an adjuvanted herpes zoster subunit vaccine in older adults. *The New England Journal of Medicine*, 2015, 372 (22): 2087—2096.
- [44] Julien JP, Cupo A, Sok D, et al. Crystal structure of a soluble cleaved HIV-1 envelope trimer. *Science*, 2013, 342 (6165): 1477—1483.
- [45] Lyumkis D, Julien JP, De Val N, et al. Cryo-EM structure of a fully glycosylated soluble cleaved HIV-1 envelope trimer. *Science*, 2013, 342(6165): 1484—90.
- [46] Jardine J, Julien JP, Menis S, et al. Rational HIV immunogen design to target specific germline B cell receptors. *Science*, 2013, 340(6133): 711—716.
- [47] Jardine JG, Kulp DW, Havenar-Daughton C, et al. HIV-1 broadly neutralizing antibody precursor B cells revealed by germline-targeting immunogen. *Science*, 2016, 351(6280): 1458—1463.
- [48] Xu K, Acharya P, Kong R, et al. Epitope-based vaccine design yields fusion peptide-directed antibodies that neutralize diverse strains of HIV-1. *Nature Medicine*, 2018, 24(6): 857—867.

- [49] Kong R, Duan HY, Sheng ZZ, et al. Antibody lineages with vaccine-induced antigen-binding hotspots develop broad HIV neutralization. *Cell*, 2019, 178(3): 567—584. e19.
- [50] Impagliazzo A, Milder F, Kuipers H, et al. A stable trimeric influenza hemagglutinin stem as a broadly protective immunogen. *Science*, 2015, 349(6254): 1301—1306.
- [51] Yassine HM, Boyington JC, Mctamney PM, et al. Hemagglutinin-stem nanoparticles generate heterosubtypic influenza protection. *Nature Medicine*, 2015, 21(9): 1065—1070.
- [52] Corbett KS, Moin SM, Yassine HM, et al. Design of nanoparticulate group 2 influenza virus hemagglutinin stem antigens that activate unmutated ancestor B Cell receptors of broadly neutralizing antibody lineages. *mBio*, 2019, 10(1).
- [53] Kanekiyo M, Joyce MG, Gillespie RA, et al. Mosaic nanoparticle display of diverse influenza virus hemagglutinins elicits broad B cell responses (vol 20, pg 362, 2019). *Nature Immunology*, 2019, 20(6): 765—765.
- [54] Wang CC, Chen JR, Tseng YC, et al. Glycans on influenza hemagglutinin affect receptor binding and immune response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(43): 18137—18142.
- [55] Chen JR, Yu YH, Tseng YC, et al. Vaccination of monoglycosylated hemagglutinin induces cross-strain protection against influenza virus infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(7): 2476—2481.
- [56] An YM, Parsons LM, Jankowska E, et al. N-Glycosylation of seasonal influenza vaccine hemagglutinins: implication for potency testing and immune processing. *Journal of Virology*, 2019, 93(2): e01693-18.
- [57] Urbanowicz RA, Wang RX, Schiel JE, et al. Antigenicity and immunogenicity of differentially glycosylated hepatitis C Virus E2 envelope proteins expressed in mammalian and insect cells. *Journal of Virology*, 2019, 93(7).
- [58] Zabel F, Kundig TM, Bachmann MF. Virus-induced humoral immunity: on how B cell responses are initiated. *Current Opinion in Virology*, 2013, 3(3): 357—362.
- [59] Pan HR, Li ZH, Wang J, et al. Bacterially expressed human papillomavirus type 6 and 11 bivalent vaccine: characterization, antigenicity and immunogenicity. *Vaccine*, 2017, 35(24): 3222—3231.
- [60] Wu T, Hu YM, Li J, et al. Immunogenicity and safety of an E. coli-produced bivalent human papillomavirus (type 16 and 18) vaccine: A randomized controlled phase 2 clinical trial. *Vaccine*, 2015, 33(32): 3940—3946.
- [61] Zhu FC, Zhang J, Zhang XF, et al. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults; a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*, 2010, 376(9744): 895-902.
- [62] Li Z, Song S, He M, et al. Rational design of a triple-type human papillomavirus vaccine by compromising viral-type specificity. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 5360.
- [63] Agnandji ST, Lell B, Fernandes JF, et al. A phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African infants. *The New England Journal of Medicine*, 2012, 367(24): 2284—2295.
- [64] Collins KA, Snaith R, Cottingham MG, et al. Enhancing protective immunity to malaria with a highly immunogenic virus-like particle vaccine. *Scientific Reports*, 2017(7): 46621.
- [65] Francis MJ. Recent advances in vaccine technologies. *Veterinary Clinics North America Small Animal Practice*, 2018, 48(2): 231—241.
- [66] Henao-Restrepo AM, Longini IM, Egger M, et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *The Lancet*, 2015, 386(9996): 857—886.
- [67] Halperin SA, Arribas JR, Rupp R, et al. Six-Month safety data of recombinant vesicular stomatitis virus-zaire Ebola virus envelope glycoprotein vaccine in a phase 3 double-blind, placebo-controlled randomized study in healthy adults. *Journal of Infectious Diseases*, 2017, 215(12): 1789—1798.
- [68] Zhu FC, Hou LH, Li JX, et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in China preliminary report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *The Lancet*, 2015, 385(9984): 2272—2279.
- [69] Rerks-Ngarm S, Pitisuttithum P, Nitayaphan S, et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *The New England Journal of Medicine*. 2009, 361(23): 2209—2220.
- [70] Wang P, Zheng M, Lau SY, et al. Generation of DelNS1 influenza viruses: a strategy for optimizing live attenuated influenza vaccines. *mBio*, 2019, 10(5): e02180—19.

- [71] Smith LR, Wloch MK, Ye M, et al. Phase 1 clinical trials of the safety and immunogenicity of adjuvanted plasmid DNA vaccines encoding influenza A virus H5 hemagglutinin. *Vaccine*, 2010, 28(13): 2565—2572.
- [72] Ledgerwood JE, Bellamy AR, Belshe R, et al. DNA priming for seasonal influenza vaccine: a phase 1b double-blind randomized clinical trial. *PLoS One*, 2015, 10(5).
- [73] Pardi N, Labranche CC, Ferrari G, et al. Characterization of HIV-1 nucleoside-modified mRNA vaccines in rabbits and rhesus macaques. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 2019, 15: 36—47.
- [74] Melo M, Porter E, Zhang Y, et al. Immunogenicity of RNA replicons encoding HIV env immunogens designed for self-assembly into nanoparticles. *Molecular Therapy*, 2019, 27(12): 2080—2090.
- [75] Bahl K, Senn JJ, Yuzhakov O, et al. Preclinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses. *Molecular Therapy*, 2017, 25(6): 1316—1327.
- [76] Feldman RA, Fuhr R, Smolenov I, et al. mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials. *Vaccine*, 2019, 37(25): 3326—3334.
- [77] Richner JM, Jagger BW, Shan C, et al. Vaccine mediated protection against Zika virus-induced congenital disease. *Cell*, 2017, 170(2): 273—283. e12.
- [78] Meyer M, Huang E, Yuzhakov O, et al. Modified mRNA-based vaccines elicit robust immune responses and protect guinea pigs from Ebola virus disease. *Journal of Infectious Diseases*, 2018, 217(3): 451—455.

Recent Progress and Trends in Vaccine Immunogen Research

Li Tingting Liu Xinlin Zhang Zhiqing He Maozhou
Zhang Tianying Gu Ying Li Shaowei Xia Ningshao*

*National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in Infectious Diseases,
School of Public Health, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102*

Abstract Vaccines are the most cost-effective means to prevent and control infectious diseases, as well as the most potential means for prevention and treatment of chronic diseases such as tumors, metabolic diseases, Alzheimer's disease and so on. As the most critical ingredient in the vaccine formulation, vaccine immunogens determine the specificity and target while vaccine functioning. The major, frequent, high-risk, and emerging infectious diseases—represented by the current pandemic of COVID-19—occur constantly and dramatically challenge the vaccine development. The lack of theoretical basis for the selection and design of immunogens is a generally critical scientific issue for the research of an innovative vaccine. This review summarizes the recent progress on vaccine immunogen, and suggests the trends and frontiers of immunogen research in the context of the next-generation revolution of vaccines. In terms of the challenge for complex immunogen design, we propose some potential keystones for developing immunogen science applying the frontiers and innovations related to modern vaccinology, focusing on the discovery of new vaccine targets, establishing the theory of precise design of immunogenicity, new immune enhancement or regulation technologies and humanoid evaluation system for immune response and unraveling the mechanism of immune response induced by human vaccine.

Keywords vaccine; immunogen; immunogenicity; rational design

(责任编辑 张强)

* Corresponding Author, Email: nsxia@xmu.edu.cn