

新型冠状病毒疫苗的研发进展及分析



康庄^{1,2} 综述 唐梅¹ 审校

1. 乐山师范学院 生命科学学院 (四川乐山 614000)

2. 成都生物制品研究所有限责任公司 生物技术研究室 (成都 610000)

【摘要】 随着新型冠状病毒(简称:新冠)病毒疫情在全球愈演愈烈,越来越多的人将疫情遏制的希望寄托于新冠病毒疫苗的研发。目前全球已经有多个研究团队,采用了不同的疫苗开发技术路线开展新冠病毒疫苗的研发。本文对目前不同路线新冠疫苗的开发与研究现状进行了综述和分析,同时也探讨了这些不同疫苗今后发展的可能性。

【关键词】 新型冠状病毒;灭活疫苗;减毒活疫苗;重组蛋白疫苗;核酸疫苗

Progress and analysis on the development of 2019-nCoV vaccine

KANG Zhuang^{1,2}, TANG mei¹

1. College of Life Science, Leshan Normal University, Leshan, Sichuan 614000, P.R.China

2. Department of Biotechnology, Chengdu Institute of Biological Products, Chengdu 610000, P.R.China

Corresponding author: KANG Zhuang, Email: crazy.kz@163.com

【Abstract】 As the COVID-19 pandemic is intensifying globally, more and more people are pinning their hopes on the development of vaccines. At present, there are many research teams who have adopted different vaccine technology routes to develop 2019-nCoV vaccines. This article reviews and analyzes the current development and research status of 2019-nCoV vaccines in different routes, and explores their possible development in the future.

【Key words】 2019-nCoV; inactivated vaccine; attenuated live vaccine; recombinant protein vaccine; nucleic acid vaccine

引言

新型冠状病毒(简称:新冠)病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV),是继严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)冠状病毒(SARS coronavirus, SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)后,出现的第三个人群间突发传播的冠状病毒^[1-3]。随着全球新冠病毒肺炎相关疾病(coronavirus disease 2019, COVID-19)的患者激增,COVID-19已经成为全球性大流行病,在尚无特效药物的情况下,短期内研发并尽快使用新冠病毒疫苗是阻止疫情全球化蔓延的有力手段。

新冠病毒与其他冠状病毒类似,由四个结构蛋白组成,分别是刺突蛋白(spike, S)、包膜蛋白(envelope, E)、膜蛋白/基质蛋白(membrane/

matrix, M)和核衣壳蛋白(nucleocapsid, N)^[4-5]。S蛋白通过位于S1亚基上的受体结合区(receptor binding domain, RBD)与宿主细胞表面的血管紧张素转化酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)受体结合,从而进入人体细胞,导致发烧、肺部感染等疾病^[6-7]。因为针对病毒S蛋白的中和抗体可阻断病毒侵入宿主细胞^[8],所以目前在研的大多数新冠疫苗都是以S蛋白为主要抗原进行设计开发的。

截止2020年4月,全球范围内已经公开了上百个新冠病毒疫苗开发项目^[9]。按照不同研发途径和思路以及相关特点,本文将逐步展开介绍,并辅以概括性的归纳和分析,希望为未来的突发流行病疫苗开发提供一些参考。

1 灭活疫苗路线

灭活病毒疫苗是在细胞基质上对病毒进行培养,然后用物理(加热)或化学(通常采用甲醛溶液

或者 β -丙内酯)的方法将具有感染性的完整病毒杀死,使其失去致病力而保留抗原性。常见的病毒类灭活疫苗,比如狂犬疫苗、灭活脊灰疫苗、流感疫苗以及我国率先研发并上市使用的手足口病疫苗,也称肠道病毒71型疫苗(enterovirus type 71, EV71)等,都是采用类似的技术路线^[10-11]。此前国内曾有团队研发针对SARS-CoV的灭活疫苗,并完成了I期临床试验,证明所获得的冠状类病毒灭活疫苗的人体安全性,同时能够100%诱导产生中和抗体^[12]。

目前,中国生物技术股份有限公司旗下两个子公司:武汉生物制品研究所有限责任公司和北京生物制品研究所有限责任公司,以及北京科兴生物制品有限公司等三个团队的灭活新冠病毒疫苗,现都已进入了临床试验阶段^[13-15]。

灭活疫苗研发路线相对成熟,只要成功分离并筛选出免疫原性合格且可以在细胞上进行培养的毒株,并能够应用于规模化生产即可。此外,灭活疫苗质控点和评价方法也比较明确,而且通常都有较好的安全性和免疫原性^[10]。但利用灭活疫苗技术路线开发新冠病毒疫苗仍然存在不足之处,主要存在以下几点:①是毒株的分离和培养、相关研究评价工作以及后面的生产都存在一定的生物安全风险,对实验室或者生产车间的生物安全级别要求高,一般要求为生物安全三级;②是灭活疫苗尽管工艺成熟度高,但是由于生产过程需要进行细胞和病毒培养、建立毒株以及作为基质的细胞株的多级种子库,因此在生产阶段实现产能迅速放大(数千万剂/年)存在一定难度;③是灭活疫苗往往需要多次接种才能产生有足够保护力的抗体,在作为应急疫苗使用时有所不足。

2 减毒活疫苗路线

减毒活疫苗是从野生株或致病病毒衍生而来的,经典的毒株筛选方法是将相应的野生病毒在实验室经反复传代,逐步获得对人体致病力大大降低的减毒株;当人体接种较小剂量的减毒株时,即可在体内产生良好的免疫反应。目前,此类常见的病毒类减毒株活疫苗也很多,比如:脊灰减毒活疫苗、麻腮风疫苗、水痘疫苗以及我国第一个出口海外的拥有自主知识产权的疫苗——乙型脑炎减毒活疫苗等^[16]。

减毒活疫苗优点在于:①可模拟病毒的自然感染,免疫效果好,免疫应答速度快,既可产生体液免疫,也可产生细胞免疫,往往只接种一剂次就

可使机体产生良好的免疫应答;②生产成本不高,相比灭活疫苗更易量产。不过,减毒活疫苗的缺点也非常明显:①研发时间长,合格疫苗候选株的筛选往往需要经多种细胞且多次传代,有的还需低温下细胞传代;②毒株关键指标——残余毒力评估难度较大;③即使减毒活疫苗研发成功,在后续使用过程中也存在疫苗衍生株传播疾病的可能性,即减毒活疫苗株在极个别接种者(往往是免疫功能缺陷者)体内发生变异重组后,导致未接种疫苗者感染患病^[17];④与灭活疫苗相似,减毒活疫苗的研发及生产涉及病毒培养,对生物安全要求相对较高,存在一定生物安全风险。

由于传统减毒传代的筛选方式费时费力,近年疫苗开发已经鲜有应用。针对目前疫情的紧急状态,新冠减毒株的研发选择传代减毒策略的可能性很小。而从另一种角度考虑,比如Lam等^[18]发现新冠病毒与穿山甲体内的某个冠状病毒受体结合域(receptor binding domain, RBD)氨基酸序列相似性高达97.4%,就像17世纪时詹纳(Jenner)医生利用牛痘预防天花那样^[19],如果能从已经发现的动物冠状病毒中,找到免疫后对新冠病毒有交叉保护作用同时无人体致病性的毒株,可以尝试作为疫苗候选株进行继续的评价和开发。此外,利用反向遗传学技术,对新冠病毒进行定点的基因突变或者缺失,快速获得不致病且免疫原性好的疫苗候选株,也是值得尝试的思路。曾经有科学团队尝试通过对病毒E蛋白基因进行定点缺失和突变操作,其开发的SARS-CoV减毒株被证明可在小鼠上诱导产生体液和细胞免疫,并且能够保护其免受SARS-CoV的攻击^[20-22]。

3 重组蛋白疫苗路线

相比于传统的灭活和减毒路线,重组蛋白疫苗以其安全性好、低成本等优势成为近年来疫苗研发的热门方向。其过程是,基于已发布的病毒基因序列,将病毒目的抗原基因构建在表达载体上,再转化到细菌、酵母、哺乳动物或昆虫细胞中,诱导表达出抗原蛋白,最后纯化后制成疫苗。常见的重组蛋白疫苗有乙肝疫苗和宫颈癌疫苗——人乳头瘤病毒疫苗,以及中国率先研制的戊肝疫苗等。

新冠病毒表面抗原S蛋白具有天然三聚体结构,成都三叶草公司利用其Trimer-Tag®(蛋白质三聚体化)专利技术,在哺乳动物细胞内表达、纯化,得到与新冠病毒天然表面抗原S蛋白构象高度相似的共价三聚体融合蛋白——“S-三聚体”,同

时试验证明该“S-三聚体”抗原可以与病毒感染患者康复后血清中的特异性抗体结合^[23]。

重组蛋白疫苗技术路线最大的优点是：① 安全性高，除了部分评价工作，生产及研发无需高等级生物安全实验室；② 疫苗生产的工艺路线确定后，易于大规模生产。但由于是利用不同表达系统表达病毒部分蛋白作为抗原，所表达蛋白三维结构与病毒蛋白天然构象可能存在差异，所以免疫原性是否足够，往往是重组蛋白路线能否成功的关键。为了解决免疫原性的问题，病毒类重组蛋白疫苗通常利用病毒样颗粒 (virus-like particles, VLP) 构建技术，让重组蛋白自组装成一个类病毒颗粒以增强其免疫原性，之前提到的乙肝疫苗、人乳头瘤病毒疫苗、戊肝疫苗都是如此^[24]。也有成功案例是利用疫苗佐剂达到辅助增强疫苗效果的目的，比如利用铝佐剂吸附 (乙肝疫苗、人乳头瘤病毒疫苗)；或者是更优效的复合免疫刺激佐剂，比如葛兰素史克公司 (GlaxoSmithKline, GSK) 的重组带状疱疹病毒疫苗就是利用表达带状疱疹病毒 E 蛋白与该公司拥有专利技术的佐剂系统联合使用，取得了良好的临床效果^[25]。2020 年 4 月 3 日，GSK 公司和厦门万泰沧海生物技术有限公司 (简称：厦门万泰) 联合宣布开展研究合作，GSK 将向厦门万泰提供疫苗佐剂系统，以评估厦门万泰与厦门大学开发的重组蛋白冠状病毒候选疫苗的临床前效果^[26]。

4 病毒载体疫苗路线

病毒载体疫苗，是使用活病毒 (通常为仍具备复制活性的减毒株，或者是非复制型病毒) 作为载体，将编码外源性抗原的基因通过病毒载体呈递到宿主细胞，使得抗原在宿主中进行表达并诱导产生相应的免疫应答。自从 20 世纪 80 年代以来，研究发现多种病毒可以作为疫苗载体，包括腺病毒、细小病毒 (如腺相关病毒)、副粘病毒 (如麻疹病毒、新城疫病毒或人副流感病毒)、弹状病毒 (如水疱性口炎病毒) 和痘病毒 (如重组牛痘安卡拉病毒)^[27]。目前已经上市的预防用载体病毒疫苗不多，都未能得以大规模应用，比如黄热病毒减毒株 17D 为基因骨架构建的重组登革热疫苗 Dengvaxia^[28]。2019 年底，欧盟和美国食品药品监督管理局 (food and drug administration, FDA) 批准了默沙东公司生产的以重组水疱性口炎病毒为载体的埃博拉疫苗 ERVEBO (rVSVΔG-ZEBOV-GP) 上市，上市前该疫苗在 III 期临床中取得较为满意的结果^[29]。中国人民解放军军事科学院 (简称：军科院) 军事医学

研究院和天津康希诺生物股份公司 (简称：康希诺) 合作开发的重组埃博拉病毒疫苗于 2017 年在中国获批，是利用腺病毒 Ad5 为载体开发的预防埃博拉病毒感染的疫苗^[30]。

2020 年 3 月 16 日，军科院院士陈薇和康希诺公司联合研制的重组新型冠状病毒疫苗 (腺病毒载体) 的 I 期临床试验已经在武汉开展^[31]，现已完成了 14 天的初步安全性观察，并于 4 月 12 日开展 II 期临床试验^[32]。英国牛津大学詹纳研究所同样利用腺病毒载体技术开发的新冠病毒疫苗于 4 月 23 日也开始进行 I 期临床试验^[33]。法国巴斯德研究所利用改良后的麻疹疫苗株作为载体，表达新冠病毒抗原基因的相关研发也在进展之中。此外，麻疹病毒能容纳多个外源基因，不会与宿主基因组整合，因此安全性高，可被开发用于重组病毒载体疫苗。利用麻疹病毒开发针对基孔肯雅病毒的载体疫苗已经完成了 II 期临床试验^[34]，而利用麻疹病毒开发的 MERS-CoV 载体疫苗免疫小鼠后在攻毒试验中也证明其确实具有保护效果^[35]。

病毒载体疫苗路线具备减毒活疫苗部分优点，比如病毒载体本身可诱导产生强烈免疫应答 (体液免疫和细胞免疫)，因此通常不需要使用额外的佐剂。此外病毒载体疫苗的接种可以考虑不同的途径，除肌肉接种外，鼻腔接种、皮内接种和口服接种都可以考虑，作为应急疫苗使用，给药途径易于实施。本技术路线短板在于，某些载体病毒可能存在潜在的宿主基因组整合能力，这一点需要在临床研究开始之前和研究期间仔细评估。而且如果病毒载体是来自能够感染人的病毒，比如麻疹、流感、腺病毒，都可能因为接种者原有的中和抗体或者免疫记忆，对病毒载体免疫原性产生影响，从而最终影响疫苗的保护效果^[36]。

5 核酸疫苗路线 (DNA 疫苗/mRNA 疫苗)

基于核酸的疫苗技术路线是使用编码抗原的质粒 DNA 或 mRNA 被细胞摄取后表达抗原蛋白，从而诱导机体产生体液免疫和细胞免疫。核酸疫苗路线支持各种抗原的递送，可以利用平台化的技术开发多种病原体的疫苗。疫苗的生产与编码的蛋白质特性无关，因此不同的疫苗所需生产、纯化和验证方法都是相同的，更重要的是核酸疫苗的生产原料主要依赖于化学合成，大规模生产更容易；不同核酸疫苗制造所需的设施设备相同，研发、生产和生产线建设相对其他技术路线，所需时间大大减少。核酸疫苗路线的两大技术 (DNA 疫苗/

mRNA 疫苗)非常适合开发应对 COVID-19 这种突发的紧急传染病的疫苗。

5.1 DNA 疫苗

DNA 疫苗通常是通过将编码目的抗原的真核表达元件插入质粒而成。20 世纪 90 年代的 DNA 疫苗研究中,最常见的给药途径是肌内或皮内注射,而单独注射 DNA 疫苗免疫原性相对较低,特别是在大型动物模型和人类中更明显。为改善这种情况,现在已经开发出了能够增强 DNA 摄取、表达和免疫原性的其他接种方式,包括各种递送装置,例如基因枪、无针注射装置和体内电穿孔装置^[37]。此外,不同的 DNA 疫苗呈递制剂也在相应研发中,比如将 DNA 疫苗包裹在脂质体纳米颗粒中,加入阳离子脂质体和胆固醇,吸附到如聚乙烯亚胺的聚合物上制备成可生物降解的纳米颗粒^[38]。这些手段都是为了改善细胞对 DNA 分子的摄取,从而增强抗原的表达。DNA 疫苗已经被用于针对各种人类病原体,如艾滋病毒、流感病毒、疟疾、乙型肝炎病毒、呼吸道合胞病毒和单纯疱疹病毒等多种疫苗的开发,并已进入到临床试验阶段^[39]。

美国 Inovio 公司的新型冠状病毒候选疫苗,就是 DNA 疫苗的一种。2020 年 4 月 6 日 Inovio 公司已经入组了 40 名健康受试者,开展其 DNA 新冠疫苗的 I 期临床试验^[40]。Inovio 公司之前的成功案例就是利用同样平台技术开发的 MERS-CoV 疫苗,该 DNA 疫苗 I 期临床研究中,显示其具有良好的耐受性,在大约 95% 的受试者中诱导出了高水平的抗体反应,同时在近 90% 的受试者中产生了广泛的 T 细胞应答,并在受试者给药后 60 周内产生了持久的抗体反应^[41]。

DNA 疫苗除了前面说的优势,也存在着一些缺点。比如注射后 DNA 质粒可能会长期存在于体内,这样会额外增加转染到细胞核中外源基因整合到宿主染色体中的风险。而且, DNA 疫苗往往容易出现免疫原性较低、保护效果有限的情况,这也是相关研究团队亟待解决的瓶颈问题^[42]。

5.2 mRNA 疫苗

mRNA 是内源性蛋白质产生的模板,是遗传信息的中间载体。mRNA 疫苗是将在体外合成的 mRNA 直接递送到体内,由体内的细胞翻译成抗原蛋白,达到激活免疫系统,引起特异性免疫的效果。mRNA 疫苗主要有两种类型,非复制型(non-replicating)和自我扩增型(self-amplifying)。相比非复制型的 mRNA,自我扩增型 mRNA 不仅能编码抗原,还有类似病毒复制过程的序列,使其可以

在细胞内复制,提高蛋白表达量。mRNA 疫苗能够被顺利递送进入细胞是其发挥作用的前提,这一过程难度很大。首先,裸露的 mRNA 直接进入体内会被降解;其次, mRNA 需要穿过带负电荷的磷脂双分子层结构的细胞膜才可进入细胞内部,而裸 mRNA 作为一种分子量较大且带负电荷的分子,没有载体几乎不可能进入细胞。如何实现高效的 mRNA 递送是本技术路线的最大难题。目前比较常见的是利用载体辅助 mRNA 的递送,常用载体包括树突细胞、鱼精蛋白、脂质体和高分子载体等。脂质纳米粒载体目前是 mRNA 疫苗最常用的载体之一。此外,也有使用物理方法辅助 mRNA 穿透细胞膜的,比如电基因枪、电穿孔法等^[43]。大部分 mRNA 疫苗产品目前尚处于临床阶段,国际上还没有获批的 mRNA 疫苗或者治疗产品上市,但因该技术具有胞内翻译抗原和生产周期短等特点, mRNA 疫苗在癌症疫苗,以及流感、HIV 等变异性高的病毒疫苗领域,都具有一定的优势^[44]。

美国 Moderna 公司和德国 BioNTech 公司都在利用 mRNA 技术平台研发新冠疫苗。Moderna 公司目前有 7 种在进行中的 mRNA 疫苗临床试验,同时也在进行 MERS-CoV 疫苗的开发,但目前尚处于动物实验阶段。该公司已经于 2020 年 3 月 16 日入组了 40 位健康受试者,开展了关于新冠候选疫苗 I 期临床试验,受试者将以 28 天间隔接受两次肌肉注射,然后接受为期 12 个月的随访^[45]。美国辉瑞公司与 BioNTech 公司联合开发的新冠疫苗也在 4 月 29 日进了 I 期临床试验^[46]。

mRNA 疫苗生产工艺简单、合成快速、成本较低;在细胞质中翻译不进入细胞核,相比 DNA 疫苗没有整合宿主基因组的风险;作为核酸本身具有激活免疫反应的佐剂作用。在新冠病毒疫情突发又缺乏疫苗的当下,具备上述优点的 mRNA 疫苗很适合作为应急疫苗,但本身分子的稳定性是 mRNA 疫苗批量生产最大的挑战。此外,不同于单纯的体外细胞实验,人体内环境复杂, mRNA 递送系统是否有效也极为关键。在质量控制方面,如何检测残留的模板 DNA 和合成不完全的 mRNA,同样是当前研究开发 mRNA 疫苗所需面临的一大质量控制难题^[47]。

6 新冠疫苗开发的相关思考

6.1 疫苗设计应注意的问题

世界卫生组织的《COVID-19 全球研究路线图》里指出,冠状病毒疫苗免疫后的动物,再次暴

露于活病毒时,可能发生抗体依赖的疾病增强(antibody-dependent enhancement, ADE)效应,导致接种疫苗后感染病毒反而出现更严重的感染和疾病反应^[48]。在进行 SARS-CoV 载体疫苗(重组牛痘病毒安卡拉株)研究时,发现在模型动物雪貂中,病毒特异抗体可结晶段(fragment crystallizable, Fc)通过与巨噬细胞 Fc 段受体结合,从而使得病毒可以感染不含 ACE2 受体的巨噬细胞,增强了病毒的感染性,而且中和抗体水平越低,感染越严重^[49-50]。20 世纪呼吸道合胞病毒灭活疫苗研发失败,临床试验发现并无保护作用,2 名接种的婴儿因感染野毒株型呼吸道合胞病毒导致死亡,后来 Román 等^[51]的研究揭示就是因为该灭活疫苗诱发了 ADE。

Tseng 等^[52]使用小鼠作为模式动物评估了 4 种 SARS-CoV 疫苗,其中有两种灭活病毒疫苗、一种重组 S 蛋白疫苗、一种病毒样颗粒疫苗;尽管 4 种疫苗均能显著抑制小鼠体内 SARS-CoV 复制,但导致了更严重的嗜酸性粒细胞浸润肺部和免疫反应偏向 Th2 型,这些现象类似呼吸道合胞病毒灭活疫苗由于产生了非中和抗体引发的 ADE。Yasui 等^[53]发现接种针对 SARS-CoV 的 N 蛋白疫苗后,小鼠也表现出更严重的肺炎。Bolles 等^[54]的研究表示,灭活 SARS-CoV 全病毒疫苗不足以提供完全的保护,反而会促进了更强的嗜酸性粒细胞浸润肺部组织。Liu 等^[55]发现抗 SARS-CoV 的 S 蛋白的抗体是诱发急性肺损伤的因素之一。以上研究提示,在疫苗研发过程中要注意的不仅是灭活疫苗,单纯以 S 蛋白作为抗原的重组蛋白疫苗、DNA 和 mRNA 疫苗,甚至是病毒载体疫苗,都有可能引起 ADE 发生。

防止 ADE 发生的一个关键措施就是选择合适的靶抗原,减少非中和抗体诱导区。很多研究团队的策略是只选择优势中和抗体诱导区,比如抗原只选择 RBD 区,但笔者认为这样抗原分子量较小,抗原本身的免疫原性可能受到影响。另外可以优化免疫策略,比如采用更优效的佐剂,辅助抗原产生高滴度中和抗体以降低 ADE 发生的可能性。最后新冠疫苗的设计最好能兼顾体液免疫和细胞免疫,在进行动物实验和临床试验时也可以通过抗体水平和细胞免疫的相关检测,提前对疫苗可能出现的 ADE 风险进行预估。

6.2 新冠疫苗的后续临床设想

目前全球范围进入临床的新冠疫苗都在 I 期或 II 期阶段。对于 COVID-19 这种新发、突发传染病,预防性疫苗需要在新冠病毒流行区域进行 III 期临床试验,观察对照组和试验组之间的病例(或病

毒感染)差异。鉴于目前国内新冠疫情的发展和情况,新冠疫苗在国内选择区域进行 III 期临床试验可能性不大。III 期临床可能需要在海外新冠病毒流行区域选择受试者人群进行临床研究。

另外一方面,鉴于目前新冠疫情在海外疫情比较严重,笔者认为如果有疫苗通过 I、II 期临床初步验证有效性(保证安全性),可以考虑紧急状态下开展相对大规模的单臂式(无对照组,全部接种试验疫苗)III 期临床设计,先给予医护人员、防疫人员以及其他易感人群最大可能的保护,然后通过未接种区域人群的感染数据进行对比分析,最终确定 III 期临床的实际结果。Eyal 等^[56]甚至认为可以选择部分受试者,接种疫苗再进行病毒攻击挑战(自愿情况下),以加速新冠疫苗 III 期临床研究的进度。

6.3 未来应用的展望

新冠病毒目前已经在全球范围内流行,短时期内各国对新冠疫苗的需求将会是数亿甚至数十亿;理想的新冠疫苗除了安全、有效,也需要易于储存、运输和接种,同时对生产成本和可及性也有一定要求。不同技术路线的疫苗,根据其固有特点,在新冠疫情发展的不同阶段有可能得到不同的应用。比如,腺病毒载体疫苗可能最先应急使用,灭活疫苗和重组蛋白疫苗可能在后期大规模应用于大面积人群。

2003 年,国内 SARS 疫情期间,也曾有多个研究团队进行过多种技术路线 SARS 疫苗的研发,但因为疫情快速得以控制,相关疫苗研究推进到临床试验阶段时,因为没有受试者而终止。如果新冠疫苗也因为疫情得以控制无法进行 III 期临床研究,已经完成 II 期临床的新冠疫苗也应该作为战略储备疫苗,以备不时之需。考虑到冠状病毒已经数次成为严重威胁人类的流行病原体,建议在注意公共卫生防御系统,应急响应系统完善建立的同时,完善通用冠状病毒应急疫苗研发平台、通用呼吸道病毒应急疫苗研发平台甚至是通用传染病病原体应急疫苗研发平台的建设,避免再次出现面对疫情而疫苗缓不济急的情况。

利益冲突声明: 本文全体作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- 1 Chen Nanshan, Zhou Min, Dong Xuan, *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, 2020, 395(1223): 507-513.
- 2 Wu Fan, Zhao Su, Yu Bin, *et al.* A new coronavirus associated with

- human respiratory disease in China. *Nature*, 2020, 579(7798): 265-269.
- 3 Zhu Na, Zhang Dingyu, Wang Wenling, *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*, 2020, 382(8): 727-733.
 - 4 Li F, Li W H, Farzan M, *et al.* Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science*, 2005, 309(5742): 1864-1868.
 - 5 Agnihothram S, Gopal R, Yount B L, *et al.* Evaluation of serologic and antigenic relationships between middle eastern respiratory syndrome coronavirus and other coronaviruses to develop vaccine platforms for the rapid response to emerging coronaviruses. *J Infect Dis*, 2014, 209(7): 995-1006.
 - 6 Li Wenhui, Michael J M, Vasilieva N, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 2003, 426(6965): 450-454.
 - 7 Park W B, Kwon N J, Choi S J, *et al.* Virus isolation from the first patient with SARS-CoV-2 in Korea. *J Korean Med Sci*, 2020, 35(7): e84.
 - 8 Du Lanying, Yang Yang, Zhou Yusen, *et al.* MERS-CoV spike protein: a key target for antivirals. *Expert Opin Ther Targets*, 2017, 21(2): 131-143.
 - 9 Thanh L T, Andreadakis Z, Kumar A, *et al.* The COVID-19 vaccine development landscape. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(5): 305-306.
 - 10 白仲虎, 昕然, 王荣斌 哺乳动物细胞生产人用灭活疫苗相关技术进展. *中国细胞生物学学报*, 2019, 41(10): 1986-1993.
 - 11 姚昕, 毛群颖, 梁争论. EV71 全病毒灭活疫苗的研究进展. *中国生物制品学杂志*, 2012, 25(10): 1391-1394.
 - 12 Lin Jiangtao, Zhang Jiansan, Su Nan, *et al.* Safety and immunogenicity from a phase I trial of inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine. *Antivir Ther*, 2007, 12(7): 1107-1113.
 - 13 中国临床试验注册中心. 新型冠状病毒灭活疫苗(Vero 细胞)随机、双盲、安慰剂平行对照 I / II 期临床试验. (2020-04-11)[2020-04-13]. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=52227>.
 - 14 中国临床试验注册中心. 新型冠状病毒(2019-CoV)灭活疫苗(Vero 细胞) I / II 期临床试验. (2020-04-29) [2020-05-04]. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=53003>.
 - 15 临床试验数据库. Safety and Immunogenicity Study of Inactivated Vaccine for Prophylaxis of SARS CoV-2 Infection (COVID-19). (2020-4-20) [2020-04-28]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04352608?term=NCT04352608&draw=2&rank=1>.
 - 16 李征, 刘晔, 李春阳. 减毒活疫苗的应用及其研究进展. *中国生物制品学杂志*, 2018, 31(2): 205-209.
 - 17 Minor P D. Live attenuated vaccines: historical successes and current challenges. *Virology*, 2015, 479-480(5): 379-392.
 - 18 Lam T T Y, Shum M H H, Zhu H C, *et al.* Identifying SARS-CoV-2 related coronaviruses in malayan pangolins, *Nature*, 2020, 5. DOI: 10.1038/s41586-020-2169-0.
 - 19 Brunham R C, Coombs K M. In celebration of the 200th anniversary of Edward Jenner's inquiry into the causes and effects of the variolae vaccinae. *Can J Infect Dis*, 1998, 9(5): 310-313.
 - 20 Dediego M L, Alvarez E, Almazan F, *et al.* A severe acute respiratory syndrome coronavirus that lacks the E gene is attenuated *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Virology*, 2007, 81(4): 1701-1713.
 - 21 Regla-Nava J A, Nieto-Torres J L, Jimenez-Guardeño J M, *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronaviruses with mutations in the E protein are attenuated and promising vaccine candidates. *Journal of Virology*, 2015, 89(7): 3870-3887.
 - 22 Jimenez-Guardeño J M, Regla-Nava J A, Nieto-Torres J L, *et al.* Identification of the mechanisms causing reversion to virulence in an attenuated SARS-CoV for the design of a genetically stable vaccine. *PLoS Pathog*, 2015, 11(10): e1005215.
 - 23 三叶草公司官网. Clover Successfully Produced 2019-nCoV Subunit Vaccine Candidate and Detected Cross-Reacting Antibodies from Sera of Multiple Infected Patients. (2020-02-10) [2020-02-10]. <http://www.cloverbiopharma.com/index.php?m=content&c=index&a=show&catid=11&tid=41>.
 - 24 郭慧敏, 缪秋红, 谭永贵, 等. 病毒样颗粒的常用表达系统和应用进展. *中国动物传染病学报*, 2017, 25(4): 82-86.
 - 25 Fochesato M, Dendouga N, Boxus M. Comparative preclinical evaluation of AS01 versus other adjuvant systems in a candidate herpes zoster glycoprotein E subunit vaccine. *Hum Vaccin Immunother*, 2016, 12(8): 2092-2095.
 - 26 葛兰素史克公司官网(中文). 葛兰素史克与养生堂厦门万泰联合厦门大学合作研发2019冠状病毒疫苗. (2020-04-03) [2020-04-03]. <https://www.gsk-china.com/zh-cn/media/press-releases/2020/葛兰素史克与养生堂厦门万泰联合厦门大学合作研发2019冠状病毒疫苗/>.
 - 27 成传刚, 慕婷, 袁军, 等. 重组病毒载体疫苗研究进展. *中国病毒病杂志*, 2018, 8(4): 318-328.
 - 28 Redoni M, Yacoub S, Rivino L. Dengue: status of current and under-development vaccines. *Rev Med Virol*, 2020, 4: e2101.
 - 29 Scott A H, Rituparna D, Matthew T O, *et al.* Immunogenicity, lot consistency, and extended safety of rVSVΔG-ZEBOV-GP vaccine: a phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled study in healthy adults. *J Infect Dis*, 2019, 220(7): 1127-1135.
 - 30 Li Jingxin, Hou Lihua, Meng Fanyue, *et al.* Immunity duration of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine and a homologous prime-boost immunisation in healthy adults in China: final report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *The Lancet Global Health*, 2017, 5(3): e324-e334.
 - 31 中国临床试验注册中心. 重组新型冠状病毒(2019-COV)疫苗(腺病毒载体) I 期临床试验. (2020-03-17) [2020-03-18]. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=51154>.
 - 32 中国临床试验注册中心. 重组新型冠状病毒(2019-nCoV)疫苗(腺病毒载体)随机、双盲、安慰剂对照设计的 II 期临床试验. (2020-4-10) [2020-04-10]. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=52006>.
 - 33 临床试验数据库. A Study of a Candidate COVID-19 Vaccine (COV001). (2020-03-27) [2020-05-08]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04324606?term=NCT04324606&draw=2&rank=1>.
 - 34 Mühlebach M D. Vaccine platform recombinant measles virus. *Virus Genes*, 2017, 53(5): 733-740.
 - 35 Malczyk A H, Kupke A, Prüfer P, *et al.* A highly immunogenic and protective Middle East respiratory syndrome coronavirus vaccine based on a recombinant measles virus vaccine platform. *Journal of Virology*, 2015, 89(22): 11654-11667.
 - 36 Humphreys I R, Sebastian S. Novel viral vectors in infectious diseases. *Immunology*, 2018, 153(1): 1-9.
 - 37 Kichaev G, Mendoza J M, Amante D, *et al.* Electroporation mediated DNA vaccination directly to a mucosal surface results in

- improved immune responses. *Hum Vaccin Immunother*, 2013, 9(10): 2041-2048.
- 38 宋丽,熊丹,焦新安,等. 聚乙烯亚胺作为核酸疫苗佐剂的研究进展. *中国人兽共患病学报*, 2019, 35(7): 660-666, 671.
- 39 傅连臣,刘灵芝,侯佩强. DNA 疫苗研究进展. *预防医学论坛*, 2019, 25(10): 797-800.
- 40 临床试验数据库. Safety, tolerability and immunogenicity of INO-4800 for COVID-19 in healthy volunteers. (2020-04-07) [2020-04-24]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04336410?term=INO-4800&draw2&rank1>.
- 41 Modjarrad K, Roberts C C, Mills K T, *et al.* Safety and immunogenicity of an anti-Middle East respiratory syndrome coronavirus DNA vaccine: a phase 1, open-label, single-arm, dose-escalation trial. *Lancet Infect Dis*, 2019, 19(9): 1013-1022.
- 42 Kutzler M A, Weiner D B. DNA vaccines: ready for prime time?. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(10): 776-788.
- 43 Kowalski P S, Rudra A, Miao L, *et al.* Delivering the messenger: advances in technologies for therapeutic mRNA delivery. *Molecular Therapy*, 2019, 27(4): 710-728.
- 44 Pardi N, Hogan M J, Weissman D. Recent advances in mRNA vaccine technology. *Curr Opin Immunol*, 2020, 65: 14-20.
- 45 临床试验数据库. Safety and immunogenicity study of 2019-nCoV vaccine (mRNA-1273) to treat novel coronavirus. (2020-2-25) [2020-05-04]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04283461?term=mRNA1273&draw=2&rank=1>.
- 46 临床试验数据库. Study to describe the safety, tolerability, immunogenicity, and potential efficacy of RNA vaccine candidates against COVID-19 in healthy adults. (2020-4-30) [2020-05-07]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04368728?term=BNT162&draw2&rank1>.
- 47 Pardi N, Hogan M J, Porter F W, *et al.* mRNA vaccines—a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(4): 261-279.
- 48 World Health Organization. A coordinated global research roadmap: 2019 novel coronavirus. (2020-03-12) [2020-03-12]. <https://www.who.int/who-documents-detail/a-coordinated-global-research-roadmap>.
- 49 Weingartl H, Czub M, Czub S, *et al.* Immunization with modified vaccinia virus Ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets. *Journal of Virology*, 2004, 78(22): 12672-12676.
- 50 Czub M, Weingartl H, Czub S, *et al.* Evaluation of modified vaccinia virus Ankara based recombinant SARS vaccine in ferrets. *Vaccine*, 2005, 23(17/18): 2273-2279.
- 51 Román M, Calhoun W, Hinton K, *et al.* Respiratory syncytial virus infection in infants is associated with predominant Th-2-like response. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 156(1): 190-195.
- 52 Tseng C T, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, *et al.* Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35421.
- 53 Yasui F, Kai C, Kitabatake M, *et al.* Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *The Journal of Immunology*, 2008, 181(9): 6337-6348.
- 54 Bolles M, Deming D, Long K, *et al.* A Double-Inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge. *Journal of Virology*, 2011, 85(23): 12201-12215.
- 55 Liu Li, Wei Qiang, Lin Qing, *et al.* Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight*, 2019, 4(4): e123158.
- 56 Eyal N, Lipsitch M, Smith P G. Human challenge studies to accelerate coronavirus vaccine licensure. *J Infect Dis*, 2020, 3: e152.

收稿日期: 2020-04-12 修回日期: 2020-05-12
本文编辑: 陈咏竹