

新型冠状病毒疫苗研究现状以及仿生纳米疫苗研究前景

左建宏, 黄佳璐, 谢卓熠

(南华大学衡阳医学院转化医学研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[专家简介] 左建宏, 博士(中美联合培养), 博士后, 教授, 博士研究生导师, 国家自然科学基金评审专家。从事头颈部肿瘤与新型冠状病毒发病机制及防治研究。主持或参与国家自然科学基金7项, 省部级重点项目5项, 省厅级项目多项。获教育部二等奖1项, 湖南省科技进步奖二等奖和三等奖各1项, 发表SCI论文40余篇, 获国家专利10余项。

[关键词] 新型冠状病毒; 仿生纳米疫苗; 疫苗加强针

[摘要] 新型冠状病毒传染病(COVID-19)呈全球流行。接种疫苗是预防新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染的重要手段。不同类型的疫苗或疫苗加强针需要被开发以应对COVID-19疫情。本文综述了新型冠状病毒疫苗的现状以及重点探讨了仿生纳米疫苗的研发前景, 希望对后续新冠疫苗的研发提供有益借鉴。

[中图分类号] R51

[文献标识码] A



Research status of SARS-CoV-2 vaccine and prospect of biomimetic nanovaccine

ZUO Jianhong, HUANG Jialu, XIE Zhuoyi

(Transformation Research Lab, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China)

[KEY WORDS] SARS-CoV-2; biomimetic nanovaccine; vaccine booster

[ABSTRACT] The corona virus disease (COVID-19) is a global epidemic. Vaccination is an important means of preventing novel coronavirus infection (SARS-CoV-2). Different types of vaccines or booster shots need to be developed to deal with the COVID-19 outbreak. This paper reviews the current situation of novel coronavirus vaccine and focuses on the research and development prospect of bionic nanovaccine, hoping to provide useful reference for the subsequent research and development of COVID-19 vaccine.

新型冠状病毒传染病(corona virus disease 2019, COVID-19)是感染新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2), 致肺部感染的一类传染病^[1-2]。该病于2019年暴发, 造成了许多人员死亡和社会经济损失。为了应对新型冠状病毒传染病疫情, 人们迫切需要特效药物和疫苗接种来预防或者治疗新型冠状病毒传染病^[3]。中国疫苗研发已经站在了全球研发的第一梯队。已经批准并生产的疫苗不但能够完全供应中国全部公民, 还能供应国外。中国实施有效的疫情控制和全民免费接种疫苗的政策让疫情得以控制。但是, 随着疫情在国外蔓延, 以及许多国家出现新型冠状病毒新变种。新型冠状病毒传染病疫

情又有卷土重来的趋势。

1 SARS-CoV-2

SARS-CoV-2与严重急性呼吸综合征冠状病毒、中东呼吸综合征冠状病毒同属于 β 冠状病毒属, 是一组RNA病毒, 可导致致命的呼吸道感染^[4]。SARS-CoV-2传染性极强, 不仅能够通过动物-人传播, 还能通过许多传播媒介。SARS-CoV-2感染人后主要引起新冠肺炎, 导致急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。

1.1 新型冠状病毒结构

SARS-CoV-2的基因组全长29 903 bp。基因组

[收稿日期] 2022-02-22

[修回日期] 2022-04-14

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82173008); 南华大学重点项目(南华政发[2020]2号)

[作者简介] 黄佳璐, 硕士研究生, 研究方向为转化医学, E-mail为310844730@qq.com。通信作者左建宏, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为转化医学, E-mail为632138414@qq.com。

由 14 个开放阅读框 (open reading frames, ORF) 组成, 编码 27 个蛋白质。从 5' 端到 3' 端的第一个 ORF 区域包含 ORF1a 和 ORF1b 两个区域, 这两个区域占整个基因组约 70%, 编码 14 个非结构蛋白。后面基因组共编码 4 种结构蛋白: 编码刺突糖蛋白 (spike protein, S)、编码包膜蛋白 (envelope protein, E)、编码膜蛋白 (membrane protein, M) 和编码核衣壳蛋白 (nucleocapsid protein, N)。在结构蛋白编码区中还存在着其他非结构蛋白甚至未知蛋白。

S 是 SARS-CoV-2 最主要的结构蛋白之一, 为同型三聚体 I 类融合蛋白, 以倒三角的形式凸起在 SARS-CoV-2 包膜表面, 是 SARS-CoV-2 的最外端结构。许多 S 蛋白凸起在电镜下观察犹如花冠, 所以根据 SARS-CoV-2 的形态特点起名为“冠状病毒”。S 蛋白能够与宿主细胞的血管紧张素转换酶 2 受体结合并介导病毒融合与入侵, 整个过程 S 蛋白经过了结构重排。S 蛋白分成两个功能不同的部分即 S1 亚基和 S2 亚基。S1 包含受体结合域 (receptor binding domain, RBD), 特异性地与宿主细胞受体结合, 从而决定病毒的细胞性和致病性^[5]。S1 亚单位是 SARS-CoV-2 疫苗研发的首选抗原选择区。由中国科学院微生物所与安徽智飞龙科马生物制药有限公司生产的重组亚单位疫苗就是利用转基因技术生产病毒 S1 上的 RBD 结构域作为抗原; 由陈薇院士带领的团队与康希诺生物股份公司生产的腺病毒载体 (adenovirus type-5 vectored, AD5) 疫苗也是以 S1 上的 RBD 序列作为抗原^[6-8]。S2 是跨膜结构, 包含七肽重复区和融合肽, 介导病毒和细胞膜的广泛构象重排的融合^[9]。S2 亚基单独作为疫苗抗原比较少, 可能与其位于 S 蛋白的近包膜端有关。

N 是一种磷酸化蛋白, 位于 SARS-CoV-2 病毒粒的核心部分, 与 RNA 形成核衣壳结构^[10]。N 蛋白比较大, 抗原表位多, 是 N 蛋白作为疫苗抗原的优势。但是 N 蛋白藏于核心, 并不暴露在包膜外。机体产生的抗 N 抗体并不能特异性结合完整的 SARS-CoV-2 病毒粒。所以 N 蛋白作为疫苗抗原的研发次于 S 蛋白。一项 S 蛋白与 N 蛋白共同作为抗原的疫苗正在开发, N 蛋白上的抗原表位可能成为 S 蛋白的补充抗原表位用来提高疫苗效果^[11]。

E 和 M 相对分子质量小, 通常很少作为疫苗抗原的选择。M 是 SARS-CoV-2 病毒包膜的基质蛋白, 通过与其他病毒蛋白的相互作用, 在 SARS-CoV-2 的形态发生变化和组装中起核心作用。E 蛋白保守性较高, 作为应对 SARS-CoV-2 高突变的补充抗原或研发疫苗增强剂有着不错的前景。E 蛋白能够

整合到宿主细胞形成离子通道, 这可能有利于免疫系统识别并清除已经被病毒入侵的细胞。Xia 等^[12]发现, E 蛋白能够在体外和体内引起 ARDS 样损伤。所以, 在考虑以 E 蛋白为抗原设计疫苗时应该注意如何提高 E 蛋白疫苗的安全性。

1.2 新型冠状病毒的变异

新型冠状病毒容易突变, 以德尔塔、奥密克戎变异株为主^[13]。其中德尔塔变异株 S 蛋白上显示有 7 个突变 (E156G、D614G、P681R、T19R、T478K、L482R、D950N) 和 1 个缺失 (del157/158), 在 N 蛋白上 4 个突变 (R203M、D377Y、D63G、G215C); M 蛋白有 1 个突变 (I82T); E 蛋白没有。奥密克戎变异株在 S 蛋白上有 27 个突变 (G142D、N211I、S371L、D614G、H655Y、N678K、P681H、N969K、Q954H、D796Y、T547K、L981F、N856K、A67V、G339D、T95I、Q493R、T478K、S477N、E484A、N501Y、Y505H、Q498R、S375F、S373P、N764K、G496S) 和 3 个缺失 (del67/70、del143/145、del212/212); N 蛋白上有 3 个突变 (R203K、G204R、P13L) 和 1 个缺失 (del31/33); M 蛋白上有 3 个突变 (A63T、Q19E、D3G); E 蛋白上有 1 个突变 (T9I)。这些仅仅是传染性强的 SARS-CoV-2 突变株。综合其他 SARS-CoV-2 突变株, 所有结构蛋白中 S 蛋白上的突变位点最多, 这可能造成 S 蛋白抗原表位改变, 导致疫苗无效。其他结构蛋白, 如 M 蛋白和 E 蛋白具有高保守性, 在应对 SARS-CoV-2 变异株产生时, 可作为一个补充抗原进行疫苗加强针接种。

2 新型冠状病毒疫苗

目前, SARS-CoV-2 疫苗已经开发了 300 多种, 其中 142 种正在进行临床试验, 195 种也开展了临床前研究。这些疫苗开发时间短、采用技术先进, 但是生产线的不足导致疫苗全球供应仍然不足 (特别是贫困国家)。并且一些已经批准生产的疫苗虽然通过了临床试验, 但是长期的潜在危险性尚未可知。SARS-CoV-2 疫苗可以分为灭活疫苗、减毒活疫苗、病毒载体疫苗、重组亚单位疫苗、核酸疫苗和纳米疫苗。

灭活疫苗由于技术成熟, 在 SARS-CoV-2 疫苗中是最先开发并且获得生产批准。该疫苗是用化学应激或热应激制备的, 在热应激或化学应激过程中灭活疫苗可能会失去免疫原性, 因此这些疫苗往往需要与佐剂混合。迄今为止, 世界卫生组织共记录了 32 种 SARS-CoV-2 灭活疫苗, 其中 21 种进入了

临床试验。

减毒活疫苗是通过去除或减毒部分病毒而制成的疫苗。该疫苗具有适当的免疫原性,但需要较长时间才能构建出合适的减毒毒株,且构建的毒株随时可能发生毒力逆转。该疫苗技术也较为成熟,比较常见麻疹、甲型肝炎、冻干甲肝、冻干水痘、乙型肝炎、风疹、腮腺炎、口服脊髓灰质炎、口服狂犬病减毒活疫苗等。减毒活疫苗还是口服疫苗接种常用的疫苗类型。世界卫生组织记录在案的减毒活疫苗只有6种。在这6种疫苗中,有2种疫苗已进入临床试验。由于开发周期较长,减毒活疫苗并不是应对 COVID-19 疫情突发的首选疫苗。灭活疫苗和减毒活疫苗是 SARS-CoV-2 全结构疫苗,拥有多个表位,可能在宿主体内诱导多种免疫应答,同时也会产生非中和抗体。非中和抗体对 SARS-CoV-2 没有中和能力,甚至会干扰中和抗体中和 SARS-CoV-2。

安全的病毒载体(腺病毒、HIV 等)通过病毒载体进入宿主体内。病毒载体容易进入宿主体内,引起宿主较强的免疫反应和交叉反应。WHO 记录了72种基于病毒载体的疫苗。28种基于病毒载体的疫苗已进入临床试验。但基于病毒载体的疫苗需要考虑载体免疫可能对疫苗的效力(主要基于所选的载体)产生不良影响^[14]。

重组亚单位疫苗是挑选某个蛋白或者蛋白的部分序列表达出蛋白作为疫苗抗原,从而可以剔除部分免疫效果较差的 SARS-CoV-2 抗原表位,提高 SARS-CoV-2 的抗原表位利用效率,需要与佐剂一起使用^[15-17]。世界卫生组织记录了123种重组亚单位疫苗。48种疫苗已进入临床试验。

核酸疫苗是通过将基因整合到接种者自身细胞中,通过接种者细胞来表达抗原。根据核酸种类不同分为 DNA 疫苗和 RNA 疫苗。DNA 疫苗是利用 DNA 质粒作为载体,将其基因或片段编码的免疫抗原传递给宿主细胞。这种疫苗可以有效地刺激机体产生体液和细胞免疫应答^[18]。世界卫生组织记录了32种 DNA 疫苗正在研发,其中16种已经纳入临床试验。RNA 疫苗主要为 mRNA 疫苗,它刺激机体产生免疫应答的原理和 DNA 疫苗类似。只是 mRNA 无需整合进入宿主细胞,安全性更高;DNA 疫苗整合进入宿主基因组,接种后宿主血清中的抗体存在更加长久。世界卫生组织记录了47种 RNA 疫苗正在研发,其中23种已经纳入临床试验。

纳米疫苗是近年来新兴的一类疫苗,特别是在肿瘤疫苗研发中非常常见。纳米疫苗是将抗原与

纳米粒子组装或包被或包裹的一种纳米递送形式。根据疫苗需求,设计者通过不同功能的纳米载体来实现纳米递送。

3 纳米递送载体

纳米递送载体主要是各种纳米粒(nanoparticles, NPs)。根据抗原递送需求,NPs 可以作为囊状包裹抗原达到抗原的保护,可以作为一个载体聚集抗原提高免疫原性。一些 NPs 还具有延缓释放、防止抗原降解的功能,甚至一些 NPs 是一种高效的纳米佐剂^[19-20]。NPs 有多糖 NPs、多聚 NPs、无机 NPs、脂质体 NPs、蛋白质 NPs 类型等^[21]。不同功能 NPs 相互组合形成多功能复合体以达到疫苗接种的最大效率。一些纳米递送载体已经在 SARS-CoV-2 疫苗研发中使用,并且产生了很好的效果。美国国家过敏症和传染病研究所研发的一种以脂质纳米粒为载体的 mRNA 疫苗已经进入了临床试验(第四期, ID: NCT04878211),还有其他许多 SARS-CoV-2 纳米疫苗正在研发^[22-26]。

4 仿生纳米疫苗

仿生纳米疫苗是纳米疫苗发展的一种更具有优势、更加复杂的纳米疫苗类型,是通过模仿病原体的功能、形状或者行为研发的疫苗。仿生纳米疫苗与肿瘤治疗中的仿生给药系统不同。在肿瘤治疗中,仿生纳米递药系统是制作细胞膜涂层来降低或消除免疫系统对纳米疫苗的捕获,通过模拟宿主自身抗原介导免疫耐受,从而达到提高药物递送效率的目的^[27]。而传染病中的仿生纳米药物递送系统或仿生纳米疫苗主要是模拟病原体增强宿主免疫系统功能。Zheng 等^[25]报告了一种针对新型冠状病毒的仿生纳米疫苗,拥有 SARS-CoV-2 的形状、大小和部分功能。这种疫苗由模拟 SARS-CoV-2 遗传物质的 poly(I:C) 作为佐剂、作为病毒衣壳结构的仿生肺表面活性剂脂质体和 SARS-CoV-2 的 RBD 组成,并且该疫苗比常规的纳米疫苗产生更强的免疫保护^[25]。

5 总结与展望

COVID-19 疫情持续暴发。科学家们通过不断努力,迅速解析了 SARS-CoV-2 的生物属性,并且开发不同的疫苗来应对疫情。然而,SARS-CoV-2 不断

突变,由其变体引发的二次暴发在许多国家发生。纳米疫苗具有多功能自由组合、可控性、安全性等特点,已经被开发甚至已经进入临床试验。在纳米疫苗中,仿生纳米疫苗根据 SARS-CoV-2 的生物属性,模拟 SARS-CoV-2 的大小形状、生物功能等特点似乎比常规的纳米疫苗更能保护宿主抵抗 SARS-CoV-2。

综上所述,仿生纳米疫苗在 SARS-CoV-2 疫苗研发中拥有良好的应用前景。

[参考文献]

- [1] ANKA A U, TAHIR M I, ABUBAKAR S D, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): an overview of the immunopathology, serological diagnosis and management[J]. *Scand J Immunol*, 2021, 93(4): e12998.
- [2] CHAMS N, CHAMS S, BADRAN R, et al. COVID-19: a multidisciplinary review[J]. *Front Public Health*, 2020, 8: 383.
- [3] TSANG H F, CHAN L, CHO W, et al. An update on COVID-19 pandemic: the epidemiology, pathogenesis, prevention and treatment strategies[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2021, 19(7): 877-888.
- [4] BAKHIET M, TAURIN S. SARS-CoV-2: targeted managements and vaccine development[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2021, 58: 16-29.
- [5] XIA X. Domains and functions of spike protein in SARS-CoV-2 in the context of vaccine design[J]. *Viruses*, 2021, 13(1): 109.
- [6] WU S, HUANG J, ZHANG Z, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an aerosolised adenovirus type-5 vector-based COVID-19 vaccine (Ad5-nCoV) in adults: preliminary report of an open-label and randomised phase 1 clinical trial[J]. *Lancet Infect Dis*, 2021, 21(12): 1654-1664.
- [7] 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]. *Lancet*, 2020, 395(1240): 1845-1854.
- [8] ZHU F C, GUAN X H, LI Y H, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial[J]. *Lancet*, 2020, 396(10249): 479-488.
- [9] KE Z, OTON J, QU K, et al. Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions[J]. *Nature*, 2020, 588(7838): 498-502.
- [10] YE Q, WEST A M V, SILLETTI S, et al. Architecture and self-assembly of the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein[J]. *Protein Sci*, 2020, 29(9): 1890-1901.
- [11] HUANG J, DING Y, YAO J, et al. Nasal nanovaccines for SARS-CoV-2 to address COVID-19[J]. *Vaccines (Basel)*, 2022, 10(3): 405.
- [12] XIA B, SHEN X, HE Y, et al. SARS-CoV-2 envelope protein causes acute respiratory distress syndrome (ARDS)-like pathological damages and constitutes an antiviral target[J]. *Cell Res*, 2021, 31(8): 847-860.
- [13] TSUENG G, MULLEN J, ALKUZWENY M, et al. Outbreak.info research library: a standardized, searchable platform to discover and explore COVID-19 resources[J]. *bioRxiv: the preprint server for biology*, 2022, doi:10.1101/2022.01.20.477133.
- [14] AWADASSEID A, WU Y, TANAKA Y, et al. Current advances in the development of SARS-CoV-2 vaccines[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(1): 8-19.
- [15] CREECH C B, WALKER S C, SAMUELS R J. SARS-CoV-2 vaccines[J]. *JAMA*, 2021, 325(13): 1318-1320.
- [16] KALITA P, PADHI A K, ZHANG K, et al. Design of a peptide-based subunit vaccine against novel coronavirus SARS-CoV-2[J]. *Microb Pathog*, 2020, 145: 104236.
- [17] ORTEGA-RIVERA O A, SHIN M D, CHEN A, et al. Trivalent subunit vaccine candidates for COVID-19 and their delivery devices [J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143(36): 14748-14765.
- [18] SILVEIRA M M, MOREIRA G, MENDONÇA M. DNA vaccines against COVID-19: perspectives and challenges [J]. *Life Sci*, 2021, 267: 118919.
- [19] BRISSE M, VRBA S M, KIRK N, et al. Emerging concepts and technologies in vaccine development[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 583077.
- [20] CHATZIKLEANTHOS D, O'HAGAN D T, ADAMO R. Lipid-based nanoparticles for delivery of vaccine adjuvants and antigens: toward multicomponent vaccines[J]. *Mol Pharm*, 2021, 18(8): 2867-2888.
- [21] BERNOCCHI B, CARPENTIER R, BETBEDER D. Nasal nanovaccines[J]. *Int J Pharm*, 2017, 530(1/2): 128-138.
- [22] BAKKARI M A, VALIVETI C K, KAUSHIK R S, et al. Toll-like receptor-4 (TLR4) agonist-based intranasal nanovaccine delivery system for inducing systemic and mucosal immunity [J]. *Mol Pharm*, 2021, 18(6): 2233-2241.
- [23] SUNG H D, KIM N, LEE Y, et al. Protein-based nanoparticle vaccines for SARS-CoV-2[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24): 13445.
- [24] YIN Y, SU W, ZHANG J, et al. Separable microneedle patch to protect and deliver DNA nanovaccines against COVID-19[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(9): 14347-14359.
- [25] ZHENG B, PENG W, GUO M, et al. Inhalable nanovaccine with biomimetic coronavirus structure to trigger mucosal immunity of respiratory tract against COVID-19 [J]. *Chem Eng J*, 2021, 418: 129392.
- [26] CHEN X, SHI T, YANG C, et al. Scalable biomimetic SARS-CoV-2 nanovaccines with robust protective immune responses[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 96.
- [27] WANG H, LIU Y, HE R, et al. Cell membrane biomimetic nanoparticles for inflammation and cancer targeting in drug delivery[J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(2): 552-568.

(此文编辑 蒋湘莲)