

· 双清论坛:重大疾病疫苗研究的关键科学问题 ·

## 新冠病毒疫苗安全性和有效性的展望

王 宾\* 钟一维

复旦大学 基础医学院医学分子病毒学教育部/卫健委重点实验室,上海 200032

**[摘要]** 2019年12月起,新型冠状病毒(以下简称“新冠病毒”)率先在国内被检测出,随即在全球蔓延、爆发,虽然目前国内病毒传播得到了控制,但世界其他国家仍处于疫情的高发或平台期。截止到2020年7月26日,世界卫生组织报告新型冠状病毒肺炎(以下简称“新冠肺炎”)确诊病例15 581 009例,死亡病例635 173例,然而目前仍没有有效的预防和治疗手段。疫苗被认为是人类面对病毒感染最有效的预防手段,因此,世界各国都在加紧开发新冠病毒疫苗。据世界卫生组织统计,当前已有18款疫苗进入临床I期,12款进入临床II期,4款进入临床III期。在临床研究中,评价疫苗在人体上的安全性和有效性是疫苗临床研究的关键点,同时也是难点。本篇综述将围绕着评估新冠疫苗安全性和有效性的几个关键问题展开讨论。由于前期对SARS和MERS疫苗的研发成果对于新冠疫苗也有一定的借鉴意义,因此,本文将这些成果与目前观察到的新冠病毒感染的临床免疫学特点相结合,以预测新冠疫苗研发可能的瓶颈以及解决思路。

**[关键词]** 新型冠状病毒肺炎;疫苗;免疫病理;免疫持久性

2019年12月起,新型冠状病毒(以下简称“新冠病毒”)率先在国内被发现,随即在全球蔓延、爆发。病毒的传播速度 $R_0$ 值开始时推测为2~3,但随着病毒在国外的快速传播, $R_0$ 值上升为5.7左右<sup>[1]</sup>。截至2020年7月26日,中国有83 707例新型冠状病毒肺炎(以下简称“新冠肺炎”)确诊病例。虽然目前国内病毒传播得到了有效控制,但世界其他国家仍处于疫情的高发或平台期。截至2020年7月26日,世界卫生组织公布全球新冠肺炎确诊病例15 581 009例,死亡病例635 173例。2020年7月3日,*Lancet*上发表的关于新冠肺炎流行病学统计数据显示,新冠感染确诊患者中20%需要住院治疗,其中ICU的需求比为1:16 000,65岁以下患者的病死率为0.6%~2.8%,70岁以上患者的病死率为5.4%~16.6%<sup>[2]</sup>。这些数据说明,新冠病毒严重威胁人类健康。然而对于人类而言,它是一个新发病毒,目前没有有效的预防和治疗手段,只能通过隔离等措施缓解疫情。

疫苗被认为是人类面对病毒感染最有效的预防手段,疫苗的开发对于控制疾病的传播具有关键作



王宾 博士,复旦大学特聘教授,博士生导师,国际疫苗研究所(IVD)科学委员会委员。研究领域:治疗性疫苗和新型疫苗佐剂研究,免疫耐受调控机理研究。发表150多篇SCI论文,主持及参与国家及省部级科研课题30多项。



钟一维 复旦大学博士研究生,实验师。任职于复旦大学基础医学院。主要从事新型疫苗和佐剂研究。近5年来相关的研究成果发表在*Journal of Immunology*, *Frontiers in Immunology*等杂志上。参与国家自然科学基金重点项目、国家新药创制等课题10多项。

用,因此,世界各国都在加紧开发新冠病毒疫苗(以下简称“新冠疫苗”)。新冠疫苗开发主要有以下几种技术路线:灭活病毒疫苗、基因重组蛋白疫苗、病毒载体疫苗、核酸疫苗等<sup>[3]</sup>。2020年3月17日,中国人民解放军军事科学医学院联合康希诺公司基于腺病毒载体技术平台开发的新冠疫苗率先进入临床试验;同期,美国Moderna公司联合NIH基于mRNA疫苗技术平台开发的新冠疫苗在美国进入

临床研究。2020年4月6日,Inovio公司联合苏州艾棣维欣公司基于DNA疫苗技术平台开发的新冠疫苗也在美国进入了临床研究;随后,中国的4家机构(北京科兴中维生物、中国生物集团武汉生物制品所、北京生物制品所和协和医科院生物学(昆明)研究所)基于灭活病毒技术平台开发的新冠疫苗也相继进入了临床阶段。截至2020年7月22日,在这场新冠疫苗研发的全球竞赛中,已有18款新冠肺炎疫苗进入临床I期,12款进入临床II期,4款进入临床III期。其中,中国2款、美国1款、英国1款新冠疫苗快速地推进到了临床III期,中、美、英三国暂时处于领跑位置,其他国家紧随其后。

虽然这几种技术平台诱导免疫应答的策略不同,但是除了全病毒灭活外,其他技术平台都优先选择了新冠病毒全长S蛋白、部分S蛋白或S蛋白受体结合域(Receptor Binding Domain, RBD)序列作为免疫原。新冠病毒是单股正链RNA病毒,其基因组编码的结构蛋白有4种,分别为刺突蛋白(Spike Protein, S蛋白),核衣壳蛋白N(Nucleocapsid Protein),膜蛋白M(Membrane Protein)和小膜蛋白E(Small Membrane Protein)。S蛋白是关键的病毒与宿主细胞表面受体结合的蛋白,协助病毒融合进入细胞。该蛋白内有大量抗体结合位点及中和表位,是病毒被宿主免疫系统所识别的关键蛋白质。从目前研究来看,新冠病毒主要通过S蛋白与人血管紧张素转化酶2(ACE2)相结合,从而激活细胞内吞作用使其顺利进入人体细胞内,并启动病毒复制相关信号。因此,S蛋白是疫苗研发的重要靶点<sup>[3]</sup>。

在临床研究中,评价疫苗在人体上的安全性和有效性是疫苗临床研究的关键点,同时也是难点。本篇综述将围绕着评估新冠疫苗安全性和有效性的几个关键问题展开讨论。由于新冠病毒、SARS-CoV和MERS-CoV同属于 $\beta$ -冠状病毒,前期对SARS和MERS疫苗的研发成果对于新冠疫苗的研发也有一定的借鉴意义。因此,本文将这些成果和目前观察到的新冠病毒感染的临床免疫学特点相结合,以预测新冠疫苗研发可能的瓶颈及解决思路。

## 1 新冠疫苗的安全性评价

### 1.1 制剂安全性评价

安全性评价包括两方面内容:制剂安全性评价和免疫病理评价。制剂的安全性通常和疫苗设计的技术路线、生产工艺、所含有的成分、杂质含量、抗原

纯度与佐剂选择和剂量有关,一般在临床I/II期试验里评估疫苗相关的不良反应,确定疫苗制剂的安全性。前期SARS和MERS疫苗的I期临床试验的公开数据显示,SARS DNA疫苗具有良好的耐受性,Martin等评估了10名健康成年人接种SARS-DNA疫苗后的安全性,结果显示受试者均未有严重的局部或系统不良反应,且产生了细胞免疫应答和中和抗体<sup>[4]</sup>;灭活SARS疫苗同样也具有良好的耐受性,Lin等评估了36名疫苗受试者的不良反应,结果显示受试者均未出现严重不良反应,且可以引发SARS-CoV特异性中和抗体<sup>[5]</sup>。此外两个载体疫苗:改良牛痘病毒安卡拉(MVA)-MERS-S疫苗和腺病毒载体ChAdOx1-MERS疫苗也进入I期临床试验,Koch等研究发现18~55岁健康成年人接种MVA-MERS-S疫苗后无严重不良反应<sup>[6]</sup>;Folegatti等评估了ChAdOx1 MERS疫苗在18~50岁健康受试者上的安全性,结果显示无疫苗相关的严重不良事件<sup>[7]</sup>。这些研究预示不同技术路线所设计的新冠病毒疫苗均将有良好的制剂安全性。

### 1.2 免疫病理的评价

疫苗出现免疫病理问题并不常见,但一旦出现免疫病理,就会造成较为严重的副作用。免疫病理现象曾出现在呼吸道合胞病毒(Respiratory Syncytial Virus, RSV)疫苗的临床研究中。1964年,婴幼儿免疫福尔马林灭活的RSV疫苗(FI-RSV)并再次感染RSV后,出现了更严重的肺炎,此类免疫病理的现象又称为疫苗增强性疾病(Vaccine Enhanced Disease, VED)<sup>[8]</sup>。在SARS疫苗的研究过程中,研究者在小鼠和雪貂动物模型中发现SARS疫苗不仅无法预防疾病,反而导致免疫后的小鼠和雪貂在受病毒攻击后,出现更严重的肺部炎症。2012年Tseng等考察了4种SARS-CoV疫苗引起免疫病理的作用,这4种疫苗包括:福尔马林和UV双灭活或者Beta-丙内脂灭活的全病毒疫苗、基因重组S蛋白疫苗和病毒颗粒VLP疫苗(包括S蛋白、N蛋白、E蛋白和M蛋白)。研究结果显示,虽然所有疫苗均诱导中和抗体滴度升高,同时病毒载量降低,但与对照组相比,接种疫苗的小鼠均显示肺部免疫病理现象<sup>[9]</sup>,说明利用不同技术路线制备的候选疫苗在小鼠模型中引起了安全性隐患。SARS疫苗在小鼠模型上造成的免疫病理问题是否在临床试验上也会存在仍是未知,需要在临床研究中,尤其是在III期临床试验中谨慎观察,考虑采取一些干预措施。

SARS 疫苗为什么引起免疫病理? 目前机制尚不清楚。许多研究组也在不断探索其中的机制, 有两种观点: 一种观点认为疫苗诱导的抗体有促进免疫病理的倾向, 此观点被称为抗体依赖性的增强作用(Antibody-Dependent Enhancement, ADE), 因为在临床上观察到 SARS 患者的抗 S 蛋白抗体与急性肺部损伤相关。在感染 SARS-CoV 第 12 天, 大约有 80% 的 SARS 患者发展为急性呼吸窘迫综合征(Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS), 这些患者存在 IgM 到 IgG 血清学转换<sup>[10]</sup>。ARDS 患者在同一时间节点上抗体滴度显著高于康复患者, 中和抗体水平到达峰值的速度显著快于康复患者<sup>[11]</sup>。Li 等在恒河猴上的攻毒实验证明, 抗 S 蛋白的抗体确实介导急性肺部损伤。免疫 MVA-SARS-S 疫苗或注射抗 S-IgG 抗体后感染 SARS-CoV 比仅感染 SARS-CoV 的恒河猴肺部病理损伤更显著, 疫苗诱导的抗 S-IgG 或直接注射的抗 S-IgG 不能阻止 SARS-CoV 的下呼吸道感染, 且增加肺部炎性巨噬细胞浸润、减少免疫耐受型的巨噬细胞数量。进一步研究发现, 抗 S-IgG 抑制了抗炎细胞因子 TGF- $\beta$  的表达, 且通过激活 Fc $\gamma$ Rs 及下游的 ITAM 和 SYK 促进了炎性细胞因子 IL-8 和 MCP1 的产生、激活炎性巨噬细胞。如果将 Fc $\gamma$ Rs 封闭, 将减少炎性因子的产生, 能有效控制 SARS-CoV 感染导致的疾病, 间接地证明了疫苗在动物模型上诱导的抗 S-IgG 介导免疫病理<sup>[9]</sup>。

对病毒抗原表位的研究揭示了 ADE 与表位的关联。Wang 等人报道了在体外实验和小鼠体内发现抗 SARS-CoV S<sub>597-603</sub> 表位的抗体介导病毒感染细胞, 而另一些表位抗体发挥保护型免疫效应, 例如 S<sub>471-503</sub>, S<sub>604-625</sub> 和 S<sub>1164-1191</sub><sup>[12]</sup>。2020 年 5 月 9 日中国人民解放军军事科学院陈薇团队发表的最新研究成果表明: 从新冠肺炎康复者的免疫细胞中筛选和鉴定出针对新冠病毒 S 蛋白 N 端结构具有保护作用的中和抗体 4A8<sup>[13]</sup>。因此, 对 S 蛋白序列和结构的分析将对疫苗设计和疫苗评价具有重要的意义。2020 年 4 月 Grifoni 在 *Cell* 上发表了生物信息学预测新冠病毒潜在的 B 和 T 细胞表位, 但需要进一步确认这些表位的 ADE 风险<sup>[14]</sup>。

另一种观点认为, TH2 型免疫应答介导的嗜酸性细胞浸润是造成免疫病理的主要原因。因为接种 SARS 疫苗的小鼠攻毒后, 出现大量嗜酸性细胞浸润肺部和肝脏。接种 rMVA-SARS-CoV S 疫苗的雪貂攻毒后, 与仅攻毒的雪貂相比产生了更快和更

有活力的中和抗体反应, 然而在肝组织中表现出更显著的嗜酸性粒细胞浸润<sup>[15]</sup>。一些研究者认为嗜酸性细胞浸润是由于 TH2 型免疫应答介导的, 因为在 SARS 死亡病例中观察到了高水平的 TH2 型细胞因子。另一些研究则不支持此观点, 因为诱导偏向 TH2 型免疫应答的铝佐剂与免疫病理无关。研究显示, 加入铝佐剂的 SARS 灭活病毒疫苗比未含有铝佐剂的疫苗实际上降低了疫苗诱导免疫病理风险。病毒颗粒疫苗和重组蛋白疫苗也显示了相似的结果<sup>[16, 17]</sup>。所以, SARS 疫苗是否通过 TH2 型免疫应答介导免疫病理仍待进一步研究。

以上对于疫苗引发免疫病理的安全性问题均基于动物模型, 但动物模型与人的免疫应答具有较大差别, 新冠疫苗在临床上是否会引发免疫病理仍然是未知数。但无论如何, 动物模型结果警示疫苗研究者新冠疫苗可能存在免疫病理的问题、具有潜在的安全性风险。所以, 在新冠病毒疫苗临床设计、检测和长期随访的各个环节中需要充分考虑安全性和有效的干预措施。2020 年, 中国医学科学院医学实验动物研究所的秦川教授课题组和科兴公司在 *Science* 上率先发表了新冠疫苗的动物实验数据, 其结果证明包含铝佐剂的灭活新冠病毒疫苗在小鼠、大鼠和非人灵长类动物中均可诱导特异性中和抗体。这些抗体对全球范围广泛流行的毒株均有潜在的中和能力。研究通过临床指标和生物指数证明了该疫苗的安全性, 在接种后的 29 天恒河猴肺、心、脾、肾和脑等器官均没有引起显著的病理特征<sup>[18]</sup>。此疫苗已于 2020 年 4 月 13 日被批准在江苏徐州市睢宁县启动 I 期临床研究, 它将在临床上验证安全性。

## 2 新冠疫苗的有效性评价

在安全性基础上, 疫苗的有效性是作为疫苗能否上市的关键指标。疫苗有效性的预测通过三个方面: 首先是免疫应答的强度, 包括体液免疫水平和细胞免疫水平; 第二是免疫的持久性; 第三老年人群对疫苗的应答水平。最终, 研究者需要通过 III 期临床试验检验疫苗对降低新冠肺炎的发病率和死亡率的作用, 从而证明疫苗的有效性。

### 2.1 疫苗免疫应答的强度

评价疫苗的免疫应答强度包括两方面: 体液免疫和细胞免疫。在体液免疫中, 抗体发挥中和病毒和抑制病毒进入细胞的关键作用, 不同类型新冠肺炎患者的抗体动态变化情况对于疫苗临床试验设计

和评价具有重要参考意义,然而目前对新冠病毒感染的临床血清学研究非常有限,使预测新冠疫苗诱导的体液免疫水平比较困难。Grifoni等采集了20个轻症患者恢复后血清,发现特异性S蛋白RBD抗体IgG、IgA、IgM水平均比健康者有显著性升高<sup>[19]</sup>。Bao等用灵长类动物模拟新冠病毒再次感染,发现恒河猴经过首次新冠病毒感染后可以抵抗病毒28天后的再次感染<sup>[20]</sup>。以上提示康复者可能已获得抗病毒的免疫应答能力。但这些研究还较为初步,仍需要对不同感染状态患者恢复后的血清学规律进行研究,如:隐性感染者、轻症和重症恢复期的血清抗体滴度,推测可能的保护性抗体滴度范围。虽然疫苗诱导的抗体保护效力与自然感染产生的会有很大差别,但作为新疫苗临床研究的剂量爬坡和接种程序设计有重要的参考价值。与此同时,建立统一的抗体保护效力评价指标也极为重要,像目前评价流感疫苗一样,在特定抗体滴度下,确保不同技术路线制备的疫苗达到统一标准,具有可比性。

除了考虑体液免疫水平,由于CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞对于抗病毒免疫具有关键作用,因此细胞免疫水平是另外一个重要的考虑。最近的研究结果显示,新冠肺炎患者CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞对于S蛋白具有较强特异性的免疫应答水平。Grifoni等在*Cell*上发表了患者CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞对新冠病毒结构蛋白多肽(包括S蛋白、M蛋白、N蛋白)和非结构蛋白多肽的应答水平的比较,发现CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞以应答结构蛋白为主,结构蛋白S和M蛋白特异性的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞比率最高,达到40%~50%<sup>[19]</sup>。Weiskopf等人通过分析不同病毒抗原多肽对T细胞应答的刺激作用,发现S蛋白多肽在体外刺激患者CD8<sup>+</sup>T细胞高水平地表达IFN- $\gamma$ 和perforin等杀伤性功能因子,刺激CD4<sup>+</sup>T细胞表达TH1型细胞因子如IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-2,而TH2细胞因子表达量极低<sup>[21]</sup>。以上研究说明S蛋白刺激偏好TH1型和CD8<sup>+</sup>T细胞的特异性免疫应答。这种免疫应答正是机体清除病毒所需的反应类型。

虽然S蛋白能诱导CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞抗病毒免疫应答,但一些研究发现新冠肺炎患者血液中T淋巴细胞亚群显著减少,出现淋巴细胞减少症。Weiskopf等比较了新冠肺炎患者与健康人的PBMC,发现新冠患者的PBMC中CD3<sup>+</sup>T细胞比率显著降低,CD4/CD8的比例增加,说明杀伤性CD8<sup>+</sup>T细胞比率降低<sup>[21]</sup>。Xu等也报道了新冠肺

炎患者淋巴细胞减少症,与正常值相比,所有患者的T细胞水平显著下降,并且炎症标志物SAA、CRP、IL-6和IL-10的浓度显著增加。在28例死亡患者体内发现CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞以及B细胞比率明显低于中症和轻症患者,T淋巴细胞亚群的显著减少与院内死亡和疾病严重程度呈正相关<sup>[22]</sup>。但与此不同,也有研究显示,死于ARDS的新冠肺炎患者,肺部表现出广泛的淋巴细胞浸润<sup>[23]</sup>。Zheng等虽然没有观察到患者比健康者外周血中性粒细胞增加和淋巴细胞减少的现象,且IL-6、TNF等血液浓度也无区别,但是发现重症患者比轻症患者CD8<sup>+</sup>T细胞高表达免疫耗竭标志物TIGIT,非耗竭的CD8<sup>+</sup>T细胞在重症患者里显著减少,表达IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-2的多功能CD4<sup>+</sup>T细胞也显著减少<sup>[24]</sup>,这一结果提示重症患者CD8<sup>+</sup>T细胞逐步走向耗竭,且CD4<sup>+</sup>T细胞处于功能受损的状态。Diao等在10名新冠患者中也发现T细胞上耗竭标志物PD-1表达上升<sup>[25]</sup>,预示着机体对新冠病毒的细胞免疫应答能力大幅降低。淋巴细胞减少或T细胞耗竭现象可能正是新冠疫苗开发寻找的一个新的突破口,提示候选新冠疫苗不仅需要诱导中和抗体的能力,同时也需要高效率地激活细胞免疫水平。一旦被新冠病毒感染时,细胞免疫反应可大幅度增加,协同中和抗体一道克服新冠病毒对淋巴细胞的抑制,达到高效率的保护水平。

除此之外,2020年5月张政课题组联合多个团队在*Nature Medicine*上发表了利用单细胞测序对新冠肺炎患者组织原位的细胞免疫应答分析。该研究描绘了与新冠肺炎严重程度相关的肺泡灌洗液(BALF)免疫细胞特征。研究发现,中症和重症患者之间固有免疫应答和适应性免疫应答存在巨大差异。对适应性免疫细胞分析发现,中症患者淋巴细胞以高扩增能力的CD8<sup>+</sup>T细胞为主,超过50%的CD8<sup>+</sup>T细胞具有扩增属性,并且显示出比重症患者更高的扩增能力,这些高扩增能力的CD8<sup>+</sup>T细胞克隆优先表达组织驻留基因,如XCL1、CXCR6和ITGAE。而重症患者淋巴细胞以naive CD4<sup>+</sup>T细胞为主<sup>[26]</sup>。以上结果进一步提示了新冠疫苗需要加强CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞的应答水平,才能获得较理想的保护效力。

目前,各类新冠疫苗在实验动物上的免疫应答结果都展现了预防感染的潜力。除前文提到的秦川课题组发现新冠灭活疫苗诱导较强的体液免疫外,近期Inovio公司联合苏州艾棣维欣公司在*Nature*

Communications 上也发表了新冠 DNA 疫苗的最新研究成果。研究表明,在小鼠和豚鼠上编码 S 蛋白序列的 DNA 疫苗诱导 S 蛋白特异性 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞应答,同时产生中和抗体和封闭 ACE2 的保护性抗体<sup>[27]</sup>。2020 年 7 月 25 日,苏州艾棣维欣公司的新冠 DNA 疫苗获国家药监局批准在上海开展 I/II 期临床试验。Yu 等在 *Science* 上发表了 DNA 疫苗预防恒河猴感染的成果,研究者设计了编码不同序列的 DNA 疫苗,包括 S 蛋白全长序列、S1 蛋白序列和 RBD 序列,发现不同序列的 DNA 疫苗均能有效激活体液和细胞免疫应答,攻毒后 S 蛋白全长序列的 DNA 疫苗组显著减少肺部灌洗液和鼻腔粘膜中的病毒载量<sup>[28]</sup>。这些结果预示 DNA 疫苗技术在新冠疫苗开发中具有克服新冠病毒感染导致的淋巴细胞减少症的潜力。

## 2.2 疫苗免疫应答的持久性

对于疫苗免疫应答的持久性,目前的研究并不多,只能从 SARS 患者感染后建立的体液和细胞免疫应答水平来推断。

对抗体持久性而言,Wu 等人评估了 176 名 SARS 康复者的抗体,SARS 特异性抗体平均能维持 2 年,在第 3 年时显著降低<sup>[29]</sup>。一个长达 13 年的随访研究发现,康复者 SARS 特异性 IgG 在感染 12 年后仍可被检测到<sup>[30]</sup>。Liu 等研究 56 名 SARS 康复者产生抗体的动态变化情况和影响因素。在 SARS-CoV 感染后 4 个月,IgG 和中和抗体达到峰值;在 16 个月时,IgG 和中和抗体显著降低;到 2 年后,约 11.8% 的康复者检测不到 IgG。影响抗体动态水平的因素有多种,从统计上来说,性别和中和抗体滴度有关,男性抗体水平下降的速度显著快于女性( $P < 0.001$ )。糖皮质激素等免疫抑制类药物对抗体水平没有影响<sup>[31]</sup>。以上说明 SARS-CoV 自然感染产生的抗体能维持较长时间,康复者抗体的动态变化对疫苗研究具有重要参考意义。目前对于新冠病毒感染的血清学报道非常有限,新冠肺炎患者的 IgM 抗体在疾病开始后的第 9 天达到峰值,在疾病的第 2 周产生血清学转换,说明新冠病毒感染诱导产生抗体的初始状态与 SARS-CoV 感染类似,预示在抗体持久性上可能与 SARS 相似。

从细胞免疫记忆性的角度分析,在 SARS-CoV 感染后,SARS-CoV S、M 和 N 蛋白诱导的特异性 CD8<sup>+</sup> T 细胞的应答可长达 11 年,表明 T 细胞维持长期的免疫记忆<sup>[32]</sup>,然而记忆 B 细胞在外周血中维持的时间相对较短,一项对 23 名 SARS 康复者的回

顾性研究发现,SARS-CoV 感染 6 年后外周血中未检测到 SARS-CoV 特异性 IgG 记忆 B 细胞<sup>[32]</sup>。以上结果说明康复者 T 淋巴细胞免疫记忆可以持续相当长时间,意味着 T 淋巴细胞免疫记忆是疫苗起到长效保护的关键要素。然而,不同技术制备的新冠疫苗接种在诱导细胞免疫应答和记忆方面有较大的差别,所产生的免疫应答持续期的结论还需要未来的临床试验结果来揭示。

## 2.3 老年人群对疫苗的应答水平

目前,新冠肺炎引起的死亡多数是由多器官衰竭引起的,老年人和有基础疾病(例如高血压,心血管疾病和糖尿病)的人群是高危人群。老年人比年轻人在心脏和肺部更高表达新冠病毒的受体——ACE2,可能是导致老年人群重症比率高的原因之一<sup>[33]</sup>。然而老年人对疫苗的免疫反应能力一般也较差,如何增强老年人对于疫苗的应答水平也是疫苗研发面临的挑战。与年轻人相比,老年人免疫系统对疫苗反应比较迟钝,主要因为老年人随着年龄的增加免疫器官萎缩及先天免疫应答和适应性免疫功能逐步减弱,导致了免疫系统迟钝。在此状态下,病毒感染后的免疫系统更容易受损。老年人免疫系统对流感疫苗的应答率只有年轻人的 60%~70%。为了提高老年人群对疫苗的应答率,只有在疫苗中加入更强效果的免疫佐剂,例如在流感疫苗中加入 MF59 或 TLR4 激动剂 GLA-SE 作为佐剂<sup>[34]</sup>、在带状疱疹疫苗中加入 AS01B 佐剂,才大幅度提高了此类疫苗在老年人中的免疫效果<sup>[35]</sup>。因此,对于提高老年人对新冠疫苗的应答水平,可以通过加入新型佐剂刺激来克服与年龄有关的体液免疫和细胞免疫功能迟钝障碍。但应用创新佐剂也可能带来一些安全方面的问题,所以在临床设计和试验过程中,也要充分考虑到风险和获益比,使得最终上市的疫苗既可以有效地激活免疫应答和持续时间长的保护性免疫反应,同时也不会引起严重的不良反应。

## 3 小 结

在这个“万箭齐发”攻克新冠疫苗的时期,新冠疫苗的安全性和有效性成为疫苗成败的关键,鉴于前期对 SARS 和 MERS 疫苗研究结果对新冠疫苗研发具有重要的参考价值。结合目前在新冠肺炎患者体内对自然感染产生的体液和细胞免疫应答的数据分析,本综述观点认为,新冠疫苗的研发和临床评价仍然会面对较大的挑战。虽然目前对新冠肺炎仍

然还有很多不清楚的机制问题,但通过多学科的交叉研究,将有助于研发者逐步解决新冠疫苗研发中的难题,为开发出更安全、有效和成本更低的新新冠疫苗奠定基础。

### 参 考 文 献

- [1] Sanche S, Lin YT, Xu C, et al. High Contagiousness and Rapid Spread of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Emerging Infectious Diseases*, 2020, 26(7): 1470—1477.
- [2] Petersen E, Koopmans M, Go U, et al. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics. *The Lancet Infectious Diseases*, 2020, doi: 10.1016/S1473-3099(20)30484-30489.
- [3] Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Immunity*, 2020, 52(4): 583—589.
- [4] Martin JE, Louder MK, Holman LA, et al. A SARS DNA vaccine induces neutralizing antibody and cellular immune responses in healthy adults in a Phase I clinical trial. *Vaccine*, 2008, 26(50): 6338—6343.
- [5] Lin JT, Zhang JS, Su N, et al. Safety and immunogenicity from a phase I trial of inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine. *Antiviral Therapy*, 2007, 12(7): 1107—1113.
- [6] Koch T, Dahlke C, Fathi A, et al. Safety and immunogenicity of a modified vaccinia virus Ankara vector vaccine candidate for Middle East respiratory syndrome: an open-label, phase 1 trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 2020, 20(7): 827—838.
- [7] Folegatti PM, Bittaye M, Flaxman A, et al. Safety and immunogenicity of a candidate Middle East respiratory syndrome coronavirus viral-vectored vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, uncontrolled, phase 1 trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 2020, 20(7): 816—826.
- [8] Kapikian AZ, Mitchell RH, Chanock RM, et al. An epidemiologic study of altered clinical reactivity to respiratory syncytial (RS) virus infection in children previously vaccinated with an inactivated RS virus vaccine. *American Journal Epidemiology*, 1969, 89(4): 405—421.
- [9] Liu L, Wei Q, Lin Q, et al. Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight*, 2019, 4(4).
- [10] Peiris JS, Chu CM, Cheng VC, et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet*, 2003, 361(9371): 1767—1772.
- [11] Zhang L, Zhang F, Yu W, et al. Antibody responses against SARS coronavirus are correlated with disease outcome of infected individuals. *Journal of Medical Virology*, 2006, 78(1): 1—8.
- [12] Wang Q, Zhang L, Kuwahara K, et al. Immunodominant SARS Coronavirus Epitopes in Humans Elicited both Enhancing and Neutralizing Effects on Infection in Non-human Primates. *ACS Infectious Diseases*, 2016, 2(5): 361—376.
- [13] Chi X, Yan R, Zhang J, et al. A potent neutralizing human antibody reveals the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2 as a site of vulnerability. *bioRxiv*, 2020, doi:10.1101/2020.05.08.083964.
- [14] Grifoni A, Sidney J, Zhang Y, et al. A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2. *Cell Host and Microbe*, 2020, 27(4): 671—680.
- [15] Weingartl H, Czup M, Czup 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.
- [16] Tseng CT, 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.
- [17] Iwata-Yoshikawa N, Uda A, Suzuki T, et al. Effects of Toll-like receptor stimulation on eosinophilic infiltration in lungs of BALB/c mice immunized with UV-inactivated severe acute respiratory syndrome-related coronavirus vaccine. *Journal of Virology*, 2014, 88(15): 8597—8614.
- [18] Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*, 2020, 369(6499): 77—81.
- [19] Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell*, 2020, 181(7): 1489—1501.
- [20] Bao L, Deng W, Huang B, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature*, 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2312-y.
- [21] Weiskopf D, Schmitz KS, Raadsen MP, et al. Phenotype and kinetics of SARS-CoV-2-specific T cells in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome. *Science Immunology*, 2020, 5(48): eabd2071.
- [22] Xu B, Fan CY, Wang AL, et al. Suppressed T cell-mediated immunity in patients with COVID-19: A clinical retrospective study in Wuhan, China. *The Journal of Infection*, 2020, 81(1): e51—e60.
- [23] Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respiratory Medicine*, 2020, 8(4): 420—422.
- [24] Zheng HY, Zhang M, Yang CX, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cellular and Molecular Immunology*, 2020, 17(5): 541—543.

- [25] Diao B, Wang C, Tan Y, et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 827.
- [26] Liao M, Liu Y, Yuan J, et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nature Medicine*, 2020, 26(6): 842–844.
- [27] Smith TRF, Patel A, Ramos S, et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 2601.
- [28] Yu J, Tostanoski LH, Peter L, et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science*, 2020, doi: 10.1126/science.abc6284.
- [29] Wu LP, Wang NC, Chang YH, et al. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13(10): 1562–1564.
- [30] Guo C, Li B, Ma H, et al. Tocilizumab treatment in severe COVID-19 patients attenuates the inflammatory storm incited by monocyte centric immune interactions revealed by single-cell analysis. *bioRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.04.08.029769.
- [31] Liu W, Fontanet A, Zhang PH, et al. Two-year prospective study of the humoral immune response of patients with severe acute respiratory syndrome. *The Journal of Infectious Diseases*, 2006, 193(6): 792–795.
- [32] Tang F, Quan Y, Xin ZT, et al. Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study. *Journal of Immunology*, 2011, 186(12): 7264–7268.
- [33] Koff WC, Williams MA. Covid-19 and immunity in aging populations—a new research agenda. *The New England Journal of Medicine*, 2020, doi: 10.1056/NEJMp2006761.
- [34] Behzad H, Huckriede AL, Haynes L, et al. GLA-SE, a synthetic toll-like receptor 4 agonist, enhances T-cell responses to influenza vaccine in older adults. *The Journal of Infectious Diseases*, 2012, 205(3): 466–473.
- [35] 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.

## Prospects in Evaluating the Safety and Effectiveness of SARS-CoV-2 Vaccines in Humans

Wang Bin\*      Zhong Yiwei

*Key Laboratory of Medical Molecular Virology of the Ministry of Education and Ministry of Health, School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China*

**Abstract** SARS-CoV-2 was first detected in China in December 2019, and spread worldwide. Although the transmission of the SARS-COV-2 has been controlled in China, the number of infected cases continues increasing in many other countries. As of 26 July 2020, 15 581 009 individuals infected and 635 173 deaths have been reported according to WHO, without any effective therapeutic or prophylactic interventions discovered. Vaccine has always been considered as one of the most effective prophylactic interventions against such massive outbreaks, thus the development of vaccines against SARS-CoV-2 has been geared up worldwide. According to WHO, there are 18 vaccine candidates ongoing in phase I, 12 candidates in phase II clinical trials and 4 candidates in phase III clinical trials currently. Safety and efficacy evaluations of vaccines in humans have always been the key considerations, as well as the main challenges. In this review, we will focus on several key issues for evaluating the safety and efficacy of SARS-CoV-2 vaccines in clinical trials. In addition, based on the previous researches on SARS and MERS vaccines, as well as available clinical immunological characteristics in SARS-CoV-2 infected patients, we will also take a glimpse of the underlying obstacles when developing SARS-CoV-2 vaccines, and the possible solutions.

**Keywords** COVID-19; vaccine; immunopathology; immune persistence

(责任编辑 张强)

\* Corresponding Author, Email: bwang3@fudan.edu.cn