

· 新药述评与论坛 ·

疫苗技术的研究进展和分析

范红¹, 于振行¹, 苏月¹, 李少伟²

(1 中国生物技术发展中心, 北京 100039; 2 厦门大学, 厦门 361102)

[摘要] 接种疫苗是预防、控制甚至消灭传染病最为有效的方法。疫苗在发展过程中逐渐形成了一系列疫苗品种和疫苗研究技术。随着结构生物学、反向遗传学、生物信息学等学科和技术的快速发展,疫苗研发正逐步迈入新抗原发现及免疫原精准设计的崭新阶段。经过近几十年的发展,我国疫苗研究技术逐步提升,质量水平持续提高,研发品种更为丰富,与国外差距逐渐缩小,初步形成了基础研究技术库、应用转化和产业化的全链条体系。但与发达国家相比,我国在疫苗研发技术和疫苗新品种方面还存在一定的差距。为全面提升我国疫苗研究水平,今后要深耕疫苗基础研究,重点规划疫苗研发和产业化共性技术问题攻关,合理布局疫苗重点研发任务,逐步实现疫苗强国的宏伟目标。

[关键词] 疫苗技术; 传统疫苗; 新型疫苗

[中图分类号] R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2019)14-1665-05

General analysis of the advances in vaccine technology

FAN Hong¹, YU Zhen-xing¹, SU Yue¹, LI Shao-wei²

(1 China National Center for Biotechnology Development, Beijing 100039, China;

2 Xiamen University, Xiamen 361102, China)

[Abstract] Vaccination is the most effective way to prevent, control and even eliminate infectious diseases. In the history of vaccine development, a series of vaccines and vaccine techniques have been well-established. Along with the progress of structural biology, reverse genetics and bioinformatics, vaccine technology comes to a new stage of new antigen discovery and accurate design of immunogens. In China, the vaccine technologies and vaccine manufacturing prosper with the emergence of some innovative vaccines and powerful vaccine supply domestically. A full pipeline of vaccine development, including the basic technique, the transformation of application and industrialization, have been preliminarily formed. However, there is still a considerable gap between China and developed countries. To address the underlining gap, it is necessary to bolster the basic research of vaccine field, decipher the common concerns of technical aspect and industrialization practice, and thus figure out a feasible way to enhance the vaccine research targeting key issues of public health.

[Key words] vaccine technology; traditional vaccine; novel vaccine

疫苗泛指一切通过注射或黏膜途径接种后,可以诱导机体产生针对特定致病原的特异性抗体和/或细胞免疫,从而使机体获得保护或消灭该致病原能力的生物制品,包括蛋白质、多糖、核酸、活载体或感染因子等。接种疫苗是保护易感人群,预防和控

制传染病的最经济、最有效的手段。疫苗的使用使人类得以在全球范围内消灭了传染性极强的天花,控制了白喉、百日咳、脊髓灰质炎、麻疹等,显著降低了传染病的发病率和死亡率。

近年来,随着结构生物学、反向遗传学、生物信息学及免疫组/抗体组学技术的快速发展,疫苗研究正逐步从传统疫苗研究发展到免疫原精准设计的新阶段。本文就目前的疫苗技术研究进展、我国疫苗技术研究现状和问题以及未来疫苗发展趋势作简要综述。

[基金项目] 《国家生物技术发展战略纲要》编制研究资助项目

[作者简介] 范红,女,工程师,主要从事生物医药领域科技管理。

联系电话:(010)88225165 E-mail: fanhong@cncbd.org.cn。

1 疫苗技术研究进展

1.1 减毒、灭活疫苗技术

1.1.1 减毒活疫苗技术 减毒活疫苗是将病原体经过减毒后,仍保留其抗原性的疫苗类型。常用的减毒活疫苗是由经人工诱变或从自然界筛选出的毒力高度降低或无毒的活的病原微生物制成的疫苗,可模拟自然发生的隐性感染,诱发全面、稳定、持久的体液、细胞和黏膜免疫应答。随着生物技术的发展,目前已广泛采用分子生物学技术,敲除与毒力或毒力相关基因片段,使病原微生物毒力降低或丧失,制备无回复突变或潜在风险的新型减毒活疫苗。

虽然已有较多的减毒活疫苗上市,但仍有一些疾病无相应的疫苗,如绿脓杆菌引起的疾病、变异结核杆菌引起的结核病、变异霍乱弧菌引起的霍乱等。近年来,一些新型减毒活疫苗有望解决上述问题:如基因改造的绿脓杆菌免疫小鼠后可产生针对鞭毛蛋白的特异性抗体,保护小鼠免受绿脓杆菌侵袭;重组过量表达的结核分枝杆菌抗原 Ag85b 可提高预防结核病的效果,能预防变异结核杆菌引起的结核病,目前该新型重组卡介苗已进入 I 期临床试验。

在预防和治疗肿瘤方面,减毒活疫苗也具有一定的应用前景^[1],如 Sarotra 等发现活的、减毒或基因修饰的专性或兼性厌氧细菌具有抑制癌细胞生长功能;融合人乳头状瘤病毒 E7 蛋白基因的李斯特单核细胞增生菌具有治疗宫颈癌的潜能,减毒的李斯特菌(ANZ-100)对宫颈癌、间皮瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌也具有潜在的疗效^[2-3]。

1.1.2 灭活疫苗技术 灭活疫苗是先对病毒或细菌进行培养,然后用高温处理或化学灭活剂将其灭活。灭活疫苗相对于减毒活疫苗和基因工程疫苗,其制备工艺相对统一简单。在面对新发传染病时,灭活疫苗具有研发耗时短、无感染毒力、使用安全等优点。作为传统疫苗,灭活疫苗已经在多种疾病的预防上发挥了作用。2015 年,我国研制的全球首个 Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗(Vero 细胞)获批,临床数据显示该疫苗的抗体阳转率高于 95%,打破了发达国家对脊髓灰质炎灭活疫苗生产技术的垄断,对我国乃至全球、特别是发展中国家消灭脊髓灰质炎都会产生积极影响。此外,近年来灭活疫苗技术在 SARS、手足口病、登革热等重大和新发传染病的疫苗研发中扮演了重要角色^[4-5],如我国研制的全球首个肠道病毒 71 型灭活疫苗(Vero 细胞)已上市,临床试验结果显示疫苗对手足口病的保护率达

80% 以上;在灭活疫苗 WHO 预认证方面,我国研制的甲肝灭活疫苗已通过了 WHO 预认证,为全球第 2 个通过 WHO 预认证的甲肝疫苗产品。

1.2 亚单位疫苗技术

亚单位疫苗是通过化学分解或有控制性的蛋白质水解方法,提取细菌、病毒的特殊毒素、多糖或蛋白质组分,筛选出的具有免疫活性的片段制成的疫苗。亚单位疫苗仅有几种主要抗原,避免引入许多无关抗原,从而减少疫苗的不良反应和疫苗引起的相关疾病。目前我国使用的亚单位疫苗有伤寒 Vi 多糖疫苗、重组 B 亚单位/菌体霍乱疫苗、吸附白喉疫苗、吸附破伤风疫苗、A 群 + C 群脑膜炎球菌多糖疫苗和 ACYW135 群脑膜炎多糖疫苗等^[6]。在流感疫苗研发方面,国产四价流感病毒裂解疫苗已提交上市申请;而经过提纯 HA 和 NA 蛋白研制的流感病毒亚单位疫苗,相比流感病毒裂解疫苗毒副作用更小、更安全。

1.3 反向遗传学疫苗技术

反向遗传学疫苗技术是基于病原微生物全基因组开展关键保护性抗原或毒力抗原筛选,进而通过高效抗原表达或反向遗传学等技术开展新型疫苗研发的技术。通过反向遗传学疫苗技术精准改造病原体基因组获得的新型减毒活疫苗,相对于传统减毒活疫苗,遗传背景与减毒机制清楚,更加安全有效。目前反向遗传学疫苗技术不但在多种细菌性疾病疫苗的研制中已成功应用,而且在多种病毒性疾病的疫苗研制中也显示出突出的优势和巨大的应用潜力^[7]。在 2009 甲型 H1N1 流感病毒、登革热病毒、口蹄疫病毒、禽流感病毒、水痘-带状疱疹病毒等多种病毒的疫苗研究中取得重要进展。其中 2009 甲型 H1N1 减毒活疫苗已上市并广泛接种,登革热病毒遗传改造减毒活疫苗已进入临床试验阶段,我国研发的新型水痘减毒活疫苗(VZV-7D)已进入 I 期临床试验^[8-10]。

1.4 多糖结合疫苗技术

多糖结合疫苗(以蛋白为载体的细菌多糖类)是将多糖共价结合在蛋白载体上所制备成的多糖-蛋白结合疫苗,用于提高细菌多糖抗原的免疫原性。目前使用的多糖结合疫苗有 b 型流感嗜血杆菌结合疫苗、A 群 + C 群脑膜炎球菌多糖结合疫苗和肺炎球菌多糖结合疫苗等。现阶段国内已上市的辉瑞公司的 13 价肺炎球菌多糖结合疫苗用于预防由 13 种肺炎球菌血清型(1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C,

19A、19F 和 23F) 引起的婴幼儿相关侵袭性疾病。我国云南沃森公司研发的具有自主知识产权的 13 价肺炎球菌多糖结合疫苗已进入优先评审阶段^[11]。

多糖结合疫苗与多糖疫苗相比,不仅能刺激机体产生非 T 细胞依赖免疫反应,还能引起 T 细胞依赖免疫反应,产生长久的免疫效果。目前,糖蛋白的形成主要有 2 种方法:一种是化学交联法,另一种是生物合成法。化学交联是指多糖通过化学方法共价连接到载体蛋白。目前已应用于临床的化学交联法生产的多糖结合疫苗包括针对 b 型流感嗜血杆菌(Hib)、肺炎球菌及脑膜炎奈瑟菌的多糖结合疫苗。目前,第一个基于生物合成法的多糖结合疫苗是痢疾志贺菌 1 型结合疫苗,由瑞士联邦生物技术公司所属 GlycoVaxyn AG 公司生产,以铜绿假单胞菌的外毒素 A 作为载体蛋白,现已完成 I 期临床试验。

1.5 病毒样颗粒疫苗技术

重组病毒样颗粒是病毒衣壳蛋白外源表达的重要形式,形态结构与天然病毒高度相似,具有相当的免疫原性和更好的安全性,是一种理想的疫苗形式。它还可作为载体蛋白携带外源抗原或通过化学偶联接入非蛋白抗原,是疫苗设计的重要构件。与传统的减毒或灭活疫苗相比,高度纯化的病毒样颗粒疫苗具有组分单一、无病毒核酸、良好的安全性和质量可控等显著优点,但是研究难度大。虽然有数十种病毒样颗粒在实验室中成功制备,但是极少数能够在疫苗应用中取得突破。获得合适的放大制备工艺、组装工艺和制剂工艺组合是阻碍其发展的重要原因。目前已上市的乙型肝炎疫苗、人乳头瘤病毒(HPV)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^[12-15]。此外,针对诺如病毒、流感病毒、人类免疫缺陷病毒等病原体的病毒样颗粒疫苗已进入不同阶段的临床试验。

1.6 重组载体疫苗技术

重组载体疫苗是用基因工程技术将病毒或细菌构建成一个载体(或称外源基因携带者),把外源基因(包括重组多肽、肽链抗原位点等)插入其中使之表达的活疫苗,可诱导产生广泛的免疫应答。病毒活载体疫苗兼有常规活疫苗和灭活疫苗的优点,它具有活疫苗的免疫效力高、成本低及灭活疫苗的安全性好等优点,是当今与未来疫苗研制与开发的主要方向之一。国外已研制出以腺病毒为载体的乙肝疫苗、以疱疹病毒为载体的新城疫疫苗等,我国军事科学院军事医学研究院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)”已获得新药注册^[16]。目前用于制备新型重组载体疫苗的载体主要包括重组细菌、重组病毒、DNA 载体、RNA 载体,此外还有树突状细胞、T 细胞以及多肽等载体。

1.7 核酸疫苗技术

核酸疫苗分为 DNA 疫苗和 RNA 疫苗 2 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。

与传统的灭活疫苗、亚单位疫苗和基因工程疫苗相比,核酸疫苗具有如下优点:免疫保护力强、制备简单、可产生持久的免疫应答、贮存与运输方便、可用于防治肿瘤,但是也存在一些问题:如可能诱导自身免疫反应,导致机体产生免疫耐受,外源 DNA 具有整合到宿主基因组风险。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。目前,美国 FDA 已批准一些 DNA 疫苗进行人体临床试验。

相比传统疫苗,近年来兴起的 RNA 疫苗具有与活病毒类似的免疫应答机制、简单快速的化学合成制备方法、良好的热稳定性、无整合和干扰基因组转录的风险等优势。目前用于制造疫苗的有 2 种 RNA:非复制型 mRNA 和自我扩增型 mRNA。相比传统的非复制型 mRNA 疫苗,自我扩增型 mRNA 保留了病毒复制相关序列,使其可以在细胞内复制,提高蛋白表达量。目前已有文献报道脂质纳米粒载体和阳离子乳液 2 个 mRNA 递送技术用于自我扩增型 mRNA 的传递^[17-18],这种基于高效递送系统的自我扩增型 mRNA 疫苗在治疗性疫苗领域具有巨大优势。

1.8 联合疫苗技术

联合疫苗是指将 2 种或 2 种以上不同的生物体或提纯抗原,与佐剂、防腐剂、稳定剂等联合配制而成。联合疫苗混合配制时充分考虑各组间相容性、佐剂、防腐剂和活性成分对联合疫苗的影响,此外还需要评价联合疫苗的免疫原性、安全性、稳定性、有效期、各组分免疫程序的合理性以及不良反应等诸多因素。目前研究较为深入的联合疫苗有以白喉、破伤风、非细胞性百日咳混合疫苗(DTaP)为基础的联合疫苗、以麻疹、腮腺炎、风疹混合疫苗(MMR)为基础的联合疫苗、以 B 型肝炎疫苗

(HepB)为基础的联合疫苗等。联合疫苗具有接种次数少、预防疾病种类多、疫苗接种率高和不良反应少等优点。但是,联合疫苗中各组分相互作用、减毒活疫苗相互作用而产生毒力返祖、抗原间竞争或抑制表达等问题仍未被认识透彻。在联合疫苗的研发和使用过程中,应持谨慎态度,从多方面、多角度严控疫苗质量,保障预防接种安全。

1.9 多肽疫苗技术

通过确定天然抗原结构寻找抗原决定簇氨基酸序列,合成同时具有抗原性和免疫原性的多肽,即为多肽疫苗。多肽疫苗具有诱导对蛋白抗原的结构元素(在完整的抗原分子中表现出弱免疫原性的结构)免疫应答的能力、生产技术安全、标准化程度高和无毒副反应成分(脂多糖、毒素)等优势,多肽疫苗设计中可将不同抗原的多肽或复杂的非连续多肽构建至一个载体中。目前已有数种多肽疫苗进入各期临床研究阶段,包括抗病毒多肽疫苗、抗癌多肽疫苗、抗疟疾多肽疫苗和抗生育多肽疫苗等。

1.10 疫苗佐剂技术

佐剂是指先于抗原或与抗原混合同时注入动物体内,能够改变或增强机体对该抗原的免疫应答,发挥辅助作用的一类物质。除了公认的应用最为广泛的人用铝佐剂外,已有数种新型复合佐剂被应用于临床,如诺华公司研发的 MF59 和葛兰素史克公司(GSK)研发的佐剂系统——AS01B、AS03、AS04 等。AS01B 佐剂具有强力而长期的免疫反应,可以克服衰老过程中伴随的免疫力下降;AS03 佐剂为水包油型乳剂,含有鲨烯、吐温 80 和生育酚;AS04 是在铝佐剂基础上添加有单磷酸酰脂质 A(3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A, MPL)的复合佐剂,可明显提高中和抗体滴度和延长免疫有效保护期。目前该佐剂已在 GSK 公司的宫颈癌预防性疫苗(HPV 16/18 双价苗)中得以应用。

2 我国疫苗技术研究现状、差距和发展对策

2.1 我国疫苗技术研究现状

中国是全球最大的人用疫苗生产国,除一些新型疫苗、多联多价疫苗外,大部分疫苗品种可以实现自产自足。我国疫苗生产技术已较为成熟,疫苗质量水平正持续提升,已初步形成了以研究院所和高校为主的基础研究体系和以企业、疫苗研究中心为主的应用研究和产业化开发体系,一大批处于临床前研究或临床研究中的疫苗也取得了突破性进展。

在疫苗技术研究方面,目前我国已初步形成比

较完善的技术研发体系,其中病毒性灭活疫苗方面已经进入了第一梯队,与全球主要发达国家疫苗产业并驾齐驱。在多种关键技术方面也取得了较大的进步,主要包括:① 哺乳动物细胞培养技术得到显著改善。② 细菌多糖蛋白结合疫苗工艺得到突破。③ 基因工程蛋白疫苗表达体系基本完备。④ 联合疫苗研发技术基本成熟。⑤ 疫苗品种逐步更新换代,我国疫苗的质量逐步得到提高。⑥ 疫苗质量控制能力提升,“十二五”时期,我国疫苗监管体系通过了 WHO 评估。⑦ 治疗性疫苗局部领先,我国在乙肝治疗性疫苗等传染病的治疗性疫苗研究上处于领先地位,针对肿瘤、自身免疫病的治疗性疫苗研发上也取得了一定进展。

在疫苗品种方面,截至 2017 年底,全球共批准预防性疫苗 77 种,用于预防 41 种疾病。我国可生产 64 种疫苗,预防 35 种疾病。同时国家药品监督管理局药品审评中心的公开数据显示,我国已申请临床试验或处于临床试验阶段的疫苗共 248 个,处于临床试验阶段的代表性疫苗品种主要有肺炎球菌多糖结合苗、轮状病毒疫苗、流感疫苗、HPV 疫苗(二、四、六、九价)、Hib 疫苗、流脑疫苗(多糖苗、结合苗)、百白破及其联苗、甲肝灭活疫苗、新型乙肝疫苗、手足口病联合疫苗(EV71 + CA16 型)、麻腮风水痘联苗、带状疱疹减毒活疫苗、重组结核疫苗、重组金黄色葡萄球菌疫苗等。随着这些疫苗的陆续投入市场,我国疫苗品种也将更加丰富。

2.2 我国疫苗技术研究方面与国外存在的差距

我国疫苗研发在技术上与国外也有一定差距,主要包括:疫苗研发和产业化发展的基础性和关键共性技术研究积累不足,疫苗新靶标/靶点发现技术、免疫原设计技术、佐剂及递送系统、质量控制技术、体外评价技术、临床效果评价技术、动物模型等支撑疫苗技术创新的技术体系需要极大提高;哺乳动物细胞培养工艺规模还较低;细胞基质较为单一;佐剂单一;真核表达系统不完善;新的关键技术仍处于落后状态,反向遗传学疫苗技术和抗原筛选技术还没有形成技术体系和平台,病毒载体疫苗的构建、制备和质量控制体系还不完善;我国还没有开展类似于防治潜伏感染类传染病复发疫苗的研究,以及疫苗发挥控制复发作用的机制、疾病复发机制以及影响因素研究等。

2.3 提升我国疫苗研究技术水平的发展对策

首先,要夯实基础性研究,加强技术创新体系建

设,实现在疫苗技术创新上的并跑甚至领跑。目前疫苗研究已逐步进入到免疫原精准设计的阶段,因此当前疫苗研究需要运用交叉学科技术进行靶标/靶点的预测和再设计,包括开展分子水平的流行病学调查、病原分子与免疫系统的作用机制研究、疫苗免疫及调节的作用机制研究,实现各种尚未攻克的传染病、新发突发传染病以及恶性肿瘤的新抗原的精准预测。另外,需加强免疫低应答或无应答的过程和作用机制、多价多联疫苗中的载体抑制效应的研究。

要重点研究针对疫苗研发和产业化发展的关键共性技术问题,推动生物医学科学的跨越式发展。

其次,要合理布局疫苗研发重点任务。巩固现有基础的同时,要充分利用我国在近10年内已经基本建成的疫苗研发技术体系,研制创新型疫苗大品种,推出联合疫苗新产品以及我国急需的HPV疫苗、多价手足口病疫苗、多糖结合疫苗等品种,夯实我国的疫苗研发能力;还要瞄准国际研发趋势,重点强化肿瘤治疗性疫苗技术平台,打下肿瘤治疗性疫苗产业化的重要基础;更新一批计划免疫疫苗品种,提高其安全性和有效性;开展疫苗上市后再评价临床研究,规范疫苗的免疫程序,为疫苗的优化改造提供技术支持;完善疫苗产品的质量控制技术,开展疫苗质量控制与上市后监测,保障疫苗安全使用。

3 总结与展望

近年来,随着疫苗研究的不断深入和知识经验的积累以及新型生物技术不断涌现,科研人员逐渐向传统疫苗技术无法克服的疫苗难题发起挑战,包括以艾滋病、疟疾、结核、高变异流感、登革热等为代表的传染病和以肿瘤、自身免疫性疾病、阿尔茨海默病、慢性呼吸道疾病等为代表的慢性疾病等。因此,为了解决这些世界范围内的重大疫苗难题,在今后疫苗研发过程中,需要开展相应的免疫学机理和机制研究,加强基于结构的疫苗免疫原设计、基于抗体组分析的免疫反应分析、基于单细胞分析的免疫应答分析、病原体-宿主相互作用免疫规律分析和基于免疫应答机制的免疫原性设计等前沿技术的攻关。对我国而言,需要强化高校、科研院所和企业之间的产学研协同创新,进而推动新型疫苗的临床前研究或临床研究的候选疫苗产业化,并结合当下国内外新形势,优化创新环境、长远谋划、合理布局,力争创新疫苗产品早日上市,保障人民健康和国家安全,逐渐实现从疫苗大国走向疫苗强国的宏伟目标。

[参 考 文 献]

- [1] 李征,刘晔,李春阳. 减毒活疫苗的应用及其研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2018, 31(2): 205-209.
- [2] PATYAR S, JOSHI R, BYRAV DP, et al. Bacteria in cancer therapy: a novel experimental strategy[J]. *J Biomed Sci*, 2010, 17(1): 21.
- [3] LE DT, BROCKSTEDT DG, NIR-PAZ R, et al. A live-attenuated *Listeria* vaccine (ANZ-100) and a live-attenuated *Listeria* vaccine expressing mesothelin (CRS-207) for advanced cancers: phase I studies of safety and immune induction[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(3): 858-868.
- [4] ZHU FC, MENG FY, LI JX, et al. Efficacy, safety, and immunology of an inactivated alum-adjuncted Enterovirus 71 vaccine in children in China: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2013, 381(9882): 2024-2032.
- [5] QIN E, SHI H, TANG L, et al. Immunogenicity and protective efficacy in monkeys of purified inactivated Vero-cell SARS vaccine[J]. *Vaccine*, 2006, 24(7): 1028-1034.
- [6] AL-MAZROU Y, KHALIL M, BORROW R, et al. Serologic responses to ACYW135 polysaccharide meningococcal vaccine in Saudi children under 5 years of age[J]. *Infect Immun*, 2005, 73(5): 2932-2939.
- [7] 宋佳林,张蕾. 反向疫苗学的及其应用研究新进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2015, 10(9): 845-847, 851.
- [8] ROBERTSON JS, NICOLSON C, HARVEY R, et al. The development of vaccine viruses against pandemic A(H1N1) influenza[J]. *Vaccine*, 2011, 29(9): 1836-1843.
- [9] WHITEHEAD SS, BLANEY JE, DURBIN AP, et al. Prospects for a dengue virus vaccine[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2007, 5(7): 518-528.
- [10] XIANG ZS, HE YQ. Genome-wide prediction of vaccine targets for human herpes simplex viruses using Vaxign reverse vaccinology[J]. *Bmc Bioinformatics*, 2013, 14(Suppl 4): S2.
- [11] CHEN JJ, YUAN L, HUANG Z, et al. Safety and immunogenicity of a new 13-valent pneumococcal conjugate vaccine versus a licensed 7-valent pneumococcal conjugate vaccine: a study protocol of a randomised non-inferiority trial in China[J]. *BMJ Open*, 2016, 6(10): e012488.
- [12] PAN HR, LI ZH, WANG J, et al. Bacterially expressed human Papillomavirus type 6 and 11 bivalent vaccine: Characterization, antigenicity and immunogenicity[J]. *Vaccine*, 2017, 35(24): 3222-3231.
- [13] ZHAO QJ, LI SW, YU H, et al. Virus-like particle-based human vaccines: quality assessment based on structural and functional properties[J]. *Trends Biotechnol*, 2013, 31(11): 654-663.
- [14] 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[J]. *Vaccine*, 2015, 33(32): 3940-3946.
- [15] 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[J]. *Lancet*, 2010, 376(9744): 895-902.
- [16] 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 [J]. *Lancet*, 2015, 385(9984): 2272-2279.
- [17] BRAZZOLI M, MAGINI D, BONCI A, et al. Induction of broad-based immunity and protective efficacy by self-amplifying mRNA vaccines encoding influenza virus hemagglutinin[J]. *J Virol*, 2016, 90(1): 332-344.
- [18] GEALL AJ, VERMA A, OTTEN GR, et al. Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(36): 14604-14609.

编辑: 杨青/接受日期: 2019-04-29

