

mRNA 疫苗研究进展及其在传染病防控中的应用

潘浩

深圳近邻生物科技有限公司 广东深圳

【摘要】疫苗的出现已经超过两个世纪，包括灭活疫苗、减毒活疫苗、亚单位疫苗、病毒载体疫苗、核酸疫苗等已彻底消灭或控制了 30 多种烈性传播疾病。随着 2020 年新冠肺炎的爆发，mRNA 疫苗作为一种新的技术，在临床上得到了广泛应用，该方法具有安全、免疫活性和低成本的优点，一年之内从设计到临床使用，有效率 95%，是一种有效的抗新冠病毒药物。本文对 mRNA 疫苗的分类、免疫反应机制、改进措施以及在传染病控制方面的应用进行了综述。

【关键词】mRNA；疫苗；传染病

Progress on mRNA vaccine and its application in infectious disease prevention and control

Hao Pan

Shenzhen Nearby neighbor Biotechnology Co., LTD., Shenzhen, Guangdong

【Abstract】The emergence of vaccines has been more than two centuries, including inactivated vaccines, live attenuated vaccines, subunit vaccines, viral vector vaccines, nucleic acid vaccines and other more than 30 sexually transmitted diseases that have been completely eliminated or controlled. With the outbreak of COVID-19 in 2020, mRNA vaccine has been widely used clinically as a new technology. This method has the advantages of safety, immune activity and low cost. From design to clinical use within one year, it is an effective anti-novel coronavirus drug. This review reviews the classification of mRNA vaccines, the mechanisms of immune response, improvement measures, and applications in infectious disease control.

【Keywords】mRNA; vaccine; infectious disease

引言：第一个疫苗是英国的医生，爱德华詹纳在 1796 年给男孩注射了牛痘，并成功地防止了天花。巴斯德在 19 世纪中期，通过物理、化学和微生物等方法，对病原菌进行灭活和致弱，在意义上创造了一种新的瘟疫。从那以后，人类就有了对抗传染病的能力，全球三十多种人畜传染性疾病都因为疫苗的普及而得到了根治。

mRNA 疫苗是一种新型核酸疫苗，1989 年，MALONE 等对 mRNA 进行了阳离子化修饰，使其在不同的细胞株中得到了成功的表达。在 1990 年，WOLFF 等把包含目标基因的 mRNA 载体注射到小鼠的骨骼肌肉中，这是第一次证实了 mRNA 疫苗可以长期在人体中进行大规模的表达。近 30 年来，研究者们从载体、核酸链稳定性、抗原表达效、降低过敏反应率等方面进行了改进，克服了许多问题。

目前，mRNA 疫苗已经具备了许多优点，例如：高效率的抗原表达，不需要深入细胞内进行基因转换，比 DNA 疫苗快了好几倍；安全性高，不含任何病原体，不需使用任何抗生素，可改善其生物学安全，且不会与宿主结合；具有很高的免疫原性，既能激活体液和细胞，又能有效抵抗各种病原体；具有很好的编译性，能够根据需要进行抗原编辑，达到交叉防护、鉴别诊断等功能^[1]。

1 mRNA 疫苗分类

1.1 种传统的 mRNA 疫苗

其结构与真核细胞 mRNA 基本相同，5' 盖子结构（5' Capm7Gp3N）、5' 非编码区（UTR）、3' UTR、poly A 尾部。通过将目标抗原基因插入 GOI 中，可以实现传统 mRNA 疫苗的构建，该疫苗分子量很小（2~10 kb），容易被 RNA 酶降解，因此

要进行大剂量的免疫保护。体内试验结果显示,通过肌肉注射 H1N1 型 HA 的 mRNA 疫苗,6 h 后, BALB/c 小鼠体内出现 HA 蛋白,24 h 后达到最高水平,持续 6 d。在 80 毫克的剂量下,能产生足以对抗病毒的中和抗体。采用递呈体系,能有效地增

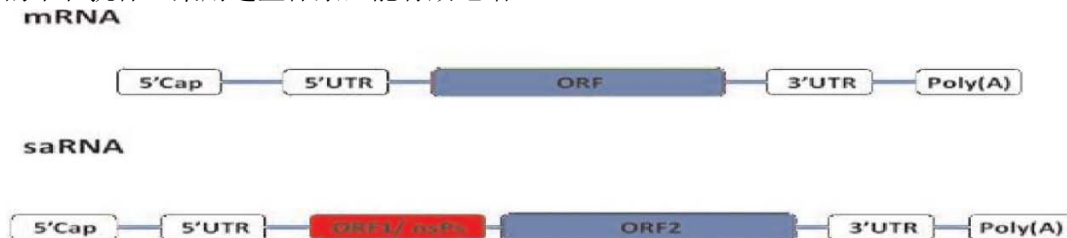


图1 mRNA 结构

1.2 自扩增型 mRNA 疫苗

自扩增 mRNA 疫苗是一种以甲病毒为基础的 SAM 或 Sa- RNA 疫苗,可以在细胞中自我复制和表达。除了包含 5' Cap、5' UTR、3' UTR、Poly A 尾之外,还包含 2 个 ORF、亚基因启动子(26S)。ORF1 在 5' UTR 附近,4 个非结构蛋白(NSP1-NSP4)被编码,通过对 mRNA 疫苗进行自行复式扩增。NSP1 具有 7-甲基转移酶(MTase)和鸟苷酰基转移酶活性,能为 mRNA 添加 5' Cap^[2]。

同时,还可以将 NSP3 固定在细胞膜上,形成复合体。NSP2 可以通过剪接 ORF1 编码的多肽,使其具有 5' → 3' 解螺旋酶的能力,并能促进 RNA 的合成。NSP4 为 RNA 依赖的核糖核酸聚合酶,在 ORF2 中,目的抗原基因编码。在 ORF1 与 ORF2 之间存在亚基因启动子 26 S,通过活化 ORF2 亚基因序列,将其转变成蛋白,从而增加了抗原表达。

与传统的 mRNA 疫苗比较,结果表明,本品可显著提高抗体水平,延长抗体的作用时间,延长免疫反应时间。类似 mRNA 编码 H1N1 HA 蛋白,1.25 微克 SAM 就能达到 80 微克的常规 mRNA 疫苗的作用。将 SAM 包裹在递呈系统中,可以减少 10 倍的剂量,也就是 0.1 微克的剂量可以诱发小鼠的免疫防御。

2 mRNA 疫苗的免疫机理

通过注射 mRNA 疫苗,可以通过抗原传递到细胞中,启动自身的免疫反应,从而激活机体的体液和细胞的免疫。

2.1 mRNA 疫苗诱导先天免疫应答

mRNA 疫苗的 DNA 链能足够被模型型识别,

加 RNA 的传递效率,并能抑制 RNA 酶对疫苗的破坏,从而使常规 mRNA 疫苗的表达效率得到显著改善,5 μ g 的 mRNA 就可以得到更高的抗原表达。经皮下接种,可使抗原在 10 天内得到表达。

例如 Toll 样受体、RIG- I 样受体等,启动了自身的免疫反应。TLR 是 TLR3,TLR7, TLR8。在被细胞吞入后,菌株的核酸链可以活化 TLR7 和 TLR8。

TLR8 能被单链 mRNA 激活,TLR7 能被单链、双链的 mRNA 激活,TLR3 能在细胞浆中鉴定 mRNA。当 TLR 被启动时,通过连接蛋白向下的信号通路传递信号,从而启动先天的免疫反应。除了 TLR 以外,RIG- I、MD5、PKR、OAS 等也可以识别出 mRNA 的疫苗分子,并启动自身的免疫反应。

2.2 mRNA 疫苗诱导适应性免疫应答

在 APC 中, mRNA 疫苗的抗原蛋白,通过溶酶体的作用,产生一种由 MHC 或 CD4+、CD8+ T 细胞传递的抗原片段。天生的免疫应答能激发身体的适应能力,尤其是细胞体的免疫反应中起着十分重要的作用。亚单元疫苗和灭活疫苗的活化作用非常微弱,其原因在于其不能被模型类型的识别受体所识别,从而激发宿主自身的免疫反应。

先天免疫应答可以通过以下几种方式来刺激人体的免疫反应:一是先天的免疫应答会刺激炎症因子的生成,从而吸引更多的 APC 和杀伤性细胞核,确保了接种的有效性,保障了接种的覆盖面;其亚促炎症因子的释放也能引起 APC 的活化,活化 APC 是确保 APC 能正确地诱导机体的适应性响应;最后,通过先天免疫通路活化可以诱导 IFN- I 的产生,IFN- I 可以增强 APC 活性^[3],并使 CD8+ T 淋巴细胞增殖,从而提高其毒性,但 IFN- I 的过量会抑制抗原的表达,从而导致 CD8+ T 细胞的衰竭。

3 mRNA 疫苗的改进措施

3.1 对 mRNA 疫苗 5'端进行加帽修饰

5' Cap 是真核细胞 mRNA 5' 末端的一种修饰, 它能有效地改善其基因转录的转换速度, 并增强其稳定性。首先, 5' Cap 是真核细胞转录开始因子 4A (eIF4A) 与 mRNA 的结合位点, 5' Cap 结构在真核细胞 mRNA 的转译中起重要作用。其次, 5' Cap 还能抑制 5' → 3' RNA 抑制酶对 mRNA 的酶切反应, 从而抑制了 mRNA 的降解, 提高了抗原表达^[4]。所以, mRNA 疫苗必须经过 5' Cap 修饰。

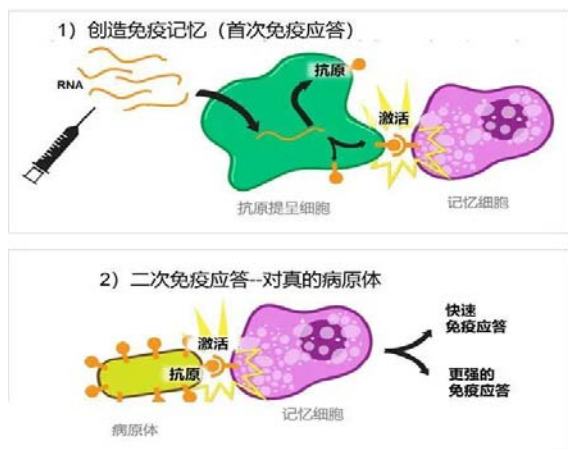


图 2 mRNA 预防疾病的原理

3.2 非编码区改造

在基因编码区中, mRNA 的非编码区处于上游和下游, 它能调节 mRNA 的半衰期和转换效率, 因此必须对其非编码区进行优化。(1) 5' UTR 的优化, 在 5' UTR 中, 要增加特定的序列, 以改善序列的转换效率。举例来说, Kozak 序列可以将 Kozak 序列添加到 5' UTR (GCCACCAUGG), 结果表明, 该方法可以有效地检测到基因表达的起始位置, 提高基因的翻译速度, 同时也能提高病毒的转译量。此外, 由于 5' UTR 的二次结构会对翻译的效率产生一定的影响, 所以将 5' UTR 的翻译结构缩短, 使翻译更加宽松, 有利于提高翻译的效率。

(2) 3' UTR 的优化, 3' UTR 是 microRNA 和 RNA 结合蛋白 (RBP) 的重要调节区域, 它可以对 mRNA 的稳定性、定位和译文的效力会受到一些影响, 例如: 用人 β -球蛋白 5'、3' UTR 替代非编码区, 可以明显改善 mRNA 的稳定性和翻译效率; 3' UTR 中的 AU 碱基能有效地调节其降解, 3' UTR 中的 AU 碱基能提高其稳定性。所以, 对 3' UTR 的改造也是非常有意义的。

3.3 假尿嘧啶修饰与 mRNA 疫苗纯化

尿嘧啶是影响 TLR 活化的关键因素, 但是, TLR 的过度激活会引起 IFN- I 的大量产生, 从而抑制抗原蛋白的表达, 从而诱发过敏性反应。采用假尿嘧啶替代 mRNA 疫苗, 能减少对病毒的过分刺激, 提高抗体表达的 10 倍, 并能减少不良反应, 提高疫苗的免疫力。另外, 在转录的过程中, 还会生成一种可以促进 IFN- I 过度生产的副产物, 通过液相色谱法将其除去, 可以明显提高抗原的表达量。

3.4 密码子改造

所有的生物体都有自己的编码基因, 而基因编码基因的密码子在寄主中的作用并不大, 如果将其转化为更好的密码, 则可以提高其生产效率。另外, 在 GC 基因的编码区域中, GC 基因的数量越多, 就越容易形成第二个结构, 从而抑制抗原的翻译, 从而降低 GC 的数量和第二个结构。

4 mRNA 疫苗应用示例

4.1 新型冠状病毒 (SARS-CoV-2)

2020 年年初在世界范围内传播。2020 年 1 月 1 日, 将 SARS-CoV-2 全基因组的信息共享给全球, 也就是在这个时候, 疫苗的研制工作正式启动。仅仅两天后, mRNA 疫苗巨头 Moderna 与美国国立卫生学院共同研发 SARS-CoV-2 mRNA 的疫苗。Moderna 公司的 mRNA-1273 于 2020 年 3 月 11 日通过了临床实验, 这是世界上首个通过临床实验的 SARS-CoV-2 的疫苗。英国在 2020 年 12 月 2 号紧急批准了由辉瑞和 BioNTech 联合研发的 mRNA 疫苗 (BNT162b2), 这是第一个获得批准的国家。后来, 国家批准了 mRNA-1273 的应用, 其中 BNT162b2 和 mRNA-1273 的有效率为 95.0%, mRNA-1273 的有效率为 94.1%。这是疫苗发展史上具有划时代意义的一次事件, 它标志着 mRNA 疫苗正式进入了人类与疾病的斗争^[5]。另外, 相关人员已开发出一种具有很好的免疫保护和稳定的 mRNA 疫苗, 目前已经投入临床实验。

4.2 流感病毒

流感病毒是一种持续变化、不断演化的疾病, 难以控制。该疫苗具有较高的编码能力、较强的分离株和较高的免疫活性, 是一种有效的抗流感病毒药物。通过编码 A 型 HA 基因, 可以在老鼠身上获取足够的体液和细胞免疫, 为老鼠提供长期有效的

保护。而基因型 RNA 疫苗可为较保守的核衣壳蛋白提供交叉保护。据报道, H10N8 型 H7N9 型禽流感病毒 HA 卵白蛋白的两个基因, 已经通过了第一阶段的临床试验。结果显示, 两种疫苗均具有安全、不良反应少的特点。而且这两种疫苗不需要任何添加剂, 就可以让人产生强烈的免疫反应。

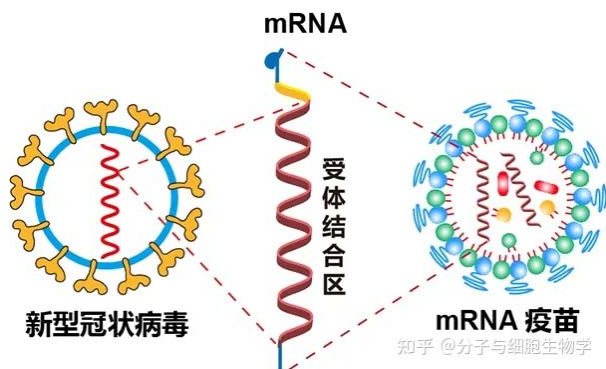


图3 新冠 mRNA 疫苗示意图

4.3 人类免疫缺陷病毒 (HIV)

自 1981 年被发现后, 该病尚无有效疗法。现在已经有多项研究将 mRNA 疫苗用于治疗艾滋病。2016 年, GANDHI 等人在体外分离纯化了树突细胞, 然后将其转化为 HIV 特异性抗原 mRNA, 使树突细胞活化, 再将其注入到受试者的体内, 以检测其免疫反应。但本研究并未取得显著成效。另一种方法是利用 mRNA 的基因编码一种广谱、高效的中和抗体, 并将其通过 LNP 转导系统向小白鼠中和, 从而阻止 HIV 的传播。而利用 LNP 递送系统, 通过递呈表达 HIV 表面抗原蛋白 ENV、GP120 的 mRNA, 可以有效地诱导 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞的免疫反应, 从而使其产生有效的中和抗体。此外, 采用阳离子型纳米乳剂系统, 将 CLADE C 囊膜的糖蛋白作为载体, 能使 HIV 病毒株具有较高的耐受性, 从而使其具有较高的中和能力。

4.4 狂犬病病毒

SCHNEE 等人将 RV 基因的 mRNA 疫苗与家猪进行了免疫。结果显示, 各剂量的免疫中和抗体都能使小鼠和家猪产生中和抗体, 而且在观察期间, 抗体效价一直维持不变。免疫组大鼠 CD4⁺ T 淋巴细胞的活化, 与正常对照组相比, 免疫组的 CD4⁺ T 细胞活性较高。抗毒防护试验结果显示, 该疫苗可有效地防止病毒株的侵袭。该病毒可在 -80-70°C 中保存几个月, 不会产生免疫效果。通过在 4~56°C 之间

连续切换 20 次, 模拟了在运输过程中出现的突发情况, 但由于贮存条件的变化, 对疫苗的免疫功能无影响。一项多中心的第一阶段临床试验表明, 1.2 μ g 种剂量 (每 2 个注射剂) 它们都能在人体内产生中和抗体, 具有很高的安全性。中和抗体水平达到 WHO 要求。5 微克剂量的药物, 由于副作用太大, 没有被接受。

5 讨论

mRNA 疫苗具有安全性、免疫原性、可编译性、快速设计、高生产率、低成本、便于贮存等特点, 是一种新型的疫苗技术。除了疫情的控制之外, mRNA 疫苗也被广泛地应用到医学的各个方面, 比如说肿瘤防治, 或者是一些罕见的疾病。目前, mRNA 疫苗技术还需要进一步提高疫苗的特异性、高效递呈、降低副反应、降低成本和提高疫苗的稳定性的。我们相信, 在不久的将来, mRNA 疫苗将会得到更广泛的应用, 它将成为战胜各种疾病、保护人类和动物健康、促进社会和谐、健康发展的强大武器。

参考文献

- [1] 尼博, 李月华, 刘拂晓, 等. mRNA 疫苗研究进展及其在传染病防控中的应用[J]. 中国兽医学报, 2022(042-003).
- [2] 柯尊阳, 王宇, 李忠明, 等. mRNA 技术及其在传染病疫苗研发中的应用[J]. 2020.
- [3] 苗鹤凡, 郭勇, 江新香, 等. mRNA 疫苗研究进展及挑战[J]. 免疫学杂志, 2016, 32(5):4.
- [4] 林曼, 曾宪成, 洪敏, 等. mRNA 疫苗研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(6):3.
- [5] 柯尊阳, 王宇, 李忠明, 等. mRNA 技术及其在传染病疫苗研发中的应用[J]. 2020.

收稿日期: 2022 年 9 月 12 日

出刊日期: 2022 年 11 月 25 日

引用本文: 潘浩, mRNA 疫苗研究进展及其在传染病防控中的应用[J]. 国际医药研究前沿, 2022, 6(6): 64-67

DOI: 10.12208/j.imrf.20220211

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2022 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。 <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS