

· 疫苗、抗体与小分子药物研发 ·

以不变应万变：高效广谱抗新冠病毒疫苗和药物防控 现在和未来的冠状病毒疫情

蓝巧帅 夏 帅 陆 路 姜世勃*

复旦大学 基础医学院/上海市重大传染病和生物安全研究院, 上海 200032

[摘 要] 2019 年末新冠肺炎暴发后迅速在全球范围内蔓延。为应对新冠肺炎疫情,国内外的科研工作者迅速行动起来,进行抗新冠病毒的疫苗和药物研究。我们团队近年来一直致力于高效广谱抗冠状病毒疫苗和药物的研发。凭借多年研究抗病毒疫苗和药物的经验,在此次疫情中,团队坚持以“以不变应万变”的策略(即以原始毒株的蛋白质序列为靶点),研发出多种高效广谱抗新冠病毒的疫苗和药物候选,为新冠肺炎的防治提供了疫苗及药物储备。在新冠病毒全球范围内不断流行和突变的背景下,这些广谱抗冠状病毒疫苗及药物候选对新冠病毒变异株(如奥密克戎)展示高效的抑制活性,因而具有很好的开发前景。

[关键词] 新冠病毒;新冠肺炎;疫苗;抗病毒药物;有效性;广谱性

21 世纪以来,我们已经经历了三次冠状病毒疫情的暴发,包括 2003 年由严重急性呼吸综合征(Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS)冠状病毒引发的传染性非典型肺炎疫情,2012 年由中东呼吸综合征(Middle East Respiratory Syndrome, MERS)冠状病毒引发的中东呼吸综合征疫情^[1],以及近期由新型冠状病毒(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2)引起的新型冠状病毒肺炎(Coronavirus Disease 2019, COVID-19)疫情。

在 SARS 和 MERS 疫情暴发后,涌现出很多抗冠状病毒疫苗和药物的研究项目。然而这些研究项目大多都没有推进下去,导致在此次新冠肺炎疫情暴发初期,虽然有着前两次面对冠状病毒疫情的经验,却仍然无法快速地提供有效的疫苗和药物。为了改变这种局面,国内多个研究团队都在日以继夜地奋斗,致力于研发出高效的抗新冠病毒疫苗及药物,并在这两年来获得多个抗新冠病毒的疫苗及少量的药物候选。这些成果对新冠肺炎的预防与治疗起到了重要的作用。



姜世勃 复旦大学基础医学院病原生物学系教授、病原微生物研究所所长、美国微生物科学院 Fellow。主要从事抗艾滋病病毒、人乳头瘤病毒和冠状病毒疫苗及药物研究。已发表 556 篇 SCI 论文和 100 多篇中文论文,获 26 项美国专利和 25 项中国专利授权,多项产品已上市。2020 以来,已在 *Cell*、*Nature*、*Science*、*Lancet* 及其子刊等杂志上发表 114 篇科学论文,在研发高效广谱抗冠状病毒疫苗和药物等方面取得了重要的进展。



蓝巧帅 复旦大学基础医学院病原生物学专业在读博士生,主要研究方向是广谱抗病毒疫苗及药物。

在 SARS 和 MERS 疫情暴发后,我们团队就开始了冠状病毒疫苗及药物的研发,在国际上率先报道了多个抗 SARS 和 MERS 的候选疫苗及抑制剂^[2-4],在这些领域研究工作中积累了深厚的经验。在过去的两年多时间里,我们团队进一步聚焦于抗新冠病毒疫苗和药物的研究,取得了一系列的成果。

收稿日期:2022-04-06;修回日期:2022-05-15

* 通信作者,Email:shibojiang@fudan.edu.cn

本文受到国家自然科学基金项目(82041025,92169112)的资助。

在这篇文章中,我们将对本团队过去两年多时间内所取得的一些研究成果进行总结。

1 新冠病毒的生物学特征

1.1 新冠病毒及其变异株

冠状病毒(Coronavirus, CoV)是单正链RNA病毒,分为 α 、 β 、 γ 、 δ 四个冠状病毒属(genus)。 β 属冠状病毒又可进一步分为A、B、C、D四个谱系(lineage),A谱系包括致病性较低的人冠状病毒HCoV-OC43和HCoV-HKU1^[5]。B谱系病毒又称之为沙贝病毒(sarbecovirus),包括SARS-CoV,新冠病毒(SARS-CoV-2)及其变异株,以及来源于蝙蝠等动物的SARS相关CoV(SARS-related coronavirus, SARSr-CoV)。C谱系病毒又称之为梅贝病毒(merbecovirus),包括MERS-CoV,以及来源于蝙蝠等动物的MERS相关CoV(MERS-related coronavirus, MERSr-CoV)。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将一些感染力变化较大,具有免疫逃逸性能的新冠病毒变异株命名为VOCs(variants of concern),包括阿尔法(Alpha, B. 1. 1. 7),贝塔(Beta, B. 1. 351),伽马(Gamma, P. 1),德尔塔(Delta, B. 1. 617. 2)和奥密克戎(Omicron, B. 1. 1. 529)。奥密克戎又进一步分为BA. 1(B. 1. 1. 529. 1)、BA. 2(B. 1. 1. 529. 2)、BA. 3(B. 1. 1. 529. 3)三个亚型^[6],以及BA. 1和BA. 2形成的重组体-XE。BA. 1已在100多个国家传播,成为全球主要的传播毒株。而现在中国香港和大陆流行的变异株主要是BA. 2。由于奥密克戎变异株的S蛋白上含有37个氨基酸突变,其中15个位于受体结合域(receptor-binding domain, RBD),因此其对新冠病毒感染康复者以及多种疫苗接种者的抗血清中和作用的敏感性都有明显地下降^[7],导致接种过新冠疫苗的人群和感染康复者发生突破性感染的概率明显增加。在这样的背景下,研发高效广谱的 β 属冠状病毒B谱系通用疫苗(即中广谱疫苗)显得极为重要。

1.2 新冠病毒的组成蛋白

新冠病毒的基因组约为30 kb,编码包括结构蛋白(Structural Protein),非结构蛋白(Nonstructural Protein, NSP)和附属蛋白(Accessory Protein)。新冠病毒的结构蛋白包括刺突蛋白(Spike Protein, S蛋白),膜蛋白(Membrane Protein, M蛋白),囊膜蛋白(Envelope Protein, E蛋白),核衣壳蛋白(Nucleocapsid Protein, N蛋白)。这些蛋白参与构

成病毒体的结构,也参与行使病毒的重要功能。其中S蛋白是介导新冠病毒进入靶细胞的关键蛋白,也是抗病毒药物以及疫苗研究的关键靶点^[8]。S蛋白由S1和S2两个亚单位组成(图1)。S1亚单位上包括N端结构域(N-terminal Domain, NTD)和受体结合结构域(Receptor Binding Domain, RBD)等结构域,其中RBD主要功能是与病毒受体—血管紧张素转换酶-2(ACE2)结合,也是大多数中和抗体作用的重要靶点^[9]。而S2亚单位上包括了融合肽(FP),七肽重复序列(Heptad Repeat, HR)1和2区,跨膜结构域(TM),胞质结构域(CP)等结构域。HR1和HR2区的保守性较高,其相互作用形成的六螺旋稳定结构过程是介导病毒膜融合的重要过程,也是广谱抗病毒药物作用的重要靶点^[10, 11]。

此外,新冠病毒基因组编码的非结构蛋白(包括nsp1-16)和附属蛋白等在病毒的复制周期中发挥重要的功能,因此也是一些抗病毒药物作用的重点靶点^[12]。如RNA依赖的RNA聚合酶(nsp12, RdRp)能参与病毒RNA的合成,是抗病毒药物瑞德西韦作用的靶点^[13];主蛋白酶(nsp5, Mpro)参与病毒蛋白的切割,是小分子口服药帕罗维德的主要成分—奈玛特韦(Nirmatrelvir)作用的靶点^[14]。

2 高效广谱抗冠状病毒疫苗

广谱疫苗可分为小广谱、中广谱、大广谱以及超广谱。小广谱疫苗,即新冠病毒通用疫苗(Pan-SARS-CoV-2 Vaccines),是指广谱抗新冠病毒及其变异株的疫苗(图2)。现在很多疫苗开发商正在研发此类疫苗,多采用将新变异株(如奥密克戎)的灭活病毒颗粒或S蛋白加入到他们先前开发的疫苗中而形成的多价疫苗。中广谱疫苗,即 β 属冠状病毒B谱系通用疫苗(Pan- β -CoV-B Vaccines),是指广谱抗沙贝病毒(包括SARS-CoV、SARS-CoV-2及其变异株、蝙蝠SARSr-CoV)疫苗,这是目前急需开发

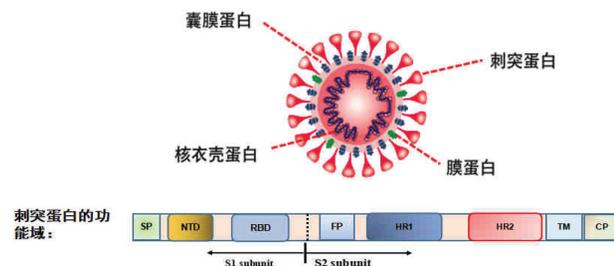


图1 新冠病毒模型及其表面刺突(S)蛋白的功能区
SP, 信号肽; NTD, N端结构域; RBD, 受体结合域;
FP, 融合多肽; HR1, 七肽重复序列1; HR2, 七肽重复序列2;
TM, 跨膜结构域; CP, 胞质结构域

的疫苗,可用于防控新冠病毒变异株的感染及将来可能新发与再现的 SARS 样传染病。大广谱疫苗,即 β 属冠状病毒通用疫苗(Pan- β -CoV Vaccines),是指广谱抗 β 属冠状病毒(包括 SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2 及其变异株、蝙蝠的 SARSr-CoV 和 MERSr-CoV)疫苗,也是未来需要开发的战略储备疫苗,可用于防控现在流行的 β 属冠状病毒(如 SARS-CoV-2 和 MERS-CoV)及未来可能出现的 β 属冠状病毒新变种(如 SARS-CoV-3 或 MERS-CoV-2)引起的 SARS 样或 MERS 样传染病。超广谱疫苗,是指针对所有 7 类人冠状病毒的疫苗(Pan-HCoV Vaccines)。超广谱疫苗的开发难度极高,由于这些病毒使用不同的受体,其刺突(S)蛋白的受体结合域(RBD)的氨基酸序列和结构也差异比较大。

新冠疫苗的研究在疫情暴发后不久就已经展开,目前开发的新冠疫苗种类包括病毒载体疫苗,核酸疫苗(DNA 或 mRNA 疫苗),重组亚单位疫苗以及灭活病毒疫苗等^[15, 16]。其中多个新冠疫苗已经获批上市或被紧急使用,这些疫苗在减少原始新冠病毒毒株的感染率和降低感染后重症率和病死率等方面发挥了重要作用。然而,一些新冠疫苗的共有缺点是激发的抗病毒免疫应答和诱导的中和抗体反应不够强、不持久、不广谱^[7]。这是因为其开发的过程过于仓促,未能很好地优化疫苗抗原,而选用了免疫原性较差的疫苗抗原,如完整的刺突(S)蛋白。这些疫苗抗原中的中和抗体位点,特别是保守的中和抗体位点均不能充分暴露,在免疫宿主体内诱导的中和抗体水平偏低,半年之后降得更低,因此不能有效抗击不断出现的新冠病毒变异株。所以,需要采用“以变应变”的策略,加速研发针对变异株的新疫

苗。例如,现有很多疫苗开发商正在研发针对奥密克戎 BA.1 变异株的新疫苗,但在针对 BA.1 的疫苗还未上市之前,又出现了 BA.4 或 BA.5 变异株。这样导致新疫苗研发的速度永远赶不上病毒变异的速度。

而我们团队坚持使用“以不变应万变”策略,即以第一代野生型新冠病毒的 RBD 与人 IgG 的 Fc 片段偶联,RBD 会自动地形成并联二聚体,使得 RBD 中的中和抗体位点及保守的中和抗体位点都能充分暴露,再加上使用高效的新型佐剂(CF501),从而能在免疫动物体内诱导出高效价的广谱中和抗体(比第一代新冠疫苗诱导的中和抗体效价要高出几十倍),能高效地中和新冠病毒及其变异株,甚至也可有效地中和 SARS-CoV 和蝙蝠的 SARSr-CoV。如能开发上市,不但能防控现在流行的新冠病毒变异株,也可应对未来的新发与再现新型冠状病毒疫情。

2.1 研发高效的 β 属冠状病毒 B 谱系通用疫苗

理想的新冠病毒疫苗应该能高效而广谱地抗击新冠病毒及其变异株(包括奥密克戎),以及其他 β 属冠状病毒 B 谱系病毒的感染,这样的疫苗不但能有效地防控现在流行的新冠病毒变异株介导的感染,也可预防新冠病毒变异株及未来可能新发与再现的 SARS-CoV 及 SARSr-CoV 的感染^[17-19]。因此,研发称为“中广谱疫苗”的 β 属冠状病毒 B 谱系通用疫苗就成为了当务之急^[17],这也是我们团队过去两年里一直努力奋斗的目标。

2.1.1 基于 RBD 的 mRNA 疫苗

mRNA 疫苗属于新型的疫苗类型,具有开发速度快、有效性好等优点。于 2020 年底,辉瑞和 BioNTech 的 BNT162b2 疫苗以及 Moderna 的 mRNA-1273 疫苗已获准在多个国家紧急使用^[20]。姜世勃与美国纽约血液中心的杜兰英的团队合作,通过合成包裹了能够编码新冠病毒 RBD(aa331-524)mRNA 的脂质体纳米颗粒,将其作为 mRNA 候选疫苗并开展了相应的研究^[21]。研究表明,基于 RBD 的 mRNA 疫苗能够有效诱导抗新冠病毒的特异性体液免疫及细胞免疫应答,且能够产生高滴度的抗新冠病毒中和抗体,中和效价可高达 1 万,表明基于 RBD 的 mRNA 疫苗是适合用于新冠病毒防治的疫苗候选。此外,该 mRNA 疫苗诱导的中和抗体能有效地交叉中和 SARS-CoV 假病毒介导的感染,具有开发为广谱 mRNA 疫苗的潜力。

2.1.2 基于 RBD-Fc 的重组亚单位疫苗

在 2003 年的 SARS 疫情暴发后,我们团队在国

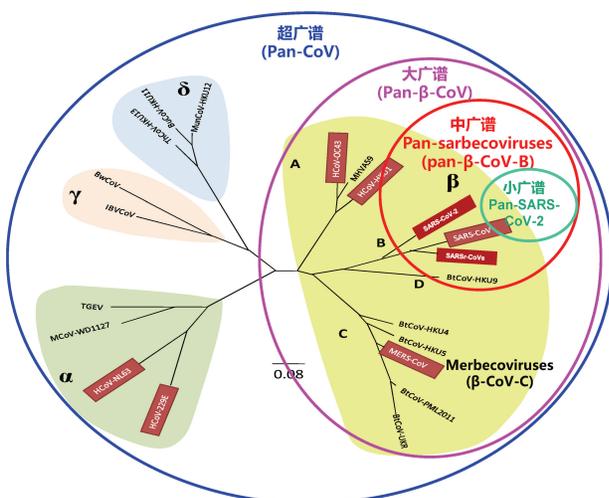


图 2 广谱抗冠状病毒疫苗和药物的分类

际上首次报道 SARS-CoV 的 RBD 区域含有主要的中和抗体位点,与人 IgG Fc 片段偶联的 RBD-Fc 二聚体蛋白能够比 S1 亚单位和 S 蛋白激发更强的中和抗体反应^[4],更低的非中和抗体或有害抗体反应(即抗体依赖增强感染效应,ADE)^[22]。因此,RBD-Fc 蛋白具有更高的安全性和有效性^[23],非常适合作为 SARS 疫苗的免疫原^[23]。

在此次新冠肺炎疫情暴发之后,我们团队借助先前的研究经验,构建了以新冠病毒 RBD 蛋白为免疫原的亚单位疫苗—RBD-Fc 疫苗。我们发现使用该 RBD-Fc 疫苗(RBD-Fc 蛋白+弗氏完全/不完全佐剂)免疫小鼠后,能激起高效的抗新冠病毒免疫应答^[24],免疫小鼠后获取的抗血清能高效地中和 SARS-CoV-2 及其变异株的感染(中和抗体滴度在 8 千以上)。此外,该 RBD-Fc 疫苗激发的抗血清还能有效地中和 SARS-CoV 以及蝙蝠的 SARSr-CoV 假病毒感染^[24],说明基于 RBD-Fc 蛋白的疫苗适用于开发成广谱的 SARS-CoV-2 疫苗。

2.2 新型佐剂在研发新冠疫苗中的应用

佐剂(Adjuvant)能够增强机体对免疫原的体液和细胞免疫反应,是重组亚单位疫苗的重要组成部分^[25]。铝佐剂(Alum)由于其良好的安全性和有效性,被广泛地应用于多个新冠亚单位疫苗和灭活疫苗中^[26]。虽然其他一些佐剂的研究也比较深入,但迄今为止,铝佐剂依然是唯一被各国批准用于人体的佐剂^[27]。因此,有必要开展其他新型佐剂的研发。干扰素基因刺激因子通路(STING)激活剂被认为具有佐剂功能。在先前的研究中,我们团队与哈佛医学院 Wu 教授的团队合作发现基于 STING 激活剂—cGAMP 设计的一种肺部仿生纳米颗粒(PS-GAMP)能够促进流感疫苗产生高效广谱的体液和 CD8⁺ T 细胞免疫反应,抗击多种异型流感病毒的感染^[28]。

2022 年 2 月,我们在国际上报道了首个基于新型佐剂的 β 属冠状病毒 B 谱系通用疫苗(Pan-sarbecovirus Vaccine)候选^[29]。在该项研究中,我们发现另外一个比 cGAMP 更有效的小分子 STING 激活剂—CF501。我们以 CF501 作为佐剂,与 RBD-Fc 蛋白一起免疫小鼠、兔子和恒河猴。结果表明以 CF501 为佐剂的 RBD-Fc 疫苗(CF501/RBD-Fc 疫苗)激发的免疫应答明显地强于基于铝佐剂的 RBD-Fc 疫苗(Alum/RBD-Fc 疫苗)和基于 cGAMP 佐剂的 RBD-Fc 疫苗(cGAMP/RBD-Fc 疫苗)。例如,CF501/RBD-Fc 疫苗在恒河猴体内诱导

的中和抗体比 Alum/RBD-Fc 疫苗所诱导的中和抗体高出 22 倍,其免疫血清对 10 种新冠病毒变异株(包括对大多数疫苗免疫血清和治疗性抗体不敏感的奥密克戎变异株)和 41 种新冠病毒单点自然突变的假病毒都展现了强效的中和作用,其高水平的中和抗体滴度可保持长达 191 天。其免疫血清也能高效地中和 SARS-CoV 以及蝙蝠的 SARSr-CoV(如 Rs3367 和 WIV1)的感染^[29, 30]。目前,我们正在与上海博沃生物科技有限公司和美国 Fulgent Genetics Inc 合作,力图将该疫苗尽快地推入临床,有望能用于防控新冠病毒变异株及未来可能新发与再现的 SARS 样传染病。

3 高效广谱抗冠状病毒药物

高效、广谱的抗病毒药物是防控新冠病毒及其变异株感染的重要手段。然而在新冠肺炎疫情暴发之初,国内外还没有一个有效的抗冠状病毒药物。只好以“老药新用”的策略,紧急使用了如瑞德西韦,氯喹/羟氯喹等药物进行临床治疗。但这些药物的抗冠状病毒活性和临床疗效并不理想^[31],促使国内外的科研人员加快了对特异性抗冠状病毒药物的研发。

3.1 多肽类冠状病毒通用融合抑制剂

早在 2003 年 SARS-CoV 暴发之际,我们团队在国际上报道了第一个靶向 SARS-CoV HR1 区,可有效抑制 SARS-CoV 感染的多肽类融合抑制剂—CP-1^[3];在 2014 年,我们又报道了一个可高效抑制 MERS-CoV 感染的多肽类融合抑制剂—MERS-CoV HR2P^[2]。然而,以上的两个多肽类抑制剂虽然展示出了高效的抗病毒活性,但缺乏广谱性,不能有效地抑制其他冠状病毒的感染。而理想的抗病毒药物研发应该是能“防患于未然”,即针对冠状病毒蛋白中保守的靶点研发出具有广谱抗冠状病毒活性的抑制剂,可用来防控新发与再现的高致病性冠状病毒疫情^[32, 33]。

为了实现该目标,我们团队在 2015 年便开展了多肽类冠状病毒通用融合抑制剂的研究。经过多年的努力,终于于 2019 年在国际上报道了第一个多肽类冠状病毒通用融合抑制剂—EK1 多肽,该多肽靶向冠状病毒 S 蛋白 S2 亚单位中较为保守的 HR1 区,能广谱地抑制各种人冠状病毒和一些蝙蝠来源 SARSr-CoV 的感染^[34]。在新冠肺炎疫情暴发后,我们团队迅速地评估了 EK1 多肽对新冠病毒的体内外抑制活性,结果表明 EK1 多肽在体内外实验中

都能高效地抑制新冠病毒及其多种变异株的感染^[35, 36]。考虑到奥密克戎变异株的 S 蛋白上有 37 个氨基酸突变,导致其对多种疫苗诱导中和抗体的敏感性明显下降。我们与香港大学袁国勇团队合作检测 EK1 多肽对奥密克戎变异株的抑制活性。结果表明 EK1 多肽能高效地抑制奥密克戎活病毒和假病毒的感染,进一步地证实了 EK1 多肽的广谱抗冠状病毒活性^[37]。目前,我们与山西锦波生物医药股份有限公司合作,已经完成了 EK1 多肽的临床前安全性的评估。2021 年 9 月, EK1 雾化剂获得了国家药品监督管理局颁发的《药物临床试验批准通知书》,目前正在开展一期临床试验(表 1)。

此外,为了构建更加高效、长效的多肽类抑制剂,我们对 EK1 多肽进行脂化修饰,获得一系列更高活性、更长半衰期的脂肽类冠状病毒融合抑制剂,如 EK1C4、EKL1C、EK1-C16 等^[35, 38, 39]。其中, EK1C4 脂多肽具有最强的抗冠状病毒活性,对新冠病毒及其变异株抑制的半数抑制浓度(IC50 值)可达到低纳摩尔水平,且在动物体内实验中也同样展现出高效的病毒抑制活性。其他的脂多肽也具有各自的优势,如 EKL1C 脂多肽比 EK1C4 脂多肽具有更好的稳定性,适合长时间储存;而 EK1-C16 脂多肽比 EK1C4 脂多肽更容易合成且具有更好的水溶性。因此,这些脂多肽都有很好的临床开发前景^[39]。

3.2 蛋白类冠状病毒抑制剂

蛋白类冠状病毒抑制剂的研究也是抗冠状病毒药物开发的重要方向。我们团队在该方向也有诸多的尝试,开发了 GL25E 蛋白和酸酐化蛋白等多个蛋白类抑制剂,这些蛋白类抑制剂在体外实验或者动物体内实验中都表现出了高效广谱的冠状病毒抑制活性。

格瑞弗森(Griffithsin, GRFT)蛋白是一种从红藻(*Griffithsia* sp.)中提取的凝集素蛋白,能与病毒蛋白上的糖基化位点结合,具有广谱抗病毒活性^[40]。我们团队在国际上首次公开报道 GRFT 蛋白具有高效的抗 SARS-CoV-2 活性,其作用靶点主要是冠状病毒 S 蛋白 S1 亚单位上的糖基化位点。当其与 EK1 多肽联合使用时展现出明显的协同抗病毒效应^[41]。在此基础上,我们又构建了一系列 GRFT-linker-EK1 蛋白,发现其中 linker 为 25 个氨基酸的 GL25E 融合蛋白具有最佳的冠状病毒抑制活性^[42]。因为 GL25E 融合蛋白具有 GRFT 蛋白和 EK1 多肽各自的靶点和优点,能更加有效而广谱地

抑制各类人冠状病毒的感染,且 IC50 值都在纳摩尔水平,因此有望被开发成蛋白类广谱抗冠状病毒药物。

我们以前的研究证明 3-羟基邻苯二甲酸酐修饰的牛 β 乳球蛋白(3HP- β -LG)能高效地抑制人乳头瘤病毒(HPV)感染,并成功地将其开发成防控 HPV 感染的生物蛋白敷料,已用于临床近十年之久^[43]。最近,我们与南方医科大学刘叔文团队和广州医科大学杨子峰团队合作,发现 3HP- β -LG 在体外试验中也能高效地抑制新冠病毒及其变异株的感染^[44],机制研究表明 3HP- β -LG 能有效地阻止新冠病毒入侵宿主靶细胞。因此,3HP- β -LG 有望能开发成喷鼻剂型来预防新冠病毒及其变异株的感染。

3.3 抗新冠病毒中和抗体

中和抗体存在于健康人、疫苗接种者或者感染康复者中,是人体阻止新冠病毒入侵靶细胞的重要武器^[8, 45]。通过现代生物学技术,研究人员可以从这些人群中筛选并获取具有高效新冠病毒中和活性的单克隆抗体,并作为药物注射给需要接受治疗的新冠肺炎患者,以达到治疗的目的^[46]。新冠肺炎疫情暴发后,国内外的科学家迅速地研发出一系列高活性的中和抗体,其中一些中和抗体类药物获批上市或紧急使用,如由清华大学与腾盛华创医药技术有限公司联合开发的安巴韦单抗(BR11-196)/罗米司韦单抗(BR11-198)联合疗法于 2021 年 12 月 8 日获中国药品监督管理局的上市批准,用于治疗轻型和普通型且伴有进展为重型高风险因素的成人和青少年新型冠状病毒感染患者。

然而,新冠病毒变异株的出现使得一些中和抗体药物在新冠肺炎治疗中的疗效降低,如先前被 FDA 批准应急使用的巴尼韦单抗(bamlanivimab)由于其中和活性受变异株的影响较大,目前已不再被批准单独使用。当然也有很多靶向保守位点的单克隆抗体或抗体鸡尾酒疗法,如 S2X259^[47] 和 S2H97^[48] 等,具有较好的广谱性,能高效广谱地中和包括奥密克戎毒株在内的各种新冠病毒变异株,以及其他属于 β -CoV-B 谱系的冠状病毒。这些广谱的中和抗体在应对新冠病毒变异株造成的感染上有更大的优势。

我们课题组与王乔团队合作发现具有广谱抗 β 冠状病毒 B 谱系的单克隆抗体—XG014,并解析了其与新冠病毒 S 蛋白三聚体结合的结构^[49]。XG014 抗体靶向 RBD 上的保守位点,能够有效地抑制 SARS-CoV-2 原始毒株以及包括阿尔法,贝塔,

伽马等在内的多个新冠病毒变异株的感染。同时, XG014 在动物模型上也展示出了高效的新冠病毒抑制活性, 有开发成中和抗体类药物的潜力。

应天雷课题组与我们课题组合作, 发现了一种抗新冠病毒的广谱双特异性全人源纳米抗体—bn03。该抗体是将针对 RBD 的两个保守区域(一个朝向 RBD 外侧的侧面区的一部分和一个隐藏在 RBD 三聚体内部)的 2 株全人源纳米抗体(n3113v 和 n3130v)串联在一起。所以, bn03 抗体能够高效中和包括奥米克戎在内的多种新冠病毒流行变异株。由于其分子量较小(27 Kd), 该抗体可作为雾化吸入剂型进行给药, 直接将纳米抗体递送到新冠病毒的感染和致病部位。动物实验证明, 通过雾化吸入方式递送的 bn03 在新冠病毒感染的轻症和重症小鼠模型中显现出很好的疗效^[50]。该抗体已进入中试生产阶段, 正在加快向临床试验推进, 有望成为首个能以雾化给药方式的全人源纳米抗体类药物。

3.4 小分子抗新冠病毒药物候选

相比于大分子药物, 小分子化合物类药物具有生产成本低, 可口服, 和不易受病毒蛋白突变影响等优点^[54]。因此, 小分子药物的研发也受到了国内外医药企业的青睐。2021 年 11 月 5 日辉瑞宣布其研发的作于与 3CL 蛋白酶的小分子口服药帕罗维德(Paxlovid; 奈玛特韦+利托那韦)可降低新冠肺炎的住院或死亡率 89%^[14], 并于 2021 年 12 月 22 日获得美国 FDA 颁发的紧急使用授权。我们团队最近发现一系列呋喃亚甲基罗丹宁类似物, 具有广谱

抗包膜病毒感染的活性。如 FD012(分子量: 540 道尔顿)对新冠病毒及其变异株(如奥密克戎), 和其他冠状病毒(如 SARS-CoV、MERS-CoV)具有很强的抑制活性; 对其他 I 类包膜病毒(如 HIV-1、流感病毒)、II 类包膜病毒(如 ZIKV)、III 类包膜病毒(如 VSV)都有抑制作用, 但对无包膜病毒(如 HPV、EV71)没有抑制作用。机制研究表明, 这些化合物可能靶向包膜病毒的脂质膜以发挥其广谱抗病毒活性^[53]。

复旦大学于文强团队发现新冠病毒与人存在共同序列, 称为 HIS(Human Identical Sequences)^[55]。这序列在不同变异株中都相对保守, 通过激活透明质酸合成酶进而引起透明质酸(Hyaluronan)积累, 引发临床症状^[55]。因此, 透明质酸可作为预测新冠肺炎患者临床转归的生物标志物。他们发现临床处方药物——透明质酸抑制剂羟甲香豆素(Hymecromone)能通过降低透明质酸的表达水平来促进新冠肺炎患者的临床症状改善^[56]。此外, 将这些序列从新冠病毒基因组移除的策略或能用于新冠疫苗研发^[57]。

4 总结及展望

新冠病毒在这两年多的全球大流行过程中, 不断变异产生多种变异株, 这些新冠病毒变异株对新冠肺炎疫情的防控带来了极大的挑战。与此同时, 针对新冠病毒疫苗与药物的研究也在不断地推进。但我们如果只是根据变异株蛋白中突变的序列来研

表 1 广谱抗新冠病毒药物开发的进展

抗病毒药物	药物类型	靶点	研发阶段	参考文献
国际上广谱抗新冠病毒药物研发的汇总				
Remdesivir	Small molecule	RdRp	Approved	[51]
Molnupiravir	Small molecule	RdRp	Approved	[14]
PF-07321332	Small molecule	3CL protease	Approved	[14]
BRII-196/BRII-198	Antibody	Viral RBD	Approved	[52]
Etesevimab	Antibody	Viral RBD	Approved	[52]
Casirivimab/imdevimab	Antibody	Viral RBD	Approved	[52]
课题组广谱新冠病毒抑制剂研发的汇总				
EK1	Peptide	HR1	Clinical trial	[34]
EK1C4	Lipopeptide	HR1	Preclinical	[35]
EK1-C16	Lipopeptide	HR1	Preclinical	[39]
EKL1C	Lipopeptide	HR1	Preclinical	[38]
GL25E	Protein	Glycans in the S1 subunit and HR1	Preclinical	[42]
3HP- β -LG	Protein	Viral RBD	Preclinical	[44]
XG014	Antibody	Viral RBD	Preclinical	[49]
FD012	Small molecule	Viral lipid membrane	Preclinical	[53]

发疫苗与药物(即“以变应变”的策略),我们将永远跟不上病毒变异速度,总处于一种被动挨打的局面;相反,我们应该根据原始株和变异株蛋白中共有的保守靶点,研发具有广谱活性的疫苗与药物,我们才能更好地应对由于病毒不断变异带来的威胁。此外,疫苗和药物的研究并不能一蹴而就,需要长时间的坚持与积累。即使新冠疫情完全被控制后,广谱抗冠状病毒疫苗和药物的研发也不能停滞。

在过去的两年多的时间里,我们团队一直坚持“以不变应万变”的策略(即以原始新冠病毒 S 蛋白中相对保守的位点为靶点)开发出多个高效、广谱的抗冠状病毒疫苗和药物候选,其中一些研究成果已完成转化,希望能早日获批并应用于临床,救治新冠病毒感染者,挽救病人的生命;或预防新冠病毒及其变异株的感染,尽快终结新冠肺炎疫情。

参 考 文 献

- [1] Zumla A, Chan JFW, Azhar EI, et al. Coronaviruses—drug discovery and therapeutic options. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2016, 15(5): 327—347.
- [2] Lu L, Liu Q, Zhu Y, et al. Structure-based discovery of Middle East respiratory syndrome coronavirus fusion inhibitor. *Nature Communications*, 2014, 5: 3067.
- [3] Liu SW, Xiao GF, Chen YB, et al. Interaction between heptad repeat 1 and 2 regions in spike protein of SARS-associated coronavirus: implications for virus fusogenic mechanism and identification of fusion inhibitors. *Lancet (London, England)*, 2004, 363(9413): 938—947.
- [4] He YX, Zhou YS, Liu SW, et al. Receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein induces highly potent neutralizing antibodies: implication for developing subunit vaccine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, 324(2): 773—781.
- [5] Hu B, Guo H, Zhou P, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(3): 141—154.
- [6] Rajpal VR, Sharma S, Kumar A, et al. “Is Omicron mild”? Testing this narrative with the mutational landscape of its three lineages and response to existing vaccines and therapeutic antibodies. *Journal of Medical Virology*, 2022, 94(8): 3521—3539.
- [7] Planas D, Saunders N, Maes P, et al. Considerable escape of SARS-CoV-2 Omicron to antibody neutralization. *Nature*, 2022, 602: 671—675.
- [8] Yu F, Xiang R, Deng XQ, et al. Receptor-binding domain-specific human neutralizing monoclonal antibodies against SARS-CoV and SARS-CoV-2. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5(1): 212.
- [9] Jiang SB, Zhang XJ, Yang Y, et al. Neutralizing antibodies for the treatment of COVID-19. *Nature Biomedical Engineering*, 2020, 4(12): 1134—1139.
- [10] Xia S, Zhu Y, Liu MQ, et al. Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cellular & Molecular Immunology*, 2020, 17(7): 765—767.
- [11] Jiang SB, Zhang XJ, Du LY. Therapeutic antibodies and fusion inhibitors targeting the spike protein of SARS-CoV-2. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2021, 25(6): 415—421.
- [12] Baggen J, Vanstreels E, Jansen S, et al. Cellular host factors for SARS-CoV-2 infection. *Nature Microbiology*, 2021, 6(10): 1219—1232.
- [13] Gao Y, Yan LM, Huang YC, et al. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*, 2020, 368(6492): 779—782.
- [14] Saravolatz LD, Depcinski S, Sharma M. Molnupiravir and nirmatrelvir-ritonavir: oral COVID antiviral drugs. *Clinical Infectious Diseases*, 2022: ciac180.
- [15] Golob JL, Lugogo N, Lauring AS, et al. SARS-CoV-2 vaccines: a triumph of science and collaboration. *JCI Insight*, 2021, 6(9): e149187.
- [16] Mohan A, Tiwari P, Suri TM, et al. Single-dose oral ivermectin in mild and moderate COVID-19 (RIVET-COV): a single-centre randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Infection and Chemotherapy: Official Journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 2021, 27(12): 1743—1749.
- [17] Su S, Li WH, Jiang SB. Developing pan- β -coronavirus vaccines against emerging SARS-CoV-2 variants of concern. *Trends in Immunology*, 2022, 43(3): 170—172.
- [18] Cao M, Su XJ, Jiang SB. Broad-spectrum anti-coronavirus vaccines and therapeutics to combat the current COVID-19 pandemic and future coronavirus disease outbreaks. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(3): 398—411.
- [19] Su S, Wang Q, Jiang SB. Facing the challenge of viral mutations in the age of pandemic: developing highly potent, broad-spectrum, and safe COVID-19 vaccines and therapeutics. *Clinical and Translational Medicine*, 2021, 11(1): e284.
- [20] Noor R. Developmental status of the potential vaccines for the mitigation of the COVID-19 pandemic and a focus on the effectiveness of the pfizer-BioNTech and moderna mRNA vaccines. *Current Clinical Microbiology Reports*, 2021, 8(3): 178—185.
- [21] Tai WB, Zhang XJ, Drelich A, et al. A novel receptor-binding domain (RBD)-based mRNA vaccine against SARS-CoV-2. *Cell Research*, 2020, 30(10): 932—935.

- [22] Wang QD, Zhang LF, 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.
- [23] Dai LP, Gao GF. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nature Reviews Immunology*, 2021, 21(2): 73—82.
- [24] Liu ZZ, Xu W, Xia S, et al. RBD-Fc-based COVID-19 vaccine candidate induces highly potent SARS-CoV-2 neutralizing antibody response. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5: 282.
- [25] Koff WC, Burton DR, Johnson PR, et al. Accelerating next-generation vaccine development for global disease prevention. *Science*, 2013, 340(6136): 1232910.
- [26] Zhang NR, Li KC, Liu ZZ, et al. A perspective on the roles of adjuvants in developing highly potent COVID-19 vaccines. *Viruses*, 2022, 14(2): 387.
- [27] Pulendran B, S Arunachalam P, O'Hagan DT. Emerging concepts in the science of vaccine adjuvants. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2021, 20(6): 454—475.
- [28] Wang J, Li PY, Yu Y, et al. Pulmonary surfactant-biomimetic nanoparticles potentiate heterosubtypic influenza immunity. *Science*, 2020, 367(6480): eaau0810.
- [29] Liu ZZ, Zhou J, Xu W, et al. A novel STING agonist-adjuvanted pan-sarbecovirus vaccine elicits potent and durable neutralizing antibody and T cell responses in mice, rabbits and NHPs. *Cell Research*, 2022, 32(3): 269—287.
- [30] Liu ZZ, Chan JFW, Zhou J, et al. A pan-sarbecovirus vaccine induces highly potent and durable neutralizing antibody responses in non-human Primates against SARS-CoV-2 Omicron variant. *Cell Research*, 2022, 32(5): 495—497.
- [31] Axfors C, Schmitt AM, Janiaud P, et al. Mortality outcomes with hydroxychloroquine and chloroquine in COVID-19 from an international collaborative meta-analysis of randomized trials. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 2349.
- [32] Lu L, Su S, Yang HT, et al. Antivirals with common targets against highly pathogenic viruses. *Cell*, 2021, 184(6): 1604—1620.
- [33] Wang XL, Xia S, Zhu Y, et al. Pan-coronavirus fusion inhibitors as the hope for today and tomorrow. *Protein & Cell*, 2021, 12(2): 84—88.
- [34] Xia S, Yan L, Xu W, et al. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike. *Science Advances*, 2019, 5(4): eaav4580.
- [35] Xia S, Liu MQ, Wang C, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Research*, 2020, 30(4): 343—355.
- [36] Xia S, Lan QS, Zhu Y, et al. Structural and functional basis for pan-CoV fusion inhibitors against SARS-CoV-2 and its variants with preclinical evaluation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6(1): 288.
- [37] Xia S, Chan JFW, Wang LJ, et al. Peptide-based pan-CoV fusion inhibitors maintain high potency against SARS-CoV-2 Omicron variant. *Cell Research*, 2022, 32(4): 404—406.
- [38] Zhou J, Xu W, Liu ZZ, et al. A highly potent and stable pan-coronavirus fusion inhibitor as a candidate prophylactic and therapeutic for COVID-19 and other coronavirus diseases. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2022, 12(4): 1652—1661.
- [39] Lan QS, Chan JFW, Xu W, et al. A palmitic acid-conjugated, peptide-based pan-CoV fusion inhibitor potently inhibits infection of SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern. *Viruses*, 2022, 14(3): 549.
- [40] Lusvardi S, Bewley CA. Griffithsin: an antiviral lectin with outstanding therapeutic potential. *Viruses*, 2016, 8(10): 296.
- [41] Cai YX, Xu W, Gu CJ, et al. Griffithsin with A broad-spectrum antiviral activity by binding glycans in viral glycoprotein exhibits strong synergistic effect in combination with A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting SARS-CoV-2 spike S2 subunit. *Virologica Sinica*, 2020, 35(6): 857—860.
- [42] Cai YX, Xu W, Tang JY, et al. A bivalent protein targeting glycans and HR1 domain in spike protein potently inhibited infection of SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Cell & Bioscience*, 2021, 11(1): 128.
- [43] Lu L, Yang X, Li Y, et al. Chemically modified bovine beta-lactoglobulin inhibits human papillomavirus infection. *Microbes and Infection*, 2013, 15(6/7): 506—510.
- [44] Hua C, Ma QH, Zhu Y, et al. Repurposing of a clinically used anti-HPV agent to prevent and treat SARS-CoV-2 infection as an intranasal formulation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6: 318.
- [45] Xiang R, Wang Y, Wang LL, et al. Neutralizing monoclonal antibodies against highly pathogenic coronaviruses. *Current Opinion in Virology*, 2022, 53: 101199.
- [46] Hurt AC, Wheatley AK. Neutralizing antibody therapeutics for COVID-19. *Viruses*, 2021, 13(4): 628.
- [47] Tortorici MA, Czudnochowski N, Starr TN, et al. Broad sarbecovirus neutralization by a human monoclonal antibody. *Nature*, 2021, 597(7874): 103—108.
- [48] Starr TN, Czudnochowski N, Liu ZM, et al. SARS-CoV-2 RBD antibodies that maximize breadth and resistance to escape. *Nature*, 2021, 597(7874): 97—102.

- [49] Liu ZZ, Xu W, Chen ZG, et al. An ultrapotent pan- β -coronavirus lineage B (β -CoV-B) neutralizing antibody locks the receptor-binding domain in closed conformation by targeting its conserved epitope. *Protein & Cell*, 2022, 13 (9): 655—675.
- [50] Li C, Zhan WQ, Yang ZL, et al. Broad neutralization of SARS-CoV-2 variants by an inhalable bispecific single-domain antibody. *Cell*, 2022, 185(8): 1389—1401. e18.
- [51] Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the treatment of covid-19 - final report. *Annals of Internal Medicine*, 2020, 383(19): 1813—1826.
- [52] Cao YL, Wang J, Jian FC, et al. Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Nature*, 2022, 602(7898): 657—663.
- [53] Pu J, He XY, Xu W, et al. The analogs of furanyl methylene rhodanine exhibit broad-spectrum inhibitory and inactivating activities against enveloped viruses, including SARS-CoV-2 and its variants. *Viruses*, 2022, 14(3): 489.
- [54] Xiang R, Yu ZS, Wang Y, et al. Recent advances in developing small-molecule inhibitors against SARS-CoV-2. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2022, 12(4): 1591—1623.
- [55] Li W, Yang S, Xu P, et al. SARS-CoV-2 RNA elements share human sequence identity and upregulate hyaluronan via NamiRNA-enhancer network. *eBioMedicine*, 2022, 76: 103861.
- [56] Yang S, Ling Y, Zhao F, et al. Hymecromone: a clinical prescription hyaluronan inhibitor for efficiently blocking COVID-19 progression. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7: 91.
- [57] Yang S, Chen L, Tong Y, et al. Viral miRNA-mediated activation of hyaluronan production as a drug target against COVID-19. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2022, 12 (7): 3195—3197.

Using No Change Against Change: Highly Potent and Broad-spectrum Coronavirus Vaccines and Drugs to Combat the Outbreaks of Current and Future Coronavirus Diseases

Qiaoshuai Lan Shuai Xia Lu Lu Shibo Jiang*

School of Basic Medical Science / Institute of Infectious Disease and Biosecurity, Fudan University, Shanghai 200032

Abstract Since the outbreak of coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in late 2019, it has spread rapidly around the world, thus calling for the research and development of vaccines and therapeutics against SARS-CoV-2 infection. Our team has worked for many years on the development of broad-spectrum anti-coronavirus vaccines and antivirals. Based on our previous experience, we adhered to the strategy of “using no change against change” (i. e., targeting the protein sequence of the original SARS-CoV-2 strain) and developed several broad-spectrum anti-coronavirus vaccine candidates and drug candidates, which exhibit highly effectiveness against SARS-CoV-2 and its variants, such as Omicron. Therefore, they have good potential to be further developed for the prevention and treatment of infection by the current and future SARS-CoV-2 variants.

Keywords SARS-CoV-2; COVID-19; vaccines; antivirals; efficacy; broad-spectrum

(责任编辑 吴征天 姜钧译)

* Corresponding Author, Email: shibojiang@fudan.edu.cn