



心血管病治疗性疫苗的进展与展望

邱志华, 胡夏君, 周彦兆, 吴海浪, 郑佳瑜, 王郢轩, 廖玉华*

华中科技大学同济医学院附属协和医院心内科, 武汉 430022

* 联系人, E-mail: liaoyh27@163.com

收稿日期: 2021-08-09; 接受日期: 2021-10-21; 网络版发表日期: 2022-01-29

国家自然科学基金重大研究计划项目(批准号: 91439207)资助

摘要 针对高血压、高脂血症和糖尿病等心血管危险因素进行有效防治,可以降低心血管病死亡风险。然而,中国心血管危险因素的知晓率、治疗率和控制率均处于较低水平,心血管病防治面临巨大挑战和困境。为进一步探索心血管病安全有效的治疗方法,改善治疗依从性,本团队在心血管病治疗性疫苗领域耕耘多年,对这一治疗手段的应用前景充满希望。本文系统介绍了高血压、高脂血症和糖尿病治疗性疫苗领域的研究进展,重点阐述了多肽偶联疫苗的免疫应答机制和ATRQβ-001降压疫苗的偏向性作用机制,希望以此推动治疗性疫苗领域的基础研究与临床转化,使治疗性疫苗早日成为心血管病防治的重要武器。

关键词 心血管病防治, 治疗性疫苗, 免疫应答, 偏向性调节

随着人类生活环境和生活方式的改变,心血管病发病率逐年增加。以高血压、高脂血症和糖尿病为代表的心血管病给人类健康带来巨大威胁,使心血管病死亡率居中国之首^[1]。目前,心血管病危险因素防治存在知晓率、治疗率和控制率三低的问题,为患者寻找更优化的防治方式是无数研究者的梦想。

为研发新的理想治疗技术,数代人作出了有益的探索,心血管病治疗性疫苗应运而生。疫苗最初针对病原体,免疫目的是诱导机体产生针对致病抗原的细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)效应及抗体生成,用于预防感染性疾病。基于疫苗免疫的原理,人们逐渐发展出针对心血管病等慢性病治疗性疫苗的新技术和新方法,用于疾病的治疗,同时避免自身CTL

杀伤。心血管病治疗性疫苗是针对机体特定靶分子的抗原表位多肽与载体构建成的生物制剂,免疫机体后诱导产生针对自身靶抗原表位的特异性抗体,作用于靶分子发挥治疗效应。与传统化学药物相比,治疗性疫苗具有特异性强、作用时间持久等优势;与单抗药物相比,疫苗具有给药剂量小、制备成本低、无抗体产生等优势。疫苗给药间隔期长,能够显著提高患者治疗依从性和人群心血管疾病控制率。因此,治疗性疫苗对于广大心血管病患者来说是极具优势的治疗选择。本文将系统性地介绍本团队与国内外众多团队在心血管病治疗性疫苗领域的积极探索,着重阐述多肽偶联疫苗ATRQβ-001的免疫应答机制和偏向性效应机制。

引用格式: 邱志华, 胡夏君, 周彦兆, 等. 心血管病治疗性疫苗的进展与展望. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 781–794

Qiu Z H, Hu X J, Zhou Y Z, et al. Progress and prospects of therapeutic vaccines for cardiovascular diseases (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 781–794, doi: 10.1360/SSV-2021-0133

1 心血管病治疗性疫苗研究现状

1.1 治疗性降压疫苗

半个多世纪以来, 基于肾素-血管紧张素系统(re-nin-angiotensin system, RAS)在高血压的发生发展中的重要作用, 众多研究团队探索了以RAS作为治疗靶点的治疗性降压疫苗。最初的肾素全抗原疫苗降压效果显著, 但引起自身肾脏损害的不良结局限制了疫苗发展^[2-5]。随后, 针对血管紧张素 I (Ang I)的多肽疫苗PMD3117临床试验未观察到预期的降压功效, 可能源于疫苗诱导的抗体效价不足^[6,7]。针对血管紧张素 II (Ang II)的多肽疫苗中, 仅CYT006-AngQb大剂量组观察到了显著降压效应, RAS反馈激活在一定程度上制约了疫苗的治疗功效^[8-11]。另有针对Ang II的DNA疫苗在模型动物中展示了良好的降压效果^[12], 目前临床试验正在进行当中^[13]。同时, 以血管紧张素 II 受体1型(angiotensin II type 1 receptor, AT1R)为靶点的治疗性疫苗亦展示了不俗的疗效^[14-16]。在总结经验与反复试验基础上, 本研究团队成功研发了以病

毒样颗粒(virus-like particles, VLPs)为载体, 针对AT1R胞外段第二环特定表位的多肽疫苗ATRQβ-001^[16], 该疫苗能有效降低高血压动物模型的血压, 同时安全性良好, 不引起RAS反馈激活。进一步研究发现, 该疫苗对动脉粥样硬化、糖尿病肾病和腹主动脉瘤均具有良好的防治作用, 并且可以改善急性心肌梗死后心室重构^[17-20]。ATRQβ-001疫苗的研究成果使本团队对治疗性疫苗这一干预方式充满信心, 也促使我们对治疗性疫苗进行了更深入的研究(表1和2)。

不限于此, 本团队继续积极探索了其他高血压靶点。(i) α₁D肾上腺素能受体(α₁DR): 本团队开创性地研发了针对α₁DR的ADRQβ-004疫苗, 该疫苗能有效降低自发性高血压大鼠的血压, 改善血管重构及靶器官损害^[21]; (ii) L型钙通道: 本团队首先研制了针对血管平滑肌细胞L型钙通道的疫苗, 并进一步研发了同时针对AT1R与L型钙通道的二价嵌合疫苗, 该疫苗针对两个靶点, 进一步降低高血压动物模型的血压, 减轻肾脏损害^[22]。该疫苗切合临床多靶点治疗的实际需求, 对于治疗性疫苗的未来研发方向具有指引意义。

表 1 处于临床前研究的治疗性降压疫苗

Table 1 Therapeutic hypertension vaccines in preclinical research

靶点	疫苗构建形式	研究结果	年份	参考文献
肾素	肾素全抗原	观察到在高血压狗和高血压大鼠中的降压作用(无统计学数据)	1958	[3]
肾素	肾素全抗原	降低狻猴血压(收缩压降低38 mmHg), 但引起肾脏自身免疫损伤	1987	[4]
肾素	以KLH为载体的偶联疫苗	降低自发性高血压大鼠血压(收缩压降低15 mmHg)	2013	[5]
血管紧张素 I	以TT为载体的偶联疫苗	未指出具体血压降幅	2000	[6]
血管紧张素 I	以KLH/TT为载体的偶联疫苗	未能降低血压	2003	[7]
血管紧张素 II	以Qβ VLP为载体的偶联疫苗	降低自发性高血压大鼠血压(收缩压降低21 mmHg)	2007	[8]
血管紧张素 II	以KLH为载体的偶联疫苗	降低高血压模型动物血压(未指出具体血压降幅)	2013	[9]
血管紧张素 II	以HAV VLP为载体的嵌合型疫苗	降低自发性高血压大鼠血压23/12 mmHg	2013	[10]
血管紧张素 II	DNA疫苗	降低自发性高血压大鼠血压(未指出具体降幅)	2015	[12]
AT1R	以TT为载体的偶联疫苗	降低自发性高血压大鼠血压(收缩压降低17 mmHg), 减轻高血压靶器官损害	2006	[14]
AT1R	以KLH为载体的偶联疫苗	降低自发性高血压大鼠血压(未指出具体血压降幅), 减轻L-NAME诱导的肾脏损害	2012	[15]
AT1R	以Qβ VLP为载体的偶联疫苗	降低高血压模型动物血压(小鼠收缩压降低35 mmHg; 大鼠收缩压降低19 mmHg), 不引起RAS反馈激活	2013	[16]
α ₁ DR	以Qβ VLP为载体的偶联疫苗	降低自发性高血压大鼠血压(收缩压降低18 mmHg), 减轻高血压靶器官损害	2019	[21]
L型钙通道/AT1R	以HBcAg VLP为载体的嵌合型疫苗	降低高血压模型动物血压(收缩压降低25 mmHg), 减轻L-NAME诱导的肾脏损害	2019	[22]

表 2 进入临床试验的治疗性降压疫苗

Table 2 Therapeutic hypertension vaccines in clinical trials

靶点	疫苗构建形式	研究阶段	研究规模(人)	降压效果	年份	参考文献
血管紧张素 I	以KLH为载体的偶联疫苗	I 期临床试验	50	无	2003	[6]
血管紧张素 I	以KLH为载体的偶联疫苗	II 期临床试验	27	无	2004	[7]
血管紧张素 II	以Q β VLP为载体的偶联疫苗	I 期临床试验	16	无	2006	[8]
血管紧张素 II	以Q β VLP为载体的偶联疫苗	II 期临床试验	72	大剂量组血压降低25/13 mmHg	2008	[11]
血管紧张素 II	DNA疫苗	I, II a期临床试验	36	进行中	进行中	[13]

1.2 治疗性降脂疫苗

针对降脂疫苗的探索已有半个多世纪。1957年, Gerö等人^[23]以 β 脂蛋白作为抗原靶位构建疫苗, 免疫机体后产生抗 β 脂蛋白抗体, 抑制动脉粥样硬化。此后陆续研究了多个降脂靶点, 如氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, LDL)、载脂蛋白-B(apolipoprotein B, ApoB)、胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)、脂肪组织V6和前蛋白转化酶枯草溶菌素9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)等。oxLDL疫苗通过诱导机体产生抗oxLDL特异性抗体, 降低高脂饮食兔血浆中总胆固醇(total cholesterol, TC)及甘油三酯(triglyceride, TG)含量, 抑制动脉粥样硬化形成^[24]。ApoB疫苗可以降低LDL受体基因敲除小鼠TG水平, 减少动脉粥样斑块形成^[25]。与对照组相比, CETP疫苗可使实验动物HDL-c含量提高42%, 同时使LDL-c降低24%, 并抑制粥样斑块的形成^[26]。除肽疫苗外, CETP-DNA疫苗同样验证了这个结果^[27]。但令人惋惜的是, CETP肽疫苗I期临床研究并未获得与动物实验一致的结果^[28]。针对脂肪组织V6的治疗性疫苗, 其抗原表位来自猪的脂肪组织, 已经完成2次小规模II期临床试验, 该疫苗能显著改善超重人群的体脂分布及胰岛素抵抗, 降低TG/HDL^[29], 目前正在针对该疫苗的抗动脉粥样硬化作用进行更大规模的II期临床研究。

PCSK9是近年来降脂领域的明星分子, 抑制PCSK9活性或含量可显著降低血浆LDL-c及脂蛋白(a)水平。FOURIER和ODYSSEY OUTCOMES等临床研究证实了PCSK9单抗在降脂及减少ASCVD风险方面的价值^[30,31], 目前已应用于临床, 但高额的费用、较短的抗体半衰期限制了其广泛临床应用。PCSK9治疗性疫苗可有效降低小鼠血浆LDL-c水平^[32,33](表3和4)。本

团队也自主研发了针对PCSK9的治疗性疫苗PCSK9Q β -003^[34], 动物实验证实PCSK9Q β -003可显著降低小鼠血浆LDL-c水平, 抑制粥样斑块的形成, 减缓脂肪肝病程进展^[35]。同时, 该疫苗还可通过调控脂肪酸 β 氧化, 改善肾脏纤维化, 保护肾功能^[36]。AFFITO-PE®AT04A和AT06A是正处于临床研究阶段的PCSK9治疗性疫苗, 其临床前研究结果显示了疫苗抑制动脉粥样硬化的作用^[37]。

1.3 治疗性降糖疫苗

(1) 1型糖尿病(T1DM)疫苗。T1DM是一种自身免疫性疾病, 由免疫介导的胰岛 β 细胞损伤所引起。胰岛素是首个被发现的T1DM自身抗原^[38], 动物实验中采用鼻腔给药的方式给予胰岛素, 诱导免疫耐受, 可以抑制T1DM的发生发展^[39,40]。然而, 临床试验中通过鼻腔或口服胰岛素给药未能延缓或避免T1DM的发生发展^[41-44](表5)。针对胰岛素原的DNA疫苗在I期临床试验中遏制了病情的进展, 取得了理想的结果: 注射胰岛素原DNA质粒15周后, T1DM患者C肽水平增加了19.5%, 而对照组患者C肽水平则降低了8.8%^[45]。表达于胰岛 β 细胞的谷氨酸脱羧酶(glutamic acid decarboxylase, GAD)是导致T1DM发病的一个关键性自身抗原^[46]。GAD疫苗(GAD-alum) I期及II期临床试验结果显示, 对于诊断T1DM时间不超过6个月的患者, GAD-alum皮下注射有效抑制了C肽浓度的下降, 维持了胰岛 β 细胞的功能^[38,47]。然而, III期临床试验却显示GAD-alum未能防止T1DM患者病情的发展^[46,48]。动物实验证实, 针对GAD的DNA疫苗显著降低了小鼠的糖尿病发生率, 但是该疫苗目前尚未进行临床试验^[49]。卡介苗(Bacille Calmette-Guérin, BCG)原本被用于结核病的预防, 将BCG应用于T1DM模型动物可有效抑

表 3 临床前阶段的降脂疫苗

Table 3 Hyperlipidemia vaccines in preclinical research

靶点	疫苗构建形式	研究结果	年份	参考文献
β脂蛋白	β脂蛋白全抗原	降低总胆固醇(兔600 vs. 710 mg/dL, 公鸡332 vs. 560 mg/dL), 抑制粥样斑块的形成	1957	[23]
低密度脂蛋白	氧化型低密度脂蛋白全抗原	降低总胆固醇(671±144.6 vs. 711.2±63.4 mg/dL)及甘油三酯(198.8±49.2 vs. 254.8±139.4 mg/dL)	2007	[24]
ApoB	ApoB-100氨基端肽段	降低甘油三酯(2.7±0.95 vs. 4.5±2.15 mg/mL), 抑制粥样斑块的形成	2008	[25]
胆固醇酯转运蛋白	胆固醇酯转运蛋白氨基端肽段	提高HDL-c(幅度42%), 降低LDL-c(幅度24%), 抑制粥样斑块的形成	2000	[26]
胆固醇酯转运蛋白	DNA疫苗	提高HDL-c(0.56±0.05 vs. 0.42±0.03 mmol/L), 降低LDL-c(3.46±0.21 vs. 5.44±0.36 mmol/L), 抑制粥样斑块的形成	2006	[27]
PCSK9	PCSK9氨基端肽段	降低LDL-c(降幅35%~60%)	2012	[32]
PCSK9	KLH为载体的偶联疫苗	降低LDL-c(降幅35%~40%)	2014	[33]
PCSK9	以Qβ VLP为载体的偶联疫苗	降低LDL-c(降幅25%)	2017	[34]

表 4 进入临床研究阶段的降脂疫苗

Table 4 Hyperlipidemia vaccines in clinical trials

靶点	疫苗构建形式	研究阶段	研究规模(人)	研究结果	年份	参考文献
胆固醇酯转运蛋白	胆固醇酯转运蛋白氨基端肽段(ATH03)	I 期临床试验	36	初步验证安全性, 未见HDL-c增高	2011	[28]
脂肪组织	合成的猪脂肪组织抗原糖丸	II 期临床试验	12	降低TG/HDL比值(降幅: 46.5%), 改善胰岛素抵抗	2010	[29]
脂肪组织	合成的猪脂肪组织抗原糖丸	II 期临床试验	300	评估血脂水平和胰岛素抵抗, 结果尚未公布	2017	—
PCSK9	以KLH为载体的偶联疫苗(AT04A)	I 期临床试验	72	结果尚未公布	2017	—

制疾病的发展. I 期临床试验结果显示, BCG可显著降低T1DM患者HbA1c水平, 未发现严重不良事件或严重低血糖^[50,51]. 目前II 期临床试验正在进行.

(2) 2型糖尿病(T2DM)疫苗. 白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)可引起胰岛素抵抗和胰岛β细胞凋亡, 临床试验证实IL-1受体拮抗剂或IL-1β单克隆抗体可延缓T2DM的发生^[52]. IL-1β疫苗CYT013-IL1bQb可诱导产生针对IL-1β的中和性抗体, 有效改善糖尿病小鼠的胰岛β细胞功能^[53,54]. I 期临床结果显示, 大剂量、多次注射CYT013-IL1bQb疫苗可降低患者空腹血糖、HbA1c及C反应蛋白水平, 同时未出现严重不良反应^[55](表5). 胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)具有降低血糖、抑制胰岛β细胞凋亡的作用, 但可被二肽基肽酶(dipeptidyl peptidase-4, DPP4)迅速

分解, 针对DPP4的疫苗可有效降低高脂饮食喂养的小鼠血糖^[13]. 胰岛淀粉样多肽(islet amyloid polypeptide, IAPP)沉积于胰岛β细胞, 引起炎症、破坏细胞膜结构并诱导胰岛β细胞凋亡, 是T2DM的重要致病因素之一^[56]. T2DM患者血清中抗IAPP抗体可降低IAPP对胰岛β细胞的毒性作用^[57]. 据此, 利用IAPP肽段或寡聚体研制出IAPP疫苗, 能有效抑制IAPP在胰岛的沉积, 延缓T2DM的发生^[57,58].

2 治疗性疫苗结构与免疫应答机制

2.1 疫苗结构形式及原理

心血管病治疗性疫苗针对机体特定靶分子, 通过表位筛选并验证确定目标靶分子抗原短肽, 因抗原短

表 5 处于临床试验阶段的降糖疫苗

Table 5 Hyperglycemia vaccines in clinical trials

靶点	疫苗构建形式	给药方式	研究阶段	研究规模 (人)	研究结果	年份	参考文献
胰岛素	重组人胰岛素晶体	口服	III期临床试验	560	未能预防T1DM或延缓T1DM的诊断时间	2017	[41]
胰岛素	短效胰岛素	鼻喷	III期临床试验	264	未能预防T1DM或延缓T1DM的诊断时间	2008	[44]
胰岛素原	胰岛素原编码质粒	肌肉注射	I 期临床试验	80	改善T1DM(升高C肽水平达19.5%)	2013	[45]
GAD	以氢氧化铝为佐剂的GAD蛋白疫苗	皮下注射	III期临床试验	334	C肽、HbA1c水平、胰岛素需要量在各组间无显著差异	2012	[46]
牛结核杆菌	减毒活疫苗	皮内注射	I 期临床试验	52	改善T1DM(降低HbA1c 6.65%, 较基线水平降低18%)	2018	[50]
IL-1 β	以病毒样颗粒为载体偶联疫苗	皮下注射	I 期临床试验	48	改善T2DM(HbA1c最大降幅2%, 血糖最大降幅2 mmol/L)	2016	[55]

肽分子较小、免疫原性低, 需要将其装载到载体上成为全抗原. 为构建安全有效的疫苗, 载体应具备强大的免疫原性、优秀的表位抗原负载能力、良好的稳定性及良好的生物相容性及安全性. 同时, 为避免载体预存免疫, 灭活病毒或腺病毒等载体极少用于心血管治疗性疫苗, 而KLH和VLPs这类不存在与人体自然接触免疫过程的蛋白是目前最常用的治疗性疫苗载体. KLH是来自海洋生物的大分子蛋白, VLPs是人工选择的蛋白自组装纳米颗粒. 相较而言, VLPs较KLH更具优势, 原因在于VLPs是病毒衣壳蛋白自主组装形成的纳米颗粒, 不含病毒核酸成分、免疫原性强、表位高度重复、可负载大量靶点肽段于颗粒表面, 强效启动免疫应答, 高效辅助靶点肽段特异性抗体生产, 应用过程中甚至无需佐剂辅助^[59]. 此外, 通过基因工程技术及制备工艺调整可实现基于VLP的多种疫苗形式设计. 目前, 通过化学偶联法将短肽抗原与VLP分子表面的氨基酸侧链共价结合, 构建化学偶联型疫苗^[8,16,21,22]是主要的疫苗构建方式(图1). 据此, 利用VLP表面展示外源抗原可呈现与VLP本身相似的免疫原性, 达到诱导针对负载抗原特异性免疫反应的目的^[60].

除肽偶联型疫苗外, 治疗性疫苗还包括嵌合型疫苗、DNA疫苗和mRNA疫苗. 通过分子生物学技术改造VLP分子, 将短肽氨基酸序列嵌入VLP分子中的合适位点, 同样可使短肽抗原展示于VLP表面, 从而构建嵌合型疫苗^[10,22]. DNA疫苗是可编码目的抗原的

DNA分子, 通常是质粒. DNA疫苗免疫机体后, DNA分子进入细胞启动转录和翻译过程, 表达抗原分子, 进一步引起机体免疫反应^[11,61]. 与DNA疫苗类似的mRNA作为遗传信息的中间载体, 同样可设计为mRNA疫苗, mRNA分子进入细胞质即可翻译表达抗原分子, 引起免疫反应^[62,63](表6).

2.2 治疗性疫苗的免疫应答机制

高效安全的免疫应答是治疗性疫苗发挥作用的决定性上游环节. 治疗性疫苗以自身致病分子为靶标, 免疫结局是打破机体免疫耐受, 诱导机体产生针对靶标分子的抗体^[64]. 只有经T细胞辅助的B细胞活化后才能产生高亲和力和持久的体液免疫反应^[65]. 多肽偶联疫苗是目前治疗性疫苗的主要构建形式. 载体的选择至关重要. 基于高效激活免疫的目的, 本团队选择具有强免疫原性的载体VLP, 在诱导T细胞活化和打破B细胞耐受上尤为突出, 甚至无需佐剂辅助^[66,67]. 与传统的蛋白载体相比, 拥有纳米结构的多肽-VLP疫苗能与树突状细胞(dendritic cell, DC)胞膜结构域相互作用, 通过诱导膜曲率改变促进脂筏相分离和聚集, 促进信号转导分子Src等在脂筏中聚集, 进而启动更强的膜信号转导, 强效激活免疫应答^[68].

基于疫苗的免疫应答方面的工作, 本团队总结了多肽偶联疫苗的免疫应答过程. 疫苗在与免疫系统初次接触时即被迅速识别, 参与抗原提呈的细胞有B细

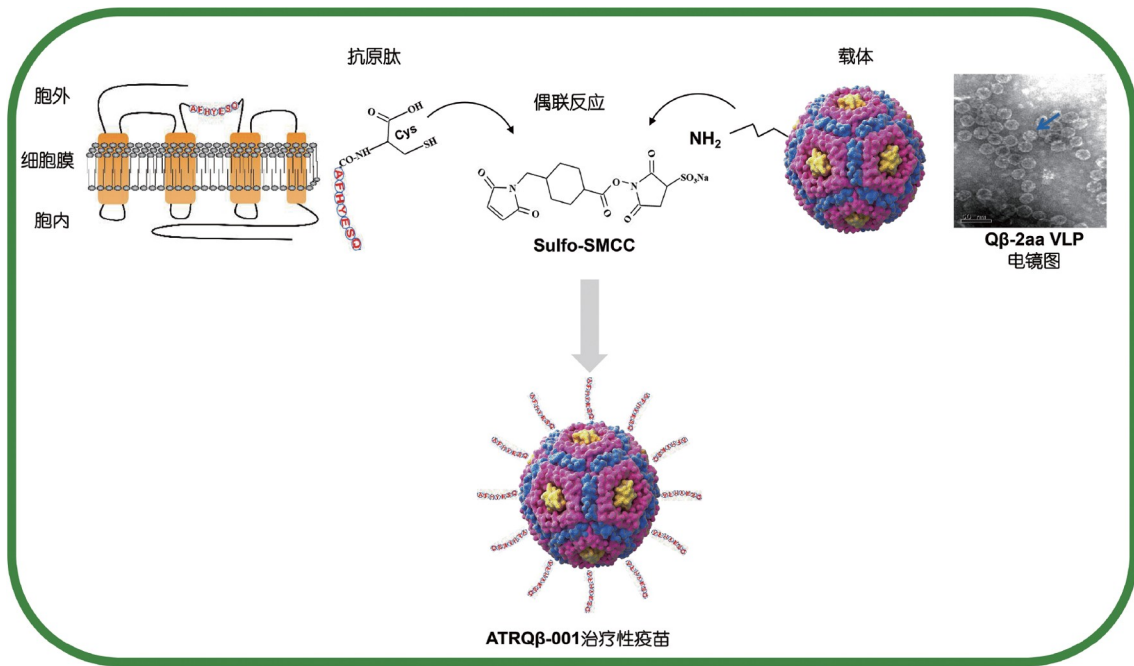


图 1 以VLP为载体的化学偶联疫苗结构示意图. 化学偶联型疫苗以极具免疫原性的大分子颗粒蛋白(如Qβ VLP)为载体, 通过化学交联剂将疫苗短肽抗原与载体蛋白偶联, 将疫苗短肽抗原充分展示于载体蛋白表面, 以利于诱导针对疫苗短肽抗原的免疫反应

Figure 1 Schematic diagram of VLP-based chemically conjugated vaccine. Chemically conjugated vaccine uses highly immunogenic macromolecular protein (such as Qβ VLP) as the carrier to conjugate short peptide antigen through a chemical cross-linking agent. The peptide antigen is displayed on the surface of the carrier protein to facilitate activation of immune response against peptide antigen

表 6 不同构建形式的治疗性疫苗

Table 6 Different forms of therapeutic vaccines

靶点	疫苗构建形式	年份	参考文献
血管紧张素 II	以Qβ VLP为载体的化学偶联疫苗	2008	[8]
AT1R	以Qβ VLP为载体的化学偶联疫苗	2013	[16]
α1DR	以Qβ VLP为载体的化学偶联疫苗	2019	[21]
L型钙通道/AT1R	以HBcAg VLP为载体的嵌合型疫苗	2019	[22]
血管紧张素 II	以HAV为载体的嵌合型疫苗	2013	[10]
血管紧张素 II	DNA疫苗	2015	[12]
SARS-CoV-2 RBD	mRNA疫苗	2020	[63]

胞、DC及巨噬细胞^[67,69,70]. VLPs在被B细胞识别摄取过程中随即激活B细胞免疫. 而DC作为最强抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC), 可有效刺激T细胞分化产生1型辅助性T细胞(type 1 T helper, Th1)、2型辅助性T细胞(Th2)及滤泡辅助性T细胞(follicular helper T cell, Tfh)等不同亚型以辅助B细胞活化增殖. 添加不同佐剂可人为调节T细胞分化方向^[71], 如寡核苷酸

(CpG)可增强Th1型细胞免疫反应, 添加铝佐剂则诱导Th2型细胞免疫反应. 其中Tfh是最强的B细胞辅助T细胞. 相较于可溶性蛋白载体疫苗而言, 大分子颗粒疫苗可更高效激活Tfh, 这也是后续B细胞反应高效持久的原因之一^[72,73]. 此外, 大分子载体疫苗可经转运沉积于滤泡区树突状细胞表面, 持续性为滤泡内B细胞提供持续抗原提呈作用^[67,74,75]. 简言之, 颗粒载体多肽偶

联疫苗可联合多种抗原提呈细胞, 激活T/B细胞免疫, Th细胞进一步辅助B细胞产生针对自身靶标的高亲和力抗体(图2).

治疗性疫苗保证免疫效应的同时能否避免抗体介导的细胞毒性反应(antibody dependent cellular cytotoxicity, ADCC)及CTL杀伤效应是重点问题之一. 通过精细设计疫苗形式和免疫方式可在很大程度上避免不良反应. 激活CTL的MHC I 类分子结合肽的最小长度为8个氨基酸, 而Th细胞识别的MHC II 类分子提呈肽至少为10~12个氨基酸. 表位抗原筛选时选择短小的单一有效肽段, 免疫复合物沉积几乎不会发生^[8,9,11,16,76]. 避免使用佐剂可减少对先天免疫系统产生强刺激并诱导自身特异性T细胞. 降低肽片段的暴露时间如延长接种间隔可明显减少不良T细胞反应^[77]. 本团队研发的疫苗提呈抗原短肽均是由7~12个氨基酸组成的单个表

位, 免疫过程不使用佐剂, 免疫间隔时间至少2周, 疫苗免疫后Tfh明显活化但不过度, $CD8^+$ T细胞未见增加, 多器官组织切片及肾脏电子显微镜切片均未见炎症及免疫复合物沉积相关损伤^[16,21,22,34], 多方面展示了多肽偶联疫苗的免疫安全性. 其他疫苗研发团队, 如Nakagami等人^[9,78]亦证实他们设计的疫苗中抗原短肽是B细胞抗原而不是T细胞抗原, 避免了T细胞杀伤效应及自身免疫损伤.

其他类型疫苗因构建形式不同, 在与免疫系统初次接触过程中存在差异, 但后续都需要诱导机体产生针对目的抗原的特异性抗体. 嵌合型疫苗是将抗原肽信息提前插入载体蛋白序列后表达出来的蛋白疫苗, 其免疫应答过程与多肽偶联疫苗类似. DNA疫苗和mRNA疫苗注射后均需先进入细胞转录、翻译后表达为特定抗原, 再被APCs摄取处理后以MHC-抗原肽

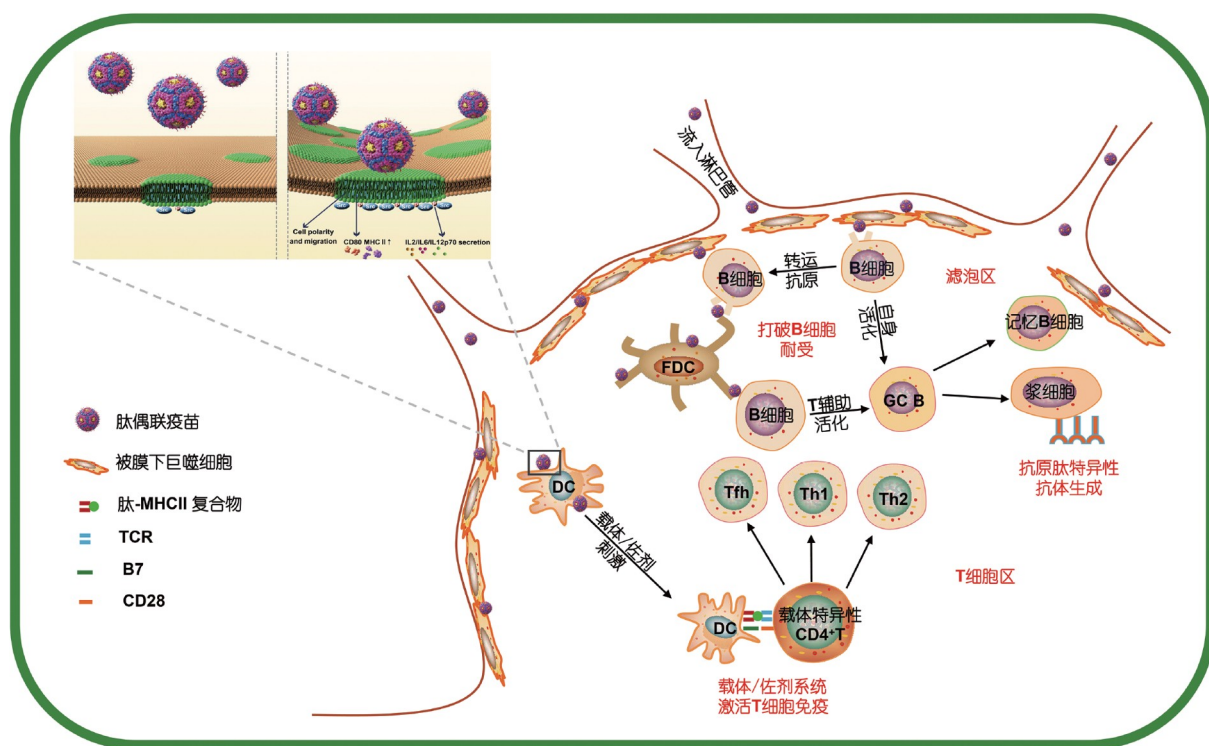


图 2 多肽偶联疫苗的免疫应答机制. 以VLP纳米颗粒为载体的肽偶联疫苗可快速被非特异性免疫识别. 纳米颗粒疫苗以膜脂筏依赖途径高效激活DC^[68], 活化后DC可有效激活T辅助细胞. 同时疫苗被巨噬细胞及B细胞捕获并提呈给滤泡区FDC细胞促进B细胞增殖活化, 联合T细胞的辅助作用共同诱导B细胞分化为具有分泌高亲和力抗原肽特异性抗体的浆细胞和具有长期记忆功能的记忆性B细胞

Figure 2 Immune responses of peptide conjugated vaccines. Peptide conjugated vaccines using VLP nanoparticles as the carrier can be quickly recognized by unspecific immunity. Nanoparticle vaccine activates DCs efficiently via lipid raft dependent pathway^[68]. Mature DCs present peptide-MHC II complex to effectively activate T helper cells. Vaccine captured by macrophages and B cells is presented to follicular FDC cells to promote the proliferation and activation of B cells. Combined with auxiliary effect from Th cells, B cells finally differentiate into plasma cells secreting high affinity peptide specific antibodies and memory B cells with long-term memory

复合物形式提呈给T细胞, 激活T细胞免疫及随后的体液免疫反应^[61,62]。外源DNA和mRNA具有免疫原性, 可快速激活多种APCs并启动后续特异性免疫反应, 但过度反应可导致疫苗被提前清除, 抗原表达量和疫苗效应下降^[79,80]。通过纯化核酸或优化呈递系统来塑造核酸疫苗的免疫原性, 可最大化抗原表达并避免过度免疫反应^[81,82]。相反, 佐剂的加入可以提高核酸疫苗的免疫原性。目前核酸疫苗研发集中于癌症及感染性疾病, 诱发的免疫效应包括针对表达抗原的细胞和体液免疫反应。心血管病领域研究成果极少, 这与核酸疫苗潜在的不利T细胞反应有关, 如何平衡免疫效应和安全性方面仍需探索。

2.3 降压疫苗ATRQβ-001的偏向性作用机制

ATRQβ-001疫苗是本团队研发的首个心血管病治疗性疫苗。研究表明, ATRQβ-001疫苗有效降低高血压动物血压, 保护心肾靶器官, 减轻动脉粥样硬化, 不引起RAS反馈激活, 不影响正常动物血压^[16,18]。以此疫苗为例, 本团队深入研究了针对疫苗抗原肽的抗体在血管稳态调节中的独特机制。本团队^[83]制备了针对该疫苗抗原肽的单克隆抗体(McAb-ATR), 发现AT1R ECL2的Phe182-His183-Tyr184是McAb-ATR的关键结合位点, 并且与AT1R是一种非竞争性结合。AT1R下游主要包括G蛋白依赖性信号传导和beta-arrestin信号传导两种方式^[84-86]。当Ang II激活AT1R/Gq时, 异源三聚体Gq蛋白的Gαq和Gβγ亚基发生解偶联, 并将信号转导至磷脂酶C(phospholipase C, PLC)-三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP3), 导致细胞内Ca²⁺的释放^[87-89]。在肾小球旁细胞中, 胞内Ca²⁺浓度的增加会抑制腺苷酸环化酶AC5和AC6的活性, 从而抑制肾素的释放^[90,91]。ARBs由于抑制了Gq依赖的胞内Ca²⁺的释放^[92], 最终消除了肾素释放的抑制, 从而引起RAS的反馈激活^[93,94]。本团队发现, McAb-ATR不影响Ang II诱导异三聚体G蛋白(Gq或Gi2/i3)的解偶联及Gq依赖的细胞内Ca²⁺释放, 从而不引起RAS反馈激活。

Ang II通过Gq/PKC和beta-arrestin2依赖性信号通路激活细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)磷酸化^[95,96], 这两条信号通路表现出不同的时间特征: Gq/PKC依赖性的ERK1/2磷酸化是快速且短暂的(峰值<2 min, t1/2=2 min), 而beta-arrestin2依赖性的ERK1/2磷酸化则较慢和延长(峰值5~10 min, 持续超过90 min)^[97]。本团

队发现, McAb-ATR偏向性抑制Ang II或S II-Ang诱导的beta-arrestin2依赖的延长ERK1/2磷酸化, 促进beta-arrestin介导的NFκB p65失活, 抑制动脉粥样硬化发生及进展^[83](图3)。除ATRQβ-001疫苗外, 本团队发明的针对肾上腺素能受体的ADRQβ-004疫苗及针对ETAR的ETRQβ-003肺动脉高压疫苗, 均在发挥有效作用的同时, 不引起系统的反馈激活, 不对正常模型动物产生治疗作用^[20,98]。本团队推测, 此类针对GPCR的疫苗均具有类似的偏向性作用特征。

3 心血管病治疗性疫苗面临的挑战和机遇

经过数十年的努力, 治疗性疫苗领域已经取得了一系列可喜的成果。新靶点、新剂型以及新构建方案的持续涌现, 不断启发着疫苗研发人员。同时, 研究者们也要冷静地看到, 迄今尚无成功通过临床试验并上市的疫苗, 其原因涉及多个方面。(i) 治疗靶点选择欠佳: Ang II是高血压的关键致病分子之一, 但针对Ang II的疫苗免疫后Ang II反馈性增加^[8], 一定程度上影响治疗效果, 因此靶点选择尽量避免反馈性激活RAS的分子。(ii) 载体提呈能力不足: 早期的破伤风类毒素蛋白提呈能力有限, 且因预存免疫的问题, 已不适合作为疫苗载体使用, 而目前常用的KLH, 具有更大的分子量及更强的免疫原性, 但在辅助短肽疫苗抗体生成能力上表现尚不够突出^[7]。(iii) 筛选的抗原片段不理想, 不是介导分子功能的关键片段, 或者诱导了不良免疫反应, 如肾素全抗原疫苗引起了针对肾素的过度免疫并造成免疫性肾损伤^[2]。(iv) 免疫方案不合理: CYT006-AngQb疫苗^[11] II期临床试验中, 疫苗接种间隔期过长, 第3次免疫时抗体效价过低, 且后续没有加强免疫, 最终影响疗效, 临床试验中如何制定免疫方案仍需优化。(v) 实验动物和人体存在差异: 数个在实验动物中疗效明确的疫苗在临床试验中未观察到治疗效果^[7,8,28,46], 免疫效应不佳是主要原因, 提示人体与实验动物之间免疫机制存在差异。诸多原因之中, 第1和第2个是主要影响因素。

治疗性疫苗研发面临诸多挑战, 要想获得成功, 在靶点选择、疫苗设计及免疫方案实施等多方面都需要严格把关。首先, 尽可能选择作用关键的靶分子, 优化抗原片段筛选方案, 保证抗原特异性、有效性的同时避免不良免疫反应。抗原筛选时应选择短小的有效肽

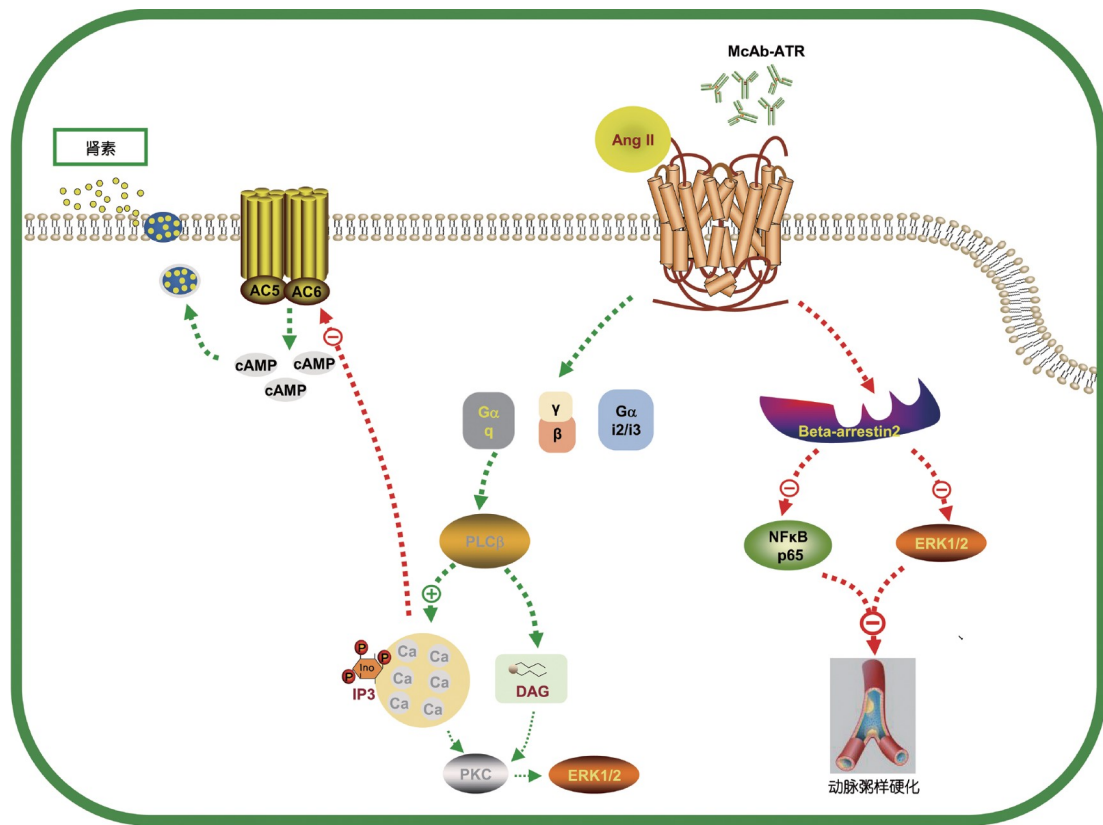


图 3 ATRQβ-001疫苗靶向AT1R的偏向性作用机制. McAb-ATR与AT1R特异性结合后, McAb-ATR不影响Gq和Gi2/i3信号通路: 不影响Ang II诱导Gq或Gi2/i3的解偶联, Gq-PLCβ介导的胞内Ca²⁺释放, 以及Ca²⁺抑制AC5/6-cAMP途径介导的肾素释放. McAb-ATR偏向性调节了beta-arrestin2信号通路, 通过抑制Ang II诱导的beta-arrestin2依赖的ERK1/2磷酸化并促进了beta-arrestin2介导的NFκB p65失活来抑制动脉粥样硬化

Figure 3 Biased regulation of ATRQβ-001 vaccine targeting AT1R. McAb-ATR specifically combined with AT1R without influences on Gq and Gi2/i3 signaling pathways, Ang II induced Gq or Gi2/i3 uncoupling, Gq-PLCβ mediated Ca²⁺ release and renin release mediated by Ca²⁺ inhibited AC5/6-camp pathway. McAb-ATR biased regulates the beta-arrestin2 signaling pathway by inhibiting Ang II induced beta-arrestin2-dependent ERK1/2 phosphorylation and promoting beta-arrestin2-mediated NFκB p65 inactivation to inhibit atherosclerosis

段避免CTL效应, 选择位于分子结合或活性位点的片段, 片段应分布于分子表面, 具有良好的亲水性和抗原性. 以ATRQβ-001疫苗为例, ATR-001肽段是选自AT1R胞外段活化结合位点的线性表位, 片段特异性高, 可诱导高滴度抗体且易于与AT1R结合, 有效抑制AT1R功能的同时避免RAS反馈激活^[15]. 其次, 选择抗原提呈效果更好、更加安全稳定的载体. 例如, 噬菌体病毒样颗粒载体VLPs, 与人种属差异大, 具有球形结构, 表面高度重复, 能高效负载肽段, 作为蛋白颗粒生物相容性良好, 免疫原性极强, 是理想的生物靶向治疗载体. 再次, 优化免疫方案兼顾免疫效果及安全性. 与预防性疫苗不同的是, 心血管病疫苗需定期免疫以长期维持有效抗体滴度, 保证对于致病靶点的持续抑制. 对于抗体的药代动力学及药效学的研究能够指导免疫

方案的具体实施. ATRQβ-001疫苗诱导的IgG抗体半衰期为14.4天, 据此设置免疫间隔期为4~6周, 能够持续维持有效的抗体滴度. 最后, 目前国内缺乏治疗性疫苗创新性整合研发平台, 需多家企业合作才能完成该类疫苗的中试制备、安全性评价及药理药效研究, 未来完善整合平台的建设也是必需的.

目前绝大多数心血管治疗性疫苗仅针对单一靶点, 多数研究均显示了良好的治疗效果. 然而心血管病是多种因素交互作用的结果, 心血管病患者常常多种危险因素并存, 针对多靶点的联合治疗性疫苗有望成为更具优势的疫苗研发方向, 打开新局面. 目前, 本团队研发出系列心血管病疫苗, 包括靶向AT1R的ATRQβ-001疫苗、针对肾上腺素能受体的ADRQβ-004疫苗、拮抗L型钙通道的钙通道降压疫苗及抑制

PCSK9的PCSK9Q β -003降脂疫苗等,同时,本团队还研发了一种同时针对L型钙通道和AT1R的双靶点嵌合型疫苗,展示了优于单纯钙通道或AT1R疫苗的降压效果,在联合疫苗上进行了初步尝试。然而,是依托单个载体进行多靶点疫苗构建还是不同疫苗联合使用,以及联合疫苗的具体实施路径等重大问题,需要进一步探索,未来还有大量的工作需要完善。

心血管疾病及危险因素带来的巨大健康威胁是我们亟需面临的挑战。治疗性疫苗平稳、持久、高效的

优势使之成为极具应用前景的治疗手段。治疗性疫苗作为一种新型长效的治疗手段,将极大地改善患者治疗依从性,在未来慢病管理中,有望成为“医院-社区-患者”三位一体的慢性病管理的有效治疗手段,进而提高慢性心血管病的治疗率和控制率,对慢性心血管病防治的管理模式带来巨大变革。这是心血管疫苗研发人员的期望和梦想,在此之前,我们还需要脚踏实地,攻克难题,保持创新,助力治疗性疫苗早日成为防治心血管病的利器。

参考文献

- 1 The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health and Diseases in China. Report on cardiovascular health and diseases in China 2019: an updated summary (in Chinese). *Chin Circul J*, 2020, 35: 833–854 [中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告2019概要. 中国循环杂志, 2020, 35: 833–854]
- 2 Brown M J. Success and failure of vaccines against renin-angiotensin system components. *Nat Rev Cardiol*, 2009, 6: 639–647
- 3 Helmer O M. Studies on renin antibodies. *Circulation*, 1958, 17: 648–652
- 4 Michel J B, Guettier C, Philippe M, et al. Active immunization against renin in normotensive marmoset. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 4346–4350
- 5 Qiu Z, Chen X, Zhou Y, et al. Therapeutic vaccines against human and rat renin in spontaneously hypertensive rats. *PLoS ONE*, 2013, 8: e66420
- 6 Gardiner S M, Auton T R, Downham M R, et al. Active immunization with angiotensin I peptide analogue vaccines selectively reduces the pressor effects of exogenous angiotensin I in conscious rats. *Br J Pharmacol*, 2000, 129: 1178–1182
- 7 Brown M J, Coltart J, Gunewardena K, et al. Randomized double-blind placebo-controlled study of an angiotensin immunotherapeutic vaccine (PMD3117) in hypertensive subjects. *Clin Sci*, 2004, 107: 167–173
- 8 Ambühl P M, Tissot A C, Fulurija A, et al. A vaccine for hypertension based on virus-like particles: preclinical efficacy and phase I safety and immunogenicity. *J Hypertension*, 2007, 25: 63–72
- 9 Nakagami F, Koriyama H, Nakagami H, et al. Decrease in blood pressure and regression of cardiovascular complications by angiotensin II vaccine in mice. *PLoS ONE*, 2013, 8: e60493
- 10 Ou X, Guo L, Wu J, et al. Construction, expression and immunogenicity of a novel anti-hypertension angiotensin II vaccine based on hepatitis A virus-like particle. *Hum Vaccines Immunother*, 2013, 9: 1191–1199
- 11 Tissot A C, Maurer P, Nussberger J, et al. Effect of immunisation against angiotensin II with CYT006-AngQb on ambulatory blood pressure: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase IIa study. *Lancet*, 2008, 371: 821–827
- 12 Koriyama H, Nakagami H, Nakagami F, et al. Long-term reduction of high blood pressure by angiotensin II DNA vaccine in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 2015, 66: 167–174
- 13 Nakamaru R, Nakagami H, Rakugi H, et al. Future directions of therapeutic vaccines for chronic diseases. *Circ J*, 2020, 84: 1895–1902
- 14 Zhu F, Liao Y, Li L, et al. Target organ protection from a novel angiotensin II receptor (AT1) vaccine ATR12181 in spontaneously hypertensive rats. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3: 107–114
- 15 Azegami T, Sasamura H, Hayashi K, et al. Vaccination against the angiotensin type 1 receptor for the prevention of L-NAME-induced nephropathy. *Hypertens Res*, 2012, 35: 492–499
- 16 Chen X, Qiu Z, Yang S, et al. Effectiveness and safety of a therapeutic vaccine against angiotensin II receptor type 1 in hypertensive animals. *Hypertension*, 2013, 61: 408–416
- 17 Zhou Y, Wang S, Qiu Z, et al. ATRQ β -001 vaccine prevents atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *J Hypertension*, 2016, 34: 474–485
- 18 Ding D, Du Y, Qiu Z, et al. Vaccination against type 1 angiotensin receptor prevents streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *J Mol Med*, 2016, 94: 207–218

- 19 Zhang H, Liao M, Cao M, et al. ATRQ β -001 vaccine prevents experimental abdominal aortic aneurysms. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8: e012341
- 20 Pan Y, Zhou Z, Zhang H, et al. The ATRQ β -001 vaccine improves cardiac function and prevents postinfarction cardiac remodeling in mice. *Hypertens Res*, 2019, 42: 329–340
- 21 Li C, Yan X, Wu D, et al. Vaccine targeted alpha 1D-adrenergic receptor for hypertension. *Hypertension*, 2019, 74: 1551–1562
- 22 Wu H, Wang Y, Wang G, et al. A bivalent antihypertensive vaccine targeting L-type calcium channels and angiotensin AT₁ receptors. *Br J Pharmacol*, 2020, 177: 402–419
- 23 Ger S, Gergely J, Jakab L, et al. Inhibition of cholesterol atherosclerosis by immunisation with beta-lipoprotein. *Lancet*, 1959, 274: 6–7
- 24 Asgary S, Saberi S A, Azampanah S. Effect of immunization against ox-LDL with two different antigens on formation and development of atherosclerosis. *Lipids Health Dis*, 2007, 6: 32
- 25 Fredrikson G N, Björkbacka H, Söderberg I, et al. Treatment with apo B peptide vaccines inhibits atherosclerosis in human apo B-100 transgenic mice without inducing an increase in peptide-specific antibodies. *J Internal Med*, 2010, 264: 563–570
- 26 Rittershaus C W, Miller D P, Thomas L J, et al. Vaccine-induced antibodies inhibit CETP activity *in vivo* and reduce aortic lesions in a rabbit model of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20: 2106–2112
- 27 Mao D, Kai G, Gaofu Q, et al. Intramuscular immunization with a DNA vaccine encoding a 26-amino acid CETP epitope displayed by HBc protein and containing CpG DNA inhibits atherosclerosis in a rabbit model of atherosclerosis. *Vaccine*, 2006, 24: 4942–4950
- 28 Davidson M H, Maki K, Umporowicz D, et al. The safety and immunogenicity of a CETP vaccine in healthy adults. *Atherosclerosis*, 2003, 169: 113–120
- 29 Bourinbaier A S, Jirathitikal V. Safety and efficacy trial of adipose-tissue derived oral preparation V-6 Immunitor (V-6): results of open-label, two-month, follow-up study. *Lipids Health Dis*, 2010, 9: 14
- 30 Katsiki N, Athyros V G, Mikhailidis D P, et al. Proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 (PCSK9) inhibitors: shaping the future after the further cardiovascular outcomes research with PCSK9 inhibition in subjects with elevated risk (FOURIER) trial. *Metabolism*, 2017, 74: 43–46
- 31 Sabatine M S, Giugliano R P, Keech A C, et al. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med*, 2017, 376: 1713–1722
- 32 Fattori E, Cappelletti M, Lo Surdo P, et al. Immunization against proprotein convertase subtilisin-like/kexin type 9 lowers plasma LDL-cholesterol levels in mice. *J Lipid Res*, 2012, 53: 1654–1661
- 33 Galabova G, Brunner S, Winsauer G, et al. Peptide-based anti-PCSK9 vaccines—an approach for long-term LDLc management. *PLoS ONE*, 2014, 9: e114469
- 34 Pan Y, Zhou Y, Wu H, et al. A therapeutic peptide vaccine against PCSK9. *Sci Rep*, 2017, 7: 12534
- 35 Wu D, Pan Y, Yang S, et al. PCSK9Q β -003 vaccine attenuates atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2021, 35: 141–151
- 36 Wu D, Zhou Y, Pan Y, et al. Vaccine against PCSK9 improved renal fibrosis by regulating fatty acid β -oxidation. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9
- 37 Landlinger C, Pouwer M G, Juno C, et al. The AT04A vaccine against proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces total cholesterol, vascular inflammation, and atherosclerosis in APOE*3Leiden.CETP mice. *Eur Heart J*, 2017, 38: 2499–2507
- 38 Roep B O, Wheeler D C S, Peakman M. Antigen-based immune modulation therapy for type 1 diabetes: the era of precision medicine. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7: 65–74
- 39 Harrison L C, Dempsey-Collier M, Kramer D R, et al. Aerosol insulin induces regulatory CD8 $\gamma\delta$ T cells that prevent murine insulin-dependent diabetes. *J Exp Med*, 1996, 184: 2167–2174
- 40 Holmgren J, Czerkinsky C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat Med*, 2005, 11: S45–S53
- 41 Krischer J P, Schatz D A, Bundy B, et al. Effect of oral insulin on prevention of diabetes in relatives of patients with type 1 diabetes. *JAMA*, 2017, 318: 1891–1902
- 42 Assfalg R, Knoop J, Hoffman K L, et al. Oral insulin immunotherapy in children at risk for type 1 diabetes in a randomised controlled trial. *Diabetologia*, 2021, 64: 1079–1092
- 43 Fourlanos S, Perry C, Gellert S A, et al. Evidence that nasal insulin induces immune tolerance to insulin in adults with autoimmune diabetes. *Diabetes*, 2011, 60: 1237–1245
- 44 Nantö-Salonen K, Kupila A, Simell S, et al. Nasal insulin to prevent type 1 diabetes in children with HLA genotypes and autoantibodies conferring increased risk of disease: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 2008, 372: 1746–1755

- 45 Roep B O, Solvason N, Gottlieb P A, et al. Plasmid-encoded proinsulin preserves C-peptide while specifically reducing proinsulin-specific CD8⁺ T cells in type 1 diabetes. *Sci Transl Med*, 2013, 5: 191ra82
- 46 Ludvigsson J, Krisky D, Casas R, et al. GAD65 antigen therapy in recently diagnosed type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 2012, 366: 433–442
- 47 Ludvigsson J. GAD-alum (Diamyd)—a new concept for preservation of residual insulin secretion. *Expert Opin Biol Ther*, 2010, 10: 787–799
- 48 Wherrett D K, Bundy B, Becker D J, et al. Antigen-based therapy with glutamic acid decarboxylase (GAD) vaccine in patients with recent-onset type 1 diabetes: a randomised double-blind trial. *Lancet*, 2011, 378: 319–327
- 49 Karges W, Pechhold K, Al Dahouk S, et al. Induction of autoimmune diabetes through insulin (but not GAD65) DNA vaccination in nonobese diabetic and in RIP-B7.1 mice. *Diabetes*, 2002, 51: 3237–3244
- 50 Kuhlreier W, Tran L, Nguyen B, et al. Long-term reduction in hyperglycemia in advanced type 1 diabetes—the value of induced aerobic glycolysis by BCG vaccinations. *Diabetes*, 2018, 67: 2339-PUB
- 51 Leong I. BCG vaccination for type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14: 503
- 52 Donath M Y. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: time to start. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13: 465–476
- 53 Zhang Y, Yu X L, Zha J, et al. Therapeutic vaccine against IL-1 β improved glucose control in a mouse model of type 2 diabetes. *Life Sci*, 2018, 192: 68–74
- 54 Spohn G, Schori C, Keller I, et al. Preclinical efficacy and safety of an anti-IL-1 β vaccine for the treatment of type 2 diabetes. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2014, 1: 14048
- 55 Cavelti-Weder C, Timper K, Seelig E, et al. Development of an interleukin-1 β vaccine in patients with type 2 diabetes. *Mol Ther*, 2016, 24: 1003–1012
- 56 Mandrup-Poulsen T. IAPP boosts islet macrophage IL-1 in type 2 diabetes. *Nat Immunol*, 2010, 11: 881–883
- 57 Bram Y, Peled S, Brahmachari S, et al. Active immunization against hIAPP oligomers ameliorates the diabetes-associated phenotype in a transgenic mice model. *Sci Rep*, 2017, 7: 14031
- 58 Roesti E S, Boyle C N, Zeman D T, et al. Vaccination against amyloidogenic aggregates in pancreatic islets prevents development of type 2 diabetes mellitus. *Vaccines*, 2020, 8: 116
- 59 Mohsen M O, Zha L, Cabral-Miranda G, et al. Major findings and recent advances in virus-like particle (VLP)-based vaccines. *Semin Immunol*, 2017, 34: 123–132
- 60 Bachmann M F, Jennings G T. Vaccine delivery: a matter of size, geometry, kinetics and molecular patterns. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 787–796
- 61 Kutzler M A, Weiner D B. DNA vaccines: ready for prime time? *Nat Rev Genet*, 2008, 9: 776–788
- 62 Jahanafrooz Z, Baradaran B, Mosafer J, et al. Comparison of DNA and mRNA vaccines against cancer. *Drug Discov Today*, 2020, 25: 552–560
- 63 Zhang N N, Li X F, Deng Y Q, et al. A thermostable mRNA vaccine against COVID-19. *Cell*, 2020, 182: 1271–1283.e16
- 64 Guerrero-Beltrán C E, Mijares-Rojas I A, Salgado-Garza G, et al. Peptidic vaccines: the new cure for heart diseases? *Pharmacol Res*, 2021, 164: 105372
- 65 Zabel F, Fettelschoss A, Vogel M, et al. Distinct T helper cell dependence of memory B-cell proliferation versus plasma cell differentiation. *Immunology*, 2017, 150: 329–342
- 66 Hu X, Deng Y, Chen X, et al. Immune response of a novel ATR-AP205-001 conjugate anti-hypertensive vaccine. *Sci Rep*, 2017, 7: 12580
- 67 Hong S, Zhang Z, Liu H, et al. B cells are the dominant antigen-presenting cells that activate naive CD4⁺ T cells upon immunization with a virus-derived nanoparticle antigen. *Immunity*, 2018, 49: 695–708.e4
- 68 Hu X, Chen X, Shi X, et al. Bionanoparticle-based delivery in antihypertensive vaccine mediates DC activation through lipid-raft reorganization. *Adv Funct Mater*, 2020, 30: 2000346
- 69 Avalos A M, Ploegh H L. Early BCR events and antigen capture, processing, and loading on MHC class II on B cells. *Front Immunol*, 2014, 5: 92
- 70 Link A, Zabel F, Schnetzler Y, et al. Innate immunity mediates follicular transport of particulate but not soluble protein antigen. *J Immunol*, 2012, 188: 3724–3733
- 71 Martins K A O, Cooper C L, Stronsky S M, et al. Adjuvant-enhanced CD4 T cell responses are critical to durable vaccine immunity. *Ebiomedicine*, 2016, 3: 67–78
- 72 Moon J J, Suh H, Li A V, et al. Enhancing humoral responses to a malaria antigen with nanoparticle vaccines that expand Tfh cells and promote

- germinal center induction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 1080–1085
- 73 Rincon-Restrepo M, Mayer A, Hauert S, et al. Vaccine nanocarriers: coupling intracellular pathways and cellular biodistribution to control CD4 vs CD8 T cell responses. *Biomaterials*, 2017, 132: 48–58
 - 74 Wang X, Cho B, Suzuki K, et al. Follicular dendritic cells help establish follicle identity and promote B cell retention in germinal centers. *J Exp Med*, 2011, 208: 2497–2510
 - 75 Kelly H G, Tan H X, Juno J A, et al. Self-assembling influenza nanoparticle vaccines drive extended germinal center activity and memory B cell maturation. *JCI Insight*, 2020, 5: e136653
 - 76 Farlow M R, Andreasen N, Riviere M E, et al. Long-term treatment with active A β immunotherapy with CAD106 in mild Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 2015, 7: 23
 - 77 Bachmann M F, Beerli R R, Agnellini P, et al. Long-lived memory CD8⁺ T cells are programmed by prolonged antigen exposure and low levels of cellular activation. *Eur J Immunol*, 2006, 36: 842–854
 - 78 Nakagami H, Morishita R. Recent advances in therapeutic vaccines to treat hypertension. *Hypertension*, 2018, 72: 1031–1036
 - 79 Li L, Petrovsky N. Molecular mechanisms for enhanced DNA vaccine immunogenicity. *Expert Rev Vaccines*, 2016, 15: 313–329
 - 80 Kowalski P S, Rudra A, Miao L, et al. Delivering the messenger: advances in technologies for therapeutic mRNA delivery. *Mol Ther*, 2019, 27: 710–728
 - 81 Karikó K, Muramatsu H, Ludwig J, et al. Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. *Nucl Acids Res*, 2011, 39: e142
 - 82 Rettig L, Haen S P, Bittermann A G, et al. Particle size and activation threshold: a new dimension of danger signaling. *Blood*, 2010, 115: 4533–4541
 - 83 Wang Y, Fan Z, Xu C, et al. Anti-ATR001 monoclonal antibody ameliorates atherosclerosis through beta-arrestin2 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 544: 1–7
 - 84 Higuchi S, Ohtsu H, Suzuki H, et al. Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci*, 2007, 112: 417–428
 - 85 Karnik S S, Unal H, Kemp J R, et al. International union of basic and clinical pharmacology. XCIX. Angiotensin receptors: interpreters of pathophysiological angiotensinergic stimuli. *Pharmacol Rev*, 2015, 67: 754–819
 - 86 Garrido A M, Griendling K K. NADPH oxidases and angiotensin II receptor signaling. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 302: 148–158
 - 87 Kawai T, Forrester S J, O'Brien S, et al. AT1 receptor signaling pathways in the cardiovascular system. *Pharmacol Res*, 2017, 125: 4–13
 - 88 Kostenis E, Pfeil E M, Annala S. Heterotrimeric Gq proteins as therapeutic targets? *J Biol Chem*, 2020, 295: 5206–5215
 - 89 Dorn G W II, Force T. Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy. *J Clin Invest*, 2005, 115: 527–537
 - 90 Grunberger C, Obermayer B, Klar J, et al. The calcium paradoxon of renin release. *Circ Res*, 2006, 99: 1197–1206
 - 91 Ortiz-Capisano M C, Ortiz P A, Harding P, et al. Decreased intracellular calcium stimulates renin release via calcium-inhibitable adenylyl cyclase. *Hypertension*, 2007, 49: 162–169
 - 92 Domazet I, Holleran B J, Richard A, et al. Characterization of angiotensin II molecular determinants involved in AT₁ receptor functional selectivity. *Mol Pharmacol*, 2015, 87: 982–995
 - 93 Ichihara A, Suzuki H, Murakami M, et al. Interactions between angiotensin II and norepinephrine on renin release by juxtaglomerular cells. *Eur J Endocrinol*, 1995, 133: 569–577
 - 94 Wal A, Rai A K, Dixit A, et al. Aliskiren: an orally active renin inhibitor. *J Pharm Bioall Sci*, 2011, 3: 189–193
 - 95 Wei H, Ahn S, Shenoy S K, et al. Independent β -arrestin 2 and G protein-mediated pathways for angiotensin II activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 10782–10787
 - 96 Kim J, Ahn S, Rajagopal K, et al. Independent β -arrestin2 and Gq/protein kinase C ζ pathways for ERK stimulated by angiotensin type 1A receptors in vascular smooth muscle cells converge on transactivation of the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem*, 2009, 284: 11953–11962
 - 97 Ahn S, Shenoy S K, Wei H, et al. Differential kinetic and spatial patterns of β -arrestin and G protein-mediated ERK activation by the angiotensin II receptor. *J Biol Chem*, 2004, 279: 35518–35525
 - 98 Dai Y, Chen X, Song X, et al. Immunotherapy of endothelin-1 receptor type A for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73: 2567–2580

Progress and prospects of therapeutic vaccines for cardiovascular diseases

QIU ZhiHua, HU XiaJun, ZHOU YanZhao, WU HaiLang, ZHENG JiaYu, WANG YingXuan & LIAO YuHua

Department of cardiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Effective prevention and treatment of cardiovascular risk factors such as hypertension, hyperlipidemia and diabetes reduce the risk of cardiovascular death. However, the rates of awareness, treatment and control for cardiovascular risk factors in China are still low. Prevention and treatment of cardiovascular diseases is facing huge challenges and difficulties. To explore safe and effective therapeutic methods for cardiovascular diseases and improve treatment compliance, our team has worked hard for long in the field of therapeutic vaccines for cardiovascular diseases, which makes us full of hope for the application prospects of therapeutic vaccines. This article will systematically introduce the research progress in the field of therapeutic vaccines for hypertension, hyperlipidemia and diabetes, clarify the immune response mechanism of peptide-conjugated vaccines and the biased mechanism of ATRQ β -001 hypertension vaccines, aiming to promote basic research and clinical translation in the field of therapeutic vaccines and make therapeutic vaccines an important weapon for the prevention and treatment of cardiovascular diseases soon.

prevention and treatment of cardiovascular diseases, therapeutic vaccine, immune response, biased regulation

doi: [10.1360/SSV-2021-0133](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0133)