

基于T细胞免疫的通用流感疫苗进展研究综述

林 颖

山东大学公共卫生学院, 山东 济南

收稿日期: 2023年6月18日; 录用日期: 2023年7月13日; 发布日期: 2023年7月20日

摘 要

流行性感冒是一种广泛传播的呼吸道疾病, 每年都会导致全球数百万人感染和数十万人死亡。目前的流感疫苗主要依赖于特定病毒株的识别, 并且需要经常更新以适应流感病毒的变异。为了应对这一挑战, 研究人员致力于开发一种通用流感疫苗, 能够提供广谱的保护性免疫反应。本文综述了基于T细胞免疫的通用流感疫苗的最新进展研究。

关键词

流感病毒, 通用疫苗, T细胞免疫

Research Overview of Advances in Universal Influenza Vaccines Based on T-Cell Immunity

Ying Lin

School of Public Health, Shandong University, Jinan Shandong

Received: Jun. 18th, 2023; accepted: Jul. 13th, 2023; published: Jul. 20th, 2023

Abstract

Influenza, also known as seasonal flu, is a widely spread respiratory disease that infects millions of people and causes hundreds of thousands of deaths worldwide each year. Current influenza

vaccines primarily rely on the recognition of specific viral strains and require regular updates to match the evolving influenza viruses. To address this challenge, researchers have been devoted to developing a universal influenza vaccine that can provide broad-spectrum protective immune responses. This article provides an overview of the latest advances in research on universal influenza vaccines based on T-cell immunity.

Keywords

Influenza Virus, Universal Vaccine, T-Cell Immunity

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

流行性感冒病毒(influenza virus, 以下简称流感病毒)是一种广泛传播的呼吸道病毒,主要通过感染者呼吸道分泌物产生的飞沫和气溶胶传播[1]。流感病毒属于正黏病毒科,基因组为分节段的单股负链 RNA,在 1933 年首次被分离[2] [3]。根据其表面抗原的不同,流感病毒被分为 ABCD 四种类型。其中, A 型流感病毒感染人类和禽类等动物,可引起流感的大流行,例如 1918 年西班牙流感大流行,根据其表面 18 种血凝素蛋白(haemagglutinin, HA)以及 9 种神经氨酸酶蛋白(neuraminidase, NA)的不同组合有着多种亚型[4] [5]。B 型流感病毒变异速度较慢,几乎完全限于人类,但可以与 A 型流感病毒共同传播引起季节性流感的流行,分为 B/Victoria 系和 B/Yamagata 谱系[6]。C 型与 D 型流感病毒通常引起散发疾病,与人类流感流行无关[7]。

流感疫苗接种是预防流感最安全有效的方法之一[8]。世界卫生组织(WHO)每年根据流感的流行情况更新三价和四价流感灭活疫苗的推荐,灭活疫苗主要通过激发人体产生针对疫苗株流感病毒表面蛋白 HA 和 NA 的抗体来预防流感。尽管灭活疫苗对大多数接种者有效,但它目前未能从根本上消除流感病毒在人群中的传播。其原因在于流感病毒 RNA 复制时易出错,导致流感病毒抗原常常发生抗原漂移和抗原漂变,以逃避先前由于感染或接种疫苗产生的特异性中和抗体,导致季节性流感的复发[9] [10]。为了应对这种情况,每个流感季节,WHO 都需要更新流感疫苗,以确保疫苗与目前流行的流感毒株匹配。然而,这往往造成大量人力财力的浪费。因此,我们需要研究开发通用的流感疫苗,以应对流感病毒的变异,更有效地预防流感的发生。

基于目前对人类[11] [12] [13]和小鼠[14] [15] [16]中流感病毒的 T 细胞免疫的研究显示,CD8⁺ T 细胞在清除病毒方面发挥着重要作用。与抗体不同, T 细胞可以识别病毒内部保守的蛋白序列,并提供广谱而持久的保护。为了开发通用 T 细胞流感疫苗,通常选择在不同流感病毒株中保守性较高的 M2、HA2、M1、NP 等抗原区域作为免疫原,以诱导机体产生交叉保护性 T 细胞免疫反应,来应对流感病毒的变异[17] [18]。有研究表明在流感 PB1 蛋白中,特异性表位的记忆 CD8⁺ T 细胞能与 A 型、B 型和 C 型三种流感病毒发生交叉反应[19]。此外,研究显示 CD8⁺ T 细胞可以长期存在于人体,甚至可在外周血中稳定存在长达 13 年[20],这意味着在疫苗接种后很长一段时间内,免疫系统仍然能够迅速识别和攻击感染的流感病毒,提供持久的保护。因此,基于 T 细胞免疫的通用流感疫苗,特别是靶向高度保守的内部蛋白,可能成为为不同流感病毒亚型提供普遍保护的可行方向[21]。

2. 基于 T 细胞免疫的通用流感疫苗的原理

T 细胞免疫途径在抵抗流感病毒的感染中发挥着重要作用。由病毒合成而产生的内源性抗原倾向于 I 类主要组织相容性复合物(Major Histocompatibility Complex I, MHC I)分子表达, 而通过胞质溶胶途径处理抗原由病毒粒子引入的病毒抗原更倾向于在 II 类 MHC 分子中表达[22]。当病毒感染人体后, 病毒合成的内源性抗原被抗原呈递细胞(Antigen Presenting Cell, APC)吸收, 并被蛋白酶体降解产生多肽, 通过转运蛋白转运到内质网腔内, 装载到内质网上 MHC I 类分子上。多肽-MHC I 类复合物经高尔基体转运至细胞表面, 呈递给 $CD8^+$ T 细胞, $CD8^+$ T 细胞表面的 TCR 特异性识别多肽-MHC I 类复合物后, 受刺激活化成具有杀伤功能的细胞毒性 T 淋巴细胞(Cytotoxic T lymphocyte, CTL), 释放穿孔素和颗粒酶等物质发挥杀伤作用, 诱导细胞凋亡[23]。穿孔素是一种在受感染细胞的膜上形成孔的蛋白质, 颗粒酶是丝氨酸蛋白酶家族的成员, 在穿孔素存在的情况下, 颗粒酶进入感染细胞的细胞质并启动蛋白水解, 从而引发靶细胞的破坏[24]。此外, CTL 还可以使肿瘤坏死因子(TNF)家族成员与其相应配体的结合从而诱发细胞的凋亡[25]。 $CD4^+$ T 细胞又称为辅助 T 细胞, 起调节和协调免疫应答的作用。它们通过识别病毒蛋白质片段在抗原呈递细胞表面呈现的多肽-MHC II 类复合物来激活其他免疫细胞, 如激活 B 细胞产生抗体以及分泌细胞因子来增强 $CD8^+$ T 细胞的活性[26]。

在首次感染流感后, 机体会留下部分流感特异性记忆 T 细胞[27]。当再次感染流感后, 记忆 T 细胞能够迅速识别并定位到感染部位, 迅速产生效应性细胞免疫反应, 减轻疾病的严重程度, 并提供长期的免疫保护, 使得机体能够更好地对抗继发性流感感染[28]。特异性记忆 T 细胞可以识别在新的异源病毒中具有相同序列的表位, 并且他们对某些表位的识别具有交叉反应性, 即在外源病毒株中该表位的有限数量的氨基酸可能发生突变时, 特异性记忆 T 细胞仍然能够识别该表位并发挥其效应功能[29]。因此, 特异性记忆 T 细胞在机体再次感染流感病毒时发挥重要作用。这为基于 T 细胞免疫的通用流感疫苗提供了基础。

3. 多肽选取和设计策略

3.1. 多肽的选择和分析

在多肽的选取过程中, 我们通常会选择流感病毒保守区域相关的多肽。这些保守区域不容易发生突变, 可以增加疫苗对不同变异株的覆盖范围。流感病毒的 HA2 亚基区和 M2 蛋白是设计流感病毒广谱免疫疫苗结构的有希望的候选区域[30]。此外, 由于人类白细胞抗原(Human Leukocyte Antigen, HLA)基因具有极大的多态性, 因此在选择多肽时要注意选择与多个 HLA 具有显著亲和力的 CTL 表位, 以达到最大的人群覆盖率。例如, 有文献指出, 在大多数突出的种族中, 通过只关注三种主要的 HLA I 超型型—A1、A3 和 B7, 就可以实现 80%~90% 的人口覆盖率[31]。

3.2. 多肽设计的免疫原性和稳定性考虑

多肽的设计也要考虑其免疫原性和稳定性。免疫原性是指多肽能够激发免疫系统产生有效的免疫反应。为了增强多肽的免疫原性, 研究人员通常会选择具有高抗原性和免疫活性的肽段, 并优化其序列和结构[32]。此外, 稳定性也是一个重要考虑因素, 多肽需要在体内保持其原有的结构和功能, 以充分发挥其免疫特性。因此, 对于多肽的设计, 需要注意其结构稳定性、蛋白质折叠和稳定性的预测, 并采取相应的策略来增强多肽的稳定性。

3.3. 免疫信息学工具在多肽设计中的应用

在多肽的选取和设计过程中, 免疫信息学工具发挥着重要作用。免疫信息学工具可以通过计算和预

测分析多肽的抗原性、免疫原性、MHC 分子结合能力以及免疫反应的潜力。这些工具可以帮助研究人员评估多肽的免疫特性,并辅助选择和优化多肽序列,从而提高多肽疫苗的效果。许多技术的研究促进了免疫学工具的开发,使得肽段结合预测变得更加精确和高效,例如支持向量机(如 SVMHC16) [33]和人工神经网络(如 NetMHC 和 NetMHCpan) [34]等方法。常用的免疫信息学工具包括序列分析工具(如 BLAST、ClustalW 等)、表位预测工具(如 NetMHC、HLA-DRB1 等)、分子模拟工具(如分子动力学模拟、蛋白质结构预测等)等。此外,即免疫表位数据库(Immune Epitope Database, IEDB),是一个综合性的在线资源网站,提供 HLA 分子预测工具、肽段结合预测工具、免疫表位分析工具等[32] [35]。

4. 目前基于 T 细胞免疫的流感疫苗

4.1. 多肽疫苗

多肽疫苗使用多肽合成或基因工程技术获得的流感病毒的保守区域多肽作为免疫原,刺激 T 细胞免疫反应[36]。与其他种类的疫苗相比,多肽疫苗是一种具有一定优势和应用前景的亚单位疫苗。多肽疫苗通过使用短肽抗原片段设计,诱导高度靶向性的免疫反应,能够降低或避免接种后引起的过敏反应。

4.1.1. FLU-v

SEEK 公司生产的 FLU-v 由 4 个来自 M1、IAV-NP、IBV-NP 和 M2 等区域的保守多肽组成,旨在预防甲型和乙型流感[37]。PBMC 对不同流感毒株的反应的体外研究证实,FLU-v 疫苗接种不仅产生能够识别自然加工和呈递的流感抗原的免疫反应,而且还证明这些反应对不同的甲型和乙型流感菌株具有交叉反应性[38]。在 II 期临床试验中,与安慰剂注射组相比,FLU-v 受试组在第 42 天分泌 IFN- γ 增加 38 倍,第 180 天增加 25 倍,其流感确诊感染率降低 60%,具有严重症状的流感确诊病例数量减少 83% [39] [40]。

4.1.2. FP-01.1

FP-01.1 是一种新型合成甲型流感疫苗,由六条从人类、鸟类和猪分离的 H1-H9 甲型流感毒株保守的长肽组成,六条长肽中包括了多个 CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 细胞表位,可以诱导广泛人群的免疫反应。在一项关于 FP-01.1 的双盲临床试验中,FP-01.1 在所有测试剂量中均安全并且耐受性良好。与对照组相比,主动接种受试者的不良事件概况类似。在每百万外周血单个核细胞(PBMC)中,150 μ g/肽剂量组的免疫原性最高,有 75% 的受试者检测出明显 T 细胞免疫反应,且对六条保守肽均有免疫原性。此外 FP-01.1 可以诱导 CD4⁺和 CD8⁺双重 T 细胞反应,并且疫苗刺激产生的特异性 T 细胞能够交叉识别不同的流感病毒株[41]。

4.1.3. M-001

由 BiondVax 公司开发 Multimeric-001 (M-001)疫苗包含来自 NP、M1 和 HA 的 5 个 T 细胞表位和 4 个 B 细胞线性肽表位。在接种 M-001 后的两周内,针对 M-001 的 CD4⁺ T 细胞反应明显增加并至少持续 172 天[42]。与单独接种三价 IIV 的受试者相比,两次接种 M-001 后再接种三价 IIV 的受试者的 T 细胞应答、血清转化率和针对漂移菌株的抗体效价显著升高[43] [44]。

4.2. 载体疫苗

载体疫苗是利用载体(如病毒或细菌)携带流感病毒的保守区域基因,使宿主细胞产生相应的多肽。这种疫苗可以诱导 T 细胞免疫反应。常用的载体包括腺病毒、黄病毒和痘苗病毒等。改良牛痘病毒安卡拉(MVA)是一种高度减毒的病毒,具有出色的安全性[45]。MVA-NP+M1 疫苗利用 MVA 载体编码 A/Panama/2007/99 的完整 NP 和 M1 [46],一项 2b 期的随机、安慰剂对照、双盲试验证明 MVA-NP+M1

安全性符合预期[47], 另一项研究发现 MVA-NP+M1 激活了对 M1 肽段产生大量 IFN- γ 的 T 细胞反应, 该疫苗在 HLA 相配的个体扁桃体单个核细胞中引发了 M158-66 肽段特异性 CD8⁺ T 细胞的显著增加[48]。

4.3. DNA 疫苗

DNA 疫苗通过重组技术将流感病毒的保守区域基因导入真核表达载体, 使其进入宿主细胞产生相应的多肽并激发 T 细胞免疫反应进行预防和治疗, 具有简单制备和稳定性好的优点。有流感病毒内部蛋白保守表位的 DNA 疫苗诱导 T 细胞应答, 促进更广泛的交叉保护。此外, 重组 DNA 分子可以同时编码多个靶基因片段, 并在细胞水平上高度表达靶蛋白, 这不仅在一定程度上降低了疫苗的生产成本, 而且还可以刺激体液和细胞免疫反应。例如, Guilfoyle 等人设计了一种多价流感 DNA 疫苗, 编码了来自较少糖基化的流感 H1N1 (2009 年)和 H3N2 (1968 年)病毒株的血凝素和神经氨酸酶蛋白, 以及来自不同的流感 H1N1 (1918 年)株的核蛋白(NP)和基质蛋白(M1 和 M2)。用该 DNA 疫苗皮内免疫雪貂, 不仅可以保护雪貂免受 H1N1 pdm09 的同源攻击, 还可以保护雪貂免受异源流感病毒 H5N1 的攻击, 证明该 DNA 疫苗具有预防不同毒株病毒的功效[49]。

5. 总结

基于 T 细胞免疫的通用流感疫苗具有巨大的潜力。与传统的流感疫苗不同, 基于 T 细胞免疫的通用流感疫苗不依赖于抗体与特定流感病毒毒株的结合, 而是通过激活 T 细胞免疫反应来对抗广谱的流感病毒, 这种策略可以应对流感病毒的变异和新的流行株, 提供更广泛的保护。

然而, 要实现通用流感疫苗的潜力, 仍面临一些挑战。首先, 确定有效的免疫表位对于疫苗设计至关重要。尽管已经有一些候选的 T 细胞表位被识别出来, 但我们仍然需要更深入地了解流感病毒与宿主免疫系统之间的相互作用, 以寻找更具保护性和广谱性的表位。进一步的临床研究将是实现通用流感疫苗和个体化免疫应用的关键。通过大规模的临床试验, 我们可以评估通用流感疫苗的安全性、免疫原性和保护效果, 并进一步优化疫苗设计。同时, 将个体化免疫的概念转化为实际的临床应用需要更多的研究和验证。

总体而言, 基于 T 细胞免疫的通用流感疫苗的应用为克服流感病毒的挑战提供了希望。随着技术和研究的不断发展, 我们有望开发出更加有效的通用流感疫苗, 为人们提供更全面、持久的免疫保护, 减少流感病毒对人类健康的威胁。

参考文献

- [1] Krammer, F., Smith, G.J.D., Fouchier, R.A.M., Peiris, M., Kedzierska, K., Doherty, P.C., *et al.* (2018) Influenza. *Nature Reviews Disease Primers*, **4**, Article No. 3. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>
- [2] Burnet, F.M. (1979) Portraits of Viruses: Influenza Virus A. *Intervirology*, **11**, 201-214. <https://doi.org/10.1159/000149035>
- [3] 李驰, 冯靖. 基于血凝素的新型流感疫苗的研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2014, 27(2): 272-279.
- [4] Gaitonde, D.Y., Moore, F.C. and Morgan, M.K. (2019) Influenza: Diagnosis and Treatment. *American Family Physician*, **100**, 751-758.
- [5] Taubenberger, J.K. and Morens, D.M. (2006) 1918 Influenza: The Mother of All Pandemics. *Emerging Infectious Diseases*, **12**, 15-22. <https://doi.org/10.3201/eid1209.05-0979>
- [6] Paget, J., Caini, S., Del Riccio, M., van Waarden, W. and Meijer, A. (2022) Has Influenza B/Yamagata Become Extinct and What Implications Might This Have for Quadrivalent Influenza Vaccines? *Eurosurveillance*, **27**, Article ID: 2200753. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2022.27.39.2200753>
- [7] Sederdahl, B.K. and Williams, J.V. (2020) Epidemiology and Clinical Characteristics of Influenza C Virus. *Viruses*, **12**, Article No. 89. <https://doi.org/10.3390/v12010089>
- [8] 中华预防医学会流感疫苗保护效果真实世界研究共识专家组. 流行性感冒疫苗保护效果真实世界研究专家共识

- [J]. 中国疫苗和免疫, 2022, 28(6): 617-637.
- [9] Plotkin, J.B., Dushoff, J. and Levin, S.A. (2002) Hemagglutinin Sequence Clusters and the Antigenic Evolution of Influenza A Virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 6263-6268. <https://doi.org/10.1073/pnas.082110799>
- [10] Smith, D.J., Lapedes, A.S., de Jong, J.C., Bestebroer, T.M., Rimmelzwaan, G.F., Osterhaus, A.D., *et al.* (2004) Mapping the Antigenic and Genetic Evolution of Influenza Virus. *Science*, **305**, 371-376. <https://doi.org/10.1126/science.1097211>
- [11] Sridhar, S., Begom, S., Bermingham, A., Hoschler, K., Adamson, W., Carman, W., *et al.* (2013) Cellular Immune Correlates of Protection against Symptomatic Pandemic Influenza. *Nature Medicine*, **19**, 1305-1312. <https://doi.org/10.1038/nm.3350>
- [12] Wang, Z., Wan, Y., Qiu, C., Quiñones-Parra, S., Zhu, Z., Loh, L., *et al.* (2015) Recovery from Severe H7N9 Disease Is Associated with Diverse Response Mechanisms Dominated by CD8⁺ T Cells. *Nature Communications*, **6**, Article No. 6833. <https://doi.org/10.1038/ncomms7833>
- [13] Hayward, A.C., Wang, L., Goonetilleke, N., Fragaszy, E.B., Bermingham, A., Copas, A., *et al.* (2015) Natural T Cell-Mediated Protection against Seasonal and Pandemic Influenza. Results of the Flu Watch Cohort Study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **191**, 1422-1431. <https://doi.org/10.1164/rccm.201411-1988OC>
- [14] Valkenburg, S.A., Gras, S., Guillonneau, C., La Gruta, N.L., Thomas, P.G., Purcell, A.W., *et al.* (2010) Protective Efficacy of Cross-Reactive CD8⁺ T Cells Recognising Mutant Viral Epitopes Depends on Peptide-MHC-I Structural Interactions and T Cell Activation Threshold. *PLOS Pathogens*, **6**, e1001039. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001039>
- [15] Grant, E.J., Josephs, T.M., Valkenburg, S.A., Wooldridge, L., Hellard, M., Rossjohn, J., *et al.* (2016) Lack of Heterologous Cross-Reactivity toward HLA-A*02:01 Restricted Viral Epitopes Is Underpinned by Distinct α T Cell Receptor Signatures. *Journal of Biological Chemistry*, **291**, 24335-24351. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.753988>
- [16] Quiñones-Parra, S.M., Clemens, E.B., Wang, Z., Croom, H.A., Kedzierski, L., McVernon, J., *et al.* (2016) A Role of Influenza Virus Exposure History in Determining Pandemic Susceptibility and CD8⁺ T Cell Responses. *Journal of Virology*, **90**, 6936-6947. <https://doi.org/10.1128/JVI.00349-16>
- [17] Gerhard, W., Mozdzanowska, K. and Zharikova, D. (2006) Prospects for Universal Influenza Virus Vaccine. *Emerging Infectious Diseases*, **12**, 569-574. <https://doi.org/10.3201/eid1204.051020>
- [18] Grebe, K.M., Yewdell, J.W. and Bennink, J.R. (2008) Heterosubtypic Immunity to Influenza A Virus: Where Do We Stand? *Microbes and Infection*, **10**, 1024-1029. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2008.07.002>
- [19] Koutsakos, M., Illing, P.T., Nguyen, T.H.O., Mifsud, N.A., Crawford, J.C., Rizzetto, S., *et al.* (2019) Human CD8⁺ T Cell Cross-Reactivity across Influenza A, B and C Viruses. *Nature Immunology*, **20**, 613-625. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0320-6>
- [20] van de Sandt, C.E., Hillaire, M.L., Geelhoed-Mieras, M.M., Osterhaus, A.D., Fouchier, R.A. and Rimmelzwaan, G.F. (2015) Human Influenza A Virus-Specific CD8⁺ T-Cell Response Is Long-Lived. *The Journal of Infectious Diseases*, **212**, 81-85. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv018>
- [21] Rimmelzwaan, G.F., Fouchier, R.A. and Osterhaus, A.D. (2007) Influenza Virus-Specific Cytotoxic T Lymphocytes: A Correlate of Protection and a Basis for Vaccine Development. *Current Opinion in Biotechnology*, **18**, 529-536. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.11.002>
- [22] Gras, S., Kedzierski, L., Valkenburg, S.A., Laurie, K., Liu, Y.C., Denholm, J.T., *et al.* (2010) Cross-Reactive CD8⁺ T-Cell Immunity between the Pandemic H1N1-2009 and H1N1-1918 Influenza A Viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 12599-12604. <https://doi.org/10.1073/pnas.1007270107>
- [23] Cruz, F.M., Colbert, J.D., Merino, E., Kriegsman, B.A. and Rock, K.L. (2017) The Biology and Underlying Mechanisms of Cross-Presentation of Exogenous Antigens on MHC-I Molecules. *Annual Review of Immunology*, **35**, 149-176. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-041015-055254>
- [24] Trapani, J.A. and Smyth, M.J. (2002) Functional Significance of the Perforin/Granzyme Cell Death Pathway. *Nature Reviews Immunology*, **2**, 735-747. <https://doi.org/10.1038/nri911>
- [25] Price, G.E., Huang, L., Ou, R., Zhang, M. and Moskophidis, D. (2005) Perforin and Fas Cytolytic Pathways Coordinately Shape the Selection and Diversity of CD8⁺-T-Cell Escape Variants of Influenza Virus. *Journal of Virology*, **79**, 8545-8559. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.13.8545-8559.2005>
- [26] Laidlaw, B.J., Craft, J.E. and Kaech, S.M. (2016) The Multifaceted Role of CD4⁺ T Cells in CD8⁺ T Cell Memory. *Nature Reviews Immunology*, **16**, 102-111. <https://doi.org/10.1038/nri.2015.10>
- [27] Lopez, C.E. and Legge, K.L. (2020) Influenza A Virus Vaccination: Immunity, Protection, and Recent Advances toward a Universal Vaccine. *Vaccines (Basel)*, **8**, Article No. 434. <https://doi.org/10.3390/vaccines8030434>

- [28] Tarke, A., Coelho, C.H., Zhang, Z., Dan, J.M., Yu, E.D., Methot, N., *et al.* (2022) SARS-CoV-2 Vaccination Induces Immunological T Cell Memory Able to Cross-Recognize Variants from Alpha to Omicron. *Cell*, **185**, 847-859.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.01.015>
- [29] Weinfurter, J.T., Brunner, K., Capuano, S.V., Li, C., Broman, K.W., Kawaoka, Y., *et al.* (2011) Cross-Reactive T Cells Are Involved in Rapid Clearance of 2009 Pandemic H1N1 Influenza Virus in Nonhuman Primates. *PLOS Pathogens*, **7**, e1002381. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002381>
- [30] Olukitibi, T.A., Ao, Z., Azizi, H., Mahmoudi, M., Coombs, K., Kobasa, D., *et al.* (2022) Development and Characterization of Influenza M2 Ectodomain and/or Hemagglutinin Stalk-Based Dendritic Cell-Targeting Vaccines. *Frontiers in Microbiology*, **13**, Article ID: 937192. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.937192>
- [31] Sette, A., Newman, M., Livingston, B., McKinney, D., Sidney, J., Ishioka, G., *et al.* (2002) Optimizing Vaccine Design for Cellular Processing, MHC Binding and TCR Recognition. *Tissue Antigens*, **59**, 443-451. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2002.590601.x>
- [32] Di Carluccio, A.R., Triffon, C.F. and Chen, W. (2018) Perpetual Complexity: Predicting Human CD8⁺ T-Cell Responses to Pathogenic Peptides. *Immunology & Cell Biology*, **96**, 358-369. <https://doi.org/10.1111/imcb.12019>
- [33] Dönnes, P. and Elofsson, A. (2002) Prediction of MHC Class I Binding Peptides, Using SVMHC. *BMC Bioinformatics*, **3**, Article No. 25. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-3-25>
- [34] Andreatta, M. and Nielsen, M. (2016) Gapped Sequence Alignment Using Artificial Neural Networks: Application to the MHC Class I System. *Bioinformatics*, **32**, 511-517. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv639>
- [35] Vita, R., Mahajan, S., Overton, J.A., Dhanda, S.K., Martini, S., Cantrell, J.R., *et al.* (2019) The Immune Epitope Database (IEDB): 2018 Update. *Nucleic Acids Research*, **47**, D339-D343. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1006>
- [36] 张磊, 严嘉玲, 马茜. 多肽疫苗研究进展[J]. 中国疫苗和免疫, 2023, 29(2): 231-238.
- [37] Abbasi, J. (2021) Broad and Durable Antibody Response in Universal Flu Vaccine Trial. *JAMA*, **325**, 121. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.25670>
- [38] Oftung, F., Næss, L.M., Laake, I., Stoloff, G. and Pleguezuelos, O. (2022) FLU-v, a Broad-Spectrum Influenza Vaccine, Induces Cross-Reactive Cellular Immune Responses in Humans Measured by Dual IFN- γ and Granzyme B ELISpot Assay. *Vaccines (Basel)*, **10**, Article No. 1528. <https://doi.org/10.3390/vaccines10091528>
- [39] Pleguezuelos, O., Dille, J., de Groen, S., Oftung, F., Niesters, H.G.M., Islam, M.A., *et al.* (2020) Immunogenicity, Safety, and Efficacy of a Standalone Universal Influenza Vaccine, FLU-v, in Healthy Adults: A Randomized Clinical Trial. *Annals of Internal Medicine*, **172**, 453-462. <https://doi.org/10.7326/M19-0735>
- [40] 赵淑敏, 陈继军. 通用流感疫苗研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2023, 51(2): 60-68.
- [41] Francis, J.N., Bunce, C.J., Horlock, C., Watson, J.M., Warrington, S.J., Georges, B., *et al.* (2015) A Novel Peptide-Based Pan-Influenza A Vaccine: A Double Blind, Randomised Clinical Trial of Immunogenicity and Safety. *Vaccine*, **33**, 396-402. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.06.006>
- [42] Atmar, R.L., Bernstein, D.I., Winokur, P., Frey, S.E., Angelo, L.S., Bryant, C., *et al.* (2023) Safety and Immunogenicity of Multimeric-001 (M-001) Followed by Seasonal Quadrivalent Inactivated Influenza Vaccine in Young Adults—A Randomized Clinical Trial. *Vaccine*, **41**, 2716-2722. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.03.023>
- [43] Atsmon, J., Caraco, Y., Ziv-Sefer, S., Shaikevich, D., Abramov, E., Volokhov, I., *et al.* (2014) Priming by a Novel Universal Influenza Vaccine (Multimeric-001)—A Gateway for Improving Immune Response in the Elderly Population. *Vaccine*, **32**, 5816-5823. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.08.031>
- [44] Lowell, G.H., Ziv, S., Bruzil, S., Babecoff, R. and Ben-Yedidia, T. (2017) Back to the Future: Immunization with M-001 Prior to Trivalent Influenza Vaccine in 2011/12 Enhanced Protective Immune Responses against 2014/15 Epidemic Strain. *Vaccine*, **35**, 713-715. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.12.063>
- [45] Dorrell, L., Yang, H., Iversen, A.K., Conlon, C., Suttill, A., Lancaster, M., *et al.* (2005) Therapeutic Immunization of Highly Active Antiretroviral Therapy-Treated HIV-1-Infected Patients: Safety and Immunogenicity of an HIV-1 Gag/Poly-Epitope DNA Vaccine. *Aids*, **19**, 1321-1323. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000180104.65640.16>
- [46] Berthoud, T.K., Hamill, M., Lillie, P.J., Hwenda, L., Collins, K.A., Ewer, K.J., *et al.* (2011) Potent CD8⁺ T-Cell Immunogenicity in Humans of a Novel Heterosubtypic Influenza A Vaccine, MVA-NP+M1. *Clinical Infectious Diseases*, **52**, 1-7. <https://doi.org/10.1093/cid/ciq015>
- [47] Evans, T.G., Bussey, L., Eagling-Vose, E., Rutkowski, K., Ellis, C., Argent, C., *et al.* (2022) Efficacy and Safety of a Universal Influenza A Vaccine (MVA-NP+M1) in Adults When Given after Seasonal Quadrivalent Influenza Vaccine Immunisation (FLU009): A Phase 2b, Randomised, Double-Blind Trial. *The Lancet Infectious Diseases*, **22**, 857-866. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00702-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00702-7)
- [48] Puksuriwong, S., Ahmed, M.S., Sharma, R., Krishnan, M., Leong, S., Lambe, T., *et al.* (2020) Modified Vaccinia Ankara-Vectored Vaccine Expressing Nucleoprotein and Matrix Protein 1 (M1) Activates Mucosal M1-Specific T-Cell

Immunity and Tissue-Resident Memory T Cells in Human Nasopharynx-Associated Lymphoid Tissue. *The Journal of Infectious Diseases*, **222**, 807-819. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz593>

- [49] Guilfoyle, K., Major, D., Skeldon, S., James, H., Tingstedt, J.L., Polacek, C., *et al.* (2021) Protective Efficacy of a Polyvalent Influenza A DNA Vaccine against both Homologous (H1N1pdm09) and Heterologous (H5N1) Challenge in the Ferret Model. *Vaccine*, **39**, 4903-4913. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.09.062>