

# 流感病毒血凝素表位通用疫苗设计的研究进展

郭志杰<sup>1</sup>, 郭春艳<sup>2</sup>, 徐翠香<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>西安医学院研究生工作部, 陕西 西安

<sup>2</sup>陕西省人民医院中心实验室, 陕西 西安

收稿日期: 2024年3月9日; 录用日期: 2024年4月2日; 发布日期: 2024年4月10日

## 摘要

尽管流感是一个可预防性疾病, 但它仍然是一个持续性的公共卫生问题, 据统计每年可导致数十万人死亡。由于流感病毒的高度可变性, 不可避免地存在疫苗与流行毒株抗原不一致的风险, 迫切需要一种具有广泛保护作用或通用的流感病毒疫苗, 以预防所有季节性、人畜共患和新出现的大流行流感病毒。流感病毒表面糖蛋白血凝素具有广谱中和抗体识别的位点, 被认为是通用疫苗研发的关键靶标, 因此血凝素保守保护性表位及中和表位的鉴定对于设计通用流感疫苗和新的靶向治疗至关重要。在这里, 本文综述了基于流感病毒血凝素保守表位及中和表位的通用疫苗设计研究进展。

## 关键词

流感病毒, 通用疫苗, 血凝素, 保守表位, 中和表位

# Research Progress on Universal Vaccine Design of Influenza Virus Hemagglutinin Epitopes

Zhijie Guo<sup>1</sup>, Chunyan Guo<sup>2</sup>, Cuixiang Xu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Office of Graduate Studies, Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi

<sup>2</sup>Central Laboratory of Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an Shaanxi

Received: Mar. 9<sup>th</sup>, 2024; accepted: Apr. 2<sup>nd</sup>, 2024; published: Apr. 10<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

Although influenza is a preventable disease, it is still a persistent public health problem that can

\*通讯作者。

文章引用: 郭志杰, 郭春艳, 徐翠香. 流感病毒血凝素表位通用疫苗设计的研究进展[J]. 临床医学进展, 2024, 14(4): 562-567. DOI: 10.12677/acm.2024.1441060

cause hundreds of thousands of deaths annually. Due to the high variability of influenza viruses, there is an inevitable risk of inconsistency between vaccines and the antigens of epidemic strains. There is an urgent need for a widely protective or universal influenza virus vaccine to prevent all seasonal, zoonotic and emerging pandemic influenza viruses. Hemagglutinin, a glycoprotein on the surface of influenza virus, has broad-spectrum neutralizing antibody recognition sites and is considered to be a key target for the development of universal vaccines. Therefore, the identification of conserved protective epitopes and neutralizing epitopes of hemagglutinin is essential for the design of universal influenza vaccines and new targeted therapies. Here, this paper reviews the research progress in universal vaccine design based on the conserved epitopes and neutralizing epitopes of influenza virus hemagglutinin.

## Keywords

Influenza Virus, Universal Vaccine, Hemagglutinin, Conserved Epitope, Neutralizing Epitope

Copyright © 2024 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

流感对公众健康构成重大威胁, 接种流感疫苗仍是目前预防及控制流行流感病毒感染的最有效措施[1]。疫苗的有效性在很大程度上与病毒的高度可变性有关[2], 由于流感病毒的 RNA 聚合酶没有校对活性, 病毒复制过程中易发生抗原漂移和抗原转换。抗原漂移支持病毒从预先存在的免疫中逃逸, 抗原转换又是已知造成大流行的原因, 且这些变异是快速、无法准确预测的, 这可能会发生疫苗毒株与流行毒株不匹配的情况, 从而导致现有疫苗效力不佳[3] [4] [5]。生产匹配的疫苗需要较长时间, 人们无法避免新流行毒株带来的伤害。因此迫切需要生产一种可以为个体提供保护免受不同亚型流感病毒侵害的通用疫苗。

这可以通过将免疫反应重定向到病毒的保守位点来实现。同样, 靶向病毒粒子上保守表位的广谱中和抗体也是对抗流感病毒感染的武器库的宝贵补充[6]。血凝素(HA)是流感病毒最丰富、最重要的表面糖蛋白[7], 是病毒感染或疫苗接种引起的中和抗体的主要靶标[8] [9], 因此 HA 是开发通用流感疫苗的主要靶标。在这篇综述中, 总结了聚焦流感病毒 HA 分子保守表位、中和表位的疫苗设计策略。

## 2. 流感病毒及血凝素概述

流感病毒(influenza viruses, IV)是一种包膜病毒, 具有单链、负义片段的 RNA 基因组, 属于正粘病毒科。根据其核蛋白、基质蛋白中的抗原不同, 分为甲、乙、丙、丁(或 A、B、C、D)四型。其中甲型、乙型、丙型流感病毒(IAV、IBV、ICV)可在人类中传播。与丙型流感病毒相比, 甲型流感病毒是最严重的病毒型, 可在不同物种之间交叉传播, 引起大规模的爆发与流行; 乙型流感病毒主要感染人类, 引起局部流行[10]。通过病毒包膜表面抗原血凝素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(NA)的基因序列和抗原性不同, 又可将甲型流感病毒分为 18 个 H 亚型(H1~H18)和 11 个 N 亚型(N1~N11), 乙型流感病毒分为两个抗原谱系 Victoria 谱系(V 系)和 Yamagata 谱系(Y 系) [11]。

HA 蛋白为病毒包膜表面含量最多的结构蛋白, 是一种同源三聚体分子, 由多肽 HA1 和 HA2 组成, 每个单体由都含有两个结构域: 高度可变的球状头部结构域和更保守的茎部区域[12]。HA 上含有受体结

合位点 RBS, 诱导的抗体具有中和作用, 能产生保护效果。还有助于病毒通过内体摄取和释放进入细胞。HA 还具有凝集红细胞能力, 可用来快速定量病毒(血凝测定)及抗体中和流感病毒能力(血凝抑制测定 HI), 在病毒生命周期中起到重要作用[13]。但 HA 抗原极易变异, 避免这一问题设计更优化的疫苗成为关键。

### 3. 靶向 HA 保守表位的疫苗设计策略

流感病毒疫苗引起的大多数抗体反应集中在具有免疫优势的头部结构域, 但产生的免疫应答具有菌株特异性, 对漂移菌株或其他亚型保护有限[14]。研究发现 HA 茎部结构域与头部结构域相比相对保守, 且靶向该结构域的单克隆抗体(mAb)可以在小鼠中提供不同流行毒株和亚型的广泛保护, 因此 HA 茎部被认为是通用流感疫苗开发的潜在靶标[15]。目前已探索了多种将免疫应答从免疫显性头部结构域重新聚焦到茎部保守表位结构域, 诱导茎部区广谱中和抗体的疫苗的策略: 高糖基化 HA、无头 HA、嵌合 HA、马赛克 HA、镶嵌纳米颗粒 HA 和计算机优化的广泛反应抗原(COBRA) HA。

#### 3.1. 高糖基化 HA

HA 球状头部的高糖基化是将抗体反应重定向到保守茎部结构域的好方法, 可极大改变抗体反应性[16]。Eggink 等人在血凝素头结构域引入了七个 N-连接的糖基化位点以屏蔽免疫显性抗原位点, 证实与野生型 HA 免疫相比, 用高糖基化 HA 蛋白免疫可诱导更高的茎定向抗体滴度, 同时抑制对球状头部结构域的免疫反应且诱导的体液免疫应答对不同的 H1N1 病毒和大流行性人类 H5N1 毒株具有广泛的交叉反应。与用野生型 HA 免疫的动物相比, 基于 HA 茎部定向免疫的高糖基化 HA 免疫动物对致命病毒感染具有更强的保护能力[17]。

#### 3.2. 无头 HA

无头 HA 即仅由保守茎部结构域构成的“无头”HA 结构。无头 HA 的开发构建很困难, 仅简单地去除免疫显性头部结构域, HA 本质上是不稳定的, 缺乏正确的构象还会掩盖广泛中和茎抗体表位[2] [18] [19]。为解决这一问题, Impagliazzo 等人使用合理设计创建了天然三聚体形式的 mini-HA, 并证明其在小鼠和非人灵长类动物中引发广泛和保护性免疫反应的独特能力[20]; Andrews、Corbett 等人基于铁蛋白纳米颗粒, 开发了一种稳定的 HA 干细胞免疫原构建了 HA 茎部抗原三聚体自组装铁蛋白纳米颗粒, 并证明 HA 免疫原可产生稳健且广泛中和的 HA 干细胞定向 B 细胞反应[21] [22], Darricarrère 等人证明当铁蛋白纳米颗粒上存在的无头 HA 结合佐剂 AF03 递送时, 可引发非人灵长类动物广泛中和抗体反应[23]。

#### 3.3. 嵌合 HA (cHA)

通过嵌合 HA 分子将抗体反应重新聚焦在针对次优势 HA 茎的免疫上。cHA 由相同茎部结构域, 不同“外来”头部结构域组成, 头部结构域来源于外来禽流感病毒亚型[19]。Liu 等人证实使用构建体接种疫苗进行序贯免疫, 可在临床前雪貂模型中产生茎部特异性和广泛的交叉反应性抗体反应, 能诱导比季节性流感病毒菌株产生的抗体更广泛的保护[24], 在动物模型中, cHA 疫苗接种策略可诱导高滴度的茎部反应性抗体, 与接种两剂同源灭活流感疫苗的雪貂相比, 接种基于 cHA 异源疫苗的雪貂对大流行性 H1N1 挑战具有更强的保护作用, 这表明 cHA 疫苗接种方法引起的保护有所改善[25]。经 I 期临床试验后, 发现这种通用流感候选疫苗是安全的, 并可引起针对血凝素保守的免疫亚显性茎的广泛、有力、持久和有效的免疫应答[26]。虽然目前已经成功获得了正确折叠且可稳定存在的无头 HA 蛋白, 但仍然面临关键问题: 嵌合 HA 及无头 HA 策略均需要依赖宿主的预存免疫以刺激正确的免疫应答, 而大部分人群往往会有流感病毒感染背景, 因此该类疫苗在临床试验中的效果有待评估。

### 3.4. 马赛克 HA (mHA)

mHA 与 cHA 的序贯疫苗接种策略相似, 使用不同流感病毒的抗原部位替换 HA 头部结构域的主要抗原位点, 而不是更换整个 HA 头部区域, 这样茎部以及头部结构域相对保守的“框架”将保持不变, 同时克服菌株特异性反应[15] [19]。因此多次使用 mHA 疫苗可通过对头部和茎部结构域中保守表位的强烈召回反应, 提供增强的抗感染保护[18]。Sun 等人使用外来 IAV HA 序列(H5, H8, H11 和 H13)取代 IBV 头部主要抗原位点, 构建了四种不同 B 型 mHA, 并证实 B mHA 疫苗接种可以保护小鼠免受谱系匹配和不匹配病毒的攻击, 具有比 B cHA 更强的诱导 ADCC 活性抗体的趋势[27]。总之, mHA 方法既可以引发较强的头部抗体反应, 还可以引发类似嵌合 HA 和无头 HA 产生的更广泛的茎部抗体反应。

### 3.5. 计算机优化的广泛反应性抗原(COBRA)

此原理为使用分层共识、多轮分层共识方法, 以捕获最常见的抗原特征生成新的优于代表性 COBRA HA。针对 H3N2、H1N1 流感病毒, 在流感免疫前动物中基于 COBRA HA 的疫苗与野生型 HA 疫苗相比引发更广泛和交叉保护性的免疫应答, 抗 HA 抗体反应性更强[28]。已在临床前小鼠模型中进行了测试, H5 COBRA HA 疫苗可引发针对多个 H5Nx 流感病毒分支的交叉反应性保护性抗体[29]。COBRA 方法旨在引发主要针对头部结构域表位的抗体的 HAI 活性。

### 3.6. 镶嵌纳米颗粒 HA

镶嵌纳米颗粒 HA 即将 HA 的高可变受体结合域(RBD)显示在纳米颗粒上(np)。这些 np 存在多个 HA 头结构域, 免疫显性位点被高度“稀释”, 且识别这些表位的 B 细胞上的受体无法被有效激活, 但为交叉反应性 B 细胞提供了亲和力优势。识别 HA 保守表位的 B 细胞可以通过 B 细胞受体交联更有效地激活[19] [30]。研究表明镶嵌 RBD-np 可中和 H1N1 病毒引发更广泛的抗体反应, 允许出现其他次显性的交叉反应性 B 细胞反应[30]。纳米颗粒可用于抗原载体或佐剂, 研究发现, 鼻内施用纳米疫苗能有效方便安全地将抗原递送到鼻咽相关淋巴样组织中以诱导更强的粘膜和全身免疫[31]。

## 4. 靶向 HA 中和表位的研究概述

以抗体为基础的策略来预防和治疗流感也是一种新的对策, 抗体介导的中和作用是预防病毒感染宿主细胞最重要的保护机制。因此寻找能够诱导机体产生广泛交叉中和作用中和抗体的中和抗原表位是制备通用流感疫苗的有效途径之一。Daniel Stadlbauer 等人从 H3N2 感染供体中分离出三种单克隆抗体 1G04、1E01 和 1G01 并表征了其表位活性位点, 证实这些抗体与甲型流感病毒 1 组(N1, N4, N5, N8), 2 组(N2, N3, N6, N7, N9)和乙型流感病毒均有一定的交叉反应性, 这些抗体的结构和功能表征为开发基于神经氨酸酶的流感病毒通用疫苗提供了信息[32]。在小鼠和雪貂中, 使用广泛中和抗体的临床前研究显示, 与神经氨酸酶抑制剂相比, 在小鼠和雪貂中使用广泛中和抗体的疗效更好, 治疗窗口更长[33]。

由于 HA 头部结构域易发生抗原突变, 结合 HA 头部区域的抗体往往是窄谱抗体, 只引发较窄的毒株特异性反应, 结合 HA 茎部区域的抗体往往具有广谱反应性。尽管头部变异性高, 但仍能分离出可结合多种亚型的广泛中和抗体(bnAbs), 它们在头部结构域上的保护性表位主要集中在 RBS 口袋及其周围区域、退化酯酶(VE)亚结构域、隐藏在 HA1 单体界面中的闭塞表位区域。目前已经鉴定并表征了许多 RBS 靶向 bnAbs, 这些 bnAbs 大多数具有血凝抑制活性, 通常抑制病毒附着到宿主细胞受体上, 从而阻断病毒进入[34]。抗茎部抗体与茎部融合肽结合抑制膜融合及病毒基因组释放, 也可防止新形成的病毒感染新的宿主细胞[35]。而在自然感染过程中, 由于交叉中和表位藏匿使 B 细胞难于识别, 以及表位序列与机体自身抗原相似引起的免疫耐受等原因, 这些交叉中和表位的免疫原性较弱, 很难诱生高滴度广谱中和

抗体。因此,提高这类抗原的免疫原性和诱导高滴度中和抗体就成了广谱中和抗体疫苗研制的重点问题。

## 5. 总结与展望

尽管通用流感疫苗研究一直很困难,但仍取得了些许进展。靶向 HA 的通用流感疫苗已在临床试验中进行了测试[36] [37],新 bnAbs 的分离和 HA 高度保守的保护性表位的鉴定为开发基于 HA 的新型疫苗和治疗确定了更明确的靶点。目前通用流感疫苗设计的关键问题在于缺乏关于 HA 中哪些抗原表位是驱动广泛免疫的关键的详细信息,如何通过 HA 广谱中和抗体鉴定其中和表位,如何设计优化疫苗将免疫压力集中在这些广谱中和表位,使得疫苗可以在体内高效地诱导识别该表位的广谱中和抗体,成为通用流感疫苗设计的关键科学问题。为此,本课题组为得到高滴度中和抗体,将开展不同毒株 HA 蛋白中和表位的鉴定、定位及串联工作,并对诱导产生的中和抗体进一步评价,这将为研制高效、稳定的流感病毒疫苗奠定基础,对于流感防控有重要意义。

## 参考文献

- [1] WHO (2023) Influenza (Seasonal) [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))
- [2] Li, J., Zhang, Y., Zhang, X., *et al.* (2022) Influenza and Universal Vaccine Research in China. *Viruses*, **15**, Article 116. <https://doi.org/10.3390/v15010116>
- [3] Nypaver, C., Dehlinger, C. and Carter, C. (2021) Influenza and Influenza Vaccine: A Review. *Journal of Midwifery & Women's Health*, **66**, 45-53. <https://doi.org/10.1111/jmwh.13203>
- [4] Krammer, F., Smith, G.J.D., Fouchier, R.A.M., *et al.* (2018) Influenza. *Nature Reviews Disease Primers*, **4**, Article No. 3. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>
- [5] Chen, J., Wang, J., Zhang, J., *et al.* (2021) Advances in Development and Application of Influenza Vaccines. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article 711997. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.711997>
- [6] Nachbagauer, R. and Krammer, F. (2017) Universal Influenza Virus Vaccines and Therapeutic Antibodies. *Clinical Microbiology and Infection*, **23**, 222-8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.02.009>
- [7] Nayak, D., Shivakoti, S., Balogun, R.A., *et al.* (2013) Structure, Disassembly, Assembly, and Budding of Influenza Viruses. In: Webster, R.G., Arnold, S., Thomas, J., *et al.*, Eds., *Textbook of Influenza*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 35-56. <https://doi.org/10.1002/9781118636817.ch3>
- [8] Paules, C.I., Marston, H.D., Eisinger, R.W., *et al.* (2017) The Pathway to a Universal Influenza Vaccine. *Immunity*, **47**, 599-603. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.09.007>
- [9] Ng, S., Nachbagauer, R., Balmaseda, A., *et al.* (2019) Novel Correlates of Protection Against Pandemic H1N1 Influenza A Virus Infection. *Nature Medicine*, **25**, 962-967. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0463-x>
- [10] Nuwarda, R.F., Alharbi, A.A. and Kayser, V. (2021) An Overview of Influenza Viruses and Vaccines. *Vaccines*, **9**, Article 1032. <https://doi.org/10.3390/vaccines9091032>
- [11] Hutchinson, E.C. (2018) Influenza Virus. *Trends in Microbiology*, **26**, 809-810. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.05.013>
- [12] Hai, R., Krammer, F., Tan, G.S., *et al.* (2012) Influenza Viruses Expressing Chimeric Hemagglutinins: Globular Head and Stalk Domains Derived from Different Subtypes. *Journal of Virology*, **86**, 5774-5781. <https://doi.org/10.1128/JVI.00137-12>
- [13] Wu, N.C. and Wilson, I.A. (2020) Influenza Hemagglutinin Structures and Antibody Recognition. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **10**, a038778. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038778>
- [14] Wang, W.C., Sayedahmed, E.E., Sambhara, S., *et al.* (2022) Progress towards the Development of a Universal Influenza Vaccine. *Viruses*, **14**, Article 1684. <https://doi.org/10.3390/v14081684>
- [15] Krammer, F. and Palese, P. (2019) Universal Influenza Virus Vaccines That Target the Conserved Hemagglutinin Stalk and Conserved Sites in the Head Domain. *The Journal of Infectious Diseases*, **219**, S62-S67. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy711>
- [16] Boyoglu-Barnum, S., Hutchinson, G.B., Boyington, J.C., *et al.* (2020) Glycan Repositioning of Influenza Hemagglutinin Stem Facilitates the Elicitation of Protective Cross-Group Antibody Responses. *Nature Communications*, **11**, Article No. 791. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14579-4>

- [17] Eggink, D., Goff, P.H. and Palese, P. (2014) Guiding the Immune Response against Influenza Virus Hemagglutinin toward the Conserved Stalk Domain by Hyperglycosylation of the Globular Head Domain. *Journal of Virology*, **88**, 699-704. <https://doi.org/10.1128/JVI.02608-13>
- [18] De Jong, N.M.C., Aartse, A., Van Gils, M.J., *et al.* (2020) Development of Broadly Reactive Influenza Vaccines by Targeting the Conserved Regions of the Hemagglutinin Stem and Head Domains. *Expert Review of Vaccines*, **19**, 563-577. <https://doi.org/10.1080/14760584.2020.1777861>
- [19] Nachbagauer, R. and Palese, P. (2020) Is a Universal Influenza Virus Vaccine Possible? *Annual Review of Medicine*, **71**, 315-327. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-120617-041310>
- [20] Impagliazzo, A., Milder, F., Kuipers, H., *et al.* (2015) A Stable Trimeric Influenza Hemagglutinin Stem as a Broadly Protective Immunogen. *Science*, **349**, 1301-1306. <https://doi.org/10.1126/science.aac7263>
- [21] Andrews, S.F., Cominsky, L.Y., Shimberg, G.D., *et al.* (2023) An Influenza H1 Hemagglutinin Stem-Only Immunogen Elicits a Broadly Cross-Reactive B Cell Response in Humans. *Science Translational Medicine*, **15**, eade4976. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.ade4976>
- [22] Corbett, K.S., Moin, S.M., Yassine, H.M., *et al.* (2019) Design of Nanoparticulate Group 2 Influenza Virus Hemagglutinin Stem Antigens That Activate Unmutated Ancestor B Cell Receptors of Broadly Neutralizing Antibody Lineages. *mBio*, **10**, e02810-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.02810-18>
- [23] Darricarrère, N., Qiu, Y., Kanekiyo, M., *et al.* (2021) Broad Neutralization of H1 and H3 Viruses by Adjuvanted Influenza HA Stem Vaccines in Nonhuman Primates. *Science Translational Medicine*, **13**, eabe5449. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abe5449>
- [24] Liu, W.C., Nachbagauer, R., Stadlbauer, D., *et al.* (2019) Sequential Immunization with Live-Attenuated Chimeric Hemagglutinin-Based Vaccines Confers Heterosubtypic Immunity against Influenza A Viruses in a Preclinical Ferret Model. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article 756. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00756>
- [25] Nachbagauer, R., Liu, W.C., Choi, A., *et al.* (2017) A Universal Influenza Virus Vaccine Candidate Confers Protection against Pandemic H1N1 Infection in Preclinical Ferret Studies. *NPJ Vaccines*, **2**, Article No. 26. <https://doi.org/10.1038/s41541-017-0026-4>
- [26] Nachbagauer, R., Feser, J., Naficy, A., *et al.* (2021) A Chimeric Hemagglutinin-Based Universal Influenza Virus Vaccine Approach Induces Broad and Long-Lasting Immunity in a Randomized, Placebo-Controlled Phase I Trial. *Nature Medicine*, **27**, 106-114. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1118-7>
- [27] Sun, W., Kirkpatrick, E., Ermler, M., *et al.* (2019) Development of Influenza B Universal Vaccine Candidates Using the “Mosaic” Hemagglutinin Approach. *Journal of Virology*, **93**, e00333-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.00333-19>
- [28] Allen, J.D. and Ross, T.M. (2022) Bivalent H1 and H3 COBRA Recombinant Hemagglutinin Vaccines Elicit Seroprotective Antibodies against H1N1 and H3N2 Influenza Viruses from 2009 to 2019. *Journal of Virology*, **96**, e0165221. <https://doi.org/10.1128/jvi.01652-21>
- [29] Nunez, I.A., Huang, Y. and Ross, T.M. (2021) Next-Generation Computationally Designed Influenza Hemagglutinin Vaccines Protect against H5Nx Virus Infections. *Pathogens*, **10**, Article 1352. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111352>
- [30] Kanekiyo, M., Joyce, M.G., Gillespie, R.A., *et al.* (2019) Mosaic Nanoparticle Display of Diverse Influenza Virus Hemagglutinins Elicits Broad B Cell Responses. *Nature Immunology*, **20**, 362-372. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0305-x>
- [31] Al-Halifa, S., Gauthier, L., Arpin, D., *et al.* (2019) Nanoparticle-Based Vaccines against Respiratory Viruses. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article 22. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00022>
- [32] Stadlbauer, D., Zhu, X., McMahon, M., *et al.* (2019) Broadly Protective Human Antibodies That Target the Active Site of Influenza Virus Neuraminidase. *Science*, **366**, 499-504. <https://doi.org/10.1126/science.aay0678>
- [33] Kallewaard, N.L., Corti, D., Collins, P.J., *et al.* (2016) Structure and Function Analysis of an Antibody Recognizing All Influenza A Subtypes. *Cell*, **166**, 596-608. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.073>
- [34] Jiao, C., Wang, B., Chen, P., *et al.* (2023) Analysis of the Conserved Protective Epitopes of Hemagglutinin on Influenza A Viruses. *Frontiers in Immunology*, **14**, Article 1086297. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1086297>
- [35] Corti, D., Camerini, E., Guarino, B., *et al.* (2017) Tackling Influenza with Broadly Neutralizing Antibodies. *Current Opinion in Virology*, **24**, 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.03.002>
- [36] Bernstein, D.I., Guptill, J., Naficy, A., *et al.* (2020) Immunogenicity of Chimeric Haemagglutinin-Based, Universal Influenza Virus Vaccine Candidates: Interim Results of a Randomised, Placebo-Controlled, Phase 1 Clinical Trial. *The Lancet Infectious Diseases*, **20**, 80-91. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30393-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30393-7)
- [37] Liu, W.C., Nachbagauer, R., Stadlbauer, D., *et al.* (2021) Chimeric Hemagglutinin-Based Live-Attenuated Vaccines Confer Durable Protective Immunity against Influenza A Viruses in a Preclinical Ferret Model. *Vaccines*, **9**, Article 40. <https://doi.org/10.3390/vaccines9010040>