

动脉粥样硬化疫苗的研究进展

林宸诗, 陈玉红, 尹莉芳*

(中国药科大学药学院药剂学教研室, 南京 210009)

摘要 动脉粥样硬化是动脉壁免疫系统介导的炎症性疾病。动脉壁特异性和非特异性免疫系统对许多内源性和外源性抗原都有免疫反应。已有研究表明免疫系统在动脉粥样硬化进程中一方面促进动脉粥样硬化, 另一方面延缓动脉粥样硬化。因此, 通过针对抗原的主动免疫调节可以改变动脉粥样硬化的进程。本文讨论了特异性和非特异性免疫系统在动脉粥样硬化进程中的双重作用, 介绍了已经在实验室阶段制成的疫苗以及在实验模型中成功延缓动脉粥样硬化进程的抗原的研究, 探讨了动脉粥样硬化疫苗临床应用的前景和挑战。

关键词 动脉粥样硬化; 免疫系统; 疫苗; 免疫治疗; 抗原; 进展

中图分类号 R543 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2020)06-0739-09

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20200614

引用本文 林宸诗, 陈玉红, 尹莉芳. 动脉粥样硬化疫苗的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2020, 51(6): 739-747.

Cite this article as: LIN Chenshi, CHEN Yuhong, YIN Lifang. Progress on atherosclerosis vaccine[J]. J China Pharm Univ, 2020, 51(6): 739-747.

Progress on atherosclerosis vaccine

LIN Chenshi, CHEN Yuhong, YIN Lifang*

Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Atherosclerosis is an inflammatory disease which mediated by the immune system of the arterial wall. Specific and non-specific immune systems of arterial wall showed positive immunoreaction with many endogenous and exogenous antigens. Studies have shown that the immune system promotes atherosclerosis on the one hand and delays atherosclerosis on the other. Therefore, the progress of atherosclerosis can be regulated through activating immune regulation. In this review, the double effects of specific and non-specific immune systems on the process of atherosclerosis were discussed. The studies of those antigen which have been made into vaccines and successfully delayed the process of atherosclerosis in laboratory models were introduced. And the prospects and challenges for future clinical application of atherosclerosis vaccines were discussed in this review.

Key words atherosclerosis; immune system; vaccine; antigen; immunotherapy; advances

This study was supported by the Advantage Discipline Project of Jiangsu (III)-The Disruptive Theory and Technology Innovative Research Team Project

动脉粥样硬化是一种慢性炎症疾病, 疾病特征是动脉壁上的脂肪条纹逐渐发展成动脉粥样硬化和特征性斑块, 这些动脉粥样斑块的急性破裂会形成局部血栓, 导致病灶动脉的部分或全部闭塞, 主要临床表现包括缺血性心脏病、缺血性脑卒

中和周围动脉疾病。动脉粥样硬化及其伴随的临床并发症如脑卒中和缺血性心脏病, 是全球死亡事件的主要原因, 2016年约有1 790万人(占全球死亡总数的31%)死于此类心血管疾病。2013年, 中国缺血性心脏病和脑卒中的住院总费用为705

亿元,给国家和患者带来巨大的经济负担。

临床数据表明,动脉粥样硬化与免疫介导的炎症有关,特异性及非特异性免疫细胞,例如巨噬细胞、T淋巴细胞、树突状细胞(dendritic cells, DCs)、肥大细胞、B淋巴细胞等,在动脉粥样硬化斑块中普遍存在^[3]。诸如病原体、免疫球蛋白、细胞因子和趋化因子之类的炎症介质在动脉粥样硬化斑块中分布不均。在小鼠主动脉中易发生动脉粥样硬化的部位(比如血管外膜),抗原呈递细胞的数量比正常部位多,这些证据均表明动脉粥样硬化的部位存在炎症反应^[4]。

1 非特异性免疫和动脉粥样硬化

生物体对病原微生物和病原体的非特异性即时反应称为非特异性免疫。非特异性免疫系统细胞(DCs和巨噬细胞)作为第一响应者,检测内环境中的疾病相关分子,即氧化低密度脂蛋白(oxygenized low density lipoprotein, oxLDL)的表达。非特异性免疫细胞接触这些疾病相关分子,并与Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)相互作用。TLR识别疾病相关分子,引起急性炎症基因的激活和急性非特异性免疫炎症介质的释放。敲除非特异性免疫信号通路基因的小鼠无论血液中胆固醇水平高低,都呈现动脉粥样硬化症状减轻现象,表明非特异性免疫在动脉粥样硬化中起作用^[5]。

巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)基因对巨噬细胞增殖起促进作用。高脂血症小鼠的M-CSF基因被敲除,显示动脉粥样硬化减少的现象^[6]。各种巨噬细胞在非特异性免疫中发挥作用。在小鼠中发现了两种亚型的巨噬细胞:一种具有高表达的Ly6C,具有促进炎症的作用^[7],是促炎M1巨噬细胞的前体。另一种亚型是M2巨噬细胞,与动脉粥样硬化斑块的分类有关^[8]。

自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)是促进动脉粥样硬化的非特异性免疫细胞。用Ly49A转基因小鼠的骨髓细胞移植的低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)受体缺陷型(LDLR^{-/-})小鼠,缺乏功能性NK细胞,与从非转基因供体接受骨髓细胞的LDLR^{-/-}小鼠相比,主动脉根部有小范围动脉粥样硬化斑块生成^[9]。有研究报道NK细胞的致动脉粥样硬化功能依赖于如穿孔素和颗粒酶

B等介质^[10]。

肥大细胞也会影响动脉粥样硬化进程。在缺乏肥大细胞的高脂血症小鼠中,炎症减少,病变进程减慢。有研究报道了肥大细胞缺陷小鼠的胆固醇水平较低,这表明先天性肥大细胞信号传导与胆固醇体内平衡之间存在联系^[11]。

DCs是特异性和非特异性免疫系统的桥梁,是免疫细胞活化过程中的上游成分,DCs独特的位置使它成为疫苗研发重要的靶点。高脂血症中,内膜上的DCs迅速摄取脂质,而注射CD11c特异性白喉毒素受体(diphtheria toxin receptor, DTR)的转基因小鼠DCs缺失,引起LDLR^{-/-}小鼠的早期病变减慢,证明了DCs的促动脉粥样硬化作用^[12]。血浆样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells, pDCs)存在于鼠和人类的动脉粥样硬化斑块中,pDCs对oxLDL的反应激活抗原特异性T细胞,注射抗小鼠pDCs抗原-1抗体的ApoE^{-/-}小鼠缺少pDCs,减缓主动脉窦动脉粥样硬化进程,斑块炎症减少,T细胞的活化被全面抑制^[13],证实了pDCs通过激活自身抗原诱导免疫反应促进动脉粥样硬化^[14]。

2 特异性免疫和动脉粥样硬化

与非特异性免疫系统的迟缓、非特异性相比,特异性免疫反应目标更为明确。免疫母细胞的发育产生识别特定抗原的多种T细胞和B细胞。

非特异性免疫细胞例如DCs和巨噬细胞,呈递经T细胞识别的抗原,形成了主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)。呈递抗原后,激活T细胞并增殖。CD8⁺ T细胞大量增殖,产生细胞因子,对抗原具有特异性细胞毒性。CD4⁺ T细胞激活也产生细胞因子促进随后的B细胞激活并产生特异性免疫球蛋白。

研究表明B细胞能延缓高胆固醇血小鼠动脉粥样硬化进程^[15]。B1细胞产生的免疫球蛋白(Immunoglobulin, Ig)M同型的天然抗体可与oxLDL的极性基团反应,可促进B细胞的抗动脉粥样硬化作用^[16]。大量实验数据表明,B细胞在动脉粥样硬化中的作用受细胞亚型的影响,B1细胞具有抗动脉粥样硬化作用,B2细胞具有促动脉粥样硬化作用^[17-18]。

动脉粥样硬化斑块含有DCs、充当抗原呈递细胞(antigen-presenting cells, APC)作用的巨噬细胞

和 T 细胞。APC-T 细胞相互作用表明了可通过斑块中的突触激活特异性免疫(图 1)。在其刺激分子如 CD40, CD80 等作用下, DCs 可向 T 细胞呈递动脉粥样硬化抗原(如 oxLDL 和 HSP-60), 引起 T 细胞分化和增殖, 并分泌细胞因子^[19]。将 CD4⁺ T 细胞移植到免疫缺陷型高脂血症小鼠体内, 观察到动脉粥样硬化的加重^[20]。CD4⁺ T 细胞的促动脉粥样硬化作用部分是由于 Th1 细胞因子反应, 特别

是干扰素- γ (IFN- γ)的强烈的促炎作用。移植 CD4⁺ T 细胞, 对 LDL 的反应导致动脉粥样硬化加剧, 说明 LDL 是 CD4⁺ T 细胞应答的抗原^[21]。另有研究表明 Th2 细胞因子反应(如 IL-10)可以防止动脉粥样硬化^[20]。除了 CD4⁺ 细胞外, 其他免疫细胞, 如巨噬细胞、肥大细胞和 NK 细胞也可分泌 Th2 细胞因子抑制动脉粥样硬化^[22]。

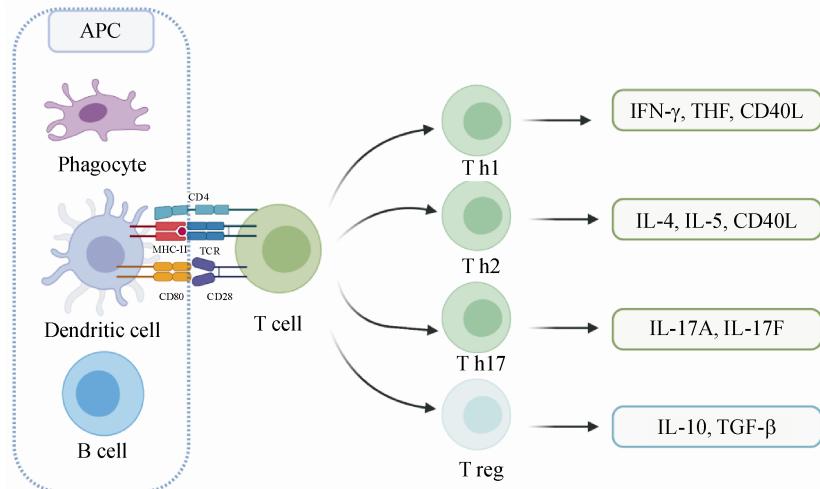


图 1 APC 和 T 细胞间的作用

CD4⁺ T 细胞是动脉粥样硬化研究领域热点之一, 它的另一亚型是 CD4⁺ 调节性 T 细胞(T_{reg})。T_{reg} 细胞标志物是转录因子的表达产物——FoxP3。使用白喉毒素受体转基因法或通过针对 FoxP3 的疫苗使 FoxP3⁺ 细胞选择性缺失, 加速高胆固醇血小鼠的动脉粥样硬化进程^[23]。因此, CD4⁺ T_{reg} 细胞能够减缓动脉粥样硬化。

CD8⁺ T 细胞最初不是研究的焦点, 是由于基因敲除严重降低了 CD8⁺ T 细胞的数量, 难以观察到其对小鼠的动脉粥样硬化影响^[24]。近期研究报道, 在高胆固醇小鼠中, CD8⁺ T 细胞先于 CD4⁺ 活化^[25], CD8⁺ T 细胞促进高胆固醇血小鼠的动脉粥样硬化进程^[26]。CD8⁺ T 细胞达到最高水平三分之一的患者在随访期间, 冠状动脉疾病发生率增加^[27]。因此, 与 CD4⁺ T 细胞相似, CD8⁺ T_{reg} 细胞也促进动脉粥样硬化。

综上所述, 特异性免疫系统和非特异性免疫系统的许多组成部分均参与调节动脉粥样硬化, 这些组分之间的复杂的相互作用可导致动脉粥样硬化的恶化或改善(表 1)。鉴于特异性免疫系统

在动脉粥样硬化中的主要作用, 其疫苗疗法为动脉粥样硬化治疗提供新思路。正在研究的几种用于疫苗接种的候选抗原, LDL 及其蛋白质复合体(ApoB-100)位于前列。

3 动脉粥样硬化斑块内相关抗原

抗动脉粥样硬化的疫苗治疗方案是诱导机体产生特异性免疫应答。这种方法的难点在于确定与动脉粥样硬化形成相关的特异性抗原, 使其可用于激活抗原特异性免疫应答。大多数寻找潜在抗原的研究仍处于临床前试验阶段(表 2)。

3.1 外源性抗原

探索抗原的合理方法是将重点放在病灶本身即动脉粥样硬化斑块。在动脉粥样硬化斑块中已发现许多外源抗原, 包括肺炎支原体、肺炎衣原体和牙龈卟啉单胞菌等, 肠道病毒、人类免疫缺陷病毒、巨细胞病毒和丙型肝炎病毒等病毒。至于这些病原体是否引致动脉粥样硬化, 仍未能确定。

牙周病原体最近在研究中受到重视, 许多人发现牙周病患者多伴随动脉粥样硬化疾病^[28]。实

表1 免疫细胞与动脉粥样硬化的作用

细胞	细胞在动脉粥样硬化中的作用	对动脉粥样硬化的影响
非特异性免疫细胞 树突状细胞	1. 作为特异性免疫和非特异性免疫系统的中介; 2. 处理抗原, 递呈抗原; 3. 激活后, 迁移到淋巴结与特异性免疫细胞相互作用	促进
巨噬细胞	1. 是抗原的第一响应者, 发挥吞噬作用; 2. 处理抗原, 递呈抗原; 3. 细胞因子的产生有助于免疫反应	促进
自然杀伤细胞	释放杀伤介质如穿孔素、颗粒酶B等	促进
肥大细胞	细胞崩解释放物质可引起炎症反应	促进
特异性免疫细胞 B细胞	1. 促动脉粥样硬化物质(如oxLDL)的抗体的分泌; 2. 促进细胞记忆并快速响应已遇到的抗原; 3. 呈递抗原给T细胞	B1细胞:抑制 B2细胞:促进
T细胞	1. 响应呈递的oxLDL促动脉粥样硬化疫苗表位形成特异性免疫反应; 2. 协助其他免疫细胞的成熟和通过差异化细胞因子的表达激活巨噬细胞; 3. 促进细胞记忆并快速响应已遇到的抗原	Th1细胞:促进 Th2细胞:抑制 CD4 ⁺ T细胞:抑制 CD8 ⁺ T细胞:促进

表2 部分疫苗临床前研究进展

靶点	生物制品	动物模型	免疫类型	治疗效果	参考文献
ApoB ₁₀₀ 的p210和p143	与 BSA 偶联的合成肽	ApoE ^{-/-} 小鼠	B 细胞介导的免疫应答, 动脉粥样硬化保护效果与抗体水平相关	降低动脉粥样硬化进程的 60%	[52]
ApoB ₁₀₀ 的 p45, p74, 和 p240	与 BSA 和 MDA 偶联的合成肽	ApoE ^{-/-} 小鼠	B 细胞介导的免疫应答, 动脉粥样硬化保护效果与抗体水平显著性相关	使用 p45 降低动脉粥样硬化进程 48%; 使用 p74 降低动脉粥样硬化进程 31%	[53]
ApoB ₁₀₀ 的 p2	合成肽	ApoE ^{-/-} 小鼠	B 细胞介导的免疫应答, 动脉粥样硬化保护效果与抗体水平显著性相关	降低动脉粥样硬化进程 40%	[54]
ApoB ₁₀₀ 的 p45 和 p210	与 BSA 偶联的合成肽	表达人体 ApoB ₁₀₀ 的 LDL ^{r/-} 小鼠	抗动脉粥样硬化不是由抗体介导的, Treg 细胞的激活是动脉粥样硬化保护的一种可能机制	使用 p210 降低动脉粥样硬化进程 59%; 使用 p45 降低动脉粥样硬化进程 66%	[55]
TT/CETP 破伤风毒素	合成肽	新西兰白兔	B 细胞介导的免疫应答	HDL 水平提升 42%, LDL 水平降低 24%, 动脉粥样硬化进程降低 39.6%	[56]
CETi-1 破伤风毒素	合成肽	健康志愿者	B 细胞介导的免疫应答	接受第二次注射的患者中有 53% 产生抗 CETP 抗体	[57]

验动物暴露于牙龈卟啉单胞菌后, 动脉粥样硬化加剧, 而对牙龈卟啉单胞菌的免疫减缓了动脉粥样硬化^[29]。不过这些病原体在人类动脉粥样硬化中的直接作用仍然是不确定的, 目前尚不清楚靶向牙周病原体的疫苗是否适用于人类动脉粥样硬化患者。

3.2 内源性抗原: LDL 和 ApoB-100 衍生抗原

因为 LDL 和其他含有 ApoB-100 的脂蛋白是动脉粥样硬化血栓形成的主要原因, 所以源自它们的抗原是疫苗开发的首选。使用不同辅助基团修饰疫苗制剂中的全天然或 oxLDL, 在实验动物身上已经证明了其免疫效果。然而, 抗原的确切表位

和机制尚未完全清楚。

由于 LDL 是多种甘油三酯、载脂蛋白、磷脂和胆固醇酯等组成的大分子物质, 所以在临床可用的疫苗制剂中使用天然的 LDL 作为抗原是不实际的。LDL 分子的复杂性使得分子内的免疫原性表位难以确定。鉴于使用 LDL 作为抗原免疫得到了良好的实验数据, 确定 LDL 中的抗动脉粥样硬化抗原表位是重中之重。为此, Antoniak 等^[30]做了广泛研究, 以确定 ApoB-100(LDL 和其他致动脉粥样化脂蛋白的主要蛋白质组分)中的潜在抗原表位, 然后将其作为抗原通过免疫实现抗动脉粥样硬化作用。研究最初筛选了由 4 536 个氨基酸组成的

人体 ApoB-100 蛋白, 并设计了跨越整个 ApoB-100 序列的 302 个肽库(每个 20 个氨基酸, 与前一个序列具有 5-氨基酸重叠)。在这些 20 聚体肽序列中, 鉴定了在人血浆中检测到具有抗体的免疫应答的 102 种肽。随后的测试显示, 当该疫苗制剂用于高脂血症小鼠时, 几种免疫反应性肽(包括 p2、p143、p210)使动脉粥样硬化现象减少 40%~70%^[31]。因为基于 p210 的疫苗具有最持久的抗动脉粥样硬化作用, 有研究团队已经使用 p210 作为疫苗制剂中的原型抗原^[32]。由于表位研究使免疫学研究更精准, 所以使用 ApoB-100 肽作为抗原, 是开发动脉粥样硬化疫苗的临床前关键步骤。

3.2.1 p210 疫苗 与对照受试者相比, 使用 p210 疫苗免疫的患者主动脉粥样硬化显著减轻^[33]。设计实验研究 p210 IgG 滴度的变化, 对照组 25 周内 IgG 滴度无明显变化, 但实验组在 25 周时表现出高 p210 IgG 滴度, 且接种 p210 免疫的小鼠 IgG 滴度显著低于仅接受佐剂的小鼠。这一观察结果表明: (1) p210 疫苗诱导抗体类转换为 IgG; (2) p210 IgG 可以作为疫苗接种的标志物。

除了减少主动脉粥样硬化之外, p210 疫苗还激活 CD8⁺ T 细胞, 在免疫位点和动脉粥样硬化斑块中引起树突状细胞的减少^[34]。有实验报道, 将 CD8⁺ T 细胞从 p210 免疫的小鼠移植到幼小的非免疫小鼠中, 验证了主动免疫的抗动脉粥样硬化作用^[35]。

p210 可诱导 CD8⁺ T 和 CD4⁺ T 细胞反应。通过 p210 免疫抑制动脉粥样硬化与 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞反应有关。注射抗 CD25 抗体减少 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞, 能降低 p210 免疫的抗动脉粥样硬化作用^[36]。此外, Klingenberg 等^[37]用霍乱毒素 B 型(cholera toxin B subunit, CTB)融合的 p210 组成的重组蛋白对雌性 ApoE^{-/-} 小鼠鼻腔给药, 每周两次。对照组小鼠注射与 CTB 或 PBS 融合的卵清蛋白肽。实验组的小鼠主动脉窦的动脉粥样硬化减轻。

由 p210 引起不同的细胞免疫应答可能是由于以下原因: (1) p210 载体形式, 用 CTB 重组或游离态; (2) 递送途径-皮下给药与黏膜给药的差异; (3) p210 的剂量; (4) p210 给药的持续时间。然而, 无论以何种形式递送, p210 免疫后动脉粥样硬化的减轻, 表明 p210 是疫苗制剂的候选抗原。

3.2.2 其他 ApoB-100 相关抗原 来自肺炎衣原

体和热休克蛋白(heat shock proteins, HSP)60 的肽和具有 ApoB-100 氨基酸残基 688 至 707 的肽构成了多抗原组合体, 用这种多抗原表位的免疫减少了动脉粥样硬化, 且导致巨噬细胞的减少和斑块中的 CD4⁺ FoxP3 T 细胞的增加^[38]。Kimura 等^[39]预测了 2 个肽片段, ApoB₃₅₀₁₋₃₅₁₆ 和 ApoB₉₇₈₋₉₉₃, 用于免疫的 ApoE^{-/-} 小鼠时可通过 IL-10 依赖性机制减少动脉粥样硬化。

4 动脉粥样硬化疫苗研究中的其他抗原

使用疫苗调节动脉粥样硬化中的免疫应答的方法不仅限于 LDL 和 ApoB-100 相关的抗原。动脉粥样硬化血管疾病的复杂性为其他抗原研究提供了可能性。

4.1 胆固醇酯转运蛋白疫苗

胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)是抗体诱导型动脉粥样硬化疫苗的候选抗原。CETP 是一种酶, 可促进胆固醇酯从 HDL 转移到 LDL, 甘油三酸酯从 LDL 转移到 HDL^[40]。体内 HDL 浓度与心血管疾病风险呈现负相关^[41-42]。使用 CETP 肽和破伤风毒素肽(含 T 细胞表位)一起进行疫苗接种可增加家兔的 HDL 胆固醇水平并减缓动脉粥样硬化进程^[54]。但是, CETP 疫苗的 I 期临床试验显示 HDL 胆固醇水平与空白组比并无显著性差异^[43]。

4.2 其他脂质抗原

天然 IgM 抗体可识别凋亡细胞表面的 oxLDL 表位和磷酰胆碱(Phosphorylcholine, PC)头部基团, 并阻止巨噬细胞抑制和 oxLDL 凋亡细胞的摄取。抗 PC 抗体可用于预防肺炎链球菌感染。LDLR^{-/-} 小鼠对肺炎链球菌主动免疫产生了 oxLDL 抗体, 主要是 IgM 同型, 并呈现动脉粥样硬化的减轻^[44]。oxLDL 特异性 IgM 的增加归因于 PC 对 oxLDL 和肺炎链球菌诱导的抗体的交叉反应, 表明肺炎链球菌和 oxLDL 之间存在分子模拟特征。一些研究在疫苗的背景下进一步研究和扩展了分子模拟物^[45], 该组使用与 CpG 寡核苷酸偶联的 PC-keyhole 血蓝蛋白偶联物作为佐剂并多次对 ApoE^{-/-} 小鼠腹膜内注射免疫。PC 免疫血清可显著增加抗 PC 和 oxLDL 的 IgG 和 IgM 抗体, 减少巨噬细胞 oxLDL 的摄取, 并减轻动脉粥样硬化。

4.3 针对HSP抗原的疫苗

HSP是一种高度保守的应激蛋白,它们在正常条件下存在于细胞中,当细胞暴露于压力条件下(例如pH变化或缺氧)时可以高水平表达。HSP同样影响动脉粥样硬化进程^[46]。在最近的一项研究中,该疫苗使用了PBS缓冲液配制的全蛋白HSP65、DNA或两者结合进行多次鼻腔用药,所有疫苗制剂均诱导HSP65 IgG应答,降低胆固醇水平,减少动脉粥样硬化^[47]。

4.4 树突细胞疫苗

DCs是最有效的抗原呈递细胞,通过DCs进入宿主的抗原递送可引起有效的免疫反应。有研究者以oxLDL作为抗原,将细胞静脉注射到新生小鼠中,负载oxLDL的DCs的转移诱导产生Th1应答,增加oxLDL IgG滴度,减少动脉粥样硬化^[48]。

4.5 流感疫苗与动脉粥样硬化

有文献报道通过对心血管疾病的患者接种流感疫苗来预防动脉粥样硬化等心血管疾病^[49]。调查研究表明,流感季节期间急性心肌梗死和病死率升高,表明心血管疾病与流行性感冒之间存在关联^[50]。最近的大数据分析进一步提出了流感疫苗有益于心血管疾病二次保护^[51]。这些报告支持进一步研究使用流感疫苗以减少动脉粥样硬化的发生率,并有助于了解其尚未知晓的作用机制。流感疫苗的接种可能减少了动脉粥样硬化斑块中的炎症信号传导,进而减少急性心血管疾病。

表3 部分疫苗临床研究进展

药物	靶点/作用机制	临床阶段	实验结果	临床试验登记编号
Evolocumab	P2Y12受体	IV期临床试验	降低LDL和ApoB水平	NCT03096288
Canakinumab	阻断IL-1 β	II期临床试验	降低IL-1b和纤维蛋白原水平	NCT00995930
Tocilizumab	IL-6受体抑制剂	IV期临床试验	抑制IL-6和血浆PCSK9水平	NCT02809833
ATH03	对抗胆固醇酯转移蛋白(CETP)	I期临床试验	HDL胆固醇水平无差异; 不同试验剂量的ATH03疫苗是安全的, 没有任何重大的临床不良反应	NCT01284582
AFF012	原蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/Kexin 9型(PCSK9)	I期临床试验	结果尚未公布	NCT02508896
V6	纤维蛋白原	III期临床试验	研究完成后将发布数据	NCT03042741
肺炎球菌多糖疫苗(PPV)	oxLDL	进行中	研究完成后将发布数据	ACTRN12615000536561
Alirocumab	原蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/Kexin 9型(PCSK9)	进行中	研究完成后将发布数据	NCT03355027

5 总结与展望

随着医药科技水平的发展,疫苗消除了许多传染病的感染与影响。同样,为慢性流行的动脉粥样硬化疾病开发疫苗也具有重要意义。本文讨论了特异性和非特异性免疫系统在动脉粥样硬化进程中的双重作用,总结了通过接种疫苗诱导动脉粥样硬化相关抗原特异性免疫反应以及在实验模型中延缓动脉粥样硬化进程的抗原种类。通过自身抗原诱导免疫反应能有效地了解特异性免疫和非特异性免疫对于免疫受体识别和抗体表达的关系,从而为治疗动脉粥样硬化提供指导,并为其他心血管疾病如缺血性心脏病、脑卒中等疾病治疗提供参考。

然而,动脉粥样硬化疫苗的开发仍面临不少挑战。包括:(1)疫苗安全和稳定性的问题,确保疫苗可适当复制天然抗原,并确保免疫反应有适当的强度和质量从而提供有效的机体保护;(2)免疫疗程和持久性;(3)临床研究中的疗效终点的确定和监测;(4)缩短候选疫苗的开发时间、生产和临床应用;(5)成本投入巨大。像所有疫苗一样,动脉粥样硬化疾病疫苗的免疫反应也很难预测,开发出最佳疫苗需要长期耗时的动物疫苗免疫实验,然后表征所得的免疫结果,从而判断疫苗优劣;此外,物种差异造成疫苗的临床使用更加困难,有些疫苗在动物实验中表现良好,但在人体使用却无效(表3)。考虑到所有这些挑战,对动脉粥样硬化疫苗未来临床应用保持谨慎乐观。

目前,有许多可应用于人体的抗原选择,很多很有希望的结果都是在临床前实验中得到的,将这一疫苗治疗手段运用到临床研究中显得至关重要与紧迫。但将上述临床前观察转化为临床领域仍处于起步阶段,例如,许多临床前试验已经确定 LDL 在动脉粥样硬化形成中的作用,这使 LDL 和 ApoB-100 成为免疫调节治疗的初始靶标,但到目前为止,还没有针对此类靶标的药物上市。

参 考 文 献

- [1] Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis[J]. *Nat Immunol*, 2011, **12**(3):204–212.
- [2] Yang X, Li J, Hu D, et al. Predicting the 10-year risks of atherosclerotic cardiovascular disease in Chinese population: the China-PAR project (prediction for ASCVD risk in China)[J]. *Circulation*, 2016, **134**(19):1430–1440.
- [3] Tall AR, Yvan-Charvet L. Cholesterol, inflammation and innate immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, **15**(2):104–116.
- [4] Zernecke A. Dendritic cells in atherosclerosis: evidence in mice and humans[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, **35**(4):763–770.
- [5] Hovland A, Jonasson L, Garred P, et al. The complement system and Toll-like receptors as integrated players in the pathophysiology of atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2015, **241**(2):480–494.
- [6] Ramji DP, Davies TS. Cytokines in atherosclerosis: key players in all stages of disease and promising therapeutic targets[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2015, **26**(6):673–685.
- [7] Conti P, Shaik-Dastaghiraab Y. Atherosclerosis: a chronic inflammatory disease mediated by mast cells[J]. *Cejoi*, 2015, **3**:380–386.
- [8] Amengual J, Zhou F, Barrett TJ, et al. Abstract 210: beta-carotene conversion to vitamin a delays atherosclerosis progression and accelerates atherosclerosis regression [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, **38**:A210.
- [9] Li Y, To K, Kanellakis P, et al. CD4⁺ natural killer T cells potently augment aortic root atherosclerosis by perforin-and granzyme B-dependent cytotoxicity [J]. *Circ Res*, 2015, **116**(2):245–254.
- [10] Kohlhauer M, Berdeaux A, Ghaleh B, et al. Inflammation in atherosclerosis[J]. *Retour Au Numéro*, 2016, **48**(2):265–266.
- [11] Shi G, Bot I, Kovanen PT. Mast cells in human and experimental cardiometabolic diseases[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, **12**(11):643–658.
- [12] Zernecke A. Dendritic cells in atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015;114.303566.
- [13] Williams JW, Huang LH, Randolph GJ. Cytokine circuits in cardiovascular disease[J]. *Immunity*, 2019, **50**(4):941–954.
- [14] Silvestre-Roig C, Braster Q, Ortega-Gomez A, et al. Neutrophils as regulators of cardiovascular inflammation[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, **17**(6):327–340.
- [15] Ammirati E, Moroni F, Magnoni M, et al. The role of T and B cells in human atherosclerosis and atherothrombosis [J]. *Clin Exp Immunol*, 2015, **179**(2):173–187.
- [16] Panda S, Ding JL. Natural antibodies bridge innate and adaptive immunity[J]. *J Immunol*, 2015, **194**(1):13–20.
- [17] Rahman M, Sing S, Golabkesh Z, et al. IgM antibodies against malondialdehyde and phosphorylcholine are together strong protection markers for atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: regulation and underlying mechanisms [J]. *Clin Immunol*, 2016, **166/167**:27–37.
- [18] Hedrick CC. Lymphocytes in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, **35**(2):253–257.
- [19] Lacy M, Atzler D, Liu R, et al. Interactions between dyslipidemia and the immune system and their relevance as putative therapeutic targets in atherosclerosis [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, **193**:50–62.
- [20] Lu J, Xiang G, Liu M, et al. Irisin protects against endothelial injury and ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-Null diabetic mice[J]. *Atherosclerosis*, 2015, **243**(2):438–448.
- [21] Hubackova S, Kucerova A, Michlits G, et al. IFN γ induces oxidative stress, DNA damage and tumor cell senescence via TGF β /SMAD signaling-dependent induction of Nox4 and suppression of ANT2[J]. *Oncogene*, 2016, **35**(10):1236–1249.
- [22] Borén J, Chapman MJ, Krauss RM, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel[J]. *Eur Heart J*, 2020, **41**(24):2313–2330.
- [23] Potekhina AV, Pylaeva E, Provatorov S, et al. Treg/Th17 balance in stable CAD patients with different stages of coronary atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2015, **238**(1):17–21.
- [24] Cochain C, Koch M, Chaudhari SM, et al. CD8⁺T cells regulate monopoiesis and circulating Ly6C-high monocyte levels in atherosclerosis in mice[J]. *Circ Res*, 2015, **117**(3):244–253.
- [25] Qiu MK, Wang SC, Dai YX, et al. PD-1 and Tim-3 pathways regulate CD8⁺T cells function in atherosclerosis [J]. *PLoS One*, 2015, **10**(6):e0128523.
- [26] Tay C, Kanellakis P, Hosseini H, et al. B cell and CD4 T cell interactions promote development of atherosclerosis [J]. *Front Immunol*, 2019, **10**:3046.
- [27] Simons KH, de Vries MR, Peters HAB, et al. CD8⁺T cells protect during vein graft disease development [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2019, **6**:77.
- [28] Rosenson RS, Brewer HB Jr, Ansell BJ, et al. Dysfunctional HDL and atherosclerotic cardiovascular disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, **13**(1):48–60.

- [29] How KY, Song KP, Chan KG. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line [J]. *Front Microbiol*, 2016, **7**:53.
- [30] Antoniak DT, Duryee MJ, Mikuls TR, et al. Aldehyde-modified proteins as mediators of early inflammation in atherosclerotic disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, **89**:409–418.
- [31] Menini S, Iacobini C, Ricci C, et al. Protection from diabetes-induced atherosclerosis and renal disease by D-carnosine-octylester: effects of early vs late inhibition of advanced glycation end-products in Apoe-null mice [J]. *Diabetologia*, 2015, **58** (4):845–853.
- [32] Byun YS, Lee JH, Arsenault BJ, et al. Relationship of oxidized phospholipids on apolipoprotein B-100 to cardiovascular outcomes in patients treated with intensive versus moderate atorvastatin therapy: the TNT trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, **65** (13):1286–1295.
- [33] Kobiyama K, Saigusa R, Ley K. Vaccination against atherosclerosis [J]. *Curr Opin Immunol*, 2019, **59**:15–24.
- [34] Zhao X, Chyu K, Paul CD, et al. Abstract 18244: adoptive cell transfer demonstrates that CD8⁺ T cells mediate the anti-atherosclerotic effects of the ApoB-100 peptide P210 immunization in ApoE^{-/-} mice [J]. *Circ*, 2010, **122**(21):A18244.
- [35] Chyu KY, Zhao XN, Dimayuga PC, et al. CD8⁺ T cells mediate the athero-protective effect of immunization with an ApoB-100 peptide [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(2):e30780. doi: 10.1371/journal.pone.0030780.
- [36] Santos RD, Raal FJ, Catapano AL, et al. Mipomersen, an anti-sense oligonucleotide to apolipoprotein B-100, reduces lipoprotein (a) in various populations with hypercholesterolemia: results of 4 phase III trials [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, **35**(3):689–699.
- [37] Klingenberg R, Lebens M, Hermansson A, et al. Intranasal immunization with an apolipoprotein B-100 fusion protein induces antigen-specific regulatory T cells and reduces atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, **30**(5):946–952.
- [38] Thota LN, Ponnusamy T, Lu X, et al. Long-term efficacy and safety of immunomodulatory therapy for atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2019, **33**(4):385–398.
- [39] Kimura T, Tse K, McArdle S, et al. Atheroprotective vaccination with MHC-II-restricted ApoB peptides induces peritoneal IL-10-producing CD4 T cells [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2017, **312**(4):H781–H790.
- [40] de Groot GJ, Klerkx AH, Stroes ES, et al. A review of CETP and its relation to atherosclerosis [J]. *J Lipid Res*, 2004, **45** (11):1967–1974.
- [41] Prospective Studies Collaboration, Lewington S, Whitlock G, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths [J]. *Lancet*, 2007, **370**(9602):1829–1839.
- [42] Klerkx. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease [J]. *J Vasc Surg*, 2010, **52**(2):518–519.
- [43] Davidson MH, Maki K, Umporowicz D, et al. The safety and immunogenicity of a CETP vaccine in healthy adults [J]. *Atherosclerosis*, 2003, **169**(1):113–120.
- [44] Cesena FH, Dimayuga PC, Yano J, et al. Immune-modulation by polyclonal IgM treatment reduces atherosclerosis in hypercholesterolemic apoE^{-/-} mice [J]. *Atherosclerosis*, 2012, **220**(1):59–65.
- [45] Gleissner CA, Erbel C, Haeussler J, et al. Low levels of natural IgM antibodies against phosphorylcholine are independently associated with vascular remodeling in patients with coronary artery disease [J]. *Clin Res Cardiol*, 2015, **104**(1):13–22.
- [46] Jakic B, Buszko M, Cappellano G, et al. Elevated sodium leads to the increased expression of HSP60 and induces apoptosis in HUVECs [J]. *PLoS One*, 2017, **12**(6):e0179383.
- [47] Wick C, Onestringel E, Demetz E, et al. Oral tolerization with mycobacterial heat shock protein 65 reduces chronic experimental atherosclerosis in aged mice [J]. *Gerontology*, 2018, **64** (1):36–48.
- [48] Zhang Y, Mu Q, Zhou Z, et al. Protective effect of irisin on atherosclerosis via suppressing oxidized low density lipoprotein induced vascular inflammation and endothelial dysfunction [J]. *PLoS One*, 2016, **11**(6):e0158038.
- [49] Campbell LA, Rosenfeld ME. Infection and atherosclerosis development [J]. *Med Res Arch*, 2015, **46**(5):339–350.
- [50] Brack MC, Lienau J, Kuebler WM, et al. Cardiovascular sequelae of pneumonia [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2019, **25**(3):257–262.
- [51] Flannery B, Chung JR, Belongia EA, et al. Interim estimates of 2017–18 seasonal influenza vaccine effectiveness—United States, February 2018 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2018, **67**(6):180–185.
- [52] Liaw YW, Lin CY, Lai YS, et al. A vaccine targeted at CETP alleviates high fat and high cholesterol diet-induced atherosclerosis and non-alcoholic steatohepatitis in rabbit [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(12):e111529. doi: 10.1371/journal.pone.0111529.
- [53] Qi G, Li J, Wang S, et al. A chimeric peptide of intestinal trefoil factor containing cholestryler ester transfer protein B cell epitope significantly inhibits atherosclerosis in rabbits after oral administration [J]. *Peptides*, 2011, **32**(4):790–796.
- [54] Salazar-Gonzalez JA, Rosales-Mendoza S, Romero-Maldonado A, et al. Production of a plant-derived immunogenic protein targeting ApoB100 and CETP: toward a plant-based atherosclerosis vaccine [J]. *Mol Biotechnol*, 2014, **56**(12):1133–1142.
- [55] 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 [J]. *Vaccine*, 2006, **24**(23):4942–4950.

- [56] Dunér P, To F, Alm R, et al. Immune responses against fibronectin modified by lipoprotein oxidation and their association with cardiovascular disease [J]. *J Intern Med*, 2009, **265**(5): 593-603.
- [57] Dunér P, To F, Beckmann K, et al. Immunization of apoE^{-/-} mice with aldehyde-modified fibronectin inhibits the development of atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, **91**(3): 528-536.

·新药信息·

2020年FDA批准的抗癌新药(3)

胃肠间质瘤

1. Ripretinib

药物名称:ripretinib (瑞普替尼 DCC-2618)
生产厂家:Deciphera Pharmaceuticals
优先审批时间:2020年2月13日
FDA预计裁定时间:2020年8月13日
获批时间:2020年5月15日加速获批
适应证:晚期胃肠道间质瘤(GIST)患者

2. Avapritinib

2020年1月9日,美国食品药品监督管理局(FDA)批准Avapritinib,(AYVAKIT TM)用于患有不可切除或转移性胃肠道间质瘤(GIST)的成年人,该成年人具有血小板衍生的生长因子受体α(PDGFRα)外显子18突变,包括D842V突变。

该批准基于I阶段NAVIGATOR试验的功效结果,以及来自avapritinib多项研究的综合安全性数据。在特定的PDGFRα外显子18突变患者人群中,avapritinib引起了84%的总有效率。7%的患者病情完全缓解,77%患者部分缓解。专门针对PDGFRα患者D842V突变,有效率为89%,完全缓解患者占8%,部分缓解为82%。

胆管癌

1. 胆管癌靶向药 pemigatinib

药物名称:Pemazyre(pemigatinib)
生产厂家:Incyte公司
FDA预计裁定时间:2020年5月30日
获批时间:2020年4月17日加速获批
适应证:既往接受过治疗的携带成纤维细胞生长因子受体2(FGFR2)融合或重排的局部晚期或转移性胆管癌患者。

食管癌

1. Opdivo

2020年6月11日,FDA批准nivolumab治疗化疗后进展的食管鳞状细胞癌的晚期复发性或转移性成人患者。该批准基于III期临床试验的结果,其中表明与标准化疗相比,nivolumab改善了总生存期。Opdivo是被批准用于上述ESCC患者群体、无论PD-L1表达水平如何的第一个肿瘤免疫疗法。

结直肠癌

1. 靶向疗法 Encorafenib/ Cetuximab

2020年4月8日,辉瑞(Pfizer)公司宣布美国FDA已经批准Braftovi®(encorafenib,康奈非尼)和Erbitux®(cetuximab,西妥昔单抗)联合用药方案(Braftovi二药方案),用于治疗携带BRAF V600E突变的转移性结直肠癌(mCRC)患者。这些患者已经接受过一种或两种前期疗法。此次批准,也使Braftovi二药方案成为FDA批准的针对携带BRAF基因突变mCRC患者的首个靶向疗法。

2. Keytruda

2020年6月29日,FDA批准使用派姆单抗(KEYTRUDA,Merck & Co.)作为一线治疗不可切除或转移性微卫星不稳定性高(MSI-H)或错配修复缺陷(dMMR)大肠癌的患者。

肝癌

1. Nivolumab/Ipilimumab

2020年3月,FDA批准将nivolumab与ipilimumab联合使用来治疗肝细胞癌患者,在I/II期临床试验中显示该药物可使33%的标准治疗失败的患者肿瘤缩小。

2. 阿特珠单抗

2020年5月,FDA批准atezolizumab联合贝伐单抗(Avastin)治疗无法通过手术的转移性肝细胞癌初始治疗方法。

甲状腺癌

01. Gavreto

2020年12月2日,FDA宣布已经加速批准普雷西替尼(Pralsetinib,Gavreto,也就是我们熟悉的“明星药”BLU-667)的扩展适应证,用于治疗RET突变阳性的晚期或转移性甲状腺髓样癌成年及12岁以上儿童患者,和RET融合突变阳性、需要进行全身治疗联合放射性碘治疗的难治性晚期或转移性甲状腺癌患者。

不限癌种

1. Keytruda

2020年6月,FDA批准pembrolizumab治疗具有高组织肿瘤突变负荷(TMB-H)≥10个突变/兆碱基(使用FDA指定的检测)的无法切除或转移性实体瘤的成年和儿科患者。批准是基于来自II期临床试验的数据,使用pembrolizumab治疗可使30%的具有不可切除或转移性肿瘤缩小。

(信息来源:中睿医药评论 医前沿 本刊有删节)