·专题报道——预防流感，守护健康·

重组腺病毒口服流感疫苗研究进展

李东蔚[1]，尹晓萱[1,2]，段招军[1]

1. 传染病溯源预警与智能决策全国重点实验室 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所腹泻室，北京 100052；
2. 甘肃中医药大学公共卫生学院，兰州 730000
通信作者：段招军，E-mail：zhaojund@126.com

【摘　要】 流感病毒引起的流感是一种全球性的健康威胁，现有的灭活和减毒活疫苗提供了一定程度的保护，但它们的保护范围有限，需要定期加强接种，且对新病毒株的保护效果不佳。为了克服这些限制，研究者正在开发能够提供有效广谱保护的各种新型流感疫苗，其中重组腺病毒口服流感疫苗结合了腺病毒载体技术和口服给药的优势，展现出巨大潜力。这种口服疫苗能够有效激活黏膜免疫，产生分泌性免疫球蛋白 A，形成高效免疫屏障，同时利用口服接种的便利大大提高疫苗接受度并适合流感大流行背景下的大规模应急接种。尽管口服腺病毒载体流感疫苗在临床前研究中显示出良好的免疫原性和保护效果，但有效提高其在胃肠道环境中的稳定性及免疫保护效果仍面临挑战。未来的研究将集中于优化载体疫苗抗原设计、免疫策略等，以提高口服疫苗的有效性和适用性，为公共卫生提供更多预防选择。

【关键词】 重组疫苗；腺病毒载体；口服疫苗；流感病毒

Recombinant adenovirus-based oral vaccines for influenza: a review

LI Dongwei[1], YIN Xiaoxuan[1,2], DUAN Zhaojun[1] (*1. National Key Laboratory of Intelligent Tracking and Forecasting for Infectious Diseases*, *Department of Viral Diarrhea*, *National Institute for Viral Disease Control and Prevention*, *Chinese Center for Disease Control and Prevention*, *Beijing* 100052, *China*; *2. School of Public Health*, *Gansu University of Chinese Medicine*, *Lanzhou* 730000, *China*)
Corresponding author: DUAN Zhaojun, E-mail: zhaojund@126.com

【Abstract】 Influenza caused by influenza viruses is a global health threat. Existing inactivated and attenuated vaccines provide a certain degree of protection, while their protection is limited, requiring regular booster vaccinations. Moreover, these vaccines are not effective against new viral strains. To overcome these limitations, researchers are developing new influenza vaccines that can provide effective broad-spectrum protection, among which the recombinant adenovirus-based oral vaccines combine the advantages of adenovirus vector technology and oral administration, showing great potential. Such oral vaccines can effectively activate mucosal immunity, produce secretory immunoglobulin A, form an efficient immune barrier, and greatly increase vaccine acceptance through the convenience of oral administration, being suitable for large-scale emergency vaccination in the context of influenza pandemics. Although adenovirus vector-based oral vaccines for influenza have shown good immunogenicity and protective effects in preclinical studies, effectively improving their stability in the gastrointestinal environment and immune protection effects remains a challenge. Future research will focus on optimizing vector vaccine antigen design, immunization strategies, etc. to improve the effectiveness and applicability of oral vaccines, providing more prevention options for public health.

【Keywords】 recombinant vaccine; adenovirus vector; oral vaccine; influenza virus

流感是一种由流感病毒（influenza virus）引起的急性呼吸道感染，具有高度传染性和季节性流行的特点[1]。全球每年流感疫情导致数百万病例和显著的健康负担，尤其在老年人、儿童和免疫功能低下的人群中更为严重[2–3]。现有的流感疫苗主要包括灭活疫苗和减毒活疫苗，它们通过激发体内产生针对流感病毒的免疫反应来提供保护。然而，这些传统疫苗也存在局限性，如免疫保护范围有限、需要定期接种以及对新兴流感病毒株的保护效果不足[4–5]。

近年来，重组腺病毒作为一种新兴的疫苗载体，在疫苗研究领域引起了广泛关注[6]。腺病毒是一类常见的病毒，其自然感染可以引发广泛的免疫反应。利用重组技术将腺病毒基因组中的部分区域替换为外源抗原基因，从而将其改造成疫苗载体。这种方法不仅能够有效地传递目标抗原，还可以引发强烈且持久的免疫应答[7]。口服疫苗作为一种给药方式，具有便于大规模接种和提高接受度的明显的优势。相较于传统的注射疫苗，口服疫苗能够通过胃肠道直接刺激黏膜免疫

开放获取：CC BY-NC-ND 4.0 DOI：10.11847/zgggws1146379
基金项目：国家重点研发计划（2022YFC2304302）；国家自然科学基金（21934005）
第一作者：李东蔚（1996—），博士在读，研究方向：病原生物学、免疫学。
收稿日期：2024-11-08　修回日期：2025-02-10　录用日期：2025-08-06
利益冲突：不存在　伦理审查：免除审查　出版授权：全体作者已与编辑部签署作者贡献声明及版权转让协议

系统，从而激发全身和局部免疫反应。这种免疫途径特别适合大规模疫苗接种规划，且能够减少接种时的疼痛和不适感[8]。

重组腺病毒口服流感疫苗结合了腺病毒载体技术和口服疫苗给药方式的优势，具有巨大的潜力。通过将流感病毒的关键抗原基因嵌入到腺病毒载体中，希望能够开发出一种高效、安全且便捷的流感疫苗[9]。这一领域的研究不仅具有重要的科学价值，还有助于提高全球对流感疫情的防控能力。

1 口服黏膜免疫机制

黏膜主要由呼吸道、消化道和泌尿生殖道内壁的大面积裸露组织组成。黏膜不仅参与了营养吸收和气体交换等重要生理功能，还在免疫屏障中发挥了关键作用，可以长期对环境暴露（食物和微生物中的抗原和过敏原）产生免疫反应[9-10]。高等哺乳动物中的黏膜免疫系统（mucosal immune system, MIS）是由呼吸道、胃肠道、泌尿生殖道黏膜下及一些外分泌腺体处的淋巴组织的组织细胞、淋巴样细胞、黏膜相关细胞、髓细胞、效应分子（如细胞因子、趋化因子、抗菌肽和分泌性免疫球蛋白 A（SIgA））组成的免疫网络的整合[11-13]。口服黏膜免疫（oral mucosal immunity, OMI）是通过口服疫苗的方法激活黏膜免疫系统，刺激机体在黏膜部位产生特异的分泌性免疫球蛋白 A，形成免疫屏障[14-15]。

口服黏膜免疫刺激的黏膜免疫系统有着强大的先天免疫屏障和自适应能力，是机体防御病原体的第一道防线。黏膜免疫系统的先天免疫屏障，包括物理水平、化学水平和细胞水平。物理水平上，黏膜免疫系统由上皮细胞的物理屏障和表层粘液组成[16]；化学水平上，黏膜免疫系统通过分泌各种化学物质，包括先天受体、抗菌肽、酶和特异性蛋白酶抑制剂等，破坏病原体的结构、抑制病原体生长或由细胞因子介导的免疫反应促进病原体的清除[17]；细胞水平上，先天免疫细胞组成的细胞元件，如巨噬细胞、树突状细胞和自然杀伤细胞等，这些细胞元件通过吞噬作用直接吞噬病原体，或通过识别病原体上的保守结构，启动促进杀伤的信号通路[18]。

黏膜免疫系统的自适应能力依据解剖学和功能特性分为诱导部位和效应部位。黏膜相关淋巴组织（mucosal-associated lymphoid tissue, MALT）是哺乳动物的主要诱导部位，其覆盖的黏膜组织表面可按其解剖位置分为肠道相关淋巴组织（gut-associated lymphoid tissue, GALT）、鼻咽相关淋巴组织（nasopharyngeal-associated lymphoid tissue, NALT）和支气管相关淋巴组织（bronchus-associated lymphoid tissue, BALT），其中肠道相关淋巴组织面积最大。口腔、咽部、食管和尿道中的衬里由多层鳞状上皮形成，与覆盖肠黏膜的单细胞层形成鲜明对比，由于结构上的差异，这些上皮细胞采用不同的抗原呈递机制来控制管腔与固有层之间的干扰[19]。在多层鳞状上皮细胞中，抗原呈递细胞（antigen-presenting cells, APC）、可以直接将口服抗原呈递到上皮细胞中；而对于肠道单层上皮细胞，其细胞间空间被紧密连接封闭，需要专门的微皱褶细胞来捕获和呈递抗原，经上皮细胞转运，抗原从管腔进入下层的淋巴组织，在与来自抗原呈递细胞加工的抗原接触后，同幼稚 B 细胞和幼稚 T 细胞发生活化、克隆扩增并分化为效应细胞，然后从诱导部位迁移到黏膜所有部位都存在的效应部位[20-22]。黏膜免疫系统的效应部位，主要由上皮内淋巴细胞（intraepithelial lymphocytes, IELs）和分泌性免疫球蛋白 A（SIgA）组成。诱导部位接受口服抗原后，效应部位的 SIgA 与 B 细胞利用其在诱导部位获得的特有归巢分子，在各种趋化因子和地址分子的帮助下到达黏膜固有层，在固有层进一步成熟分化为能分泌二聚体 IgA 抗体浆母细胞和浆细胞，浆细胞合成的二聚体 IgA 与黏膜上皮细胞底端的多聚 Ig 受体（pIgR）结合，在穿过黏膜上皮细胞时多聚 Ig 受体水解为仅保留与二聚体 IgA 结合的肽段（SIgA）并进入黏膜层参与免疫[23-24]。

2 口服黏膜免疫疫苗研究概况

口服黏膜免疫疫苗是一种通过口服途径激活黏膜免疫系统，从而在黏膜表面产生免疫保护的疫苗。这种疫苗的设计旨在模拟病原体的自然感染过程，通过口服给药，激活肠道黏膜免疫系统。理想情况下，口服黏膜疫苗不仅能在局部黏膜产生免疫反应，还能在全身范围内产生系统性免疫应答[25]。目前，市面上已知的口服黏膜疫苗主要包括口服脊髓灰质炎疫苗（oral poliovirus vaccine, OPV）[26]、口服霍乱疫苗[27] 和口服轮状病毒疫苗[28] 等。这些疫苗通过口服途径激发黏膜和全身免疫反应，具有易于给药、制造程序简单等优点。然而，口服疫苗的研发和应用也面临挑战，包括需要耐受胃肠道的酸性环境和蛋白水解酶的存在，以及可能需要多次接种才能引起持续的免疫反应[29]。

研究人员正在探索多种策略来提高口服疫苗的有效性，包括使用枯草芽孢杆菌、酵母和纳米颗粒作为载体，以及开发基于纳米颗粒的口服疫苗给药系统[30]。这些创新旨在提高口服疫苗的

稳定性、生物利用度和免疫原性。随着技术的不断进步和研究的深入，预计未来将有更多的口服黏膜免疫疫苗进入临床试验阶段，并最终实现商业化应用。

2.1 口服核酸疫苗 口服核酸疫苗是指通过口服途径将核酸递送入体内，以激发免疫系统产生保护性免疫反应的一类疫苗。根据核酸的种类，口服核酸疫苗可以分为口服 DNA 疫苗和口服 mRNA 疫苗。口服 DNA 疫苗是利用质粒 DNA 作为疫苗成分，进入体内后，质粒 DNA 在细胞内转录成蛋白质，激发免疫反应[31]。而口服 mRNA 疫苗是通过口服方式递送 mRNA，mRNA 在体内翻译成目标抗原蛋白质，从而诱导免疫系统产生相应的免疫反应[32]。口服核酸疫苗的工作机制主要包括核酸摄取、细胞转导、抗原表达、免疫反应四部分，疫苗经过特殊的包裹和保护处理后通过口服方式进入胃肠道；疫苗中的核酸通过肠道上皮细胞进入体内，被细胞吸收并转运至细胞质或细胞核；引入细胞内的核酸引导细胞合成目标抗原蛋白质；抗原蛋白质随后被呈递给免疫系统，激发针对特定病原体的免疫反应；免疫系统识别并攻击含有目标抗原的病原体，形成特异性的免疫记忆。

口服核酸疫苗作为一种创新的核酸疫苗接种方式，具有口服疫苗的非侵入性，简化了接种过程并提高了便利性，同时减少了注射带来的疼痛和不适。它还简化了存储与运输，因为某些疫苗能在常温下稳定，减少了对冷链运输的依赖。同时，还具有核酸疫苗的较强的适应性，能够快速调整设计以应对新出现的病原体。

然而，目前口服核酸疫苗的研发和应用还处于相对早期的阶段，市场上尚未出现广泛认可的成功口服核酸疫苗案例。这种疫苗的局限性在于，胃肠道中核酸可能面临降解和失活的问题，需要有效的保护机制来确保其稳定性[33]；其在胃肠道引发免疫反应的能力也尚需进一步研究；此外，核酸疫苗的生产过程复杂，有较高的生产成本和技术挑战。

2.2 口服蛋白疫苗 口服蛋白疫苗是利用口服途径，向体内递送重组蛋白，通过模拟自然感染过程，激发黏膜和全身免疫反应的一类疫苗。口服蛋白疫苗通过消化道黏膜进入体内，激活局部的黏膜免疫系统，包括黏膜免疫系统（MALT）、胃肠道相关淋巴组织（GALT）及全身免疫系统，产生系统性的免疫保护，这些免疫反应有助于防止病原体在黏膜表面定植和侵入。

口服蛋白疫苗作为一种创新的免疫策略，具有多方面的优势。疫苗通过模拟自然感染途径，能够有效地激活黏膜免疫系统，这对于预防通过黏膜途径传播的病原体尤为重要[34]。其次，口服疫苗有非侵入性特点，且具有更好的热稳定性，减少了对冷链运输和储存的依赖[35]。最后，口服疫苗的生产过程相对简单，成本较低，有助于大规模生产和分发[36]。这些优势使得口服蛋白疫苗在公共卫生领域具有巨大的潜力和应用前景。虽然目前市面上的蛋白疫苗都是通过注射给药，尚未出现广泛认可的口服蛋白疫苗案例，但是基于基因工程蛋白或多肽的口服疫苗正在开发之中，包括流感、神经坏死病毒和 SARS-CoV-2 等多种病毒疫苗[37–39]。

口服蛋白疫苗因其给药便利和激发黏膜免疫反应的潜力而备受青睐，然而，它们在实际应用中也遭遇了一些挑战和限制。这些局限性包括免疫原性不足，可能无法激发与全病原体疫苗同等的全面保护；在消化道中可能遭受胃酸和消化酶破坏，影响其稳定性和生物利用度；可能诱导免疫耐受，限制长期免疫效果；生产过程需特殊技术和严格监管以确保安全有效；对免疫系统受损人群可能不适用；且虽无病原体逃逸风险，但可能无法提供长期保护[40–41]。这些挑战需要通过科研创新和工艺改进来克服，以提高口服蛋白疫苗的性能和适用性。

2.3 口服载体疫苗 口服载体疫苗是通过口服方式将病原体的抗原呈递至机体，利用载体的特性来增强抗原免疫原性的一类疫苗。疫苗载体包括是病毒载体、细菌载体或无活性的微生物颗粒等，它们能够在胃肠道内保护抗原并呈递抗原至免疫系统，从而激发免疫应答[42]。口服载体疫苗通过抗原的摄取、处理和呈递，使病原体抗原能够到达黏膜下层，被抗原呈递细胞（APCs）如树突细胞捕获，在肠道免疫系统激活免疫反应，促进 T 细胞和 B 细胞的激活，产生 IgA 和 IgG，从而在黏膜和全身水平上提供免疫保护[43]。

口服载体疫苗因其在免疫策略中的独特优势而成为一个重要的研究领域。口服载体疫苗能有效激活黏膜免疫系统，为预防消化道传播的病原体提供第一道防线，并激发全身性的细胞和体液免疫反应。其次，这种非侵入性给药方式提高了接种的便利性和接受度，同时降低了对冷链运输的依赖，便于疫苗的储存和分发。此外，口服载体疫苗还能诱导长期的免疫记忆，快速响应新出现的病原体，并具有强大的适应性，能够针对不同病原体进行定制[44]。当前，多种口服载体疫苗正处于研发阶段，涵盖了腺病毒载体疫苗[45]、酵母菌载体疫苗[46]、痘病毒载体疫苗[47] 等。在这些候选疫苗中，口服腺病毒载体疫苗的研发进展

尤为迅速，显示出了显著的开发潜力和应用前景。此外，腺病毒载体疫苗可以设计成表达多种不同的抗原，使其具有广泛的应用前景。在临床前研究和临床试验中，基于腺病毒的口服疫苗，已经显示出良好的免疫原性和保护效果[48–49]。

口服载体疫苗作为一种有潜力的疫苗递送方式，面临多重挑战，载体的免疫原性可能引起机体对载体而非抗原的免疫反应，影响疫苗效果；载体的安全性问题，特别是使用活载体时的复壮风险和遗传物质整合的潜在风险；剂量控制的复杂性，需要平衡免疫反应和不良反应；规模化生产过程中的一致性和质量控制挑战[50–51]。随着生物技术和免疫学研究的不断深入，口服载体疫苗有望在未来成为预防多种传染病的有效工具。

3 口服腺病毒载体流感疫苗

口服腺病毒载体流感疫苗是一种利用腺病毒作为载体的疫苗，它通过口服途径将流感病毒的抗原基因传递到宿主体内，以激发免疫反应。腺病毒载体疫苗的优势在于能够高效地感染宿主细胞，且可以大规模生产[52]。同时，这些疫苗可以设计成表达多种不同的抗原，使其具有广泛的应用前景[53]。在临床前研究和临床试验中，基于腺病毒的口服疫苗已经显示出良好的免疫原性和保护效果[10,54]。这些研究深入阐明了腺病毒的生物学和免疫学特性，为新型疫苗载体的设计与评价提供了重要的指导意义。然而，口服腺病毒载体疫苗的研发和应用也面临挑战，包括如何确保疫苗在胃肠道环境中的稳定性，以及如何提高其生物利用度和免疫效果等。口服腺病毒载体流感疫苗因其在激活黏膜免疫方面的潜力而受到重视，它们在未来的疫苗研发和疾病预防策略中可能发挥关键作用。

3.1 *腺病毒载体研究概况*　腺病毒载体（adenovirus vector, AdV）是一种基于腺病毒的基因递送系统，可分为复制型、非复制型和单复制型，用于将外源基因或遗传物质有效地传递到宿主细胞中，是基因治疗和疫苗开发中的重要工具[55–57]。腺病毒载体通常经过基因工程改造，具有高效的转导能力、较低的致病性、高滴度以及在宿主细胞中不整合入基因组等特点，被认为是有效的转基因载体之一，可用于基因治疗、肿瘤治疗以及疫苗研发等多个领域[58–59]。

复制性腺病毒载体（replication-competent adenovirus vector, RC-AdV）含有腺病毒的所有或部分基因，能够在宿主细胞内进行复制。这种载体可以高效地感染细胞并在细胞内进行多轮复制，从而增加基因传递的效率[60]。用于疫苗开发的复制性腺病毒载体能够模拟自然感染，激发强烈的免疫反应。但由于它们在宿主细胞内的复制能力，可能引起更高的免疫反应和安全性问题，因此在临床应用中需要严格的控制和评估[61]。非复制型腺病毒载体（replication-deficient adenovirus vector, RD-AdV）是一种经过基因工程改造的病毒载体，它去除了腺病毒的复制相关基因，使其不能在宿主细胞内复制。这种载体通常只用于一次性的基因传递，因此引起的免疫反应较低，安全性相对较高[62]。但因其无法在宿主细胞内复制，因此预存免疫反应可能降低其基因传递效率，而多次接种，可能影响其在实际应用中的便利性。单复制型腺病毒载体（single-cycle adenovirus vector, SC-AdV）是一种在宿主细胞内能够有限复制的腺病毒载体[63]。这种新型的腺病毒载体，能够在宿主细胞中复制多达 10 000 倍的抗原基因，但不产生感染性腺病毒颗粒。相对于非复制型腺病毒载体，单复制型大大提高疫苗的效力，同时避免了传统复制型腺病毒载体疫苗在人类中效力较弱的问题，在动物模型中表现出了更强的免疫反应和更高的抗原表达水平[64–65]。但目前的单复制型腺病毒载体改造难度大，载体稳定性、剂量控制以及载体容量的优化等问题尚在研究中。

腺病毒载体的研究包括对其结构和功能的深入理解，以及对载体进行改造以提高安全性和有效性。在结构和功能方面，通过删除病毒基因组中的某些区域（如 E1、E2 和 E4 区域），可以减少载体的免疫原性和毒性，同时扩大外源基因的插入容量（约 8.5 kb）。此外，通过改造病毒的表面蛋白，可以改变其组织嗜性，提高靶向性。在安全性和有效性方面，使用不同血清型的腺病毒载体，以避免宿主对特定血清型的预存免疫[66]。例如，使用黑猩猩来源的腺病毒载体（如 ChAdOx1）或人类罕见血清型的腺病毒载体（如 Ad26），可以减少因预存免疫而导致的疫苗效果降低的问题[67]。尽管腺病毒载体具有许多优点，但也存在一些挑战。腺病毒载体的基因携带能力有限，且可能引发的宿主免疫反应，大规模生产的工艺较为复杂。在目前的疫苗研究中，腺病毒载体被广泛用于开发针对各种疾病的疫苗，如流感、埃博拉和 COVID-19 等[68–69]。腺病毒载体在生物医学研究和临床应用中具有广泛的应用前景，随着技术的不断进步，将在疫苗研发中发挥更加重要的作用。

3.2 *腺病毒载体口服流感疫苗*　腺病毒载体口服流感疫苗是一类利用腺病毒作为载体的疫苗，通过将流感病毒的抗原基因插入到腺病毒基因组中，使腺病毒在感染宿主细胞后能够表达流感

病毒的抗原蛋白，从而激发宿主的免疫反应的疫苗。这种疫苗的设计原理是利用腺病毒强大的感染能力和表达外源基因的能力，同时腺病毒载体本身不会引起疾病，因此安全性较高。腺病毒载体口服流感疫苗可以诱导机体针对流感病毒产生包括体液免疫和细胞免疫的特异性免疫应答，从而提供保护。其还具有热稳定性好、易于储存和运输、生产成本低等优点，适合大规模接种使用。因此，腺病毒载体口服流感疫苗有望成为一种便捷且有效的流感防控手段，特别是在应对季节性流感和潜在大流行病方面具有重要意义。

3.2.1 复制性腺病毒载体口服流感疫苗 复制性腺病毒载体口服流感疫苗的研究正在积极进行中[70]，目前较为成熟的复制性腺病毒载体是 Ad4 型。2021 年 Peters W 等[71] 开发的 Ad4-H5-VTN 是一种基于复制能力的腺病毒载体疫苗，它通过编码流感病毒 H5 亚型血凝素（HA）来诱导免疫反应。这种疫苗的设计利用了腺病毒型 4（Ad4）作为载体，通过部分删除 Ad4 的 E3 区域来容纳流感 HA 基因。在临床试验中，Ad4-H5-VTN 疫苗以口服胶囊和鼻喷雾的形式给药，旨在通过黏膜途径提供长期的系统性和黏膜免疫应答。

研究表明，Ad4-H5-Vtn 疫苗能够在黏膜免疫的志愿者中脱落 Ad4-H5-Vtn DNA，持续 2～4 周，并且能够在大多数参与者的鼻分泌物、咽分泌物和直肠分泌物中诱导 H5 特异性 IgG 和 IgA 抗体的产生。此外，该疫苗还能够在接种者的外周血液中增加 H5 特异性 $CD4^+$和 $CD8^+$ T 细胞。在安全性方面，Ad4-H5-Vtn 疫苗的不良事件大多是轻微的，并且与整体不良事件的频率和持续时间相关的峰值中和抗体滴度有关。此外，即使在存在针对 Ad4 野生型病毒的预先免疫的情况下，小鼠通过黏膜途径免疫也能获得对致死性 H5N1 重组病毒攻击的保护[71]。

尽管复制性腺病毒载体口服流感疫苗在动物实验和临床试验中显示出了积极的结果，但效果不佳，仍需进一步的研究来优化疫苗的剂量、递送方式以及长期效果。未来的研究可能会集中在提高疫苗的稳定性、免疫原性以及探索其在不同人群中的安全性和有效性。

3.2.2 非复制性腺病毒载体口服流感疫苗 非复制型腺病毒载体口服流感疫苗是利用非复制型腺病毒载体作为递送系统，通过口服途径激发黏膜免疫反应，以提供针对流感病毒的保护[72]。在临床前研究中，非复制型腺病毒载体口服流感疫苗已经显示出了良好的免疫原性和保护效果。Vaxart 公司开发的 VXA-A1.1 是目前较为成功的非复制性腺病毒载体口服四价流感疫苗，表达流感 HA 蛋白和作为佐剂的 Toll 样受体 3（TLR-3）激动剂[73]。该疫苗以口服片剂形式给药，设计为在回肠释放病毒，旨在刺激细胞和黏膜免疫以及血清抗体的产生。

VXA-A1.1 疫苗基于病毒载体平台，已经进行了多项临床试验。其中最近结束的 2 期临床试验（NCT02918006）的结果表明，VXA-A1.1 在单次口服免疫后具有良好的耐受性，并能够产生针对病毒脱落的保护性免疫力，其效果类似于已上市的肌内注射的四价灭活流感疫苗（IIV）[74]。口服给药的 VXA-A1.1 是一种安全且有效的疫苗选择，代表了开发安全有效的口服流感疫苗的重要一步。此外，Vaxart 的口服疫苗在设计上避免了抗载体免疫性的问题，这可能为其提供了与注射用载体疫苗相比的潜在优势[75]。

尽管非复制性腺病毒载体口服流感疫苗的研究已取得了积极的进展，但在临床试验中也遇到了一些挑战。这些挑战包括确保疫苗在胃肠道中的稳定性、提高生物利用度，以及证明疫苗的长期保护效果。此外，这类口服疫苗的研发需要克服的障碍之一是人体胃肠道系统的苛刻性质，这可能会影响疫苗的吸收和效果。非复制性腺病毒载体口服流感疫苗研究进展表明，口服疫苗技术是一个有前景的领域，有望为流感预防提供新的选择[76]。

3.2.3 单复制型腺病毒载体口服流感疫苗 单复制型腺病毒载体流感疫苗是近年来借助新型单复制型腺病毒载体平台开发的，目前还停留在临床前阶段。Crosby C M 等[77] 在改造单复制型腺病毒载体的同时，尝试结合流感病毒 A/PR/8/34 血凝素基因，设计了 SC-Ad6-HA 疫苗。SC-Ad6-HA 疫苗能够放大转基因表达 100 倍，并在叙利亚仓鼠和恒河猴中产生比非复制型（RD-Ad）载体更强、更持久的免疫反应。

在体外实验中，SC-Ad-HA 产生等量的流感病毒血凝素抗原所需的量比 RD-Ad-HA 少约 33 倍。而在动物模型实验中，SC-Ad-HA 疫苗接种后产生的 HA 结合抗体和血凝抑制抗体滴度明显高于 RD-Ad-HA 疫苗。此外，接种 SC-Ad-HA 疫苗的动物在流感病毒攻击后，其体内的病毒滴度明显低于接种 RD-Ad-HA 疫苗的动物，显示出了更好的保护效果[77]。以上数据表明，SC-Ad 载体可能是比传统 RD-Ad 载体更有效的疫苗平台，并且可能具有作为口服黏膜疫苗的潜力。这种新型疫苗在理论上可以提供比传统疫苗更强的免疫反应，同时保持了安全性，减少了感染风险[78]。这使得 SC-Ad-HA 疫苗在预防流感方面具有潜在的优势，尤其是在寻求能够提供更广泛保护和更

强免疫反应的疫苗方面。随着进一步的临床试验和研究，单复制型腺病毒载体疫苗有望成为未来流感防控的重要工具。

4 挑战与展望

重组腺病毒口服流感疫苗作为一种新型疫苗，目前正处于研究和开发阶段。这种疫苗利用腺病毒作为载体，携带流感病毒的抗原基因，通过口服途径激发黏膜免疫反应，以提供针对流感病毒的保护。尽管在该领域的研究取得了一定进展，但仍面临许多挑战。

在疫苗设计中，靶抗原的选择至关重要，理想的靶抗原应具有高度免疫原性，如流感病毒的血凝素和神经氨酸酶是主要的免疫靶点，它们在病毒入侵宿主细胞中起关键作用。但目前有许多文献尝试了抗原组合的方式，在增加广谱性的同时依然可以引起较高的免疫反应[79–80]。此外，靶抗原的表达方式如膜表达、病毒样颗粒/工程化病毒样颗粒、外泌体等都是潜在的表达系统[81–82]，对提高疫苗免疫原性至关重要。佐剂能够增强疫苗的免疫原性，提高免疫反应的强度和持久性。例如，铝盐、核苷酸基佐剂和脂质体等都是可用于口服疫苗的佐剂[83–84]。口服疫苗会受到胃酸和肠道酶的降解影响，通过制剂提高疫苗在胃肠道中的稳定性是关键。例如，使用纳米微囊技术可以保护疫苗组分，提高其生物利用度[16]。载体选择时，免疫激活能力的强弱是选择载体时的重要考虑因素。腺病毒载体因其能够高效地将基因或疫苗抗原输送到靶细胞而受到青睐，单复制或非复制型腺病毒载体的使用可以增强疫苗的安全性[85]。预存免疫可能会影响疫苗的效果，当使用腺病毒作为载体时，高水平 Ad5 载体的预存免疫力可能会削弱疫苗的抗体和 T 细胞应答。免疫策略，包括接种年龄段和剂次，对疫苗效果有显著影响，针对不同年龄段的人群，可能需要调整疫苗的剂量和接种程序，以确保最佳的免疫效果[86]。此外，序贯加强免疫接种，即采用不同类型疫苗进行加强免疫，也是一种有效的策略[87]。尽管存在挑战，腺病毒载体口服疫苗的研究为开发更有效、更安全的下一代口服流感疫苗提供了科学基础，预计未来将在流感防控中发挥关键作用。随着临床试验数据的丰富和疫苗技术的改进，将有更多口服流感疫苗产品问世，为流感防控提供多样化的预防选项。

数据可用性声明　本研究未产生新的数据。

参考文献

[1] Ashraf M A, Raza M A, Amjad M N, et al. A comprehensive review of influenza B virus, its biological and clinical aspects[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1467029.

[2] Caldera F, Mercer M, Samson S I, et al. Influenza vaccination in immunocompromised populations: strategies to improve immunogenicity[J]. Vaccine, 2021, 39(S1): A15-A23.

[3] Langer J, Welch V L, Moran M M, et al. High clinical burden of influenza disease in adults aged ⩾ 65 years: can we do better? A systematic literature review[J]. Advances in Therapy, 2023, 40(4): 1601-1627.

[4] Jones C H, Hauguel T, Beitelshees M, et al. Deciphering immune responses: a comparative analysis of influenza vaccination platforms[J]. Drug Discovery Today, 2024, 29(9): 104125.

[5] Tenforde M W, Weber Z A, Yang D H, et al. Influenza vaccine effectiveness against influenza a-associated emergency department, urgent care, and hospitalization encounters among US adults, 2022–2023[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2024, 230(1): 141-151.

[6] Mendonça S A, Lorincz R, Boucher P, et al. Adenoviral vector vaccine platforms in the SARS-CoV-2 pandemic[J]. NPJ Vaccines, 2021, 6(1): 97.

[7] Lundstrom K. Viral vectors in gene therapy: where do we stand in 2023?[J]. Viruses, 2023, 15(3): 698.

[8] Liu Y, Lam D M K, Luan M, et al. Recent development of oral vaccines (Review)[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2024, 27(5): 223.

[9] Zafar A, Arshad R, Ur Rehman A, et al. Recent developments in oral delivery of vaccines using nanocarriers[J]. Vaccines, 2023, 11(2): 490.

[10] Lin D J, Yang L S, Wen L L, et al. Crosstalk between the oral microbiota, mucosal immunity, and the epithelial barrier regulates oral mucosal disease pathogenesis[J]. Mucosal Immunology, 2021, 14(6): 1247-1258.

[11] Creighton R L, Woodrow K A. Microneedle-mediated vaccine delivery to the oral mucosa[J]. Advanced Healthcare Materials, 2019, 8(4): 1801180.

[12] Jang H, Matsuoka M, Freire M. Oral mucosa immunity: ultimate strategy to stop spreading of pandemic viruses[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1220610.

[13] Trincado V, Gala R P, Morales J O. Buccal and sublingual vaccines: a review on oral mucosal immunization and delivery systems[J]. Vaccines (Basel), 2021, 9(10): 1177.

[14] Vaernewyck V, Arzi B, Sanders N N, et al. Mucosal vaccination against periodontal disease: current status and opportunities[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 768397.

[15] Coffey J W, Gaiha G D, Traverso G. Oral biologic delivery: advances toward oral subunit, DNA, and mRNA vaccines and the potential for mass vaccination during pandemics[J]. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2021, 61: 517-540.

[16] Huang M W, Zhang M M, Zhu H B, et al. Mucosal vaccine delivery: a focus on the breakthrough of specific barriers[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2022, 12(9): 3456-3474.

[17] Moutsopoulos N M, Konkel J E. Tissue-specific immunity at the oral mucosal barrier[J]. Trends in Immunology, 2018, 39(4): 276-287.

[18] Song Y F, Mehl F, Zeichner S L. Vaccine strategies to elicit mucosal immunity[J]. Vaccines (Basel), 2024, 12(2): 191.

[19] Wu R Q, Zhang D F, Tu E, et al. The mucosal immune system in the oral cavity-an orchestra of T cell diversity[J]. International Journal of Oral Science, 2014, 6(3): 125-132.

[20] Neutra M R, Kozlowski P A. Mucosal vaccines: the promise and the challenge[J]. Nature Reviews Immunology, 2006, 6(2): 148-158.

[21] Yang J Y, Yan H M. Mucosal epithelial cells: the initial sentinels and responders controlling and regulating immune responses to viral infections[J]. Cellular and Molecular Immunology, 2021, 18(7): 1628-1630.

[22] Ross K F, Herzberg M C. Autonomous immunity in mucosal epithelial cells: fortifying the barrier against infection[J]. Microbes and Infection, 2016, 18(6): 387-398.

[23] Hammad H, Lambrecht B. Barrier epithelial cells and the control of type 2 immunity[J]. Immunity, 2015, 43(1): 29-40.

[24] Lawson L B, Norton E B, Clements J D. Defending the mucosa: adjuvant and carrier formulations for mucosal immunity[J]. Current Opinion in Immunology, 2011, 23(3): 414-420.

[25] Patel H, Yewale C, Rathi M N, et al. Mucosal immunization: a review of strategies and challenges[J]. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 2014, 31(4): 273-303.
[26] Duchemin M, Tudor D, Cottignies-calamarte A, et al. Antibody-dependent cellular phagocytosis of HIV-1-infected cells is efficiently triggered by IgA targeting HIV-1 envelope subunit Gp41[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 1141.
[27] Baker J R, Farazuddin M, Wong P T, et al. The unfulfilled potential of mucosal immunization[J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2022, 150(1): 1-11.
[28] Desai S N, Cravioto A, Sur D, et al. Maximizing protection from use of oral cholera vaccines in developing country settings: an immunological review of oral cholera vaccines[J]. Human Vaccines and Immunotherapeutics, 2014, 10(6): 1457-1465.
[29] Sun Z W, Fu Y, Lu H L, et al. Association of rotavirus vaccines with reduction in rotavirus gastroenteritis in children younger than 5 years: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials and observational studies[J]. JAMA Pediatrics, 2021, 175(7): e210347.
[30] Kim S H, Lee K Y, Jang Y S. Mucosal immune system and M cell-targeting strategies for oral mucosal vaccination[J]. Immune Network, 2012, 12(5): 165-175.
[31] Lee J, Kim D, Byun J, et al. In vivo fate and intracellular trafficking of vaccine delivery systems[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2022, 186: 114325.
[32] Mangla B, Javed S, Sultan M H, et al. Nanocarriers-assisted needle-free vaccine delivery through oral and intranasal transmucosal routes: a novel therapeutic conduit[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 12: 757761.
[33] Pardi N, Hogan M J, Porter F W, et al. mRNA vaccines—a new era in vaccinology[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2018, 17(4): 261-279.
[34] Jackson N A C, Kester K E, Casimiro D, et al. The promise of mRNA vaccines: a biotech and industrial perspective[J]. NPJ Vaccines, 2020, 5: 11.
[35] Nascimento I P, Leite L C C. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies[J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2012, 45(12): 1102-1111.
[36] De Smet R, Allais L, Cuvelier C A. Recent advances in oral vaccine development: yeast-derived β-glucan particles[J]. Human Vaccines and Immunotherapeutics, 2014, 10(5): 1309-1318.
[37] Harper D M, Demars L R. HPV vaccines—a review of the first decade[J]. Gynecologic Oncology, 2017, 146(1): 196-204.
[38] Serradell M C, Rupil L L, Martino R A, et al. Efficient oral vaccination by bioengineering virus-like particles with protozoan surface proteins[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 361.
[39] Cho H S, Seo J Y, Park S I, et al. Oral immunization with recombinant protein antigen expressed in tobacco against fish nervous necrosis virus[J]. The Journal of Veterinary Medical Science, 2018, 80(2): 272-279.
[40] Sung J C C, Lai N C Y, Wu K C, et al. Safety and immunogenicity of inactivated *Bacillus subtilis* spores as a heterologous antibody booster for COVID-19 vaccines[J]. Vaccines, 2022, 10(7): 1014.
[41] 朱向莹. 减毒鼠伤寒沙门氏菌介导的抗原递呈系统在肿瘤治疗性口服 DNA 疫苗及蛋白质疫苗制备中的应用 [D]. 上海: 复旦大学, 2010.
[42] 李杉, 刘夏飞, 段招军. 人类口服病毒疫苗的研究进展 [J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3556-3565.
[43] Wang S, Liang B, Wang W Q, et al. Viral vectored vaccines: design, development, preventive and therapeutic applications in human diseases[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2023, 8(1): 149.
[44] Trivedi P D, Byrne B J, Corti M. Evolving horizons: adenovirus vectors' timeless influence on cancer, gene therapy and vaccines[J]. Viruses, 2023, 15(12): 2378.
[45] Kamel M S, Munds R A, Verma M S. The quest for immunity: exploring human herpesviruses as vaccine vectors[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(22): 16112.
[46] 胡莉菲, 朱梦影, 赵正言. 新型冠状病毒疫苗研发进展 [J]. 中华儿科杂志, 2021, 59(2): 150-153.
[47] 王步森, 徐婧含, 高智强, 等. 病毒载体疫苗研究进展 [J]. 合成生物学, 2024, 5(2): 281-293.
[48] Goepfert P A, Elizaga M L, Sato A, et al. Phase 1 safety and immunogenicity testing of DNA and recombinant modified vaccinia Ankara vaccines expressing HIV-1 virus-like particles[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2011, 203(5): 610-619.
[49] Scarsella L, Ehrke-Schulz E, Paulussen M, et al. Advances of recombinant adenoviral vectors in preclinical and clinical applications[J]. Viruses, 2024, 16(3): 377.
[50] Elkashif A, Alhashimi M, Sayedahmed E E, et al. Adenoviral vector-based platforms for developing effective vaccines to combat respiratory viral infections[J]. Clinical and Translational Immunology, 2021, 10(10): e1345.
[51] Folegatti P M, Jenkin D, Morris S, et al. Vaccines based on the replication-deficient simian adenoviral vector ChAdOx1: standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment[J]. Vaccine, 2022, 40(35): 5248-5262.
[52] Batista M V, Ulrich J, Costa L, et al. Multiple primary malignancies in head and neck cancer: a university hospital experience over a five-year period[J]. Cureus, 2021, 13(8): e17349.
[53] Kim L, Martinez C J, Hodgson K A, et al. Systemic and mucosal immune responses following oral adenoviral delivery of influenza vaccine to the human intestine by radio controlled capsule[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 37295.
[54] Scallan C D, Tingley D W, Lindbloom J D, et al. An adenovirus-based vaccine with a double-stranded RNA adjuvant protects mice and ferrets against H5N1 avian influenza in oral delivery models[J]. Clinical and Vaccine Immunology, 2013, 20(1): 85-94.
[55] Rudenko L, Isakova-Sivak I. Oral influenza vaccination-a possible solution for the next pandemic?[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2020, 20(4): 385-386.
[56] Sun B Q, Wang Q, Zheng P Y, et al. An intranasally administered adenovirus-vectored SARS-CoV-2 vaccine induces robust mucosal secretory IgA[J]. JCI Insight, 2024, 9(18): e180784.
[57] Wold W, Toth K. Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy[J]. Current Gene Therapy, 2013, 13(6): 421-433.
[58] 张颖, 余文周, 尹遵栋, 等. 基于腺病毒载体技术平台的新型冠状病毒疫苗研发和应用进展 [J]. 中华预防医学杂志, 2023, 57(7): 1082-1095.
[59] Hartman Z C, Appledorn D M, Amalfitano A. Adenovirus vector induced innate immune responses: impact upon efficacy and toxicity in gene therapy and vaccine applications[J]. Virus Research, 2008, 132(1/2): 1-14.
[60] Salauddin M, Saha S, Hossain M G, et al. Clinical application of adenovirus (AdV): a comprehensive review[J]. Viruses, 2024, 16(7): 1094.
[61] Zajac M D, Trujillo J D, Yao J X, et al. Immunization of pigs with replication-incompetent adenovirus-vectored African swine fever virus multi-antigens induced humoral immune responses but no protection following contact challenge[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2023, 10: 1208275.
[62] Ragonnaud E, Schroedel S, Mariya S, et al. Replication deficient human adenovirus vector serotype 19a/64: immunogenicity in mice and female cynomolgus macaques[J]. Vaccine, 2018, 36(41): 6212-6222.
[63] Medina G N, de Los Santos T, Diaz-San Segundo F. Generation of replication deficient human adenovirus 5 (Ad5) vectored FMD vaccines[J]. Methods in Molecular Biology, 2022, 2465: 155-175.
[64] Crosby C M, Barry M A. Transgene expression and host cell responses to replication-defective, single-cycle, and replication-competent adenovirus vectors[J]. Genes, 2017, 8(2): 79.
[65] Matchett W E, Anguiano-Zarate S, Malewana G B R, et al. A Replicating single-cycle adenovirus vaccine effective against *Clostridium difficile*[J]. Vaccines, 2020, 8(3): 470.
[66] Barry M. Single-cycle adenovirus vectors in the current vaccine landscape[J]. Expert Review of Vaccines, 2018, 17(2): 163-173.
[67] Faksova K, Walsh D, Jiang Y, et al. COVID-19 vaccines and adverse events of special interest: a multinational global vaccine data network (GVDN) cohort study of 99 million vaccinated individuals[J]. Vaccine, 2024, 42(9): 2200-2211.

[68] Hickey J M, Jacob S I, Tait A S, et al. Measurement of adenovirus-based vector heterogeneity[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2023, 112(4): 974-984.
[69] Folegatti P M, Ewer K J, Aley P K, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial[J]. The Lancet, 2020, 396(10249): 467-478.
[70] Matsuda K, Migueles S A, Huang J H, et al. A replication-competent adenovirus-vectored influenza vaccine induces durable systemic and mucosal immunity[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2021, 131(5): e140794.
[71] Peters W, Brandl J R, Lindbloom J D, et al. Oral administration of an adenovirus vector encoding both an avian influenza A hemagglutinin and a TLR3 ligand induces antigen specific granzyme B and IFN-γ T cell responses in humans[J]. Vaccine, 2013, 31(13): 1752-1758.
[72] 张鹏. 新冠病毒重组 5 型腺病毒载体口服疫苗免疫原性评价 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2024.
[73] Goffin E, Du X, Hemmi S, et al. A single oral immunization with a replication-competent adenovirus-vectored vaccine protects mice from influenza respiratory infection[J]. Journal of Virology, 2023, 97(7): e0013523.
[74] Mcilwain D R, Chen H, Rahil Z, et al. Human influenza virus challenge identifies cellular correlates of protection for oral vaccination[J]. Cell Host and Microbe, 2021, 29(12): 1828-1837. e5.
[75] Liebowitz D, Lindbloom J D, Brandl J R, et al. High titre neutralising antibodies to influenza after oral tablet immunisation: a phase 1, randomised, placebo-controlled trial[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2015, 15(9): 1041-1048.
[76] Scallan C D, Lindbloom J D, Tucker S N. Oral modeling of an adenovirus-based quadrivalent influenza vaccine in ferrets and mice[J]. Infectious Diseases and Therapy, 2016, 5(2): 165-183.
[77] Crosby C M, Matchett W E, Anguiano-Zarate S S, et al. Replicating single-cycle adenovirus vectors generate amplified influenza vaccine responses[J]. Journal of Virology, 2017, 91(2): e00720-16.
[78] Holbrook M R. Will a single-cycle adenovirus vaccine be effective against Ebola virus?[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2018, 218(12): 1858-1860.
[79] Pan J D, Wang Q H, Qi M, et al. An intranasal multivalent epitope-based nanoparticle vaccine confers broad protection against divergent influenza viruses[J]. ACS Nano, 2023, 17(14): 13474-13487.
[80] Sun X Y, Ma H W, Wang X J, et al. Broadly neutralizing antibodies to combat influenza virus infection[J]. Antiviral Research, 2024, 221: 105785.
[81] Xiong F F, Zhang C, Shang B Y, et al. An mRNA-based broad-spectrum vaccine candidate confers cross-protection against heterosubtypic influenza A viruses[J]. Emerging Microbes and Infections, 2023, 12(2): 2256422.
[82] Guzman Ruiz L, Zollner A M, Hoxie I, et al. Enhancing NA immunogenicity through novel VLP designs[J]. Vaccine, 2024, 42(24): 126270.
[83] Ou B M, Yang Y, Lv H H, et al. Current progress and challenges in the study of adjuvants for oral vaccines[J]. BioDrugs, 2023, 37(2): 143-180.
[84] Cui Y, Ho M G, Hu Y J, et al. Vaccine adjuvants: current status, research and development, licensing, and future opportunities[J]. Journal of Materials Chemistry, 2024, 12(17): 4118-4137.
[85] Elahi S M, Nazemi-Moghaddam N, Guilbault C, et al. Complementary cell lines for protease gene-deleted single-cycle adenovirus vectors[J]. Cells, 2023, 12(4): 619.
[86] Song Q W, Li Y X, Cao L, et al. Impact of national immunization strategies on vaccine-preventable diseases–China, 1950–2021[J]. China CDC Weekly, 2024, 6(16): 339-343.
[87] Liu H H, Xie Y B, Yang B P, et al. Safety, immunogenicity and protective effect of sequential vaccination with inactivated and recombinant protein COVID-19 vaccine in the elderly: a prospective longitudinal study[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2024, 9(1): 129.