

论著·临床研究

接种三剂新冠病毒灭活疫苗后抗新冠病毒抗体动态变化研究*

张盛果¹, 周宇¹, 张伟伟¹, 阮战伟^{2△}

(温州医科大学附属第三医院; 1. 感染科; 2. 急诊科, 浙江温州 325000)

[摘要] **目的** 探索重症监护室医务人员接种三剂新型冠状病毒(新冠)病毒灭活疫苗后抗新冠病毒抗体动态变化情况, 并动态评估其免疫状态。**方法** 选取 2020 年 11 月至 2021 年 11 月在该院接种了三剂新冠病毒灭活疫苗的重症监护室医务人员 30 名作为研究对象, 采集接种新冠病毒疫苗后 0、1、3、6、12 个月静脉血检测抗新冠病毒抗体免疫球蛋白 G 滴度、淋巴细胞亚群、细胞因子等, 并分析其变化情况。**结果** 30 名医务人员注射三剂新冠病毒灭活疫苗后 1 个月抗新冠病毒抗体均为阳性, 第 1 个月滴度明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 第 1 个月抗新冠病毒抗体达到高峰后逐步下降, 第 12 个月抗新冠病毒抗体较第 0 个月仍高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同时间点各淋巴细胞亚群比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。接种新冠病毒灭活疫苗后白细胞介素-2(IL-2)、IL-10、 γ 干扰素、肿瘤坏死因子 α 均呈倒 U 型变化, IL-6 呈 U 型变化, IL-4 呈波动型变化。**结论** 接种三剂灭活疫苗后可产生更高的抗体水平, 并可维持高滴度最少 6 个月以上。

[关键词] 新型冠状病毒; 灭活疫苗; 抗体; 动态变化

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.17.006 **中图法分类号:** R186

文章编号: 1009-5519(2024)17-2911-04

文献标识码: A

Study on the dynamic changes of anti-coronavirus antibodies after three doses of inactivated coronavirus vaccine*

ZHANG Shengguo¹, ZHOU Yu¹, ZHANG Weirui¹, RUAN Zhanwei^{2△}

(1. Department of Infectious Diseases; 2. Department of Emergency, the Third

Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang 325000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the dynamic changes of anti-coronavirus antibodies in medical staff of intensive care unit after three doses of novel coronavirus inactivated vaccine, and to dynamically evaluate their immune status. **Methods** A total of 30 medical staff in intensive care unit who received three doses of inactivated SARS-CoV-2 vaccine in this hospital from November 2020 to November 2021 were selected as the research objects. Venous blood samples were collected at 0, 1, 3, 6 and 12 months after inoculation of novel coronavirus vaccine to detect the titer of anti-novel coronavirus antibody immunoglobulin G, lymphocyte subsets and cytokines, and the changes were analyzed. **Results** Anti-coronavirus antibodies were positive in 30 medical staff one month after injection of three doses of inactivated coronavirus vaccine, and the titer increased significantly in the first month, with statistically significant difference ($P < 0.05$). In the first month, the anti-neo-coronavirus antibody reached a peak and then gradually decreased. In the 12th month, the anti-neo-coronavirus antibody was still higher than that in the 0th month, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in lymphocyte subsets at different time points ($P > 0.05$). After inoculation with the novel coronavirus inactivated vaccine, interleukin-2 (IL-2), IL-10, interferon- γ , and tumor necrosis factor- α all showed inverted U-shaped changes, IL-6 showed U-shaped changes, and IL-4 showed fluctuating changes. **Conclusion** The three-dose inactivated vaccine can produce a higher level of antibody and maintain a high titer for at least six months.

[Key words] Novel coronavirus; Inactivated vaccine; Antibody; Dynamic changes

自出现首例新型冠状病毒(新冠)病毒感染患者后截至 2023 年 9 月, 全球报告了超过 7.7 亿例病例, 死亡人数超过 695 万, 疫苗注射达 135 亿剂^[1]。在过去的 100 年里疫苗显著提高了预期寿命。随着疫苗的广泛

应用, 许多具有破坏性影响的传染病正逐渐消失^[2]。目前为止, 针对新冠病毒全球正在研制的疫苗多达 200 多种, 随着全球新冠疫情的扩散, 人们对疫苗的需求越来越迫切, 尽管如此, 仍需高度重视疫苗的安全

* 基金项目: 浙江省瑞安科技局科技项目(MS2021039; MS2021040)。

作者简介: 张盛果(1992—), 硕士研究生, 主治医师, 主要从事肝病及感染的研究工作。△ 通信作者, E-mail: rzwwryzyxk@wmu.edu.cn。

性及有效性^[3]。虽然已有疫苗出台,但其具体效价、抗病毒能力、稳定性、持久性均尚缺乏大数据临床验证和时间的检验。能否诱导长期记忆 T 淋巴细胞和长寿命浆细胞,对疫苗的有效性和免疫持久性来说影响巨大。目前,对疫苗有效性的判断大多数还是基于能否产生有效的中和抗体,对 T 淋巴细胞免疫的激发程度还不够重视,应考虑将对特异性 T 淋巴细胞水平的评价也纳入新冠病毒疫苗的有效性判断标准^[4]。目前,国内鲜见针对疫苗的免疫学相关的研究。国外学者针对部分疫苗发表了相关 T 淋巴细胞免疫及抗体免疫的研究,其认为,强烈的辅助性 T 淋巴细胞 1 的细胞应答可诱导保护性体液免疫及细胞介导的免疫反应^[5]。在新冠病毒感染患者的恢复过程中体液免疫及细胞免疫均充当了重要的角色。本研究分析了人工免疫后的抗新冠病毒抗体产生情况及免疫状态,旨在为人工群体免疫提供可靠的医学理论依据。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 研究对象 选取 2020 年 11 月至 2021 年 11 月在本院接种了三剂北京科兴中维生物技术有限公司上市的新冠病毒灭活疫苗(Vero 细胞)克尔来福[®](受试者接种第一剂新冠病毒疫苗后间隔 1 个月接种第二剂疫苗,再次间隔 6 个月后接种第三剂疫苗)的重症监护室医务人员 30 名作为研究对象。本研究获本院伦理委员会审批(LZM2023008)。

1.1.2 纳入标准 (1)年龄 18~60 岁;(2)按序完成三剂新冠病毒灭活疫苗接种;(3)在接种完新冠病毒疫苗后 12 个月内无其他疫苗接种史及新冠感染病史;(4)签署本研究知情同意书。

1.1.3 排除标准 (1)接种新冠病毒灭活疫苗期间接种了其他疫苗或感染新冠病毒。(2)未在完成后第 0、1、3、6、12 个月留取血液样本。

1.1.4 仪器与试剂 厦门万泰凯瑞生物技术有限公司生产的 Caris200 全自动化学发光免疫分析仪,BD 生物科技公司生产的 BD FACSCanto II,新冠病毒免

疫球蛋白 G(IgG)抗体检测试剂盒(磁微粒化学发光法),淋巴细胞亚群检测试剂(流式细胞仪法-6 色),细胞因子联合检测试剂盒(免疫荧光法)。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 收集 30 名医务人员的一般资料,包括年龄、性别、身高、体重等,计算体重指数(BMI)。

1.2.2 抗新冠病毒抗体 IgG 滴度、淋巴细胞亚群、细胞因子检测 采集 30 名医务人员接种完三剂新冠病毒疫苗后 0、1、3、6、12 个月的静脉血液样本用于检测抗新冠病毒抗体 IgG 滴度、淋巴细胞亚群、细胞因子等。采用化学发光免疫分析检测抗新冠病毒抗体 IgG 滴度,采用流式细胞分析检测淋巴细胞亚群,采用免疫荧光法检测细胞因子。抗新冠病毒抗体 IgG 结果以 S/CO 比值表示。IgG \geq 1 COI 判定为阳性。淋巴细胞亚群检测包括白细胞、淋巴细胞、总 T 淋巴细胞、总 B 淋巴细胞、辅助 T 淋巴细胞、细胞毒 T 淋巴细胞(CD8)、自然杀伤(NK)细胞。细胞因子包括白细胞介素-2(IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、 γ 干扰素(IFN- γ)等。标本的检测、结果判定由本院检验科专业人员严格按实验流程完成。

1.3 统计学处理 应用 SPSS26.0 统计软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;不符合正态分布的计量资料以 $M(IQR)$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用非参数检验、Freideman 检验;计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 30 名医务人员中男 12 名,女 18 名;年龄 23~49 岁,平均(33.0 \pm 6.8)岁;BMI 17.96~27.55 kg/m²,平均(21.62 \pm 2.96)kg/m²。高 BMI 医务人员抗新冠病毒抗体 IgG 水平明显高于低 BMI 医务人员,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同性别、年龄医务人员抗新冠病毒抗体 IgG 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同性别、年龄、BMI 医务人员抗新冠病毒抗体 IgG 水平比较[M(IQR),COI]

项目	n	第 1 个月	Z	P	第 3 个月	Z	P	第 6 个月	Z	P	第 12 个月	Z	P
性别			-0.720	0.472		-0.593	0.553		-0.847	0.397		-0.974	0.330
男	12	14.76(9.38)			12.84(8.07)			8.88(7.46)			6.07(5.98)		
女	18	15.64(3.80)			12.41(7.45)			10.12(7.20)			6.53(7.17)		
年龄(岁)			-0.352	0.725		-0.176	0.860		-0.264	0.792		-0.572	0.567
<30	10	15.46(4.79)			12.70(6.85)			9.42(7.94)			5.73(8.61)		
\geq 30	20	15.55(5.71)			12.55(7.50)			8.88(5.72)			6.53(4.93)		
BMI(kg/m ²)			-2.623	0.009		-2.231	0.026		-2.133	0.033		-2.133	0.033
<24	23	14.43(4.52)			11.14(6.08)			7.95(7.27)			5.09(6.71)		
\geq 24	7	17.98(1.53)			15.48(2.27)			12.57(4.14)			8.54(4.16)		

2.2 抗新冠病毒抗体 IgG 水平动态变化 30 名医务人员接种三剂新冠病毒灭活疫苗时已有抗新冠病

毒抗体 IgG 阳性 20 名(66.7%),接种后 1 个月抗体阳性率为 100%,维持至第 6 个月,第 12 个月抗体检

测阴性仅 1 例,其余抗体均为阳性。第 1 个月抗新冠病毒抗体 IgG 水平达高峰后开始逐步下降,但至第 6 个月抗体总体仍保持较高水平,至第 12 个月阳性率开始下降。与第 0 个月比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 淋巴细胞亚群动态变化 与第 0 个月比较,第 1、3、6、12 个月的白细胞、淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞、T 淋巴细胞、细胞毒 T 淋巴细胞、辅助 T 淋巴细胞均无明显变化。见表 3。

2.4 细胞因子动态变化 IL-2、IL-10 均在第 6 个月升高,第 12 个月降至较低水平。IL-4 水平在第 1 个

月下降,第 6 个月升高后,在第 12 个月再次出现下降。IL-6 在第 1 个月出现下降后恢复至基线水平。TNF- α 在第 3 个月明显升高后开始下降。IFN- γ 在第 6 个月明显升高后开始下降。见表 4。

表 2 抗新冠病毒抗体 IgG 水平动态变化 (COI)

时间	范围	M
第 0 个月	0.86~3.32	1.67
第 1 个月	13.33~17.86	15.55 ^a
第 3 个月	9.14~15.99	12.55 ^a
第 6 个月	6.89~13.28	8.88 ^a
第 12 个月	3.83~9.87	6.25 ^a

注:与第 0 个月比较,^a $P < 0.05$ 。

表 3 淋巴细胞亚群动态变化 [$M(P_{25}, P_{75})$]

项目	第 0 个月	第 1 个月	第 3 个月	第 6 个月	第 12 个月
白细胞($\times 10^9 L^{-1}$)	6.05(4.98,6.98)	5.70(4.80,6.65)	6.05(4.78,6.83)	5.70(4.85,6.48)	5.70(5.08,6.53)
淋巴细胞(个/ μL)	1 814(1 473,2 271)	1 819(1 539,2 313)	1 896(1 575,2 227)	1 665(1 416,2 075)	1 944(1 479,2 143)
NK 细胞(个/ μL)	286(176,468)	296(232,430)	281(202,293)	266(181,386)	258(187,417)
T 淋巴细胞(个/ μL)	1 176(985,1 511)	1 245(1 067,1 422)	1 291(987,1 593)	1 171(939,1 450)	1 236(1 051,1541)
B 淋巴细胞(个/ μL)	257(193,310)	248(178,321)	268(217,313)	215(157,303)	248(188,330)
辅助 T 淋巴细胞(个/ μL)	563(463,747)	615(498,742)	626(513,721)	546(431,655)	634(508,759)
细胞毒 T 淋巴细胞(个/ μL)	501(425,693)	501(449,627)	462(397,618)	455(388,617)	634(508,759)

表 4 细胞因子动态变化 [$M(P_{25}, P_{75})$, pg/mL]

细胞因子	第 0 个月	第 1 个月	第 3 个月	第 6 个月	第 12 个月
IL-2	0.49(0.42,0.55)	0.45(0.39,0.48)	0.49(0.45,0.55)	0.99(0.92,1.08) ^a	0.34(0.18,0.47) ^a
IL-4	0.92(0.80,1.07)	0.67(0.49,0.81) ^a	0.66(0.47,0.85) ^a	1.39(1.15,1.61)	0.37(1.15,1.61) ^a
IL-6	2.26(1.94,3.98)	1.34(1.08,1.76) ^a	2.52(1.46,5.80)	2.49(1.84,4.48)	1.63(1.12,3.11)
IL-10	0.96(0.76,1.17)	0.90(0.82,1.09)	1.09(0.94,1.25)	2.25(2.00,2.65) ^a	1.57(1.16,1.99) ^a
TNF- α	0.64(0.55,0.72)	0.48(0.40,0.60)	6.35(0.70,22.06) ^a	1.00(0.75,1.19) ^a	0.75(0.58,0.94)
IFN- γ	1.21(1.04,1.37)	0.86(0.68,1.00)	0.98(0.78,1.16)	2.71(2.14,3.82) ^a	0.68(0.26,0.86) ^a

注:与第 0 个月比较,^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

自新冠病毒感染流行以来,越来越多的疫苗被研发以求降低发病率和死亡率,全球疫苗接种的主要内容是引入群体免疫,这将保护大多数人口免受感染和患病,包括免疫功能低下的个体^[6]。有研究发现,接种疫苗可降低发生新冠病毒感染的风险^[7]。在我国,新冠病毒灭活疫苗因其安全性高、免疫原性全且技术水平成熟已成为最普遍接种的疫苗。一项中国学者的研究表明,接种新冠病毒灭活疫苗者患肺炎或严重疾病的风险较低,加强疫苗接种可增强这一效果^[8]。WANG 等^[9]研究表明,血浆 IgG 针对病毒蛋白的效力是 IgA 的 2 倍。且有研究表明,IgG 活性能持续更久的时间^[10]。故可通过检测抗新冠病毒抗体 IgG 水平了解机体对新冠病毒感染的抵抗力。国药集团北京生物和北京科兴关于新冠病毒疫苗加强针的研究结果显示,接种第三剂新冠病毒疫苗后接种者抗体水平在接种第 3 天开始快速上升,1 周后升至较高水平,2 周时抗体水平大概相当于原来的 10~30 倍,并且接种新冠病毒疫苗加强针 6 个月后抗体水平仍高于接种二剂疫苗后抗体水平的峰值^[11]。

本研究结果显示,接种 2 针灭活疫苗 6 个月后仍保持一定的抗新冠病毒抗体 IgG 水平,但接种 3 针疫苗后抗体水平维持更持久,并保持在更高水平。抗体水平在接种后 1 个月出现高峰,然后进行性下降。证实随接种后时间延长体内抗新冠病毒抗体水平会逐渐下降,保护力减弱,但加强针可大幅度地提高抗体水平,且持续时间更久。本研究进一步比较了不同性别、年龄、BMI 对抗体水平的影响,结果显示,不同性别、年龄医务人员抗体水平均无明显差异,与刘梦颖等^[12]研究结果相符,但高 BMI 医务人员抗体水平更高,与刘梦颖等^[12]研究结果不相符。而肥胖症协会针对已发表的文献进行研究后发表声明认为,疫苗在肥胖人群和非肥胖人群中的功效无显著差异^[13]。因此,BMI 在疫苗中的影响尚需进一步研究,本研究 2 组例数相差较多,高 BMI 人数偏少,可能存在误差。

目前,相较于自然感染新冠病毒产生的免疫力,关于新冠病毒疫苗产生免疫力的研究非常有限,尽管临床试验数据表明,目前,已批准的新冠病毒疫苗可产生高度安全性、有效性和耐受性的免疫力,但关于新冠病毒疫苗诱导体液免疫和细胞免疫的具体机制

仍有待于进一步研究^[14]。

针对新冠病毒感染的免疫学研究表明,记忆性 B、T 淋巴细胞反应似乎在症状出现后至少持续 8 个月^[15-16]。国外研究发现,信使 RNA 疫苗产生的功能性记忆 B 淋巴细胞在接种后 3~6 个月增加^[17]。国内研究认为,灭活疫苗接种后能诱导广泛且持久的抗原特异性 CD4⁺ T 淋巴细胞反应^[18]。本研究进一步检测了淋巴细胞亚群,结果显示,不同时间点淋巴细胞各亚群比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),提示注射加强针灭活疫苗后免疫细胞无明显改变。

有研究利用单细胞 RNA 测序检测接种灭活疫苗个体的外周血单核细胞发现,CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞、NK 细胞等与接种前无明显变化,B 淋巴细胞相对百分比似乎有所增加,树突细胞和单核细胞比例也有所增加^[19]。另外有研究表明,接种 2 针或 3 针疫苗前与接种疫苗后 7 d 12 种细胞因子(IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-17、IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α)水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),其认为接种新冠病毒灭活疫苗不会对人体免疫功能造成影响^[20]。而本研究结果显示,不同细胞因子呈现出不同的变化曲线,总体趋势并不是呈单一曲线变化,与第 0 个月比较,第 6 个月基本均出现升高,提示接种疫苗后体内存在持续的免疫反应。

本研究未见明显不良反应,可能由于本研究的接种者均为医务人员,身体素质较好,抵抗力强,对新冠病毒及疫苗注射认识深刻,情绪放松,配合到位。

综上所述,接种第 3 针灭活疫苗后机体可产生更高的抗体水平并可维持高滴度最少 6 个月以上。淋巴细胞亚群变化无明显差异,但细胞因子呈现差异性变化,后续需更大样本、更细致的分型进一步分析疫苗接种后机体免疫细胞及细胞因子变化规律。

参考文献

- [1] WHO. WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard [EB/OL]. (2023-09-21). <https://covid19.who.int/>.
- [2] 桓瑜,毕玉海. 2019 新型冠状病毒疫苗研究进展及展望[J]. 中国科学(生命科学),2022,52(2): 237-248.
- [3] CHUNG J Y, THONE M N, KWON Y J. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view[J]. *Adv Drug Deliv Rev*,2021,170:1-25.
- [4] SAHIN U, MUIK A, DERHOVANESSIAN E, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses[J]. *Nature*,2020,586(7830):594-599.
- [5] EWER K J, BARRETT J R, BELIJ-RAMMERSTORFER S, et al. T cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1

- nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial [J]. *Nat Med*,2021,27(2):270-278.
- [6] CHAUDHARY J K, YADAV R, CHAUDHARY P K, et al. Insights into COVID-19 Vaccine Development Based on Immunogenic Structural Proteins of SARS-CoV-2, Host Immune Responses, and Herd Immunity[J]. *Cells*,2021,10(11):2949.
- [7] WATANABE A, IWAGAMI M, YASUHARA J, et al. Protective effect of COVID-19 vaccination against long COVID syndrome: A systematic review and meta-analysis [J]. *Vaccine*,2023,41(11):1783-1790.
- [8] XU H Q, LI H Y, YOU H L, et al. Effectiveness of inactivated COVID-19 vaccines against mild disease, pneumonia, and severe disease among persons infected with SARS-CoV-2 Omicron variant: Real-world study in Jilin Province, China [J]. *Emerg Microbes Infect*,2023,12(1):2149935.
- [9] WANG Z J, LORENZI J C C, MUECKSCH F, et al. Enhanced SARS-CoV-2 neutralization by dimeric IgA [J]. *Sci Transl Med*,2021,13(577): eabf1555.
- [10] TAKAMATSU Y, OMATA K Z I, SHIMIZU Y S E, et al. SARS-CoV-2-Neutralizing humoral IgA response occurs earlier but is modest and diminishes faster than IgG response [J]. *Microbiol Spectr*,2022,10(6):e0271622.
- [11] ABBASI J. Studies suggest COVID-19 vaccine boosters save lives [J]. *JAMA*,2022,327(2): 115.
- [12] 刘梦颖,梁雪梅,林虎,等. 95 例医务人员接种新冠灭活疫苗后特异性抗体分析[J]. 中华医院感染学杂志,2022,32(22):3497-3501.
- [13] BUTSCH W S, HAJDUK A, CARDEL M I, et al. COVID-19 vaccines are effective in People with obesity: A position statement from The Obesity Society [J]. *Obesity (Silver Spring)*,2021,29(10):1575-1579.
- [14] POLAND G A, OVSYANNIKOVA I G, KENNEDY R B. SARS-CoV-2 immunity: Review and applications to phase 3 vaccine candidates [J]. *Lancet*,2020,396(10262):1595-1606.
- [15] DAN J M, MATEUS J, KATO Y, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection [J]. *Science*,2021,371(6529):eabf4063.
- [16] COHEN K W, LINDERMAN S L, MOODIE Z, et al. Longitudinal analysis (下转第 2919 页)