

# 發展中的新疫苗

鄭嘉琪 詹珮君 吳秉昇 李建德 黃立民

人類與微生物的戰爭仍持續進行中，尚未看到終點。因此新疫苗的發展仍是目前感染症防治的主流。由於我們對微生物致病機轉與免疫學的瞭解不斷進展，因此新疫苗的發展一直有進展。本章將介紹數種有潛力的疫苗，在可預見的將來，這些疫苗可能會完成人體試驗，成為成熟上市的疫苗。隨著這一天的到來，象徵我們在與微生物的戰爭中又跨出一大步。

## 一、B型鏈球菌

### （一）病原

B群鏈球菌（Group B streptococcus, GBS）為兼性厭氧革蘭氏陽性鏈球菌，在固體培養基上形成小的灰白色菌落。GBS在Lancefield鑑定分類上屬B群，故名為B群鏈球菌。在實驗室的鑑定上尚包括：在血液培養基呈現 $\beta$ 溶血、對bacitracin和trimethoprim-sulfamethoxazole有抗藥性、缺乏bile esculin的水解作用、以及cAMP（cyclic adenosine monophosphate）factor的表現。

B群鏈球菌依據莢膜多醣體（capsular polysaccharides, CPS）的不同而有不同的血清型（serotype），CPS也是重要的致病因子並會誘發免疫抗體的產生。到目前為止，已有9種血清型被鑑定出來，包括Ia、Ib、II、III、IV、V、VI、VII、和VIII。

## （二）致病機轉

B群鏈球菌通常存在於人體的腸胃道、產道和泌尿道，至於如何從帶原變成侵入性的疾病，其致病機轉目前仍然不是很清楚，有研究指出GBS可能是藉由侵犯肺泡組織進到血液。

已知某些GBS致病因子和侵襲性疾病的發生有相關聯，其中以莢膜多醣體最爲重要。研究顯示GBS莢膜多醣體的唾液酸（sialic acid），在缺乏抗體的情況下，可防止補體路徑（alternative complement pathway）的活化，進而保護病原體不被中和和吞噬掉（opsonophagocytosis）。其他可能的致病因子包括表面蛋白（surface protein，幫助黏附至宿主細胞上）、C5a peptidase（可抑制多型性白血球的徵召）、及 $\beta$ 溶血素（hemolysin）等。

## （三）臨床疾病

### 1. 新生兒的感染

大約有5~40%的育齡婦女身上帶有GBS菌落，絕大多數沒有症狀，但是卻有一半的新生兒會在生產過程中得到此菌，新生兒感染後的發病率爲1~2%左右；另外則有極少數的新生兒是在子宮內即經由胎盤的血流而受到感染。

新生兒GBS 感染可以分爲早發型（early onset，指出生後到一週內發病）及晚發型（late onset，指出生後一週到三個月內發病）。早發型GBS 感染與破水時間的長短有相關，而晚發型GBS 感染則與垂直感染或在出生後與母親、或其他人的接觸有相關。

目前研究發現，容易發生新生兒感染B群鏈球菌的危險因子，除了孕婦本身在產道或泌尿道帶有菌落外，還包括：產婦發燒、早期破水超過18個小時、早產、產婦小於20歲、以及上一胎的寶寶發生過B群鏈球菌感染之孕婦。

臨床上發病的新生兒，可能出現輕重不一的症狀，如：呼吸較費力、喝奶量減少、嘔吐、嗜睡或不安、體溫過低或過高等等，並且有可能進展到呼吸窘迫、肺炎、腦膜炎，或是敗血症，致死率可以高達20~40%，而存活的寶寶當中，將近一半會留下神經系統の後遺症。

早發型GBS感染幾乎都有菌血症，其中1/3至1/2有肺炎及呼吸窘迫的表現，1/3有腦膜炎的表現。晚發型GBS感染大多以腦膜炎來表現，而且大部分與血清型III有關。

## 2. 成年人的感染

多數成年人B群鏈球菌的感染與懷孕和分娩有關。周產期發燒為最常見的表現，有時伴隨著子宮內膜炎（endometritis）或絨膜羊膜炎（chorioamnionitis），其血液培養及陰道拭子培養常為陽性。

此外，老年人及免疫缺乏者，如糖尿病及癌症患者也是易受感染的一群，常以蜂窩性組織炎、軟組織（包括感染性糖尿病皮膚潰瘍）的感染、泌尿道感染、肺炎、心內膜炎、和細菌性關節炎來表現。

### （四）疫苗發展現況

在預防新生兒GBS感染上，美國疾病管制局（center of disease control, CDC）建議所有孕婦，應於懷孕35~37週間，接受陰道和肛門直腸的B群鏈球菌篩檢，篩檢陽性的準媽媽們，在分娩過程中給予預防性抗生素治療（chemoprophylaxis）；如果細菌培養的結果未知，可觀察待產過程有無發燒或破水時間過久的情形，

決定是否給予靜脈注射抗生素。至於來不及做篩檢就已經生產的孕婦，則根據危險因子的有無，分別對新生兒作不同處理。分娩過程中給予預防性抗生素治療可以降低75%早發型新生兒GBS感染，不過，對於晚發型新生兒GBS感染的預防卻沒有太大的幫助。臺灣目前也開始推廣孕婦接受B群鏈球菌篩檢，以預防新生兒發生B群鏈球菌感染。

此外，建議一般女性接受疫苗以降低GBS的帶原；準媽媽在懷孕第三妊娠期接受疫苗，產生抗體並通過胎盤保護胎兒，是另一個發展中的策略。

鏈球菌的莢膜多醣體可誘發血清型專一性的免疫生成，但試驗顯示一般人對多醣體抗原之免疫反應不佳，若發展蛋白結合型疫苗（protein-conjugated）則可提高免疫反應。目前常被使用的結合蛋白為破傷風類毒素（tetanus toxoid，TT）、或從鼻腔內給予重組的霍亂毒素次單元B（recombinant cholera toxin B subunit）以增強黏膜抗體的反應、或GBS表面抗原，如C5a peptidase、C protein、LmbP（laminin binding protein）、Sip（surface immunogenic protein）、LrrG（Leucine-rich repeat protein）。根據WHO 2006年資料指出目前在臨床第一期及臨床前期階段的疫苗種類詳列於〈表一〉。其中二價Ia和Ib PS-TT蛋白結合疫苗在婦女受試者無不良反應且呈現與劑量相關（dose dependent）的抗體反應。而血清型III PS-TT 蛋白結合疫苗在第三妊娠期懷孕婦女身上無不良反應且產生的PS專一性抗體能通過胎盤給予胎兒，且在新生兒2個月大時仍能偵測到此抗體。Microscience（美國）和Intercell（英國）正發展以表面蛋白質作成的疫苗。

近年來，基因學與蛋白質學的進步也應用在疫苗的發展上，而相對於前述傳統製作疫苗方法的耗時，此應用使疫苗的發展更有效率。

發展B群鏈球菌疫苗的主要困難在於不同的地區有不同的流行血清型的分布；適合歐洲或美洲人的疫苗可能不適合亞洲人。另一個阻礙為臨床試驗第三期的進行有其困難度。因為對新發展的疫苗可能會造成先天缺陷的懼怕及隨後的責任，使疫苗要在孕婦身上施打變得困難。

表一、B群鏈球菌臨床第一期及臨床前期階段的疫苗種類

(WHO 2006年二月)

疫苗種類	製藥公司或研發群	研發階段
血清型Ia，Ib結合型疫苗	NIH	臨床第一期
血清型III結合型疫苗	NIH；Baxter	臨床第一期（孕婦）
新型膜蛋白次單元疫苗	Microscience；Intercell	臨床前期

\*NIH, national institute of health of the U.S.

### 【參考文獻】

1. Group B Streptococcus: global incidence and vaccine development. Nat Rev Microbiol. 2006 Dec;4 (12) :932-42.
2. Vaccines under development: group B streptococcus, herpes-zoster, HIV, malaria and dengue. J Pediatr (Rio J) . 2006 Jul;82 (3 Suppl) :S115-24.
3. Cherry JD. Adenoviruses. In: Feigin RD, Cherry JD, eds. Textbook of pediatric infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2004:1158-1169
4. [http://www.who.int/vaccine\\_research/diseases/soa\\_bacterial/en/index6.html](http://www.who.int/vaccine_research/diseases/soa_bacterial/en/index6.html)
5. [http://www.who.int/vaccine\\_research/documents/en/Status\\_Table.pdf](http://www.who.int/vaccine_research/documents/en/Status_Table.pdf)

## 二、結核病疫苗

過去的十年中，可能成為進入臨床試驗的抗結核疫苗新藥，在鼠及豬為主的動物實驗中，展現出它們的潛力。這樣的發展速度是可喜的！在抗結核疫苗的發展中，仍然得面對諸多限制，例如沒有真正可以作為暴露後接種疫苗效果評估的動物模式，沒有潛在性感染的模式可用，也沒有已存在的安全性或毒性的標準模式。上述模式都是這些新疫苗要能進行大規模臨床試驗，是否能成功的重要關鍵。先介紹目前使用的卡介苗的歷史和困境，再簡短地介紹目前最可能成為進入臨床試驗或已經在進行臨床試驗的抗結核疫苗新藥，最後討論一下抗結核疫苗，需要哪些要件，才能成功。

根據世界衛生組織的估計，超過64個國家實施新生兒卡介苗接種的政策，來保護幼兒得到嚴重的結核病（腦膜炎、粟粒型結核），而超過167個國家施打卡介苗。從1921年卡介苗被發明到1961年世界衛生組織大力推薦目前所使用的乾粉型卡介苗，卡介苗的疫苗株在世界各地不斷地繼代培養，自然就會有不同的型別。主要分成Tokyo株（同一類的還有Moreau, Russia和Sweden）和Pasteur株（同一類的還有Copenhagen, Glaxo和Tice）兩種。前者分泌大量的MPB70，在IS6100有兩套嵌入序列，且擁有methoxymycolate和MPB64基因。後者不太分泌MPB70，僅有一套IS6100嵌入序列，且沒有methoxymycolate和MPB64基因。臺灣使用的卡介苗為Tokyo株的子代。根據2004在JAMA發表的一個長達六十年的世代追蹤，發現單一劑的卡介苗接種，保護力在五、六十年後，仍然在接種及非接種組達統計上的顯著差異。然而卡介苗的缺點在於，對於最常見的「肺」結核，保護力差異極大，在不同的研究中，甚至可以從馬拉威的完全沒有保護力，到英國的80%。即便如此，卡介苗還是目前世界上最廣為使用的疫苗之一，也是中高結核盛行率國家，國家結核防治策略重要的一環。

新一代的疫苗的設計分成三類，以下逐一舉例說明：

- (一) 次單元疫苗 (subunit vaccine)，選用具有激起免疫效果的結核抗原來做，在此介紹三種。第一個進入人類臨床試驗的疫苗是使用結核桿菌的72F蛋白所做的次單元重組疫苗 (GSK M72)，在豬的實驗證實比卡介苗的保護力還好，2010年已由藥廠執行第二期臨床試驗。第二種是由三個重要抗原85A, 85B, and TB10.4結合並使用adenovirus作載體的疫苗 (AERAS-402 / Crucell Ad35)，目前已經進入第二期 (phase II b) 臨床試驗。第三種用Ankara重組修飾過的 (recombinant modified) vaccinia病毒做結核桿菌Ag85A抗原的載體，稱為MVA-85A (MVA85A / AERAS-485)，對於接受過卡介苗刺激的宿主在肺的淋巴節產生強烈的免疫反應，目前也已經進入第二期 (phase II b) 臨床試驗。此外，由HyVac4 (H4) (其實就是85B及TB10.4的結合蛋白) 目前在第一期臨床試驗的疫苗 (SSI HyVac4 / AERAS-404)，上述多種疫苗都以「卡介苗追加」為發展策略。
- (二) 重組卡介苗疫苗，利用基因重組替卡介苗加掛上強有力的抗原，使宿主產生的免疫反應更有效力，此類候選疫苗包括表現結核桿菌Ag85B的重組卡介苗疫苗，目前已進入第一期臨床試驗。還有兩個起步較慢，但頗有潛力的rBCG:RD1及rBCG-hly。同樣外掛抗原，前者是將卡介苗已缺失掉，能分泌ESAT-6的RD1基因與卡介苗重組，後者則是利用李斯特菌 (L. monocytogenes) 的listeriolysin打洞的特質 (VPM-1002)，幫助卡介苗原本缺失的尿素酶 (urease) 基因，表現給第一類MHC (major histocompatibility complex)。目前後者已在歐洲進行第一期臨床試驗。
- (三) 第三類為去活性的結核桿菌疫苗，此類的代表疫苗 (如：

phoP) 單一基因突變 (使之不活化以減少結核桿菌的侵襲性) 及營養體突變 (結核桿菌H37Rv株將lysA及panCD兩個基因刪除), 目前在動物實驗都有不錯的表現。

新一代的疫苗必須要考慮到以下四個點才有機會成功：一、要比自然感染結核桿菌所產生的免疫反應更強才能提供足夠的保護力。二、有1/3的人口已被結核桿菌感染, 所以必須要能預防發病且具免疫療效的。三、由於有相當數量的病人同時有HIV和結核桿菌的感染, 新一代的疫苗必須至少與卡介苗一樣的低致病率, 才夠安全。四、必須要在已施打過卡介苗的族群進行測試成功。我們衷心地期盼隨著世界衛生組織2006提出之終止結核夥伴聯盟, 更多的經費人力投入結核疫苗的發展, 在未來的十年內, 提供有效且安全的疫苗, 讓結核病也能像其他幾個重要的流行病一樣, 因為疫苗的使用而達到全球控制結核病的目標。

### 【參考文獻】

1. World Health Organization. W. H. O. statement on BCG revaccination for the prevention of tuberculosis. Bull WHO 1995; 73: 805–806.
2. World Health Organization. Joint statement. Consultation on human immunodeficiency virus (HIV) and routine childhood immunization. Wkly Epidemiol Rec 1987; 62: 297–299.
3. Aronson NE, Santosham M, Comstock GW, et al. Longterm efficacy of BCG vaccine in American Indians and Alaska Natives: A 60-year follow-up study. JAMA 2004; 291: 2086–2091.
4. Black GF, Weir RE, Floyd S, et al. BCG-induced increase in interferon-gamma response to mycobacterial antigens and efficacy of BCG vaccination in Malawi and the UK: two randomised controlled studies. Lancet 2002; 359: 1393–1401.
5. Martin C. The dream of a vaccine against tuberculosis; new vaccines improving or replacing BCG? Eur Respir J 2005; 26: 162–167.
6. Orme IM. Preclinical testing of new vaccines for tuberculosis: A comprehensive review. Vaccine 2006; 24: 2–19.
7. Martin C. Tuberculosis vaccines: past, present and future. Curr Opin Pulm Med 2006; 12: 186–191.
8. Website of The Aeras Global TB Vaccine Foundation. <http://www.aeras.org/portfolio/index.php>. accessed on 2011/3/1



### 三、登革熱疫苗

登革熱為世界上分佈最廣的病媒傳染疾病（vector-born disease）之一，估計每年約有五千萬至一億人口感染登革熱，而超過五十萬人為嚴重感染，亦即登革出血熱（dengue hemorrhagic fever, DHF）及登革休克症候群（dengue shock syndrome, DSS）。登革出血熱及登革休克症候群之死亡率約為1%，主要病例集中於嬰幼兒，其發生時間有兩個高峰，其一為年齡6~9個月仍有母親抗體存在時感染登革熱，其二為之前曾感染過而此次又感染不同登革熱血清型的幼童。這些臨床上的觀察都說明了，之前不同血清型登革熱的抗體存在，可能在之後再次感染而產生登革出血熱及登革休克症候群的致病機轉中，扮演了一定的角色。

目前可能造成登革出血熱及登革休克症候群的免疫機轉，包括有：

#### （一）抗體加強理論（antibody enhancement hypothesis, ADE）

登革熱病毒具有四種血清型，所謂血清型的分類乃是根據能中和病毒的抗體來進行病毒分類，這類的抗體並無交叉保護力（cross-protection）。事實上在感染登革熱後，另外會有許多不具保護力的抗體產生，如針對外套膜蛋白（envelop protein）及非結構性蛋白（NS1及NS3）之抗體，此類抗體則在不同血清型之病毒中具有交叉反應。所謂抗體加強現象，指的是某些病毒抗體（如外套膜蛋白抗體）與單核球表面的Fc $\gamma$ 接受器同時存在時，反而會加強病毒與目標細胞之結合而增強感染。因此若有之前的抗體存在時，其後的登革熱病毒感染便可能加重病毒量並增加疾病嚴重度。然而這個現象雖然存在，卻不足以解釋所有的臨床觀察結果，可見登革熱之治病機轉可能受到多重因子影響（multifactorial process）。

## （二）病毒本身的毒性

例如美洲病毒株DENV-2很少引起DHF或DSS，而亞洲病毒株較易引起DHS或DSS，至於病毒基因型與臨床癒後的關係至今仍不清楚。

## （三）宿主反應

有些作者提出人類組織相容抗原型別（HLA）可能與DHF或DSS的好發有關，然而至今仍未找到具關聯性之基因位點。

## （四）T細胞的角色

Rothman & Ennis提出T細胞活化可能會導致血漿滲漏（plasma leakage）的理論。當病毒蛋白分子由吞噬細胞（macrophage）呈現而激活T細胞後，便會產生大量的促進發炎之細胞激素（如IFN- $\gamma$ 及TNF- $\alpha$ ），而活化的吞噬細胞則造成內皮細胞受損及血漿滲漏，而加重疾病的嚴重度。這一點可由DHF的病人含有較高量的血清細胞激素可以觀察到。T細胞可因對感染的反應而分成血清型專一性（serotype-specific）及交叉反應性（cross-reactive）T細胞，後者可能與第二次感染後造成嚴重疾病有關。如果第二次登革熱病毒感染後的抗體，主要來自第一次感染產生之具有交叉反應的記憶性B cell，則其產生的抗體對於第二次感染的病毒則親和力較弱，因而使得病毒清除減弱並增加免疫強度，此現象稱為「初次感染的抗原性之惡」（original antigenic sin）。這可能是另一個可以解釋登革熱致病的機轉。

## （五）交叉反應抗體的誘發

嚴重的登革熱病毒感染會造成血清中IL-6的上升，進而使得內皮細胞之組織血漿酶原激素（tissue plasminogen activator, tPA）上升，導致纖維蛋白（fibrin）的分解。另外因具有交叉反應之抗體的產生（如NS1-專一性抗體），也可能因自體免疫反應造成血管壞損。

針對此一威脅世界上三分之一人口的病毒感染，目前僅能從病媒蚊（埃及斑蚊，*Aedes aegypti*）控制著手，所得的成效短暫而有限。安全而有效登革熱疫苗接種或許是最好的解決方法，然而目前仍未發展出可用於人體的登革熱疫苗，原因在於登革熱病毒並不像傳統的黃色病毒疾病（flavivirus diseases），如黃熱病及日本腦炎一般，它不僅有四種血清型，並且感染後產生的抗體之間可能造成抗體加強反應（antibody enhancement），這就是為什麼一個成功的登革熱疫苗的條件，包括要能同時產生四種血清型的抗體，而且追加疫苗的時間點（timing of booster dose）必須要仔細估算，以免因上一劑疫苗所產生具保護力的中和抗體（neutralizing antibody）消失，而具交叉反應的加強抗體（cross-reacting enhancing antibody）仍然存在，而可能造成更嚴重的登革熱疾病。

目前登革熱疫苗發展的方向包括：

### 1. 活性登革熱減毒疫苗（live attenuated vaccine）

目前有泰國曼谷Mahidol大學（Aventis Pasteur）及美國Walter Reed Army Institute of Research（GlaxoSmithKline）兩個團隊，利用細胞株系列傳遞的方式進行活性減毒疫苗之研發。在接種兩劑後，於幼童身上約可得到四種血清型80～90%的血清陽轉（seroconversion）效果。然而是否減毒病毒會因突變而恢復毒性仍是一個問題。另外，不同血清型病毒及其產生的免疫反應之間，是否會產生相互干擾的現象而造成保護效果不完全或疾病嚴重度的惡化，仍有待觀察。

### 2. 基因改造登革熱病毒疫苗（genetically modified infectious virus clones）

目前有數種方式，包括使用以17D黃熱病疫苗病毒株作

為骨架，並以登革熱病毒之外套膜蛋白基因取代之改造病毒（ChimeriVax-Dengue, Aventis Pasteur），或使用基因工程突變的減毒登革熱病毒，其主要的問題仍在於是否會病毒重組而產生具毒性之病毒。

### 3. 登革熱病毒部分基因重組疫苗（genetic vaccination）

如利用減毒之腺病毒作為重組病毒載體，而為克服抗體加強反應，插入的登革熱病毒片段為非結構蛋白（NS1及NS3），保護效果及安全性有待評估。目前仍為實驗動物階段。

總而言之，因多種血清型及其引發的複雜免疫反應機轉仍不清楚，使得登革熱病毒疫苗經數十年的發展，仍然無法應用於臨床上。至少目前的趨勢是使用減毒疫苗多次接種，而疫苗中的四種血清型病毒的在體內的複製，及其引發的免疫反應，都必須能達成平衡。而非結構蛋白（NS1 and NS3）之抗體或許能避免如外套膜蛋白之抗體所引發之抗體加強現象，然而安全性仍需要更近一步的評估。

### 4. DNA疫苗

### 5. 類病毒粒子疫苗（virus-like particle（VLP）vaccines）

### 6. 純化之去活性疫苗（purified inactivated virus vaccines）

## 【參考文獻】

1. John R. Stephenson. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design. Bull World Health Organ. 2005;83（4）:308-14.
2. Julia S., John R., Alan B., Joachim H. Next generation dengue vaccines: A review of candidates in preclinical development. Vaccine. 2011;29:7276-84.

## 四、瘧疾疫苗

瘧疾（malaria）是因為感染瘧原蟲（*Plasmodium genus: Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium ovale, Plasmodium malariae*）而導致的嚴重急性傳染病。人類經由帶有瘧原蟲的瘧蚊（*Anopheles*）叮咬而感染，典型的表現除了高燒、發冷以及類似感冒的症狀外，還有因溶血所引起的貧血、血小板低下和肝脾腫大。特別是在懷孕婦女和幼童身上，惡性瘧原蟲（*P. falciparum*）的感染常引起腦部感染（cerebral malaria）、低血糖、非心因性肺水腫、呼吸衰竭、代謝性酸中毒、腎衰竭以及休克等重症，致死率也隨之上升。相對於惡性瘧原蟲，間日瘧原蟲（*P. vivax*）和卵圓瘧原蟲（*P. ovale*）的感染多以反覆復發所導致的貧血和脾臟腫大（hypersplenism）來表現。三日瘧原蟲（*P. malariae*）則以免疫複合體沈積產生的腎病症候群（immune complex mediated nephritic syndrome）為其特色。

瘧疾在全世界仍然是重要的衛生問題，每年估計全世界仍約有三到五億的病例，並造成約一百萬人（主要為孩童）的死亡。瘧疾盛行率高的地區，往往也是貧窮與經濟發展落後的地區，再加上近年來瘧原蟲和瘧蚊的抗藥性問題，在在使得全球的瘧疾防治持續受到關注。因此，對於有效對抗瘧原蟲疫苗的研究與開發，已經成為一個迫切的課題。

瘧原蟲的生活史較其他原生動物複雜許多。在經由帶有瘧原蟲的雌蚊叮咬後，瘧原蟲的孢子體（sporozoites）進入血液，循血流至肝臟中，並在肝細胞中發育為包含有多個裂子（schizonts）的營養體（trophozoites），此段稱為前紅血球期（pre-erythrocytic/liver stage）。直到肝細胞破裂後，這些裂子形成裂殖體（merozoites）並釋放至血液中，此時進入血液期（blood

stage)：裂殖體在血液期藉著反覆感染紅血球增殖，也有些裂殖體會分化為雄雌配子（gametocytes），並藉由叮咬再度回到雌瘧蚊體內，結合形成合子（zygotes）後，在瘧蚊前腸（foregut）分化成卵囊（oocyst），最終卵囊裂解釋出孢子體，回到雌瘧蚊的唾腺中，才完成有性生殖期（sexual stage）及整個生活史。

疫苗的研發在過去幾十年來，一直難有突破的進展，主要也是根源於瘧原蟲複雜的生活史，使得要選擇那段生活史中的何種抗原來製造疫苗，成了很大的問題。儘管如此，一些臨床上的觀察，包括反覆的感染會產生自然免疫力（naturally acquired immunity），使得蟲血症、併發症與死亡率都下降，以及從康復病患血液分離出來的免疫球蛋白，可以成功地提供被動免疫保護看來，疫苗的開發仍大有可為。目前的疫苗主要針對不同生活史階段的瘧原蟲抗原設計，簡單分述如下：

### （一）前紅血球期疫苗（pre-erythrocytic vaccines）

典型的代表為現已進入第三期臨床試驗的RTS, S/AS02 vaccine（GlaxoSmithKline）。此疫苗以生物工程技術，在酵母菌中大量表現接合了孢子體表面circumsporozoite protein（CSP）與HBsAg的抗原蛋白，不僅可成功地引發第一型T細胞反應，同時也能在人體產生高濃度的anti-CSP IgG。此外尚有融合多個T和B細胞抗原（multi-epitope string, ME string）與TRAP（thrombospondin-related adhesion protein，掌控瘧原蟲與肝細胞附著感染的主要蛋白）的DNA疫苗；DNA疫苗和病毒載體疫苗（recombinant viral vector vaccines, 如vaccinia virus Ankara, MVA及fowlpox strain 9, FP9）併用的heterogenous prime-boost immunization protocol（如：

DNA-MVA, DNA-FP9），已證實可產生有效的免疫反應，目前DNA-MVA也已經在甘比亞地區進行第二期的臨床試驗中。

## （二）血液期疫苗（blood stage vaccines）：

血液期疫苗的預防策略可分成預防瘧原蟲（anti-parasite vaccines）和預防瘧疾疾病（anti-disease vaccines）兩項。疫苗可藉由阻止裂殖體感染紅血球、加速已感染紅血球的清除、以及防止感染紅血球在人體內隔離（sequestration）三種方法之一，來預防感染與發病。目前除針對裂殖體表面抗原（merozoite surface protein, MSP）研發疫苗MSP1/AS02及MSP3-based vaccines（Phase I trial）外，由於*P. falciparum*感染紅血球後，會經由PfEMP1（*P. falciparum* erythrocyte membrane protein 1）附著至血管內皮細胞或是胎盤融合營養細胞（syncytio-trophoblast）上，故另一研發策略為藉產生高濃度的anti-PfEMP1抗體，來防止如腦部瘧疾和孕婦的胎盤感染。血液期疫苗研發過程中的主要挑戰在於，這些在血液期生活史時表現的抗原，其變異性也較高，科學家們未來希望能透過蛋白體學（proteomics）的功能研究，來克服抗原變異的問題。

## （三）傳播阻斷疫苗（transmission-blocking vaccines, TBVs）

TBVs的原理乃藉著產生對瘧蚊體內的有性世代瘧原蟲的免疫力，使得已感染者無法繼續傳播瘧疾。目前的疫苗，已經可產生對Pfs28、Pfs25兩抗原的有效抗體，來抑制配子在瘧蚊內的鞭毛生成（exflagellation）與受精（fertilization）。由美國國家衛生研究院研發的TBV25-28 vaccine並已完成動物實驗，現正進行第一期臨床試驗中。

## 五、愛滋病疫苗

### （一）病原

HIV（Human Immunodeficiency Virus）屬於反轉錄病毒科（family Retroviridae），慢病毒屬（genus *Lentivirus*），具有套膜和反轉錄酶（reverse transcriptase），基因體為兩條單股正鏈（single-stranded positive sense）RNA，長度為9.5 kb。基因產物為Gag（切斷後成為Matrix, Capsid, Nucleocapsid），Pol（切斷後成為Protease, Reverse Transcriptase, Integrase）和Env（160 kD醣蛋白最後切成gp120-external subunit和gp41-transmembrane subunit）。另外還有非結構蛋白，如調節蛋白Tat、Rev和附屬蛋白Nef、Vif、Vpr和Vpu。Gp120次單元會和CD4受體以及CCR-5或CXCR-4共同受體結合，而gp41則與病毒和細胞膜融合扮演重要角色。

目前HIV可分兩型：HIV-1（1983年分離）分佈較廣；HIV-2（1986年分離）侷限於西非，毒性較低。HIV-1可分M，N，O三型，其中M型造成全世界的大流行，又可再細分10種亞型（A-K）。不同亞型之間也會發生重組，形成circulating recombinant forms（CRF）。

### （二）臨床疾病

HIV感染CD4+輔助性T細胞，造成免疫不全和伺機性感染出現。當CD4+輔助性T細胞數目低於200/mm<sup>3</sup>，稱為後天免疫不全症候群（Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS）。

美國疾病控制中心製定之HIV感染分類法：

1. 第一族群：急性感染（group I acute infection）。
2. 第二族群：無症狀期（group II asymptomatic HIV infection）。
3. 第三族群：持續性全身淋巴腫（group III PGL）。



4. 第四族群：愛滋病相關症候群與愛滋病（ARC and AIDS），其中包括，

- （1）亞族群A體質性疾病（subgroup A constitutional disease）
- （2）亞族群B神經系統病（subgroup B neurologic disease）
- （3）亞族群C續發性感染疾病（subgroup C secondary infectious disease）
- （4）亞族群D續發性癌症（subgroup D secondary cancers）
- （5）亞族群E其他病症（subgroup E other conditions）

### （三）免疫反應

HIV的疫苗研發過程中受到諸多瓶頸，主要是HIV的高度變異性、抗原的多樣性、病毒傳播方式（黏膜或血液）、野生型病毒株對中和性血清有耐受性、病毒基因會嵌入宿主細胞染色體內、病毒潛伏在靜止的記憶T細胞內、在宿主內很快出現突變以及造成組織相容抗原第一型（MHC class I）表現量降低等，使得病毒能在抗原呈現細胞（Antigen-presenting cell, APC）及免疫細胞內複製，並且一再逃脫免疫系統的攻擊。產生中和性抗體及毒殺T細胞（CTL）來對抗HIV病毒株，是發展HIV疫苗最終努力的目標。

### （四）疫苗發展現況

第一個Phase I疫苗臨床試驗是在1987年在美國進行，到目前為止已有超過30種疫苗，進行過80次Phase I/II臨床試驗，總共有超過10,000名健康受試者參與。三個Phase III臨床試驗中，目前有兩個已經完成。以下簡介目前已發展或發展中的疫苗種類：

#### 1. 活性減毒疫苗（Live attenuated vaccines）

研究發現恆河猴接種去除nef的變種SIV（simian immunodeficiency virus）後，在面對致病性的SIV時具有保護力，

然而對於野生株病毒則只能減輕疾病，並無法預防感染。事實上該疫苗會引起終生持續的低度感染，對於幼小猴子口服該疫苗甚至會引發AIDS。目前因安全性考量，已放棄此一方法。

## 2. 次單元疫苗（Subunit vaccines）

此類疫苗是以gp120單體並添加鋁鹽為基礎（VaxGen），該疫苗進行過兩個Phase III臨床試驗：其中在美國、加拿大、荷蘭等地進行的，是兩種B亞型gp120的混合疫苗，共有5,000名男性參加（大多有同性性行為）；另一個在泰國進行，主要針對靜脈毒癮者，選用E亞型（CRF\_AE）和B亞型gp120的混合疫苗，共有2,500人參加。結果發現施打疫苗者的HIV感染在統計上並未顯著減少。

目前在泰國進行的另一個Phase III臨床試驗，即以此E/B亞型gp120的混合疫苗，和帶有E亞型（CRF\_AE）gp120以及B亞型Gag、Pol和Nef的重組鳥痘病毒（canarypox virus, ALVAC）搭配，進行初打-追加（prime-boost），共有16,000名自願者參加（有異性性行為），自2003年底開始，預計進行4年。

其他仍在早期臨床階段的疫苗包括：

- （1）gp140三體分子（gp120和gp41在細胞外的部分），同時去除第二環狀變異結構（V2 loop），藉以產生包含CD4結合部位的中和性抗體。
- （2）gp140寡體分子和類CD4分子的共價鍵結複合體，藉以產生包含共同受器（CCR5或CXCR4）的中和性抗體。
- （3）gp120/gp41三體分子，內部再以雙硫鍵穩定其結構，藉以產生中和性、細胞膜融合的阻斷抗體。

另有重組寡體gp41分子的疫苗，藉以產生細胞膜融合的阻斷抗體，不過還未進入臨床階段。

### 3. 活性重組疫苗 (Live recombinant vaccines)

此方法有別於產生中和性抗體，而是刺激T-細胞（主要是CD8+ CTL）。然而，此類疫苗免疫效果微弱，以IFN- $\gamma$  ELISPOT測定，小於35%受試者呈現陽性。DNA疫苗和此類疫苗用於初打-追加（prime-boost），已在猴子試驗中，證實對曝露於致死劑量下的SHIV，可以減低病毒量及延緩發病，但是仍然無法預防感染。目前表現HIV抗原的質體DNA和痘病毒疫苗（修飾過的牛痘病毒、雞痘或鳥痘病毒）已完成 Phase I/II臨床試驗。但結果令人失望，在肯亞的人類受試者無法重現動物（猴子）的免疫效果。

另一個代表性載體，是複製有缺陷的人類第五型腺病毒（Ad5）。利用重組基因使其表現HIV-1 gag/pol/nef，此疫苗已進入Phase II臨床試驗，共有1,200名男性和400名女性，為期3年，共3劑（0、4、26週）（Merck）。但Ad5常會受到受試者的抗體干擾，特別是發展中國家。目前的解決之道是採用較少見的人類腺病毒11、24、35型，甚至用黑猩猩的腺病毒。在恆河猴進行Ad5初打-痘病毒追加獲致良好的效果，但在人類受試者仍不理想（Merck、Sanofi Pasteur）。

其他試驗中的載體還有很多，包括：

- (1) BCG（日本國家衛生院NIH）
- (2) 沙門氏菌（國際愛滋疫苗發起組織IAVI/馬里蘭大學）
- (3) 委內瑞拉馬腦炎病毒（VEEV；Alphavax）
- (4) 腺相關病毒（AAV）（國際愛滋疫苗發起組織IAVI）
- (5) 仙台病毒（日本國家衛生院NIH）
- (6) 水泡性口炎病毒（耶魯大學/惠氏）
- (7) 新堡病毒（Newcastle disease virus, NDV；紐約西奈山、日本京都大學）

(8) 麻疹病毒（巴斯德研究所/GSK）

#### 4. 其他疫苗方法

- (1) 利用HIV p24Gag蛋白和去毒性的炭疽桿菌（*Bacillus anthracis*）致死因子製造成融合蛋白，來產生HIV Gag-specific CD8+ CTL，目前進行Phase I臨床試驗。（Avant Therapeutics and WRAIR）
- (2) 利用胜肽鏈、融合蛋白和長鏈脂肪胜肽鏈的混合疫苗，不管單獨施打或與其它活性重組疫苗進行初打-追加，仍在早期臨床研究階段。目前在美國和法國有Phase II臨床試驗，採用脂肪胜肽鏈的序列近似Gag和Nef病毒蛋白來產生CTL（NIAID/ANRS）。
- (3) 其他另有疫苗是針對非結構蛋白：Tat、Rev、Vif和Nef。利用病毒載體如修飾過的牛痘病毒或Ad5（bioMérieux/Transgene）、雞痘病毒（AVC）、DNA（Vical, Istituto superiore dei Sanita/Parexel）、重組蛋白（FIT Biotech, 人類病毒學研究所）、融合蛋白（GSK）或polyepitopic胜肽鏈（惠氏／杜克大學，Epimmune）。

#### 【參考文獻】

1. 愛滋病學。第二版第26章:愛滋病毒疫苗研發現況與展望。（林郁婷、陳宜民）
2. [http://www.who.int/vaccine\\_research/diseases/soa\\_std/en/index4.html](http://www.who.int/vaccine_research/diseases/soa_std/en/index4.html)

## 【作者簡介】

鄭嘉琪

### ◎現職

國立臺灣大學附設醫院 兼任主治醫師

### ◎學歷

國立臺灣大學醫學院醫學學士

2008 國立臺灣大學醫學院 臨床醫學研究所碩士

### ◎經歷

2001-2004 國立臺灣大學附設醫院小兒科住院醫師

2004-2006 國立臺灣大學附設醫院小兒科學術總醫師

2004-2006 國立臺灣大學附設醫院小兒感染科臨床研究醫師

2006- 國立臺灣大學附設醫院兼任主治醫師



詹珮君

### ◎現職

行政院衛生署疾病管制局 第三組 防疫醫師

### ◎學歷

國立成功大學醫學系畢業

臺大流行病學研究所畢業

### ◎經歷

臺大醫院小兒部住院醫師

臺大醫院小兒感染科研究員

臺大醫院小兒部兼任主治醫師



## 【作者簡介】

吳秉昇

### ◎現職

財團法人佛教慈濟醫院臺北分院小兒科主治醫師

### ◎學歷

臺北醫學大學醫學系畢業

### ◎經歷

臺大醫院小兒科住院醫師

臺大醫院小兒感染科研究員



李建德

### ◎現職

臺大醫院雲林分院小兒部主治醫師

臺大醫院雲林分院感染管制委員會委員

衛生署疾病管制局潛伏結核感染合作醫師

### ◎學歷

臺灣大學醫學系畢業

### ◎經歷

臺大醫院小兒部住院醫師

臺大醫院小兒部小兒感染科研究員



黃立民

◎現職

臺大醫院小兒部科主治醫師

◎學歷

臺灣大學醫學系畢業

◎經歷

臺大醫院小兒科住院醫師

臺大醫院小兒感染科主任

