

疫苗免疫學

江伯倫

免疫學和疾病感染有著密不可分的關係，早期的免疫學其實是微生物學的分支，隨著知識不斷的擴充才獨立成爲一門學科。金納博士最早將牛痘應用到人體身上，成功地預防疾病，人類便展開了利用自身免疫細胞跟病原體抵抗的奮鬥史，而金納博士將牛痘種在自己兒子身上的這項舉動也開啓了人類研發疫苗的歷史。牛痘接種的成功，讓世界衛生組織得以在1979年正式宣佈天花在地球上絕跡的事實。金納博士之後，一些後繼的研究學者如巴斯德和柯霍等人更進一步研發疫苗的種類，正式開啓了免疫學的研究。

一、與感染疾病相關的免疫細胞

依免疫細胞認識抗原特異性的差別又可分成特異性（specific）免疫細胞及非特異性細胞，前者包括淋巴球中的T細胞及B細胞，其中B細胞負責製造抗體，屬於所謂的體液性免疫力（humoral immunity）；而T細胞則主要進行細胞性免疫力（cellular immunity）。非特異性細胞及產物則包括中性白血球在內的顆粒性白血球、巨噬細胞、補體（complement）及其他發炎性淋巴介質（proinflammatory cytokines）等[1]。這兩類細胞有

著非常密切的互動關係，如巨噬細胞可以處理及呈獻抗原給T細胞，而T細胞分泌的淋巴介質對巨噬細胞的活化及抗體的製造又是不可或缺的。接下來我們就為大家介紹免疫系統的個別成員。

（一）B細胞與感染疾病：

B細胞在整個感染的防禦機轉中，最重要的功能是產生抗體〈表一〉。尤其是針對一些細菌及病毒的感染，但是仔細探究則可以發現兩種疾病之間仍有不同。不同型的抗體在不同的病原體感染時扮演的角色也不相同，如IgG及IgM由於本身具有較強的補體固定（complement fixation）的能力，因而在細菌性感染時就較能發揮其功能。而IgA由於主要存在黏膜系統，因而對如腸道或呼吸系統感染的一些病原體就顯得特別重要。而IgE則是在對抗寄生蟲時一個不可或缺的抗體，雖然最近的研究顯示IgE的量與寄生蟲的防禦能力不見得呈現正相關，但其角色不容抹滅。

表一、各種免疫細胞及產物所扮演的角色

產物	輔助因子	感染病因
IgG（體液性）	補體 中性白血球	細菌:葡萄球菌、鏈球菌、破傷風 中和病毒
IgA（體液性）	替代性補體 途徑	呼吸道和胃腸道感染 致病性大腸桿菌 病毒的黏附
IgE（體液性）	肥胖細胞	胃腸道的寄生蟲
IgM（體液性）	補體 巨噬細胞	有莢膜的病原體 肺炎球菌
TCTL（細胞性）	Perforin	病毒和結核菌
TDTH（細胞性）	巨噬細胞	結核菌、真菌、trypanosomiasis、 leishmania、梅毒

TCTL：細胞毒殺性T細胞(cytotoxic T cells)
TDTH：延遲性過敏反應T細胞(delayed type hypersensitivity T cells)

（二）T細胞與感染疾病：

T細胞依其功能及表面標記的不同又可分成CD4陽性及CD8陽性的T細胞，兩者在感染疾病扮演著不同的角色[2]。當然CD4陽性T細胞在整個過程中扮演一個主導的角色，受到外來病原體刺激後，T細胞活化釋放出的淋巴介質如IL-2、IFN- γ 、IL-4及IL-5等，對接下來的免疫反應有著非常重要的影響。而CD8陽性的細胞毒殺性T細胞（cytotoxic T cells）則在病毒感染時負責清除那些已經受感染的目標細胞。在正常的情況下，上述兩種細胞都帶有 $\alpha\beta$ -T細胞受體（receptor），而另外有一些T細胞則帶有 $\gamma\delta$ 受體。這些帶 $\gamma\delta$ 受體的T細胞，其真正的功能目前仍不明。發育的過程中這些帶 $\gamma\delta$ 受體的T細胞其實比 $\alpha\beta$ 受體的T細胞更早出現，但其功能及進一步的發育則不是很清楚。人類的 $\gamma\delta$ -T細胞在周邊血液中所佔有的比例不到5%，主要存在腸胃道。目前已有的證據顯示這些 $\gamma\delta$ -T細胞認識的抗原主要為結核菌，或是一些熱休克蛋白（heat shock protein），其真正的本質有待更多的研究來解答。

（三）淋巴介質與感染疾病：

淋巴介質主要跟T輔助細胞有關，至於對感染疾病的影響，我們將目前已知的一些資料整理在〈表二〉[3]。其中最受到重視的研究為leishmania的感染，利用動物進行的研究發現如果將此一病原體注射入C57BL/6品系的老鼠，誘發出的免疫反應以第一型T輔助細胞為主，對疾病具有抵抗力。相對地，如果將同一病原體注射入Balb/c品系的老鼠則會導致第二型T輔助細胞的反應，老鼠會很快因感染而死亡。這些證據顯示第一型T輔助細胞在防禦機制中是不可或缺的，於是有學者將此一原蟲加上IL-12一起注射入Balb/c老鼠體內，誘導出第一型T輔助細胞，讓這些老鼠更具有抵

表二、T細胞在感染疾病所扮演的角色

細菌		
Listeria monocytogenes	CD8;TH-1	保護性
Mycobacteria tuberculosis	TH1; CD8	保護性
M. bovis		
Mycobacteria leprae	TH1 Th2	保護性 致病性
病毒		
Cytomegalovirus	CD8;TH-1	保護性
Influenza virus	CD8;TH-1	保護性
Measles virus	TH-1	保護性
HIV	TH-1 TH-2	保護性 疾病加重
原蟲		
Leishmania major	TH-1	保護性
Trypanosoma cruzi	TH-2	疾病加重
Plasmodium: hepatocyte	CD8	保護性
Toxoplasma gondii	CD8; TH	保護性
Theileria parva	CD8; TH-1 CD8	保護性 保護性
寄生蟲		
Trichinella spiralis	TH-1	保護性
Schistosoma mansoni	TH-2	致病性
Toxocara canis	TH-1	保護性
Wucheria bancrofti	TH-2 TH-2 TH-2	Immunopathology - -

抗力。這項結果使得研究者相當興奮，並大為提高淋巴介質在臨床治療上的使用價值，未來可望應用到許多跟淋巴介質調節異常有關的疾病。IL-12最早被發現與自然殺手細胞的發育有關，而自然殺手細胞本身又可以分泌出IFN- γ ，而IFN- γ 本身可以更進一步幫忙第一型T輔助細胞的發育，所以IL-12對第一型T輔助細胞及自然殺手細胞的發育有很關鍵的影響。

另外一個相關的研究是在愛滋病患者的疾病晚期會看到第一

型T輔助細胞的活性降低，而相對地第二型T輔助細胞的活性則增加。但我們必須強調學者們對此有不同的看法，第一型T輔助細胞及引起的免疫反應包括自然殺手細胞及細胞毒殺性T細胞的產生，對愛滋病的防禦機轉有著非常重要的影響，一旦受到破壞則疾病的病程將會進行得更為迅速；但是也有可能第二型T輔助細胞活性增加是因為第一型T輔助細胞較易受到病毒破壞，整個表現是一個續發性反應（secondary response）。究竟兩者之間的因果關係如何，需要更進一步的研究。但是由leishmania得到的鼓舞，已有學者建議在愛滋病疫苗注射時，再加上一些有助於第一型T輔助細胞發育的淋巴介質如IL-12，讓產生出來的免疫反應以第一型T輔助細胞為主，則可望更有效地阻止疾病的進行。

（四）巨噬細胞的角色：

在感染初期，巨噬細胞主要扮演一個吞噬病原體的角色，將病原體處理後再加以表現，刺激並活化T細胞後再進行一序列的免疫反應。而活化的巨噬細胞對一些細胞內的病原體具有特殊的重要性，尤其是如結核菌、真菌、trypanosomiasis、leishmania及梅毒等病原體[4]。這些病原體在防禦的機轉中都需要巨噬細胞來進行吞噬的作用，再加上巨噬細胞所分泌出的淋巴介質如IL-1、IL-6及TNF- α 等在發炎時對免疫細胞的活化及病原體的毒殺也都扮演著直接或間接的角色。近幾年相當熱門的一氧化氮（NO）分子及其他一些過氧化物也在巨噬細胞對病原體的毒殺作用中扮演很重要的角色。

（五）自然殺手細胞：

感染後所產生的一些淋巴介質如IL-2及IFN- γ 可以促進自然殺手細胞的功能，而自然殺手細胞分泌的IFN- γ 對病毒感染也是非常重要[5]。最明顯的證據是有關老鼠巨細胞病毒（murine

cytomegalovirus) 的感染，此種病毒感染的防禦作用主要來自自然殺手細胞。最近的研究顯示老鼠巨細胞病毒感染後，是經由第一類分子作為其受體，而且感染後第一類分子表現會降低，是否因為此種作用而造成自然殺手細胞的活性增加，可能性相當大，但需要更多的研究來支持。以身體內的防禦機轉來看，自然殺手細胞的活性跟疱疹族病毒的感染有較密切的關係，相關研究也顯示在這些自然殺手細胞有缺陷的病人較容易感染這類病毒。

二、不同病原體的免疫反應

談完各個免疫系統的成員後，我們再由病原體的角度來探討感染疾病的免疫機制。對抗不同病原體的免疫細胞和機制各有不同，因而也導致疫苗的設計上會有些差異。如果要設計出更有效的疫苗，可能需要對這些不同病原體的免疫反應有著更進一步的了解。

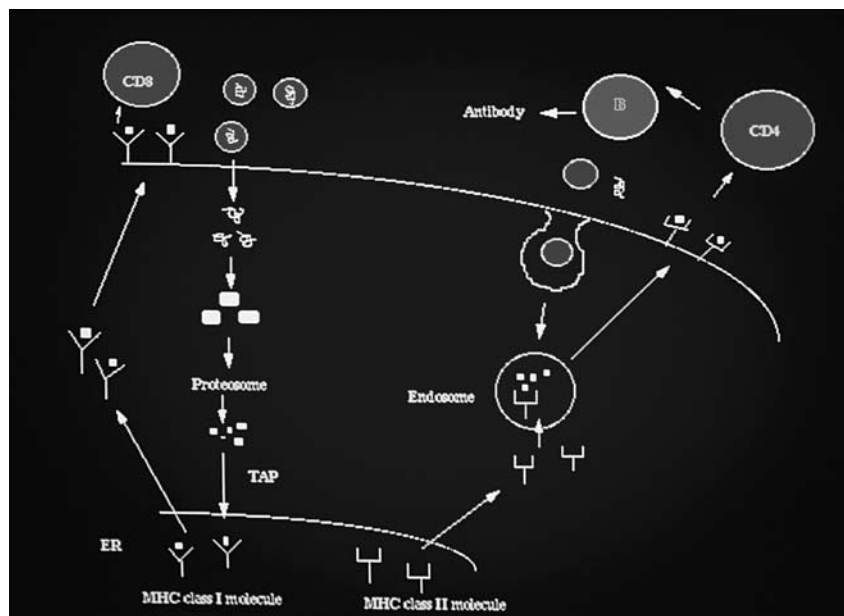
（一）細菌性感染：

外來的細菌侵入人體後最先遇到的通常是如巨噬細胞或中性白血球之類的一些吞噬細胞（phagocyte），這些細胞受到細菌及一些發炎物質形成的趨化物質所吸引，而跑到發炎部位。細菌被吞噬後再進一步處理及呈獻給T細胞，而T細胞釋放出的淋巴介質則可輔助B細胞製造抗體。而這些細菌性病原體的消滅則經由抗體與細菌結合後再活化補體或進行所謂的抗體主導性毒殺作用（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC）而將細菌加以消滅。總結來說，在細菌性感染的防禦機轉中病原體特異性抗體扮演著一個非常重要的角色。

（二）病毒性感染：

病毒感染跟細菌性感染又有些不同，主要在於病毒感染後

會經由細胞表面的一些接受體進入到細胞。這些病毒進入到人體後，進一步利用人類的遺傳物質來製造病毒本身的遺傳物質及蛋白質，重新組合後形成新的病毒粒子，將細胞破壞後再釋放出。因為感染機制的不同，體內的防禦機轉也跟細菌不同。基本上病毒感染後的免疫反應可由兩方面來加以說明，首先在感染後部份的蛋白，尤其是表面的一些蛋白分子被吞噬而且經處理後與第二類MHC（major histocompatibility complex）抗原結合，進一步刺激及活化T輔助細胞，由B細胞形成抗體來中和病毒[6]。另外一方面，在細胞內合成的病毒蛋白質則會與第一類MHC抗原結合，而細胞毒殺性T細胞（CD8陽性）則認識這些所謂的內因性抗原（endogenous antigens），進一步將這些受感染的細胞破壞，以阻止病毒的大量繁殖（圖一）。



（三）寄生蟲感染：

參與寄生蟲感染防禦的免疫細胞相當多，而且又依種類的不同而有不同的T細胞反應。如前述的leishmania感染就以第一型T輔助細胞為主，T細胞活化後釋放出的淋巴介質如IL-2及IFN- γ ，會進一步活化巨噬細胞，而活化的巨噬細胞則會進一步對抗這些細胞內感染的原蟲（protozoa）[7-10]。而蠕蟲（helminth）感染來說，第二型T輔助細胞扮演著一個很重要的角色。以前的觀念認為IgE在整個防禦機轉可能扮演一個很重要的角色，可以進行所謂的IgE主導性立即性過敏反應（IgE-mediated hypersensitivity responses），但最近的証據顯示兩者之間的關係並不是非常直接。反而是嗜伊紅性白血球（eosinophil），它們進行的抗體決定性細胞毒殺作用（eosinophil-mediated antibody dependent cell-mediated cytotoxicity）對蠕蟲感染的防禦機制是非常重要的。

三、疫苗

目前應用來治療這些感染疾病的疫苗包括：減毒或是死的病原體、重組蛋白（recombinant protein）、合成的peptides、anti-idiotypic疫苗及最近幾年受到大家重視的DNA疫苗。我們針對這些不同的製備的疫苗加以簡單的介紹，讓大家有著更進一步的了解。

（一）減毒或是死的病原體：

這類型疫苗是最早使用的一類，其最大好處是製備上較為容易。只要能夠分離出相關疾病的病原體，便可以用來製備可能的疫苗。但這類完全以病原體為疫苗也有其缺點，尤其是一些減毒疫苗毒性的問題，至今還是無法完全解決。而如果利用福馬林或是加熱等一些方法將病原體殺死，有時也會遇到疫苗抗原性消失

的問題。所以儘管這類傳統的疫苗在市場上還是佔了相當高的比例，研究者仍然不斷努力希望能夠研發出一些更有效而且安全性更高的疫苗。

（二）重組蛋白（**recombinant protein**）：

自從分子生物技術進步後，我們得以利用這些技術開始純化一些病原體的重組蛋白。由於這些蛋白是經由生物技術所合成，所以我們對其毒性也可以利用分生的方法將毒性相關的主要胺基酸加以改變，而仍保有其免疫能力。因為上述原因，有部份疫苗如百日咳及B型肝炎疫苗，便利用這些合成的蛋白來取代傳統的病原體疫苗。當然，這類的疫苗如果要達到最好的效果，可能需要在之前經由更多的實驗來找出此一病原體中最有效的抗原成份，再針對一成分加以純化出來。當然，重組蛋白的疫苗也有其缺點，包括由於是單一蛋白的關係，所以有時其免疫力會來得較低；同時，此類重組蛋白疫苗由於是外因性抗原，無法誘發一個較好的細胞毒殺性T細胞反應。

（三）合成的**peptides**：

研究者為了更進一步將特定的抗原決定位找出來，便利用免疫學的方法來定出能夠引起免疫反應的胺基酸序列，再利用這些胺基酸序列的**peptides**來當成疫苗。要利用十幾個胺基酸的**peptides**來進行疫苗接種，當然這些**peptides**的致敏能力（**immunogenicity**）是一個很大的考量。當然，由免疫學的角度來看，分子量低的**peptides**通常無法誘發一個良好的免疫反應。也因此，要利用這些**peptides**來當成較好的疫苗，通常還是要跟另一個蛋白結合，才能夠當成一個有效的疫苗。但是，這些年來**peptides**組成的疫苗也曾經應用在如愛滋病病毒HIV及C型肝炎病毒HCV的疫苗研究上。主要的考量是一些具有高度變化性的病毒，可能無

法利用一個重組蛋白疫苗誘發出具有保護能力的免疫反應。而這些高度變化的病原體部位，也不容易純化出一個單一蛋白能夠應用在所有的病人，此時便可以使用一組peptides來代替單一重組蛋白。

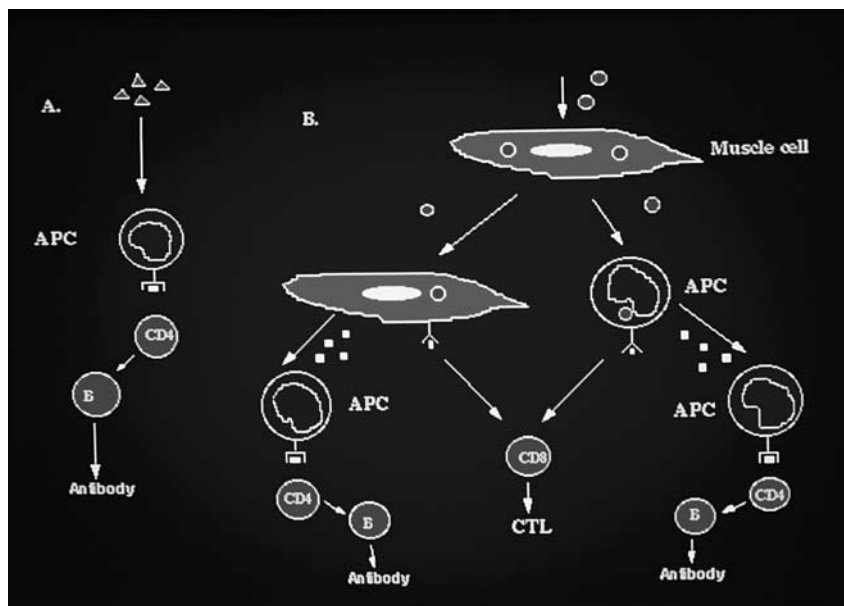
（四）DNA疫苗：

研究者想利用DNA直接注射入動物體內來誘發一個良好的免疫反應，已有一段時間，但是早期的結果都一直不是很理想。直到1993年間Ulmer等人在著名的《科學》期刊上發表利用流行感冒病毒抗原的DNA直接注射入老鼠體內，結果發現可以得到相當不錯的免疫反應，而且不論是在抗體或是細胞毒殺性反應都相當良好，能夠很有效地將病毒清除。接下來，又陸續有相當多這方面的論文發表，引起更大的迴響[11]。目前已經記載利用DNA疫苗來進行動物實驗的抗原還包括流行感冒病毒、瘧疾、B型及C型肝炎病毒、乳突瘤病毒、結核桿菌等病原體，而且其中大多數都得到相當不錯的體內效果。

DNA疫苗之所以在這幾年受到如此廣泛的重視，主要是因為它可以突破傳統疫苗無法走內因性抗原處理（endogenous pathway）的途徑，所以通常可以得到一個較理想的細胞性免疫反應。在這裡先為大家簡單地介紹病毒感染身體後，體內處理抗原及產生免疫反應的一些途徑。對這些抗原呈現及免疫產生的過程了解清楚後，進一步來探討DNA疫苗的優缺點，便可以了然於心。體內感染到病毒後，病毒表面的一些蛋白可能被巨噬細胞或是樹突狀細胞之類的抗原呈現細胞（antigen presenting cells）所吞噬，而在溶酶體內被處理後，再與第二型MHC分子結合，表現在細胞表面，刺激CD4陽性T輔助細胞分泌淋巴介質，繼而活化B細胞產生抗體。如果抗體具有中和的能力，則可以有效地將病毒加

以中和掉。同時，病毒感染細胞後，在細胞內製造的病毒蛋白，可能經由蛋白酶體（proteasome）的處理，成為小片段的胜肽，再經由TAP送入內質網內；與第一型MHC分子結合後，表現在細胞表面，而活化CD8陽性的毒殺性T細胞，再將這些感染病毒的標的細胞殺死。而中和性抗體與細胞毒殺性T細胞又有何不同的生理機能呢？通常對那些具有細胞毒性而在細胞內複製又非常迅速的病毒，中和性抗體可以很有效地加以清除。但是，如果一旦病毒進入細胞內，便需要如細胞毒殺性T細胞或是自然殺手細胞等細胞性免疫力才能破壞病毒感染的細胞，而將病毒清除乾淨。

所以我們再利用〈圖二〉來比較DNA疫苗與傳統疫苗的差異之處，傳統疫苗由於是外加的蛋白質抗原，所以大部份的抗原都是經由抗原呈現細胞所吞噬，而在溶酶體內與第二型MHC分子結



合，而刺激CD4陽性T細胞，無法進入跟細胞毒殺性T細胞的刺激較有密切關係的內因性途徑。相對的，DNA疫苗由於可以進入細胞內，在細胞內合成新的蛋白，這些蛋白有機會與第一型MHC分子結合，刺激CD8陽性的細胞毒殺性T細胞，由這點來看，似乎DNA疫苗跟病毒感染時所走的途徑較為接近。但目前仍有較大爭議性的是肌肉細胞到底如何來表現這些抗原，尤其是抗原如何經由第一型MHC分子來表現。目前認為有兩種可能性，包括由肌肉細胞的第一型MHC分子來表現經由內因性途徑所表現的抗原，而直接刺激細胞毒殺性T細胞。再來便可能是在肌肉細胞破壞後這些質體（plasmid）由肌肉細胞釋出後再進入其他的抗原呈現細胞，如樹突狀細胞或是巨噬細胞，而由這些細胞來表現抗原。同時，在這些細胞內合成的蛋白也有機會釋放到細胞外，而引起T輔助細胞的反應，進一步促進抗體的製造。由這些可能的機轉來看，DNA疫苗能夠獲得較好的細胞性免疫力，同時也可以有中和性抗體的製造。

同時，DNA疫苗在疫苗本身的製備上也還有幾個優點，所以讓研究者認為有相當不錯的潛力，再繼續開發更新的DNA疫苗。通常傳統的疫苗在注射人體內一段時間後便會被代謝或是處理掉，而不會在體內留存一段較長的時間。相對的，DNA疫苗在注射體內後可以在體內維持較長久的一段時間，研究結果顯示在注射後可以長達8~12個月仍可以測得DNA的存在。同時，在製劑的分離及純化上，可能也較為容易。以目前的技術而言，分離出純化的DNA來作為免疫製劑，要比純化疫苗用的蛋白質來得容易很多，所以DNA疫苗在製備上反而會有較方便及迅速的優點，這可能也是DNA疫苗受到重視的另外的一個原因。

四、佐劑

佐劑（Adjuvant）的使用在疫苗的發展也扮演了一個舉足輕重的角色，一個疫苗是否能夠誘發良好的免疫反應，除了跟疫苗的製備本身，跟所使用的佐劑也有著非常密切的關係。目前常使用的一些佐劑包括下列製劑：

（一）油乳糜劑（oil emulsion）：

這類的佐劑與當成疫苗的抗原一起混合，主要的目的是讓抗原容易通過以脂質為主的細胞膜，而可以更有效地被吸收及處理，誘發出更好地免疫反應。除了傳統的油乳糜劑外，微脂體（liposome）或是合併saponin和膽固醇的免疫促進混合物（immunostimulating complex, ISCOMs）也都曾被用來增強疫苗的免疫反應。

（二）礦物質：

一些如氫氧化鋁化合物（Alum）、磷酸鈣或是氯化鈣、硫化鋅等物質也常被用來作為疫苗的佐劑。其中在目前的疫苗常用的Alum，雖然其增進免疫反應的機轉還不是很清楚，但是其效果則是非常確定的。

（三）細菌類產物：

一些細菌性的產物如百日咳成份（*Bordetella pertussis* components）、結核桿菌（*Mycobacterium*）、霍亂毒素（cholera toxin）和多醣體（polysaccharide）會提升一般的免疫反應，如果當成佐劑來使用，可以同時也增強疫苗的效果。

（四）其他：

除了上述的常用佐劑外，或許也可以利用一些免疫反應內成份如細胞激素（cytokines）來增強免疫反應，應該也是一個值得思考的方向。

五、結語

這些年來雖然人類在免疫學和抗生素的研究上一直有著相當顯著的進步，但是病原體如細菌和病毒似乎也在不斷地更新它們感染人類的途徑和方法。可以預期的是，這場人類與病原體之間的戰爭還是會持續下去。我們唯有對各種病原體的保護性免疫力有著更進一步的了解，才有機會研發出更有效的疫苗，防患疾病於未然。

【作者簡介】

江伯倫

◎ 現職

臺灣大學臨床醫學研究所教授

臺灣大學小兒部主治醫師

◎ 學歷

戴維斯加州大學免疫學系博士

臺灣大學醫學系博士

◎ 經歷

戴維斯加州大學內科部博士後研究

臺灣大學小兒部住院醫師

臺灣大學臨床醫學研究所博士後研究



【參考文獻】

1. Marrack P, Kappler J. Subversion of the immune system by pathogens. *Cell* 1994; 76:323-32.
2. Hunter CA, Reiner SL. Cytokines and T cells in host defense. *Current Opin Immunol* 2000; 12: 413-18.
3. Balkwill F. Cytokines in health and disease. *Immunol Today* 1993; 14:149-50.
4. James SL, Nacy C. Effector functions of activated macrophages against parasites. *Current Opin Immunol* 1993; 5:518-23.
5. Bancroft GJ. The role of natural killer cells in innate resistance to infection. *Current Opin Immunol* 1993; 5:503-10.
6. Campbell IL. Cytokines in viral diseases. *Current Opin Immunol* 1991; 3:486-91.
7. Edelson BT, Unanue ER. Immunity to *Listeria* infection. *Current Opin Immunol* 2000; 12:425-31.
8. Flynn JL, Ernst JD. Immune responses in tuberculosis. *Current Opin Immunol* 2000; 12:432-36.
9. Morris L, Trout AB, Handman E, Kelso A. Changes in the precursor frequencies of IL-4 and IFN- γ secreting CD4⁺ cells correlate with resolution of lesions in murine cutaneous leishmaniasis. *J Immunol* 1992; 149:2715-21.
10. Wilson RA. Immunity and immunoregulation in helminth infections. *Current Opin Immunol* 1993; 5:538-47.
11. Guranathan S, Wu CY, Freidag BL, Seder RA. DNA vaccines: a key for inducing long-term cellular immunity. *Current Opin Immunol* 2000; 12:442-47.