

# 登革熱疫苗之進展

齊治宇<sup>1,2</sup> 李桂珠<sup>2</sup> 黃珍珍<sup>2</sup> 王任賢<sup>1,2</sup>

中國醫藥大學附設醫院<sup>1</sup> 感染科<sup>2</sup> 感控室

隨著國際交流的日益頻繁與地球暖化現象的與日俱增，登革熱不再只是侷限於熱帶或是亞熱帶國家的急性發熱性病毒感染。在過去 20 年間，全球登革熱的盛行率有明顯上升的趨勢，就連自詡為科技進步的西方國家也不能倖免於外。許多防治登革熱的計劃多將注意力放在病媒蚊的控制上，但是這些病媒蚊控制計畫既曠日又費時，而且需要政府的鼎力相助及大量的金錢與人力投入，這對一般發展中的國家而言是遙不可及的夢想。疫苗的發展提供了登革熱控制政策另外一種思考模式。在本文中，我們將針對登革熱疫苗近幾年來的發展做一概括性的介紹。

## 簡 介

在過去的觀念中總是認為登革熱是一種侷限於熱帶區域的疾病，例如東南亞、西太平洋、以及中南美洲。但隨著交通工具的進步與全球暖化現象的影響，全球已經有超過 100 個國家 (>30 億人口) 受到登革熱病毒的威脅。根據世界衛生組織的統計，每年大約有五千萬到一億左右的人口受到登革熱病毒的感染。據衛生署疾病管制局近幾年的統計，台灣每年超過 500 例個案受到登革熱病毒的感染，在 2007 年個案數更是超過 2,000 人。這些病例主要集中在夏季時分，並且大多數集中於南台灣地區。

登革熱是由登革熱病毒(黃病毒屬、RNA 病毒)所引發的一種急性發熱性疾病，主要是藉由斑蚊 (*Aedes species*)，尤其是埃及斑蚊 (*Aedes aegypti*) 為媒介以感染人類。就血清學的角度來說，登革熱病毒可以分為 4 種不同類型的血清型(血清型 1 到 4)，這 4 種血清型的病毒都可以感染人類，當患者受到其中 1 種血清型病毒感染時，通常只對該型病毒具有較持久的免疫力，但對其他 3 種血清型病毒而言，頂多只具備暫時但不完全的保護力，這也就是為什麼患者可能多次感染登革熱病毒的原因之一。登革熱的臨床表現五花八門，從毫無症狀的感染、輕微的發燒、到致命的出血

性休克都有可能發生。至於哪些病患比較容易產生出血性登革熱或是休克症候群，則是取決於病人是否同時或是接連遭受不同血清型病毒的感染。正如前面所提到的，首次感染登革熱病毒所產生的抗體，除了對他型血清型病毒的免疫力不足之外，它們在登革熱病毒的致病機轉上還扮演了相當重要的角色。這些“非中和性抗體 (non-neutralizing antibody)”藉由病毒抗體複合體 (virus-antibody complex) 的形式加速他型血清型病毒與細胞膜表面接受器 (Fc  $\gamma$  receptor) 相結合並進入免疫細胞中。此外，這類型的免疫複合體可以引發補體系統 (complement system) 活化，造成體內劇烈的發炎反應。這些抗體還可能與人體內的血小板及血管內皮細胞產生交互反應，使內皮細胞進行細胞凋零 (apoptosis) 或是使其活化並產生發炎性細胞激素 (如 IL-6)。除此之外，細胞性免疫 (cellular immunity)，如調節性 T 細胞 (regulatory T cell)，在登革熱病毒的致病機轉中也扮演著舉足輕重的角色。這些免疫學上複雜的反應除了會引發臨床上常見的發燒或是骨骼肌肉酸痛外，更嚴重的病例會表現出微血管通透性上升、血小板下降、出血、甚至是休克。截至目前為止，並沒有針對登革熱病毒的有效藥物被發展出來，現行的主要治療策略是體液補充以及症狀緩解。

由上述討論中我們不難想像，要有效防堵登革熱肆虐需要從多方面著

手，除了未來可能發展出的抗病毒藥物之外，目前較為可行的方法不外乎是控制蚊蟲與疫苗發展。以控制蚊蟲為例，儘管在控制計畫上努力不懈，但因經費匱乏或是人為因素等等，造成計畫難以持續進行，使得登革熱病媒蚊難以根絕，而這種情形更加突顯出控制蚊蟲政策上的困難度。因此，疫苗的發展提供了防堵登革熱疫情另一項新的契機。在接下來的討論中，我們將針對近幾年來登革熱疫苗的發展做一回顧。

### 現今疫苗發展概況

登革熱疫苗的研究已經超過 60 個年頭了，早期疫苗的發展可以回溯到 1940 年代，Sabin 與 Schlesinger 等人利用鼠腦培育出減毒性的夏威夷株登革熱病毒並且接種在受試者身上，他們發現到受試者在接種該疫苗之後可以免於登革熱病毒的感染。自 1970 年代起，美國科學家開始利用細胞株來發展疫苗，從此開啟了登革熱疫苗發展的新頁。

不論是利用何種方式製造疫苗，理想的登革熱疫苗必須符合下列幾項條件：a. 產生的免疫力要夠久，最好是終身有效；b. 對 4 種不同血清型的病毒具有同等的保護能力；c. 避免不良的免疫反應，像是出血性登革熱或是休克症候群；d. 普及化，也就是所謂的平價原則；e. 對不同族群的人口都能提供有效的保護力；f. 最少的副作用。截至目前為止，已經有多種形



式的登革熱疫苗正在發展中或是已經進入臨床試驗(表一)，接下來將對這些不同種類的疫苗做一概括性的介紹並提出他們本身的限制性。

#### 活性減毒性疫苗 (live attenuated vaccine)

主要的原理是利用細胞株 (cell line) 的培養方法，將原本高度致病性的病毒經過一系列的世代培養之後，使該病毒致病性下降但保留其引發保護性免疫的作用。再過去數十年間，許許多多的科學家嘗試用此種模式製造疫苗，可是病毒不是被過度減毒因

而喪失引發人體保護抗體的作用，不然就是減毒不夠造成受試者罹病。這看似“魚與熊掌不可得兼”的事情在2003年獲得初步的解決，Halstead和Marchette等人利用犬類腎臟細胞株培養出既不會過度減毒化且不會造成受試者罹病的疫苗。之後，泰國及美國的研究團隊利用同樣的方法培育出對抗單一血清型病毒的疫苗並且進入臨床試驗。就目前初步的結果看來，受試者在接種疫苗之後5年內並未發生嚴重的副作用或是致命性的登革熱感染。此種活性減毒性疫苗的好

表一 目前發展中的登革熱疫苗 (擷取自參考文獻[8])

疫苗類型	單一效價 (M)/ 四種效價 (T)	發展階段
LAV	T	已進入臨床試驗
rLAV	T	已進入臨床試驗
YFV-DV	T	已進入臨床試驗
PIV	M	未進入臨床試驗
Subunit	M	已進入臨床試驗
DNA	M/T	已進入臨床試驗
VRP	T	未進入臨床試驗
Ad-vectored	T	已進入臨床試驗
Replivax	M	未進入臨床試驗

附註：LAV (Live Attenuated Virus Vaccine); rLAV (recombinant LAV); YFV-DV (Yellow Fever Virus-Dengue Virus chimera); PIV (Purified Inactivated Virus vaccine); VRP (VEE Replicon Partide)

處在於製造成本相對性較低以及可以產生較強且持續較久的免疫力。

不過，在臨床實驗中，科學家們也發現到這類型的疫苗存在著幾個重大的問題：a. 疫苗病毒株有可能轉變回致病型的病毒株；b. 在免疫受抑制的患者身上接種可能會引發疾病產生；c. 畸胎的可能性，尤其是在懷孕前期接種；d. 同時接種4種血清型疫苗的受試者體內所產生的抗體，似乎彼此之間有干擾的情形發生，也就是說，某血清型疫苗所產生的抗體會影響到他型血清型抗體的產生。因此，如何讓疫苗安全地對4種血清型病毒產生同等效價的免疫力是這類型疫苗目前急需解決的課題。

#### 活性減毒性複合疫苗 (live attenuated chimeric vaccine)

與上述傳統減毒性疫苗不同的是，此類型的疫苗是利用其他類型的黃病毒(如黃熱病病毒、日本腦炎病毒)與登革熱病毒做融合以產生新的病毒株。就學理上來說，融合後的新病毒毒性會降低，但對免疫反應的引發並不會有太大的影響。以目前的臨床實驗資料看來，這類型疫苗的安全性還算是可以接受，並且可在大約67%的受試者身上偵測到抗體，至於之前感染過黃熱病並不會影響此類疫苗的接種效力。

#### 病毒載體 (viral vector) 疫苗

主要原理是利用其他種類的病毒當作交通工具，將登革熱病毒的DNA運送至細胞內。腺病毒 (adenovirus)

是最為常用的病毒載體。我們可以將4種血清型病毒的DNA併入腺病毒內，接著讓腺病毒感染人體並將其內的登革熱DNA植入細胞中，DNA在細胞內會製造出相關的抗原並且表現在細胞外，如此一來人體內的免疫細胞將會辨識該抗原以產生相對應的抗體。病毒載體疫苗面臨到的一項問題是：如果病人在接種疫苗之前就已經感染相關的病毒時，體內就會產生對抗該病毒的抗體，相對地會對疫苗的效價有所影響。目前解決的方法大致上有幾種，例如使用同種但不同血清型的病毒載體、利用一些少見但對人體危害甚低的病毒載體，或是提高疫苗接種的劑量。

#### DNA 疫苗

與載體疫苗類似的原理。這類型的疫苗是將登革熱病毒基因嵌入質體 (plasmid) 中，在接種完人體之後，質體會被細胞所攝入並在細胞內合成病毒抗原，就像是自然感染一樣，人體會產生該抗原的抗體以達到免疫效果。DNA疫苗與減毒性疫苗最大不同點在於同一質體中可以嵌入4種不同血清型病毒的基因，因此比較容易製造出一種對抗4種血清型病毒的疫苗。在動物實驗中，DNA病毒疫苗已經證實可以誘發抗體(4種不同血清型病毒)的產生。不過有一項重大的問題仍待解決，質體進入細胞內算是一種被動的過程，到底有多少質體可以準確無誤的進入人體細胞內並且引發抗體產生似乎是無法預測的，這項



限制也是這類型疫苗現階段發展的主要瓶頸。

#### 純化非活性病毒疫苗 (purified inactivated virus vaccine)

利用福馬林將細胞株培育出來的登革熱病毒去活化。此類疫苗的好處在於疫苗本身不會轉變為致病性的病毒株而且所產生的抗體是均衡性的，也就是對4種血清型病毒有同等校價的抗體反應。在動物實驗中，這型疫苗可以使受測動物體內產生中和性的抗體，可是抗體的效價會因為物種的不同而有所差異，這也是該疫苗目前所面臨的問題之一。

#### 病毒次單元 (subunit) 疫苗

E蛋白 (E protein) 是登革熱病毒引發中和性抗體的主要抗原，目前病毒次單元疫苗的發展主力也是集中在這個蛋白身上。利用不同的生物，像是大腸桿菌、酵母菌或是果蠅，可以大量製造E蛋白。不同種類的E蛋白疫苗已經在各個實驗室中測試過，可是還沒有達到令人滿意的結果。

### 結論與展望

科技的進展帶給人類許多的便利，但也製造了不少棘手的問題，或許下一個世紀我們將面臨到全球登革熱流行的大挑戰。如同文章剛開始所提到的，登革熱防治是多面向的，除了媒介物的控制與環境的改善之外，疫苗的發展也是其中不可或缺的一環。在過去，發展登革熱疫苗總是被西方國家所忽略，但隨著疫情的延燒

與世界衛生組織的重視，在2003年成立了以韓國首爾為中心的登革熱疫苗發展中心，此中心的目的在於加速研發有效且符合經濟效益的登革熱疫苗。儘管登革熱疫苗的發展已經走了數十個年頭，但近幾年登革熱疫苗研究的快速進展提供了人們防治傳染性疾病的新曙光。

### 參考文獻

1. Halstead SB: Dengue. *Lancet* 2007;370:1644-52.
2. Tan GK, Alonso S: Pathogenesis and prevention of dengue virus infection: state-of-art. *Curr Opin Infect Dis* 2009;22:302-8.
3. Swaminathan S, Khanna N: Dengue: recent advances in biology and current status of translational research. *Curr Mol Med* 2009;9: 152-73.
4. Edelman R: Dengue vaccines approach the finish line. *Clin Infect Dis* 2007;45 Suppl 1:S56-60.
5. Hatch S, Mathew A, Rothman A: Dengue vaccine: opportunities and challenges. *IDrugs* 2008;11:42-5.
6. Guy B, Almond JW: Towards a dengue vaccine: progress to date and remaining challenges. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2008; 31:239-52.
7. Wiwanitkit V: Dengue vaccines: A new hope? *Hum Vaccin* 2009;5:1-2.
8. Raviprakash K, Defang G, Burgess T, et al: Advances in dengue vaccine development. *Hum Vaccin* 2009;5:1-9.
9. Guzman MG, Mune M, Kouri G: Dengue vaccine: priorities and progress. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004;2:895-911.
10. Sabin A: Research on dengue in World War II. *Am J Trop Med Hyg* 1952;1:30-50.
11. Halstead SB, Marchette NJ: Biologic properties of dengue viruses following serial passage in primary dog kidney cells: studies at the University of Hawaii. *Am J Trop Med Hyg* 2003;69: 5-11.
12. Lai CJ, Monath TP: Chimeric flaviviruses: novel vaccines against dengue fever, tick-borne

- encephalitis, and Japanese encephalitis. *Adv Virus Res* 2003;61:469-509.
13. Wilder-Smith A, Deen JL: Dengue vaccine for travelers. *Expert Rev Vaccines* 2008;7:569-78.
14. Whitehead SS, Blaney JE, Durbin AP, et al: Prospects for a dengue virus vaccine. *Nat Rev Immunol* 2007;5:518-28.