

手足口症疫苗之近期發展

劉家齊

財團法人國家衛生研究院 感染症與疫苗研究所

前 言

手足口症 (hand-foot-mouth disease, HFMD) 常見於孩童，主要是由腸病毒屬病毒如腸病毒 A71 型 (Enterovirus A71, EV-A71) 和克沙奇病毒 (Coxsackievirus, CV) 感染所引起的傳染病。孩童遭受感染後，常見的症狀為發燒、口腔潰瘍及身體出現小水泡，並有機會進一步導致幼童發生嚴重神經性疾病如無菌性腦膜炎、病毒性腦炎、心肌炎、肢體麻痺與神經性肺水腫等重症，嚴重時甚至造成死亡[1]。臺灣自從 1998 年的手足口症大流行後發現腸病毒 A71 型為主要造成許多幼童死亡的病因後，政府開始積極建立腸病毒監測系統與發展疫苗。藉由多年累積的資料，流行病學研究顯示除了腸病毒 A71 型的流行外，各型別的克沙奇病毒亦會交替流行[2-8]。現今世界各國都可發現手足口症的流行。除了腸病毒 A71 型與克沙奇病毒 A16 型出現數次大流行

外，克沙奇病毒 A2、A4、A5、A6、A10、B3、B5 型別等也都為時常流行的病毒[2-8]。手足口症已是重要的公共健康議題，發展有效疫苗才能預防並降低幼童出現重症的風險。

去活化腸病毒 A71 型疫苗之研發

腸病毒 A71 型病毒對幼童造成重症的風險最高。研發腸病毒 A71 型疫苗是以產生病毒結構蛋白為主，表現全部或部分之結構蛋白促使免疫系統誘發出中和病毒的抗體。多年來科學家們研究的類型有：減毒疫苗 (live-attenuated virus)、去活化疫苗 (inactivated whole-virion)、基因重組蛋白疫苗 (recombinant VP1 protein)、DNA 疫苗 (VP1 DNA)、基因轉殖植物 (transgenic plant)、細菌載體疫苗 (bacteria vector)、胜肽疫苗 (synthetic peptide) 與類病毒顆粒疫苗 (virus-like particle) 等[9-11]。各種研發類型的疫苗各有其優缺點，經過多年的發展與

測試後，以細胞培養腸病毒 A71 型病毒所製備的去活化疫苗發展最為迅速。臺灣、中國大陸與新加坡皆已進行去活化腸病毒 A71 型去活化疫苗的人體臨床試驗。臺灣的疫苗公司目前已完成第二期人體臨床試驗，正準備進入第三期人體臨床試驗。中國大陸則有二家的疫苗只在中國境內上市(表一) [11]。各國的臨床試驗資訊顯示疫苗安全性良好，能引發對抗腸病毒 A71 型病毒之顯著中和能力[12]。然而，後續的研究也發現去活化腸病毒 A71 型疫苗並不具有引發對抗克沙奇病毒 A16 型與其他型別腸病毒的中和能力[13-14]。因此，研發具有廣泛保護力的手足口症疫苗為後續的目標。

去活化多價型手足口症疫苗之研發

從近年來全國流行的腸病毒分離型別資訊的觀察顯示，克沙奇病毒 A 群病毒為檢出率最高的一群[2-3]。除克沙奇病毒 A16 型外，克沙奇病毒

A6 型與克沙奇病毒 A10 型屬於最常流行的病毒，可能成為未來造成手足口症的主要病原。其中新型的克沙奇 A6 病毒亦被報導會造成成人的手足口症[18]。其他國家的研究顯示，不同型別腸病毒屬病毒交互流行提高了病毒基因重組的風險[8]。

為建立具有廣泛保護力之手足口症疫苗，多價型手足口症疫苗的研究一直是近年的發展重點。從腸病毒 A71 型病毒的研發經驗開始，加入克沙奇病毒 A16 型、克沙奇病毒 A6 型與克沙奇病毒 A10 型進行多價去活化疫苗的研究。從數個實驗室進行的動物實驗結果，已得知腸病毒 A71 型與克沙奇病毒 A16 型所組合的雙價疫苗具有可行性[19-20]，進而三價與四價抗原的組合疫苗在實驗動物中亦觀察到能誘發相對應的中和抗體[21-22]。對於腸病毒 A71 型與克沙奇病毒，科學家已陸續研究病毒特性與建立病毒顆粒立體結構模型[23-24]，可以用來了解病毒抗原決定位與中和抗體之交互作用[25]。因此，未來在篩選適當

表一 去活化腸病毒 A71 型疫苗臨床試驗與上市

機構與公司	臨床試驗狀態
國家衛生研究院 & 疾病管制署 (NHRI & CDC, Taiwan)	第一期完成
國光生技/安特羅生技 (Adimmune Corp., Taiwan)	第二期完成
基亞疫苗/高端疫苗 (Medigen Corp., Taiwan)	第二期完成
中國醫學科學院 (Chinese Academy of Medical Sciences, China)	中國境內上市
北京科興 (Sinovac Biotech Co. Ltd., China)	中國境內上市
北京微谷 (Beijing Vigoo Biological Co. Ltd., China)	第三期完成
新加坡 Inviragen (Singapore)	第一期完成

(Modified from Yee & Laa, Virology 2017;506:121-129)

表二 類似病毒顆粒手足口症疫苗之平台系統

平台系統	參考文獻
桿狀病毒載體 (Baculovirus-based)	Chung et al. 2008. [24]
酵母菌載體 (Yeast-based)	Li et al. 2013. [25]
腺病毒載體 (Adenovirus-based)	Tsou et al. 2015. [26]
水泡性口炎病毒載體 (Vesicular stomatitis virus-based)	Yan et al. 2016. [27]

的病毒疫苗株與開發穩定的疫苗製程上，將有助於多價手足口症疫苗的研發趨進完善。

類病毒顆粒手足口症疫苗之研發

類病毒顆粒疫苗是模仿致病病毒的結構蛋白之立體結構，產生不含致病病毒基因的類病毒顆粒做為預防性疫苗，以去除減毒疫苗與去活化疫苗可能的風險[23]。利用分子生物學技術，可以置換不同型別病毒結構蛋白基因，能快速因應新興流行的病毒。在類病毒顆粒手足口症疫苗之研發中，以桿狀病毒載體 (baculovirus-based) 系統最為成熟最早用於腸病毒 A71 型病毒類病毒顆粒之製備 [11,24]，多年來新開發的類型使用酵母菌載體 (yeast-based) [25]、腺病毒載體 (adenovirus-based) [26]與水泡性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus-based) [27]。這些新型類病毒顆粒疫苗也各有其優缺點，目前還需進一步的研究以評估其安全性與製備疫苗時的風險。

未來展望

為因應新興的腸病毒屬病毒所造成的手足口症，具有廣泛保護力的手足口症疫苗將有助於避免傳染病的流行，降低導致引發重症的機率、減輕醫療負荷並節約社會成本。藉由腸病毒 A71 型疫苗之研發經驗與基礎研究，去活化多價型手足口症疫苗在動物實驗中已觀察到具有可行性，而新型的類病毒顆粒手足口症疫苗也正積極研發。國內的學術研究單位仍持續調查並研究不同型別腸病毒屬病毒之特性，進而研發出適當的疫苗劑型。此外，臺灣已具有 PIC/S cGMP 國際規範之生產能力，本國的疫苗公司已具有執行並完成人體臨床試驗之經驗。目前逐步建立國際合作並加強疾病資訊分享，將有助於建構手足口症疫苗之國際標準，厚植臺灣疫苗產業之實力。

參考文獻

1. World Health Organization Western Pacific Region (2011). A Guide to Clinical Management and Public Health Response for Hand, Foot and Mouth

- Disease (HFMD).
2. CDC Taiwan. Notifiable Infectious Diseases Statistics System. Available <http://nidss.cdc.gov.tw/singledisease.aspx?Pt=s&Dc=2&Dt=1&disease=0749>
 3. CDC Taiwan. Disease Surveillance Express. Available <http://www.cdc.gov.tw/english/submenu.aspx?nowtreeid=6F3D3F9A03083009&treeid=00ED75D6C887BB27>
 4. Tseng FC, Huang HC, Chi CY, et al: Epidemiological survey of enterovirus infections occurring in Taiwan between 2000 and 2005: analysis of sentinel physician surveillance data. *J Med Virol* 2007;79:1850-60.
 5. Lo SH, Huang YC, Huang CG, et al: Clinical and epidemiologic features of Coxsackievirus A6 infection in children in northern Taiwan between 2004 and 2009. *J Microbiol Immunol Infect* 2011;44:252-7.
 6. Ang LW, Koh BK, Chan KP, et al: Epidemiology and control of hand, foot and mouth disease in Singapore, 2001-2007. *Ann Acad Med Singapore* 2009;38:106-12.
 7. Xing W, Liao Q, Viboud C, et al: Hand, foot, and mouth disease in China, 2008-12: an epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 2014;14:308-18.
 8. Klein M, Chong P: Is a multivalent hand, foot, and mouth disease vaccine feasible? *Hum Vaccin Immunother* 2015;11:2688-704.
 9. Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, et al: Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect Dis* 2010;10:778-90.
 10. Chong P, Hsieh SY, Liu CC, et al: Production of EV71 vaccine candidates. *Hum Vaccin Immunother* 2012;8:1-9.
 11. Yee PTI, Laa Poh C: Impact of genetic changes, pathogenicity and antigenicity on Enterovirus- A71 vaccine development. *Virology* 2017;506:121-9.
 12. Liu CC, Chow YH, Chong P, et al: Prospect and challenges for the development of multivalent vaccines against hand, foot and mouth diseases. *Vaccine* 2014;6177-82.
 13. Chou AH, Liu CC, Chang JY, et al: Formalin-inactivated EV71 vaccine candidate induced cross-neutralizing antibody responses against subgenotypes B1, B4, B5 and C4A in adult volunteers. *PLoS One* 2013;8:e79783.
 14. Zhu F, Xu W, Xia J, et al: Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China. *N Engl J Med* 2014;370:818-28.
 15. Ramirez-Fort MK, Downing C, Doan HQ, et al: Coxsackievirus A6 associated hand, foot and mouth disease in adults: clinical presentation and review of the literature. *J Clin Virol* 2014;60:381-6.
 16. Chong P, Guo MS, Lin FH, et al: Immunological and biochemical characterization of coxsackie virus A16 viral particles. *PLoS One* 2012;7:e49973.
 17. Cai Y, Ku Z, Liu Q, et al: A combination vaccine comprising of inactivated enterovirus 71 and coxsackievirus A16 elicits balanced protective immunity against both viruses. *Vaccine* 2014;32:2406-12.
 18. Caine EA, Fuchs J, Das SC, et al: Efficacy of a Trivalent Hand, Foot, and Mouth Disease Vaccine against Enterovirus 71 and Coxsackieviruses A16 and A6 in Mice. *Viruses* 2015;7:5919-32.
 19. Liu CC, Guo MS, Wu SR, et al: Immunological and biochemical characterizations of Coxsackievirus A6 and A10 viral particles. *Antiviral Res* 2016;129:58-66.
 20. Wang X, Peng W, Ren J, et al: A sensor-adaptor mechanism for enterovirus uncoating from structures of EV71. *Nat Struct Mol Biol* 2012;19:424-9.
 21. Xu L, Zheng Q, Li S, et al: Atomic structures of Coxsackievirus A6 and its complex with a neutralizing antibody. *Nat Commun* 2017;8:505.
 22. Arthur Huang KY, Chen MF, Huang YC, et al: Epitope-associated and specificity-focused features of EV71-neutralizing antibody repertoires from plasmablasts of infected children. *Nat Commun* 2017;8:762.
 23. Vicente T, Roldão A, Peixoto C, et al: Large-scale production and purification of VLP-based vaccines. *J Invertebr Pathol* 2011;107:S42-8.
 24. Chung YC, Ho MS, Wu JC, et al: Immunization with virus-like particles of enterovirus 71 elicits potent immune responses and protects mice against lethal challenge. *Vaccine* 2008;26:1855-62.

25. Li HY, Han JF, Qin CF, et al: Virus-like particles for enterovirus 71 produced from *Saccharomyces cerevisiae* potently elicits protective immune responses in mice. *Vaccine* 2013;31:3281-7.
26. Tsou YL, Lin YW, Shao HY, et al: Recombinant adeno-vaccine expressing enterovirus 71-like particles against hand, foot, and mouth disease. *PLoS Negl Trop Dis* 2015;9:e0003692.
27. Yan Q, Wu L, Chen L, et al: Vesicular stomatitis virus-based vaccines expressing EV71 virus-like particles elicit strong immune responses and protect newborn mice from lethal challenges. *Vaccine* 2016;34:4196-204.