

## 抗流感全球大流行之疫苗研發趨勢

關嫩嫩

衛生署疾病管制局主任秘書室

### 摘要

流感疫苗製造之主要策略，仍沿革幾十年前「選擇候選疫苗株」併以胚胎雞蛋培養為基礎之冗長且勞力密集的老舊技術，疫苗雖涵括表面醣蛋白如：紅血球凝集素(hemagglutinin, HA)及神經胺化酶(neuraminidase, NA)，主要誘導出抗 HA 免疫反應(anti-HA response)，然而此疫苗病毒候選株，常面臨當季病毒之大幅度抗原變異而保護失敗，導致免疫效期降低。新近疫苗製造研究朝向將演化慢的 NA 或基質蛋白(matrix protein, MA)納為流感疫苗之主軸成分，期降低對潛在抗原變異的易感性；另探研以替代性製造技術，如：發展 DNA 疫苗；利用基因重組桿狀病毒(recombinant baculovirus)搭配低成本之昆蟲細胞系統，量產流感疫苗蛋白質，縮短疫苗製造時程；或研發新穎佐劑以節省疫苗抗原量。此外，根據上(20)個世紀 3 次流感全球大流行及近 3 年禽流感之病例(89%病例為 40 歲以下)分析及死亡人口分佈態樣，有年輕化傾向，並非現行流感疫苗接種之優先對象，屆時流感全球大流行時，似需加強年輕族羣之接種意願及免疫涵蓋率。

### 一、前言

流行性感冒病毒主要造成人類 A 型及 B 型流感(Influenza A and B)，A 型流感引起人類嚴重疾病，病毒主要攻擊上呼吸道，並可藉由病毒感染性小水滴經空氣或接觸造成人際傳播；病毒之經常性小幅度基因變異(antigenic drift)，造成季節流行(seasonal epidemics)，使 5-15%人口之上呼吸道感染；疫

民國 96 年 2 月 12 日受理；民國 96 年 2 月 26 日接受刊載

通訊作者：關嫩嫩；聯絡地址：台北市忠孝東路一段 9 號 4 樓

e-mail：kuan@cdc.gov.tw

苗為預防及降低季節性流行之主要措施，然而疫苗成份需每年隨著流行病毒株更改。有鑑於 20 世紀 A 型流感病毒發生 3 次大幅度基因變異(major genetic changes)並造成全球性大流行(1918 西班牙流感病毒株、1957 亞洲流感病毒株、1968 香港流感病毒株)及其超額死亡病例，學者家認為 21 世紀再發生流感全球大流行是不可避免的課題，而疫苗是對抗此疫病之最主要利器，因傳統疫苗，需在出現全球大流行流感病毒株到後之半年才得以開發出第一劑疫苗，且需每年更新，因此新的疫苗製造技術，為國際防疫之關注焦點。

## 二、流感全球大流行死亡病例之年齡態樣

### (一) 1969 - 70 流感全球大流行死亡病例之年齡態樣

分析 1969-2001 年義大利每月份流感死亡病例之年齡態勢，評估季節性流行及全球大流行之差異，利用修飾版循環式絲福琳模式( a cyclical Serfling model)，評估年齡-肺炎及流感之超額死亡標準化，發現在一般流感季節超額死亡是老年人，而 1969 - 70 全球流感大流行，確認超額死亡是年輕者較高，比較義大利北、中及南，發現此現象呈現高度一致性〔1〕。

### (二) 2003-2006 年人類禽流感病例之年輕化

據 WHO 近 3(2003-2006)年統計資料，禽流感 H5N1 人類確定病例共 256 名(其中 165 名為印尼及越南)，發病至住院為 4 日、發病到死亡為 9 天；多數(89%)病例為 40 歲以下；死亡數最高是 20 歲以下(10 歲以下及 10-19 歲各約 65 例)，20-29 歲死亡數為 53 例，30-39 歲為 41 例，40-49 歲為 14 例，50 歲以上為 15 例。總死亡率為 60%；5 歲以下及 5-9 歲病例之死亡率為 44%及 49%；10-19 歲病例死亡率為 76%；20-29 及 30-39 歲病例之死亡率各為 63%及 66%；40-50 歲及 50 歲以上各為 43%及 40%〔2〕。另一項分析發現年齡層 0 - 9、10 - 19 及 20 - 29 歲之病例比例類似，

少數病例發生在 30 - 35 歲以上，病例傾斜趨向於兒童及年輕成人族群之分佈〔3〕。上述狀況與 1918 年流感大流行病例年輕化之現象類似。

### 三、流感病毒的免疫學研究

#### (一) 探研 A 型流感病毒抗體與 T 細胞抗原決定基( epitopes )

以「免疫抗原決定基及分析資源(The Immune Epitope Database and Analysis Resources ;IEDB)」，發表擷獲之抗原決定基( epitope)數據〔4〕，由美國國家衛生研究院所屬的過敏和傳染病研究所(NIAID)資助建構，並於 2006 年夏發布此資料庫(IEDB) ([www.immuneepitope.org](http://www.immuneepitope.org))，該資料庫設有生物分析工具，同時提供分析、展現抗原決定基及確認新穎抗原決定基。資料庫內容，係從過去數十年 10 萬多篇研究報告中精選出來，並關注新興傳染病病毒(如西尼羅河病毒)，以及生物戰有關病毒。其中首次完成全球「A 型流感病毒之抗體與 T 細胞抗原決定基(Ab and T cell epitopes of influenza A virus)的所有數據分析，此可作為人體免疫反應之標的，也是開發季節性與全球大流行流感疫苗及有效療法之關鍵。研究人員分析 58 種不同 A 型流感病毒株，其 10 種蛋白質及其 600 個以上之抗體與 T 細胞抗原決定基(表 1)〔4〕，認為「流感病毒不斷變化，迫使每年需開發新疫苗，如能找到病毒共同抗原決定基，就有希望開發出同時對付多種流感病毒之單一疫苗。」，目前發現許多不同流感病毒株具有相似的上百個抗原決定基，有助未來進一步研發出單一疫苗。

### 四、新型人類禽流感病毒 H5N1 疫苗的研究

#### (一) 首度「禽流感病毒 H5N1 之 DNA 疫苗」展開人體試驗〔5, 6〕

首次「禽流感病毒 H5N1 之 DNA 疫苗」於 2006 年 12 月展開人體試驗，由美國國家衛生院下的過敏和傳染病研究所疫苗研究中心(Vaccine Research Center, VRC)的科學家設計，此以 DNA 為基礎之疫苗，僅有病毒之遺傳物質，一旦注入人體，DNA 會指示人體細胞製造對抗 H5N1

病毒之疫苗蛋白質。此候選疫苗，衍自 H5N1 之修飾過的 HA 基因，由疫苗研究中心的疫苗先導工廠製造，自研發至進入人體試驗，在 6 個月內達成，是該廠製造之第一個候選疫苗。研究人員希望此疫苗可對新興之新型禽流感 H5N1 病毒株提供保護，包括近年威脅印尼 H5N1 的第二支系(clade II)及由東亞其他的 H5N1 遺傳變異者。目前，此 H5N1 新疫苗技術早已製備，惟其穩定供應及工業製備仍未成熟。進行中的人體試驗研究將徵召 45 名 18-60 歲的自願者，其中 15 名使用安慰劑及 30 名接受 3 劑此禽流感病毒 DNA 疫苗之注射，並追蹤一年。

## (二) 候選「通用型(universal-type)」流感疫苗可望問世：

此類新型疫苗預期能作用於所有 A 型流感病毒，破壞其共有之蛋白質 M2，主因 M2 在最近百年中幾乎沒有發生變異包括現在最關切的 H5N1 禽流感病毒及 1918 年冬西班牙大流行病毒株（其 M2 僅 1 個氨基酸變異）；而傳統流感疫苗的作用機制是破壞病毒另兩種表面蛋白質 HA 及 NA，惟此二蛋白質經常變異，使疫苗需隨著變異後的新型病毒更新生產；利用 M2 及其所包含之高度保留性胜肽 M2e(23 胺基酸)注射動物，發現其衍生抗體會附在感染細胞上，促進其清除(clearance)，故 M2e 亦被候選為疫苗標的〔7〕。

英國和瑞士的兩家公司正研製「通用型」流感疫苗〔8〕。其一由英國劍橋大學所屬亞肯比斯生物技術公司(Acambis)和比利時研究人員共同研製；另一瑞士賽特斯生物技術公司(Cytos)研製之類似「通用型」流感疫苗，其有望在 2007 年進入人體試驗，並預計約 5 年內上市。此兩種「通用型」新流感疫苗共同優點是效期長、易於大批生產。例如 Cytos 新型疫苗是首次注射 2-3 針劑，然後可視需要每隔 5 至 10 年加強注射針劑，且所需劑量越來越小；就生產流程，以往用雞蛋培育較耗時，且一隻雞蛋只生產一支疫苗針劑，而新型流感疫苗，主要以 M2 蛋白質表現在大腸桿菌，因此以菌液(bacterial soup)培育，約 1 公升菌液能生產 1 萬支疫

苗針劑；傳統疫苗要依據流感爆發病毒株製造，約半年後才能上市，此種可事先大量儲備及兼具廣效性疫苗之「大優勢」，將於當季流感全球大流行新疫苗製造完成前之空窗期，提供作為替代疫苗或加強性疫苗〔7-8〕。

美國衛生及人類服務部也將以 M2 為基礎之 DNA 疫苗(M2-based vaccine) 納入流感大流行研發計畫，並發現在動物試驗能表現 T 免疫反應，對抗感染致命劑量之流感病毒如 A/PR/8/34(H1N1)、A/FM/1/47-MA (H1N1) 或 A/Tailand/SP-83/2004 (H5N1)〔9〕。

### (三) 世界衛生組織提供新型 H5N1 重組疫苗病毒以備製疫苗〔10〕

為備製疫苗病毒之需求，審視具代表現今的 H5N1 流行株(circulating strain)，世衛組織全球流感計畫(Global Influenza Programme)持續監測 H5N1 病毒流行株與其抗原變化及人類分離 H5N1 病毒株之基因演化。

2006 年 8 月世衛組織報導所蒐集自動物及人類之 H5 之 HA 基因已較先前的 H5N1 有抗原變異，因此世衛組織合作中心(WHO Colaborating Centers)及 H5 參考實驗室共同研發新型重組 H5N1 病毒，係選自第二支系(clade 2)的第三分支系(sub-clade 3)之 2005 年的 H5N1 病毒安徽株(A/Anhui/1/2005)，其 HA 及 NA 基因序列可在美國洛斯阿拉莫斯國家實驗室的流感基因資料庫(Los Alamos National Laboratory database)查詢到，該疫苗與其他可共同對抗人的季節性及 H5N1 流感。

另 2007 年 1 月底世衛組織表示，若疫情昇級，如由大流感警戒由 3 達至 4 級(人傳人病例增加)時，將提早在通過動物安全試驗前，就提前釋出疫苗病毒株給廠商，此舉將可加速 2 週疫苗研發時間；一般出現大流行株到第一劑疫苗之開發時間為半年。世衛組織的共同研究中心如美國疾管與預防中心，刻已以正在流行的 H5N1 病毒株為基礎，再利用反轉基因技術(reverse genetics)開發出基因重組病毒，屆時將提早在雞、雪貂的動物

安全試驗前，釋出該病毒株給廠商。

#### (四) 新佐劑搭配的「節用抗原」型禽流感疫苗

製藥企業葛蘭素史密克公司(GlaxoSmithKline, GSK) 2007 年 1 月底表示，歐盟監管者(Committee for Medicinal Products for Human Use, CHMP) 將對其生產的第二代禽流感疫苗進行審查，以往每劑疫苗約包含 90ug 抗原，此第二代疫苗具「節用病毒抗原」效果 (antigen-sparing effect)，僅需 3.8ug 抗原，注射 2 劑間隔 21 天，就能在 80% 接種者誘發出高度保護免疫反應 (seroprotective response)；此可用在疫情爆發時進行人體注射，蘭素史密克已與數國政府簽訂供應合同，以大量儲備這些疫苗〔11〕。預計這些疫苗的價格介於 4-7 英鎊，與一般季節性人流感疫苗的價格差不多。

#### (五) 以昆蟲細胞表現「流感病毒表面蛋白質」之疫苗製造的安全性與抗原誘生性之評量

最近流感疫苗發展的最優先考量，在於不使用雞胚胎蛋之疫苗製造。近期美國 3 個學術醫學中心針對「昆蟲細胞表現基因重組病毒技術」製造「三價流感病毒紅血球凝集素(rHA0)疫苗」，進行其隨機、雙盲(double-blind)性臨床試驗，評量「劑量安全及其抗原免疫誘生性的保護效益」，2004 - 2005 年流感季期間，共 460 名無流感疫苗風險之健康成人參與，分別隨機指定接受鹽水安慰劑(n = 154)注射、75μg 重組基因蛋白疫苗(rHA0 vaccine)「包含 15μg 血紅凝集素蛋白係來自流感病毒 A/New Caledonia/20/99(H1N1)與 B/Jiangsu/10/03 及 45μg 血紅凝集素蛋白來自流感病毒 A/Wyoming/3/03(H3N2)(n=153)」或 135μg 重組基因蛋白疫苗(rHA0 vaccine)「包含 45μg 血紅凝集素蛋白來自所有以上 3 種病毒成份(n= 153)」；血清樣本在疫苗接種前及後 30 天取樣；經量測「主要免疫誘生力」(終點是對 3 種疫苗株之接種前與後 28 天，血清中血紅凝集素抑制抗體 4 倍以上)、「前導特異性效價」(終點為在鼻咽拭子有流感病毒反應紀錄)。

結果發現：(一)局部及系統性傷害作用比率低：在疫苗接種組及對照(接種安慰劑)組之系統性疫苗傷害比率並無差異性。HA1 成分之紅血球凝集素抑制抗體反應檢定 (Hemagglutinin inhibition antibody responses)：對照組 3%，接種 75 $\mu$ g 重組蛋白疫苗組者 51%，接種 135 $\mu$ g 重組蛋白疫苗組者 67%。(二)對 B 型流感病毒的保護反應佳：對照組 4%、接種 75 $\mu$ g 重組蛋白疫苗組者 65%、接種 135 $\mu$ g 重組蛋白疫苗組者 92%，對 H3 成分反應為對照組 11%、接種 75 $\mu$ g 重組蛋白疫苗組 81%、接種 135- $\mu$ g 重組蛋白疫苗組者 77%。感染 B 型流感與 A(H3N2)及感染抗原變異株 A/California/7/2004 - like viruses，在 153 個對照組中有 7 例經病毒培養確認為類流感個案(4.6%)，相較之下 150 名接種 75 $\mu$ g 重組蛋白疫苗組者，有 2 例(1.3%)，在接種 135 $\mu$ g 重組蛋白疫苗組者，有 0 例。

綜言之，對於健康成人接種三價型基因重組血紅素凝集蛋白疫苗 (a trivalent rHA0 vaccine) 是安全及具抗原免疫誘生性(immunogenic)，初步小型樣本顯示可對抗變異性流感病毒 A(H3N2) [ 12 ]。

## 五、疫苗接種措施

### (一) 流感大流行疫苗分配

鑒於出現全球大流行流感病毒株到第一劑疫苗之開發時間為半年，但在流感疫情關鍵初期，疫苗尚未大量製造，要如何分配有限之疫苗？學者建議疫苗分配之倫理原則在於平衡考量利他性(大多數利益)及公平性(utilitarianism and egalitarianism)，以利他性原則基於社會價值或最能成就醫療實質利益為考量，以醫療需求與隨機性之公平性原則避免質疑；除建議基於多元性原則之體制運作去定位流感疫苗分配 [ 13 ]，以美國衛生部為例，2006 年 12 月就「在全球流感大流行時，如何分配少量流感疫苗」徵求民意，由民眾表達哪一團體得優先接受全球大流行前的流感疫苗(pre-pandemic vaccine)或全球大流行時的流感疫苗

(pandemic vaccines)及其相關議題，徵求議題如下：(一)配量之目標、原則、基準及前題為何？(二)如何將妥適、公允及相關原則有效反應至此決定？及(三)由誰來決定何時與如何分配及管理疫苗？。中央跨部會工作隊除徵求民意以此發展指引，協助州與地方政府、各市、種族及私立部門決定如何分配疫苗劑量，工作隊亦召開會議彙集各利益團體 (individual stakeholders) 的綜合意見，及召開「與民有約」的全國性會議，在最後版本指引定讞前，政府因應民意先發行草案。美國衛生部表示無論是全球大流行「前」的流感疫苗或是全球大流行「中」的流感疫苗，預期此兩種疫苗在流感大流行初期將會短缺，有必要先行規畫配額。美國衛生部在 11 月報導有足夠全球大流行「前」的流感疫苗庫存量，提供約三百萬民眾接種 2 劑 [ 14 ]。

## (二) 流感會引發心臟病發作-高危險羣應每年注射疫苗

根據 2007 年德州大學休士頓分校馬吉德(Mohammad Madjid)博士與俄羅斯聖彼得堡流感研究院合作之一項流感與心臟病研究發表，探討俄羅斯聖彼得堡 8(1993-2000)年間之心臟病患者的驗屍報告，該處注射流感疫苗的居民很少，因此有助瞭解無藥物作用之自然發生狀況，分析發現，有 11,892 人死於心臟病發作(acute myocardial infarction, AMI)、23,000 人死於慢性心臟病(chronic ischaemic heart disease, IHD)；在流感期因心臟病發作死亡人數較平時增加三分之一(95%CI: 1.08-1.56)、因慢性心臟病死亡者則增加了十分之一(95% CI: 0.97-1.26) [ 15 ]。該研究發現流行性感冒會引發致命的心臟病，此報告支持專家長久以來的想法，使得每年疫苗接種的理由又增添一條。每年有 10-20%的人口感染流感，季節性流感病毒感染會使心臟病惡化；以美國為例，每年因季節性流感而增加 9 萬例心臟病死亡，若每位高風險患者每年都接種疫苗，估計可達預防 9 萬例心臟病死亡，因此有必要提高「冠狀動脈心臟病風險患者」的流感疫苗注射率。此項研究顯示，流感是引起心臟病突發的重要因素，若

大家知道流感疫苗有預防心臟病功效，則高危險群就會較願意每年確實接受流感疫苗注射。

### (三) 疫苗接種配套措施及我準備

調查發現，儘管政府提供安全有效疫苗，美國健康照顧人員(health care workers; HCW)對流感疫苗接種之態度不甚積極，需經過鼓勵性衛教措施後，其順從率(compliance rates)方可達到 34.4%，對照 2004 年僅施行問卷時，流感疫苗接種滑落至 20.2%，當 2005 年無介入任何教育措施時，流感疫苗接種掉至 12.75%〔16〕；因此，這種健康照顧人員對於季節性流感疫苗接種，所持有負面態度，可能也出現在一般民眾，需配合規劃較具說服性及持續之衛教措施，俾提昇流感疫苗接種率。雖然禽流感病例之年輕化，是否年輕族群與禽畜接觸、密切照顧家庭等活動較年長者為高之故？抑或部分科學家提出 35 歲以上族群，似有較高之 N 抗體免疫力〔17〕之故？目前並無定論，然而，相較於季節流感疫苗接種策略，我們似可研探針對流感大流行之危險族群如年輕人口等，施以有效衛教、鼓勵其積極接受預防注射之觀念，使疫苗接種策略得以落實。

一旦爆發 H5N1 禽流感，疫苗將是遏止疫情的一大利器。在全球搶購浪潮下，台灣早就展開儲備人類禽流感疫苗的措施，於 2006 年底，國內已經購入 19 萬劑的人類禽流感疫苗，以供第一線防疫人員在緊急時使用，採購自葛蘭素史克藥廠及百特藥廠兩家，且初步臨床實驗結果顯示，比 2007 年美國政府 FDA 行將批准首支由法國賽諾菲安萬特藥廠研製的人類禽流感疫苗，有更好保護效力。另，自製、量產流感疫苗是目前台灣防疫的第一重點，疾管局與國際藥廠洽談中的流感疫苗自製 BOO(自建、自有、自營)案，將在近期進入最後階段及議定、簽約後，可望步入量產季節性流感疫苗，期提昇臺灣流感疫苗之防疫戰備及其防疫生物科技工業。

**參考文獻**

1. Caterina Rizzo, Antonino Bella, Cécile Viboud, et al: Trends for Influenza-related Deaths during Pandemic and Epidemic Seasons, Italy, 1969-2001. *EID* 2007; 13: 694-699
2. WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection, 25 November 2003-24 November 2006. *Weekly epidemiological record* 2007; 82: 41-48.
3. Matthew S-R, Andrew D. Cliff: Avian Influenza A (H5N1) Age Distribution in Humans, *EID* 2007; 13: 510-512
4. Huynh-Hoa Bui, Bjoern Peters, Erika Assarsson, et al: Ab and T cell epitopes of influenza A virus, knowledge and opportunities. *Proc Natl Acad Sci* 2007; 104: 246-251
5. Clinical Trials.gov (A service of the U.S. National Institute of Health) <http://www.clinicaltrials.gov/>
6. NIAID DNA Vaccine for H5N1 Avian Influenza Enters Human Trial. <http://www3.niaid.nih.gov/news/newsreleases/2007/FluDNAVax.htm>
7. New influenza vaccine candidate potentially offers permanent protection by overcoming mutations in influenza strains, <http://www.acambis.com/default.asp?id=1367>
8. Influenza news: A one-size-fits-all flu vaccine? *Science* 2006; 312: 380-382
9. Stephen Mark Tompkins, Zi-Shan Zao, Chia-Yun Lo, et al.: Matrix Protein 2 vaccination and protection against influenza viruses, including subtype H5N1. *EID* 2007; 13: 426-435
10. WHO CC CDC: WHO Collaborating Center for Surveillance, Epidemiology and Control of Influenza, Centers for Disease Control and Prevention
11. GlaxoSmithKline files its new pre-pandemic influenza vaccine in Europe.

<http://www.noticias.info/asp/aspComunicados.asp?nid=257830>

12. Treanor John J., Schiff Gilbert M., Hayden Frederick G.: Safety and Immunogenicity a Baculovirus-Expressed Hemagglutinin Influenza Vaccine: A Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2007; 297: 1577-1582
13. HHS.Request for information: guidance for prioritization of pre-pandemic and pandemic influenza vaccine. *Fed Reg.* 2006; 71: 75252
14. Mohammad Madjid1, Charles C. Miller, Vladimir V. Zarubaev, et al: Influenza epidemics and acute respiratory disease activity are associated with a surge in autopsy-confirmed coronary heart disease death: results from 8 years of autopsies in 34 892 subjects. *European Heart Journal* 2007; doi:10.1093/eurheartj/ehm035
15. Zimmerman RK. Rationing of influenza vaccine during a pandemic: Ethical analyses. *Vaccine* 2007; 25: 2019-2026.
16. Takayanagi IJ. Attitudes of health care workers to influenza vaccination: Why are they not vaccinated? *Am J Infect Control.* 2007; 35: 56-61.
17. Laura Gillim-Ross, Kanta Subbarao: Can Immunity Induced by the Human Influenza Virus N1 Neuraminidase Provide Some Protection from Avian Influenza H5N1 Viruses? *PLoS Medicine* 2007; 4: 0001-0003.

表 1、A 型流感病毒蛋白質之抗原決定基的發表總數

流感病毒 蛋白質	抗體 (抗原決定基)	T cell (抗原決定基)		總數 (抗原決定基)
		CD4	CD8	
HA	150	113	35	289
NP	3	44	49	96
PA	0	1	11	12
NA	24	7	8	39
M1	4	9	15	28
PB2	0	0	9	9
M2	9	0	3	12
PB1	0	0	10	10
NS1	0	1	7	8
NS2	0	0	1	1