

# 壹、疫苗案例

## 案例

一個在六年前接種德國麻疹疫苗的 24 歲孕婦，在他第一次妊娠時被鑑定出對德國麻疹失去免疫力，所以在產後五天接受疫苗接種。在接種後未測量德國麻疹校價。在孕婦第二次妊娠四週時有皮疹的症狀。當時他在溶血抑制試驗有 IgG 抗體 512 倍校價，但是無 IgM 抗體存在。並無得到第二血清型的德國麻疹。女嬰再 37 週時生產，出生體重 2.3Kg，頭的圓周長 31.5cm(10%)，直線長度 47.5cm(50%)。嬰兒的德國麻疹 IgM 抗體校價為 positive，母親在產後的 IgG 溶血抑制試驗校價為 1054。嬰兒並無感染弓蟲病。在嬰兒 11 個月大時還有德國麻疹的 IgG 跟 IgM 抗體。

在嬰兒七個月大時有中等的雙邊聽力喪失，九個月大時右眼有白內障的症狀。回聲心電圖顯示出肺主動脈流速有輕微的加快，並無瓣膜或分支血管狹窄。21 週大時實驗顯示有輕微的發育遲緩，中度到嚴重的雙邊聽神經聽力喪失，以及右眼失去視力。

### 問題：

1. 當德國麻疹 IgG 抗體校價 512 時代表什麼？
2. 當這位母親第二次妊娠時，感染德國麻疹第二血清型對母親的意義？
3. 嬰兒 IgM 以及 IgM 校價代表的意義？
4. 當嬰兒感染先天性德國麻疹時會有哪些症狀表現？

## 接種新流感疫苗 女學生癱瘓

台中市一名 17 歲高二馮姓女學生，24 日打完新流感疫苗後，出現嘔吐、暈針症狀，不料送醫後狀況沒改善，打針的左半邊身體開始無力失去知覺，呈現半癱狀態，幾天過去，情況也沒有好轉。呈現半癱狀態的馮姓女學生，用力將她的手放到桌上，竟一點感覺都沒有、完全不會痛，使勁想要動動手指，最多就小拇指可以稍微往上翹，左手根本抬不起來。

馮姓女同學 24 日在學校接種完新流感疫苗後，10 多分鐘後開始嘔吐、暈針，被送進醫院後，狀況不僅沒好轉，打針的左側身體已經四天沒知覺。原本健康的孩子，打完針後竟左半邊癱瘓，焦急的母親認為和新流感疫苗脫不了關係；但醫生替女同學做了各種全身檢查，都沒有異常，疾管局也說，就算會有神經反應也不會那麼快，強調和疫苗無關，表示應該是心理因素。現在女學生靠家人每天復健，盼身體能早日恢復健康。

## 打流感疫苗 女手腳狂抖誘發肌躍症 還嘔吐起紅疹

高雄一名 20 歲實習護士，上月施打流感疫苗後，陸續出現噁心、嘔吐、起紅疹和手腳不自主抖動併發症，前天經診斷為疫苗注射後免疫誘發的肌躍症。疾管局昨說，已獲通報，初步排除與注射流感疫苗有關，仍待審查結論才能定案。

這名陳姓女護專生，上月 16 日接種流感疫苗，本月 6 日手腳開始抖動，雙腳一度嚴重抖動到幾坐不住。陳父指「嚴重時，腳 1 分鐘就躍動 5 次，根本沒辦法睡覺」。陳女經藥物控制，只剩下肢偶會抖動。

不少人打了流感疫苗之後，產生中樞神經或周圍神經病變的案例。重金屬汞最常影響的就是神經系統，肌躍動是因運動神經遭外力或病毒感染出現病變，四肢肌肉不自主抽搐挑動。美國研究已指不能排除多發性神經炎疾病與施打疫苗有關。

下表是兩家疫苗的成份：

	國 光	諾 華
成 分	Thimerosal (0.05mg/0.5ml) 福馬林(0.05μL/0.5ml) Polysorbate 80 (0.05μL/0.5mL)	Forcetria : Squalene (9.75mg/0.5ml) Polysorbate 80(1.175mg/0.5ml) Sorbitan trioleate(1.175mg/0.5ml) ----- Celtura : Squalene(4.875mg/0.25ml) Polysorbate 80(0.588mg/0.25ml) Sorbitan trioleate(0.588mg/0.25ml)

其中國光疫苗內含有 Thiomersal 是一種汞的衍生物、或稱為「乙基汞」，長久以來，都被用做疫苗最終產品的保存劑，主要目的是為了預防微生物在疫苗貯藏和使用過程中生長，和造成人體傷害的「甲基汞」不同，不會在人體累積、而且可被代謝，但是身體會一下子跑進很多汞，少數比較敏感的人或是比較不會排重金屬毒素的人，神經系統就會受損，可能是造成半身不遂，顫抖，免疫系統異常，情緒異常的主要原因，因為汞有神經毒性。歐美的疫苗已經漸漸不含汞了，例如，諾華新流感疫苗已經改用角鯊烯(Squalene)代替汞。

## 乙基汞的爭議

硫柳汞(thimerosal)分子式為  $C_9H_9O_2HgNaS$ ，其為一含乙基汞的化合物，並非人們想像當中的“水銀”，主要作為微生物抑制劑，也就是防腐劑。醫學界早已證實，水銀進入人體後會引起神經中毒，對腦部正處於發育階段的幼童，遺害尤其嚴重。麻州東北大學的德斯(Richard Deth)在 2004 年公佈的一項研究報告稱，硫柳汞、鉛和其他金屬對去氧核糖核酸(DNA)的破壞，可能損害神經細胞發出信號的能力。所以美國環境保護局(EPA)和世界衛生組織(WHO)為此分別制定從出生到 14 周齡之間(大多數嬰兒疫苗在此時期內接種)，汞的接觸安全限度為 34 微克(按 EPA 標準)和 159 微克(按 WHO 標準)。

研究人員在一九九九年發現，幼兒每次接受含「硫柳汞」(thimerosal，含 49.6%水銀)的疫苗注射，累積注射入體內的硫柳汞可多達 62.5 毫克，比美國環境保護局的安全標準高出一百倍。英國過敏反應與傳染病研究所(NIAID)要求羅賈斯特大學醫學中心的研究者們對此進行調查，羅賈斯特調查小組對 61 名兒童的尿液、血液和糞便進行檢測，其中 40 名兒童接受含汞疫苗的接種，另外 21 名接受無汞疫苗的接種。研究中的所有兒童都接種過白喉-破傷風-百日咳疫苗和乙肝疫苗，其中一些還接種了 b 型流感嗜血桿菌疫苗。研究中的絕大多數兒童血汞水準在 1ng/mg~2ng/mg，發現其中一個孩子的血汞水準最高，為 4.11 ng/mk，所以部份兒童代謝比較緩慢的，可能引發過敏反應也有可能產生自閉症。

# 貳、疫苗總論

## 疫苗的發展

目前已知最早使用的疫苗接種可溯源至種痘技術(variolation)，這項技術起源自公元前 200 年的中國文明。清代醫書認為，11 世紀起，十一世紀中國(約北宋時期)及阿拉伯的醫生就知道將患有天花之病患身上的痂取下磨成粉末，吹到健康人鼻腔以預防天花。而另一本醫書則記載，更早於唐代即有“江南趙氏始傳鼻苗種痘之法”，且“種痘者八九千人，其莫救者，二三十耳。”顯示該技術對天花的預防頗有成效。

## 牛痘疫苗 消滅天花

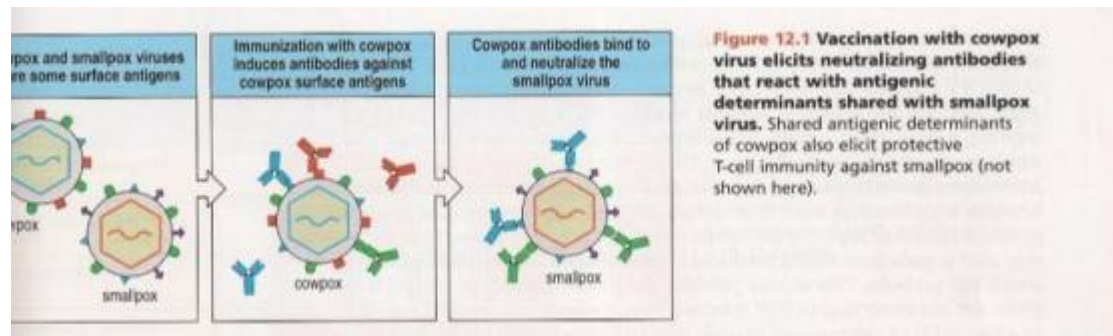
1796 年世界上第 1 支疫苗是金納(Edward Jenner)博士發明。

近兩個世紀前，一位擠牛乳的少女，催生出第一支預防天花的牛痘疫苗，也使得天花成為人類歷史上第一個用疫苗消滅的傳染病。這個歷史的偶然，其實早在英國的格洛斯特郡就盛行一個說法：「擠牛乳和牧牛人一旦感染了牛痘，他們就會對天花產生免疫性。」

當時，愛德華·金納他針對這樣說法進行調查，發現的確有許多曾感染過牛痘的擠牛乳少女，並未感染天花。牛痘是牛的一種疾病，它的膿胞和人類的天花不一樣，只出現在牛隻的乳頭上，但當人類手上的傷口感染到此病毒時，所出現的牛痘膿胞，非常類似人類天花上所看到的膿胞，但症狀比天花溫和，幾天內即可完全復原。

之後，金納持續觀察才確定，擠牛乳的少女的確對天花有免疫力。於是在 1796 年，他從一位因手指受傷後去擠牛乳，而感染牛痘的少女的手指上，取得牛痘膿胞的部分膿液，以乾淨的刺絡針，塗抹到一位名叫詹姆斯·菲立浦八歲男孩左胳膊上，他用小刀在男孩手臂上畫了兩個傷口，讓濃汁進入體內。幾天後，菲立浦出現輕微發燒症狀，但很快就恢復了，就和擠牛乳的少女在感染牛痘後的情形一般。

約二個月後，金納取得一些天花的膿汁，並依一般標準的痘毒接種程序，將其接種到菲立浦身上，結果就如金納所預期，此男孩沒有顯現出任何天花症狀。一開始，金納是採用人對人，從手臂到手臂的一個個「轉接」，但這樣接種方式存在劑量不穩定的因素；經過不斷改進，以牛痘病毒作預防接種的方式逐漸被廣泛採用。兩個世紀後，世界衛生組織（WHO）宣告，天花終於消失了，成為第一個因疫苗預防接種而消失的疾病。



為何牛痘(Cowpox)疫苗可以預防天花病毒(smallpox)? 主要是因為天花和牛痘病毒恰巧為近親，具有相同抗原，而牛痘的致病程度不如天花，但卻可以讓人體產生對抗天花的抗體，因此以牛痘疫苗來對抗天花。

## 疫苗之定義

The term "vaccine" derives from Edward Jenner's 1796 use of cowpox (Latin *variolæ vaccinæ*, adapted from the Latin *vaccīn-us*, from *vacca*(牛) cow), which, when administered to humans, provided them protection against smallpox.

A **vaccine** is a biological preparation which is used to establish or improve immunity to a particular disease.

A vaccine typically contains a small amount of an agent that resembles a microorganism. The agent stimulates the body's immune system to recognize the agent as foreign, destroy it, and "remember" it, so that the immune system can more easily recognize and destroy any of these microorganisms that it later encounters.

<b>Prophylactic</b>	To prevent or improve the effects of a future infection by any natural or "wild" pathogen
<b>Therapeutic</b>	Vaccines against cancer are also being investigated, Ex: cancer vaccine

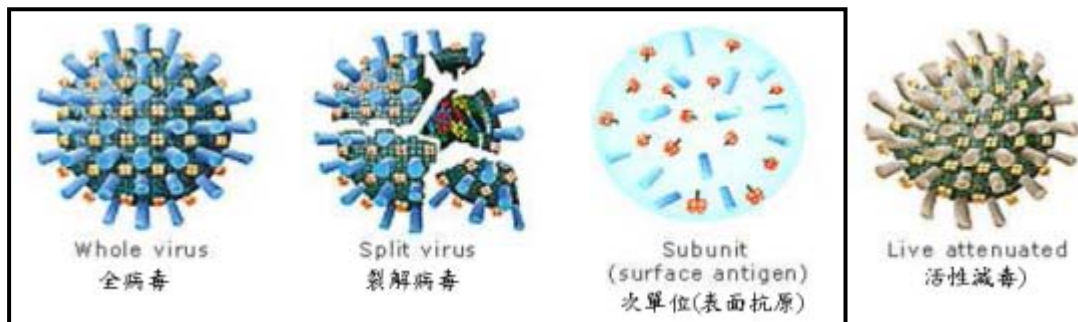
## 現代疫苗的技術—1879年巴斯德(Louis Pasteur)減毒疫苗的原理。

十九世紀的巴斯德在一次的實驗中以上次實驗剩下的雞瘟病菌注射雞隻，這些雞隻生病後不久即康復。這個現象並不稀奇，健康的生物體本來就有可能戰勝病原體，所以巴斯德對此並不特別在意。幾週後，巴斯德度假回來重新做實驗，但是由於實驗的雞隻不敷使用，他只好把上次病後康復的雞隻和未接種病菌的雞，一起施打一種毒性非常大的雞瘟病菌。意想不到的是，病後康復的雞非但沒有死亡也未染病，而實驗前未接種病菌的雞隻全都死了。巴斯德恍然大悟，認為第一次注射的病菌是之前實驗所剩餘的，放置一段時間後致病性減弱了，因此能使雞隻染病但不至病死，且產生了免疫力。此後的科學家利用巴斯德的方法，製成了許多有效的疫苗，如預防小兒麻痺的沙克、沙賓疫苗。

這項發現使巴斯德得以改良接種技術，隨後於1881年5月5日成功研發綿羊的霍亂疫苗，並於1885年6月6日讓一位兒童接受狂犬病的疫苗注射。倘若不以“疫苗”的初始定義來看，這便是人類史上第一劑注射疫苗。

### 去活性疫苗

### 活性減毒疫苗



### 疫苗常見的有四種：

1. Whole virus vaccines: 疫苗中含不活化之全病毒。
2. Split virus vaccines: 疫苗中含有經過 ether 或 detergent 處理過之裂解病毒。
3. Subunit vaccines: 疫苗中含有經過純化的表面抗原，病毒其他成分已經去除。
4. Live attenuated vaccine: 疫苗含有經過減毒後，只留下毒性部分較弱的病毒。



## 傳統疫苗

### ➤ 活性減毒疫苗

利用培養技術製造出的活體微生物，在製程中利用添加化學藥劑、改變遺傳物質、或是施以物理變化，以得到減低或去除毒性的品種。由於免疫反應主要偵測的是病菌本身外部的構造，因此減去毒性物質或微生物代謝產物仍可有效產生施打疫苗者的免疫力。例如：黃熱病、麻疹、腮腺炎疫苗。

### ➤ 去活性疫苗

透過熱或化學藥劑將致病微生物結構破壞或將其殺死，但因部分結構仍完整，可誘起免疫反應達到疫苗接種之目的，如流感、霍亂、腺鼠疫、甲型肝炎，但由於毒性較低、時效短、無法引起完整的反應，有時必須追加施打。

另外，肺炎鏈球菌疫苗和B型流感嗜血桿菌疫苗也屬於死菌疫苗，利用細菌表面多醣結構，有時這些結構對免疫系統的辨識上效果不佳，藉由將這層結構連結上許多特殊物質，例如特殊結構的蛋白質、毒素或醣類，可以增進免疫系統的判斷力，此類疫苗又稱為Conjugate vaccine。

### ➤ 類毒素疫苗

某些微生物本身無害，但其產生、釋放之毒素是疾病的根源，部分科學家將此類毒素改造或破壞以達到免疫反應所需的基本誘發功能，卻不傷害接種者，例如破傷風和白喉疫苗。

## 新一代疫苗

### ■ DNA 疫苗 (核酸疫苗)

另外，目前正在研發的 DNA 疫苗，作用則是將致病物質的 DNA 片段，以遺傳基因工程技術處理，嵌入細菌內的質體基因(plasmid)，再用質體基因作為載具，做成疫苗，混入生理食鹽水，用針筒注射入皮下。

### ■ 活體重組 DNA 疫苗(Live Recombinant vaccine)

特別強調以遺傳工程方法對細菌與病毒(活體)進行改造而作為疫苗。利用非致病性微生物，以遺傳工程方法使其攜帶並表現某病原體的抗原決定基因，因而產生免疫抗原性(需要有減毒、溫和的病原作為載體)。

### ■ 基因重組蛋白疫苗

是利用基因工程將病原體誘發免疫反應的關鍵性抗原，或病原體生存所必須的基因產物製成疫苗。

### ■ 胜肽疫苗(Peptide vaccine)

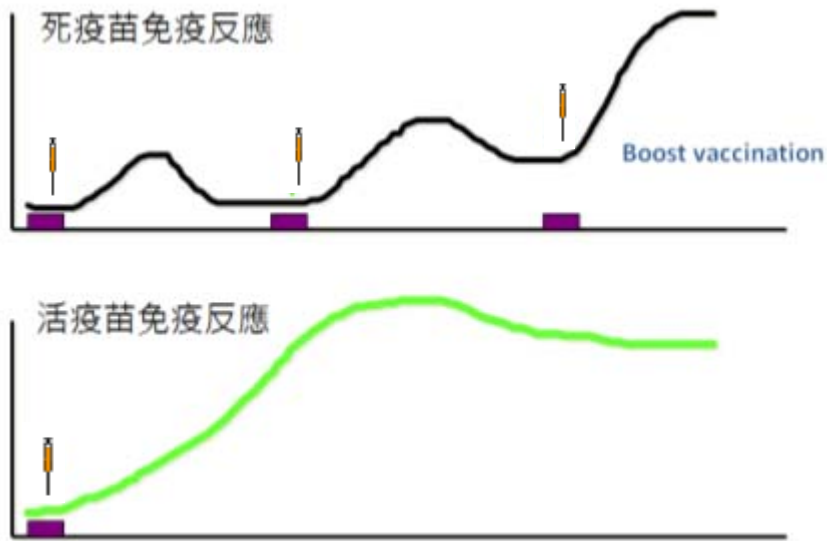
是由胺基酸組合而成，由於了解抗原之引發免疫反應往往只取決於抗原蛋白中之抗原決定位(epitope)而已，因此合成胜肽是疫苗研發的新趨勢。口蹄疫的合成 peptide 疫苗研究已有很好的成果。合成胜肽疫苗由於僅含有抗原與免疫保護力有關的部分，通常分子量很小(大都是少於 30 個胺基酸的胜肽)，但是都具有抗原決定位(epitope)。

◇ **現代次單元疫苗**定義：是將病原體內最易產生抗體的部分（如蛋白質）基因選殖出來，利用製造蛋白質藥物的方法加以生產作為疫苗

◇ **傳統次單元疫苗**定義：主要成分，即其免疫原(immunogen)或抗原(antigen)。只採用病原體(pathogen)的某一特定成分，而不是採用整個完整之病原體，即為次單位疫苗。換言之，次單位疫苗主要免疫原的組成僅含有一個或一個以上之純化或部分純化的抗原，該抗原並非完整的病原體。

◇ 事實上，只要符合是 ”病原體的一部份” 就可以稱為次單元疫苗，故其範圍可說是非常的廣泛，例如類毒素疫苗就也是次單元疫苗的一種

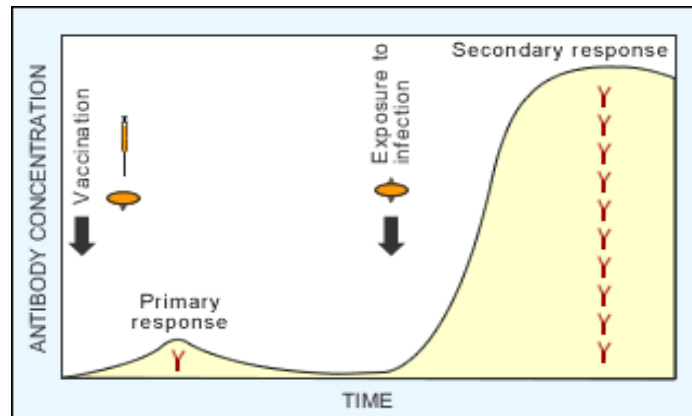
## 疫苗免疫效力



一般來說活性減毒所製成的疫苗時效較久，只需打一針便可終生免疫，而死疫苗因為已無活性，因此所引發的免疫反應較不持久，有時需要注射兩次或兩次以上的疫苗，使我們體內產生足夠的記憶型淋巴球來對抗下一次的感染；注射疫苗也不可太過量或過於頻繁，以免使我們的免疫細胞產生耐受性(tolerance)。而最近發明的一些新疫苗，如子宮頸癌疫苗、肺炎鏈球菌疫苗等，則是滅菌後抽出抗原成分而製的疫苗，因此可能也需注射三、四劑，才能完全誘發其免疫反應。

不過一些研究指出，不少滅菌型疫苗如：破傷風，因其細菌毒素夠強，誘發的免疫反應亦可長達五年之久；另外，接種途徑也會影響免疫效力，以感染性疫苗而論，皮下、肌肉注射效果最好。不過，為了因應部分疾病病毒是從黏膜進入，近來不少疫苗也開始研發以鼻噴劑的方式，自黏膜攝取。

## 疫苗免疫反應



我們的免疫系統在初次遭遇病菌時，會引起免疫反應對抗病菌，但是效率並不太好，所以我們常在第一次遇到病菌時生重病。所幸免疫系統有記憶的能力，在第二次碰到相同病菌時，在很短的時間內就以很強的免疫反應起而對抗。

因此，接種的疫苗被免疫系統視為第一次碰到病菌，所以真的遇到病菌時，免疫系統已經有所準備可以發動強而有力的對抗了。這也是為什麼疫苗只對未感染者有效的原因。

其實在我們人體內，也擁有病毒防禦能力，除天生的如皮膚、唾液、鼻腔黏膜等，會自然產生抵抗反應，幫助阻擋外來病毒的入侵外，也能經由學習過程，讓白血球細胞、淋巴球包含 B 細胞與 T 細胞，針對特殊病原產生免疫反應；而疫苗便是利用不同方式，幫助刺激此種主動免疫反應的發生。

B 細胞，主要功能是辨認出病原的表面抗原蛋白，進而釋放抗體(antibody)以中和阻止病原的活性，而 T 細胞則是專門消滅活病原入侵者，在病原消滅後，部份 B 細胞和 T 細胞會成為記憶細胞(memory cells)，若再有同類致病物質入侵，反應時間便可大幅縮短。

如此刺激 B 細胞及 T 細胞的主動免疫功能，免疫反應便能較長效，但保護時間長短則視疫苗種類而定，有的甚至可達一輩子；研判可能與抗體成分，及其所誘發的記憶及免疫反應時效長短有關。

# 參、不活化疫苗 (Inactive Vaccine)

## 一、原理

去活化疫苗是指去活性的病毒、細菌整體或是微生物/寄生蟲的部分抗原。利用加熱或化學方法將整個致病體殺死，使其不能在人體內繁殖，製造過程中通常以變性或化學方法修飾抗原決定位(epitopes) 去除微生物的活性。

一般在生產不活化疫苗時選擇與致病性相關的微生物作為材料，較能引起好的免疫反應。去活化疫苗不一定都可引起有效的免疫力，為求連續地刺激免疫系統通常需要多次的注射。而這類的疫苗不能在體內複製，只能夠引起體液性免疫(humoral immunity)，所以對於細胞內的感染經常是束手無策的。

常用的去活化方式有化學或物理的方法，而方法的選擇則取決於其分子的結構及各病原體感染的程度，例如：酒精及福馬林能溫和地將蛋白質變性，因而常被廣泛的使用。就失去活性的疫苗而言，殘餘致病性的可能性極低。因此不活化疫苗的安全性極高，但所能引起免疫反應較差，常需配合佐劑使用。佐劑能讓在注射部位的抗原慢慢釋放出來刺激免疫反應使細胞活化。這使得不活化疫苗的成本提高，但因其具有高度的穩定性，所以在保存和安全性較佔優勢。

## 二、組成

### 1. 全細胞(whole cell)

- ◎ 病毒
- ◎ 細菌

### 2. 成分(fraction)

- ◎ 蛋白質— 次單元(subunit)、類毒素(toxoid)
- ◎ 多醣體— 單純(pure)、結合型(conjugate)

### 三、比較

性質	活性減毒疫苗	不活化疫苗
接種路徑	自然或注射	注射
劑量或花費	低	高
接種劑量	大部份單劑	多劑
佐劑添加	不需要	需要
免疫力持續	長期	短期
毒力恢復	極少	無
熱不安定性	較敏感	較不敏感
0°C 以下環境	可儲存在0°C 以下	會影響效價

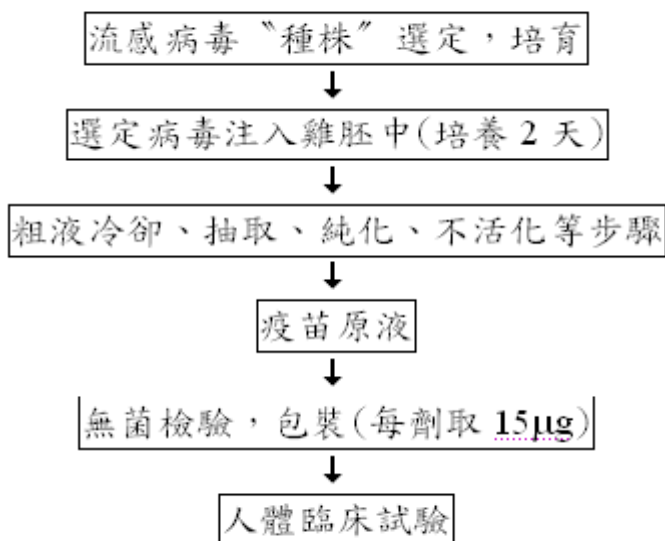
### 四、常見疫苗

- 白喉、百日咳、破傷風三合一疫苗(DPT)
- 白喉、非細胞性百日咳、破傷風三合一疫苗(DTaP)
- 白喉、破傷風二合一疫苗(DT)
- 小兒麻痺注射型疫苗
- 日本腦炎疫苗
- B型肝炎疫苗
- A型肝炎疫苗
- b型流行性感嗜血桿菌疫苗
- 肺炎球菌疫苗
- 流行性感冒注射型疫苗
- 人類乳突病毒疫苗
- 狂犬病疫苗
- 霍亂疫苗

## 五、新流感疫苗

目前國內使用的流感疫苗是利用**雞胚培養病毒**，加以去活化以後製成的疫苗。因為這種疫苗的保護效力大約只能維持一、二年，而且流感病毒常常發生突變，所以每年都必須接種一劑疫苗。流感病毒的外表有血球凝集素(hemagglutinin, H) 與神經胺酸酵素(neuraminidase, N)等兩種抗原，這兩種抗原可以引發人類的免疫力，也是病毒突變的關鍵點。

### 1. 傳統方法



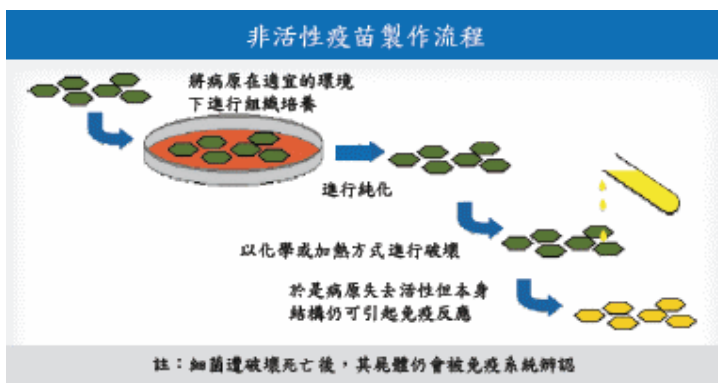
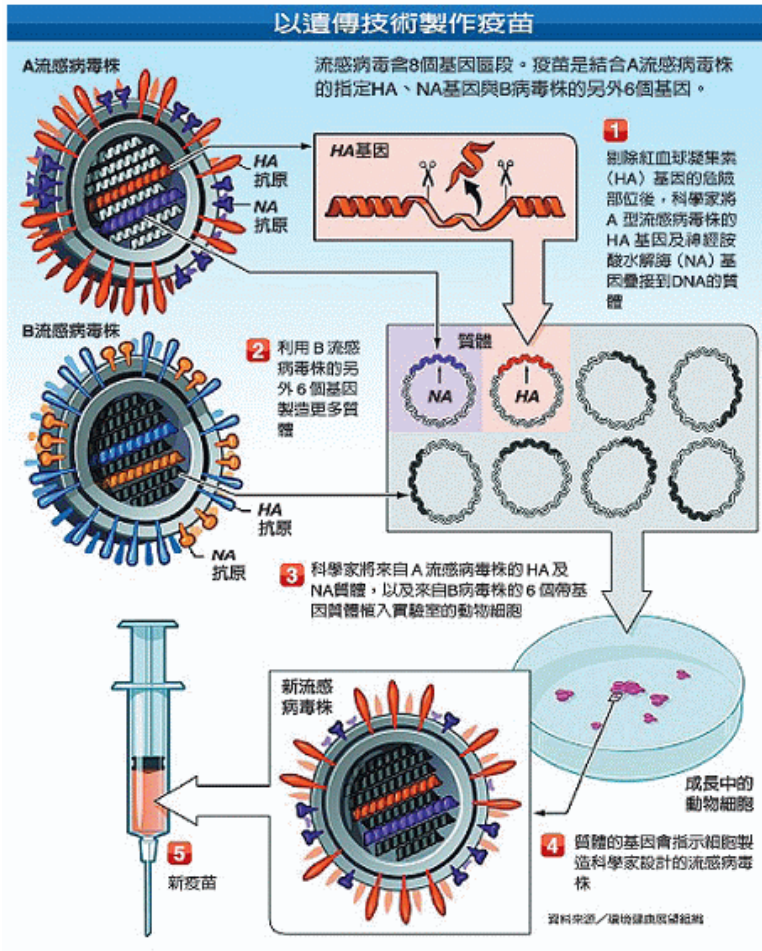
培製疫苗的種株(master)病毒注入雞胚中，純化蛋白完成疫苗，最後通過無菌檢驗及人體試驗，完成疫苗製造。

H1N1 之流感種株如大陸：北京科興、華蘭生物等取自英國A型H1N1流感毒株(NYMCX179A)；國光生技取自紐約NYMC種株等。

### 2. 細胞(基因)工程方法

以雞胚製造之疫苗並無法施打在对雞蛋過敏的人身上。目前，採用細胞(基因)工程製造新流感疫苗，即可避開過敏原問題。細胞(基因)工程製造，則分取流感病毒株HA及NA基因及另一流感病毒株其他6個基因質體，植入細胞培養。質體基因依照設定製造預期流感病毒株，經純化過程製成疫苗。將病毒顆粒固定後，透過被固定結構表面蛋白質來激活免疫力產生抗體，讓病毒無法繁殖。目前，以此種疫苗占絕大多數。

細胞製造技術如荷蘭Crucell公司PER.C6細胞(人類視網膜細胞)培養及美國百特公司Vero細胞(非洲綠猴腎細胞)培養，特點在複製主成份活性物質能力佳，無須用動物培養，具**高產量特質**且可縮短製程**降低製造成本**。



一般而言，流感疫苗的保護效力大約在60-90% 之間，免疫系統較弱者的效果稍差。根據國內醫護人員注射流感疫苗的調查，流感疫苗注射後出現局部反應的比率為47%，其中以注射部位酸痛最多(42%)，出現紅腫比率為18%，發燒與過敏則不超過1.5%



## 國外建議的疫苗在台灣是否有效？

年很多新型流感病毒都出現於中國大陸，而台灣與大陸的往來頻繁，所以國外所建議的疫苗可能無法及時應付國內出現的新型病毒。最近有研究提到流感突變大多出現在亞洲這類的熱帶地區。

以近年所謂的流感突變都是幾個胺基酸改變所導致的小突變。前者被稱為抗原移變 (antigenic shift)，發生這種變化的A型流感其H或N分子會發生編號上的變化；後者則被稱為抗原飄(antigenic drift)。國外的研究顯示，疫苗對於這種輕微的抗原變異，可能還能保持部分保護效果，尤其是所製造的疫苗能夠產生高效價抗體的時候。

台灣曾經發表過數個流感疫苗效益研究的成果，都顯示流感疫苗的確可以降低老人、慢性疾病患者、醫護人員的流感發生率(5, 6)。可見對台灣流感疫苗效益的質疑，純粹是理論上的引申與想像。但實際驗證的結果，卻證實世界衛生組織所推薦的流感疫苗，在台灣仍是有效的。

## 疫苗副作用的顧慮？

現在的疫苗經過相當先進的純化程序，副作用已經大幅減少。目前所用的流感疫苗大多是裂解病毒疫苗 (split-virus vaccine)，其製造是用化學藥物打破已經去除活性的病毒，再純化其脂肪包被成份，其上面含有病毒的血球凝集素與神經胺酸酵素等兩種最重要的抗原。因為去除了雜質，所以副作用可以大幅減少。目前使用的流感疫苗中，有的更進一步純化出血球凝集素與神經胺酸酵素，被稱為次單位疫苗 (subunit vaccine)

## 神經副作用？

文獻上有一些報告懷疑流感疫苗與神經的併發症有關，尤其是與自體免疫有關的Guillain-Barré症候群。1976年美國疾病管制中心誤判豬流感 (swine influenza)將產生大突變與全世界大流行，所以做出許多疫苗。後來研究發現這種豬流感疫苗的確會引起Guillain-Barré症候群，其發生率約為十萬分之一。但

是，後來對人類所用流感疫苗的監視調查，大多並沒有發現相關性，只有部分研究覺得不能排除因果關係。

2007-2008年台灣出現幾個接種流感疫苗後發生顏面神經麻痺的申訴案件，根據2004年美國對其疫苗不良反應報告系統資料庫的分析，認為無法排除相關性，但需要進一步大規模對照研究證實(9)。2005年英國的一個類似研究，則認為在接種流感疫苗三個月內，顏面神經麻痺的發生率並沒有明顯上升趨勢(10)。可見流感疫苗與顏面神經麻痺的相關性尚未被釐清，衛生署預防接種受害救濟委員會認為其關連性缺乏明確事證，所以目前此類案件均不給予救濟。

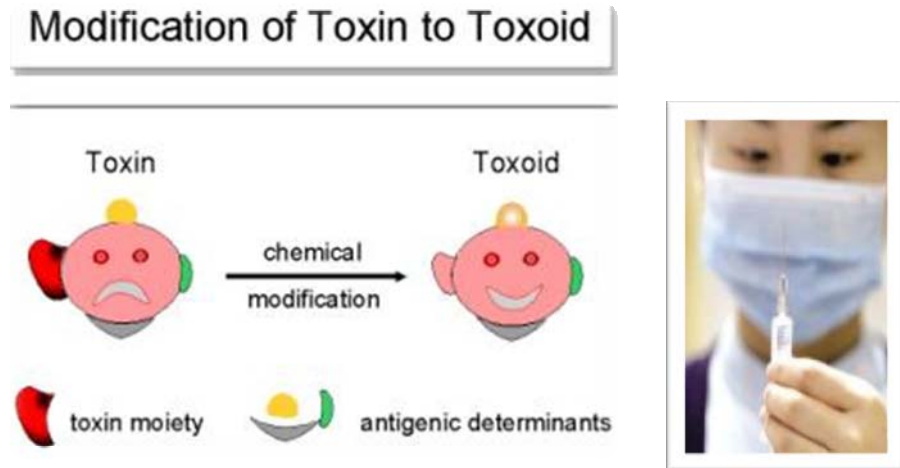
### 孕婦能不能接種流感疫苗？

對於孕婦而言，一般的活性減毒疫苗（live attenuated vaccine）都不宜接種，以免影響胎兒，但流感疫苗這類不活性疫苗（inactivated vaccine）則並非禁忌。有些研究顯示孕婦罹患流感後，併發症發生率較高，其原因可能包括懷孕時的心臟負擔與需氧量比較高、肺活量比較小、免疫功能較差等因素。所以在流感流行期，懷孕婦女可以接種流感疫苗，也有研究顯示流感疫苗對孕婦並沒有特殊副作用，但在新流感疫苗接種後，陸續有傳出流產或死胎，但未有明確證據和接種疫苗有關。

# 肆、類毒素

## 原理

一些經變性或經化學修飾而失去原有毒性而仍保留其免疫原性的毒素。



將 Toxin 進行 chemical modification，使其 toxin moiety 轉為無毒性。

## 簡介

所謂之類毒素是將其具有毒性之細菌毒素(toxin)，通常為外毒素(exotoxin)經過化學物質，如福馬林(formalin)，戊二醛(glutaraldehyde)或物理方法使之失去毒性，而保留其免疫性，即為類毒素(toxoid)。

例如D型巴氏桿菌毒素(*Pasteurella multocida* toxin, PMT)或皮膚壞死毒素(dermonecrotic toxin, DNT)，PMT (或DNT) 均為D型巴氏桿菌在引起豬隻萎縮性鼻炎之致病機轉(pathogenesis)中扮演極重要的角色，因為它能破壞豬鼻甲介骨細胞而引起鼻甲介骨之萎縮，引起豬萎縮性鼻炎(atrophic rhinitis, AR)，因此，將此PMT或DNT以化學方式(如福馬林，戊二醛)，或用酵素切割成片段達到減毒的目的而製成類毒素，該類毒素即為次單位疫苗之一種。許多細菌產生毒素成為感染時致病機轉(pathogenesis)之關鍵，因此能夠產生中和(neutralizing)這些細菌毒素，即可達到預防或改善症狀的效果。

某些情況可自細菌培養液中可純化其毒素，例如百日咳桿菌(*Bordetella pertussis*)，破傷風桿菌(*Clostridium tetani*)及白喉桿菌(*Corynebacterium diphtheriae*)。均可自該細菌的培養液中抽取並純化之，以上之毒素去毒性的方法均可用福馬林或戊二醇處理後使之不具毒性，而成為類毒素。白喉疫苗以及百日咳與破傷風二合一疫苗均以類毒素為疫苗之抗原成分。

另者，PMT亦可利用基因重組方法將具有毒性之基因刪除，擇取無毒性但具有免疫性的基因部分，以分子選殖(cloning)之方法加以篩選並以*E. coli*表現系統大量表現重組蛋白。若該重組蛋白具有強的免疫性，即可做為AR次單位疫苗。至於百日咳桿菌(*Bordetella pertussis*)之毒素亦能以基因重組方法選殖之，並經變異後可產生安定性高且具有免疫性之百日咳不活化毒素，即為類毒素。

## 種類

### 破傷風類毒素疫苗



#### 甲、 疾病確認 (Identification)

此疾病係由破傷風桿菌之外毒素 (exotoxin) 所引起，其特徵為痛性之肌肉收縮 (最初在咬肌及頸部肌肉，而後為軀幹肌肉)。而最常見之初症狀為腹部僵硬 (abdominal rigidity) 及肌肉痙攣 (spasm)，典型的破傷風痙攣現象為「角弓反張」(opisthotonus) 及臉部表情出現「痙笑」(risus sardonicus) 之特徵。此疾病之致死率約在 30%~90% 之間，且以老人及小孩為最。

#### 乙、 致病因子 (Infectious agent)

破傷風桿菌 (*Clostridium tetani*)。

#### 丙、 發生情形 (Occurrence)

遍及全球。台灣地區該病之發生以民國四十五年 1,004 例最高，其後實施類毒素接種，於民國六十一年以後病例減為 100 例以下，自民國七十年起，每年破傷風之報告病例皆在 20 例以下，死亡病例也逐年減少至數例。破傷風病例通常會發生在農業區或低度開發地區，因為該等地區較易與動物之排泄物接觸或免疫情形較不完全。

#### 丁、 傳染窩 (Reservoir)

病菌正常存在於動物 (包括人類) 之腸道，因此受動物或人類糞便污染之土壤或媒介物造成傳染。

戊、 傳染方式 (Mode of transmission)

破傷風桿菌芽胞 (spore) 進入人體之方式，通常是經由受土壤、塵土或動物及人類糞便污染之穿刺傷口而入。另外，也有可能透過撕裂傷、燒傷及一般傷口甚或由注射受污染之藥物而引起。壞死組織有利此種厭氣性的破傷風桿菌增殖。

己、 潛伏期 (Incubation period)

通常約 3 到 21 天，大部分病例在 14 天內發生。通常潛伏期越短、傷口污染情形越嚴重者，其病況越嚴重而癒後情形越差

庚、 可傳染期 (Period of communicability)

此疾病不會直接以人傳人之方式傳染。

辛、 感受性及抵抗力 (Susceptibility and resistance)

破傷風類毒素 (Tetanus toxoid) 完成接種所產生之自動免疫力持續至少 10 年，而暫時性之被動免疫可經由注射破傷風免疫球蛋白 (Tetanus immune globulin, TIG) 或抗毒素 (Tetanus antitoxin, TAT) 而得，具自動免疫之母親使其嬰兒藉著後天被動免疫之保護而免於罹患新生兒破傷風。破傷風病癒後並不會產生終身免疫，仍有可能二次感染，因此病癒後仍需進行自動免疫之措施 (預防注射)。

## 白喉類毒素



白喉 (Diphtheria, 來源於希臘語  $\delta \iota \varphi \theta \epsilon \rho \alpha$  (diphthera), 意思是「隱藏的皮革」) 是一種上呼吸道疾病, 臨床癥狀為咽炎, 低燒及黏附在扁桃體, 咽部, 或鼻上的黏膜(屬假黏膜)。

另一種比較輕度的白喉只會病發於皮膚上。致病菌為白喉棒狀桿菌 (兼厭氧性) [1] 革蘭氏陽性細菌。但要注意的, 雖然中文及英文上名稱相似, 但病發於皮膚上的白喉(白喉棒狀桿菌)跟其中一款會引致暗瘡的類白喉(Diphtheroid) 痤瘡丙酸桿菌是不同的。

擁有極高的傳染性; 它能透過直接身體接觸或呼吸帶菌者的氣體分泌物而散播。白喉曾是相當普遍的疾病。近年由於大力推行免疫注射, 在發達國家已甚為少見。以美國為例, 1980 年至 2004 年總共只有 57 宗白喉病例。[2] 現時美國所有學童都必需接受白喉、百日咳、破傷風三合一疫苗注射。



而成人方面, 疫苗需要與促升劑量並用, 因為隨著年齡的增長, 疫苗的效力會續漸下降。對於需要前往一些白喉病源未被根除的地區的人, 三合一疫苗更被建議需要注射。

白喉是一種嚴重的疾病, 其致死率為 5%~10%, 並在小於歲的兒童和大於 40 歲的成年人中可達到 20%之高。[2] 白喉爆發雖然現在已經少見, 但仍然存在, 甚至出現在已開發國家。「最具復活能力的疾病」。

機理白喉病毒促進 ADP-核糖基化, 阻止 eEF-2 活性。這樣真核蛋白合成期間抑制傳輸移動。

## 葡萄球菌類毒素

葡萄球菌類毒素經肌肉注射後，可刺激白細胞增生，其中大單核細胞與中性粒細胞的絕對值明顯升高，血清中抗毒素及抗殺白細胞素亦升高。

國內報道，對 12 名病人注射 4 次，治療前後其細胞總數，單核細胞及中性粒細胞均有非常顯著的差異。此外，對 11 例病人用藥前和用藥第 1 療程後 1 周進行抗毒素測定，平均幾何滴度升高 3.2 倍；抗殺白細胞素效價升高 4 倍。

經國內臨床觀察及試用結果，証實本品抗細菌感染的療效較好，對耐抗生素菌株所致的各種感染尤有顯著療效。現主要用於治療和預防由金黃色葡萄球菌感染引起的疾病，如癰腫、膿腫、癰節、化膿性骨髓炎、蜂窩織炎、化膿性乳腺炎、結膜炎、化膿性中耳炎、扁桃體炎、口腔潰瘍、產褥熱、附件炎、子宮內膜炎、敗血癥、肺壞疽、肺膿腫、毛囊炎以及瘰癧、濕疹等。



## DTP

「白喉、百日咳、破傷風三合一疫苗」(DPT)之全面預防注射措施。除完成基礎接種外，並對適當年齡層實施追加接種「白喉、破傷風疫苗」(DT, 7歲以下兒童適用)或「破傷風及減量白喉疫苗」(Td, 7歲以上者適用)，以產生持久性(10年以上)之破傷風抗體。

傳統白喉、破傷風、百日咳三合一疫苗(DTP)，是目前常規接種的疫苗裡產生副作用比例最高的疫苗，有二到三成的接種幼兒於施打疫苗後的二到三天內，可能會出現接種部位紅、腫，食慾不振、哭鬧不安等現象、有些幼兒會有發高燒、非常少數會發生痙攣等狀況，這是因為傳統百日咳疫苗為去活化全細胞型百日咳菌，此疫苗含有百日咳菌的許多成分而會引起身體免疫系統較強的反應，因此容易引起上述的副作用。

新一代的白喉、破傷風、百日咳三合一疫苗，屬於非全細胞型三合一疫苗（簡稱為新型三合一疫苗/DTaP），是將百日咳疫苗中沒有保護力卻有副作用的成分去掉，保留了可激發人體免疫功能的成份，如百日咳類毒素(pertussis toxoid)、百日咳抗原69-kDa 外膜蛋白(Pertactin)、絲狀紅血球凝集素(Filamentous Haemagglutinin)等，所以一樣可刺激身體產生百日咳免疫力的效果，但副作用明顯降低至百分之十以下。

## 是否失效

1. 疫苗儲存不當可能導致失效：由於溫度，pH 值，濕度等都會影響一個疫苗的好壞，所以使用時必須注意一下。
2. 免疫力不是由生物體自行產生的，而是藉由其他個體(甚至可以不同物種)產生的免疫活性物質(抗體)來幫助抵抗抗原，這種免疫力的效果會因為這種外來抗體的失效而慢慢消退
3. 各種疫苗都有其有效期限，使用前請注意一下。



# 伍、活性減毒疫苗

## 簡介

1879 年巴斯德 (Louis Pasteur) 發現了減毒疫苗的原理才建立的。

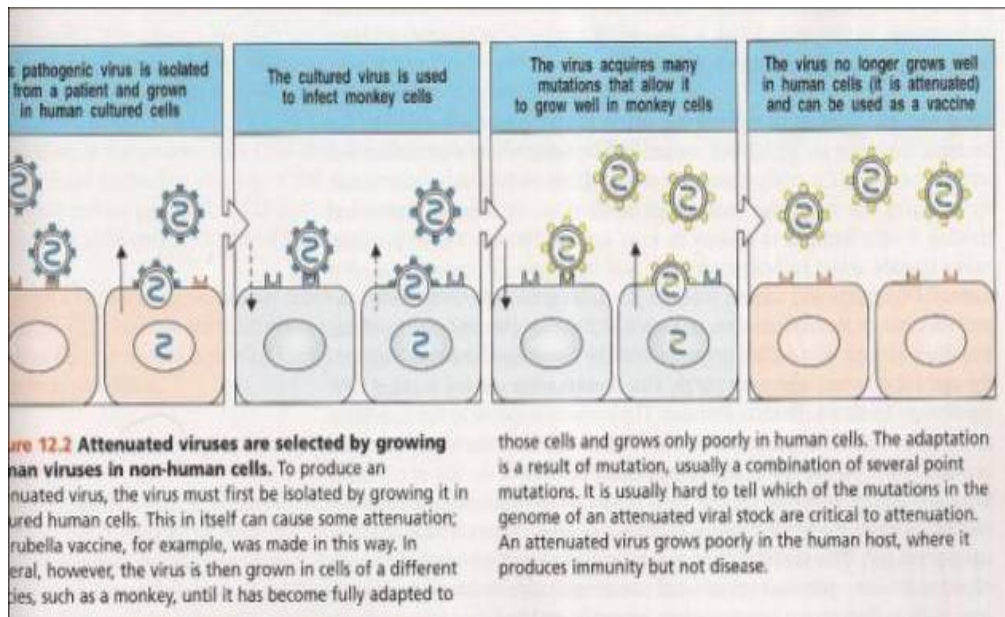
減毒疫苗指的就是活的微生物，如病毒、細菌或原蟲，但這些微生物對宿主只具有一些不具傷害的致病性，甚至是沒有致病性。減毒疫苗是利用自然發生或以人工方式(化學藥品或利用紫外光、X 光等放射線)使微生物發生突變而製成，或經過連續繼代讓微生物失去或降低在原宿主所產生的致病性。



活病毒(減毒)疫苗：疫苗內還含有活的減毒病毒，只不過量很少，毒性也很低。活性疫苗最有利之處就是增加抗原的刺激，而且在適當的地方引發反應，實際上最重要的地方就是粘膜免疫。

## 原理

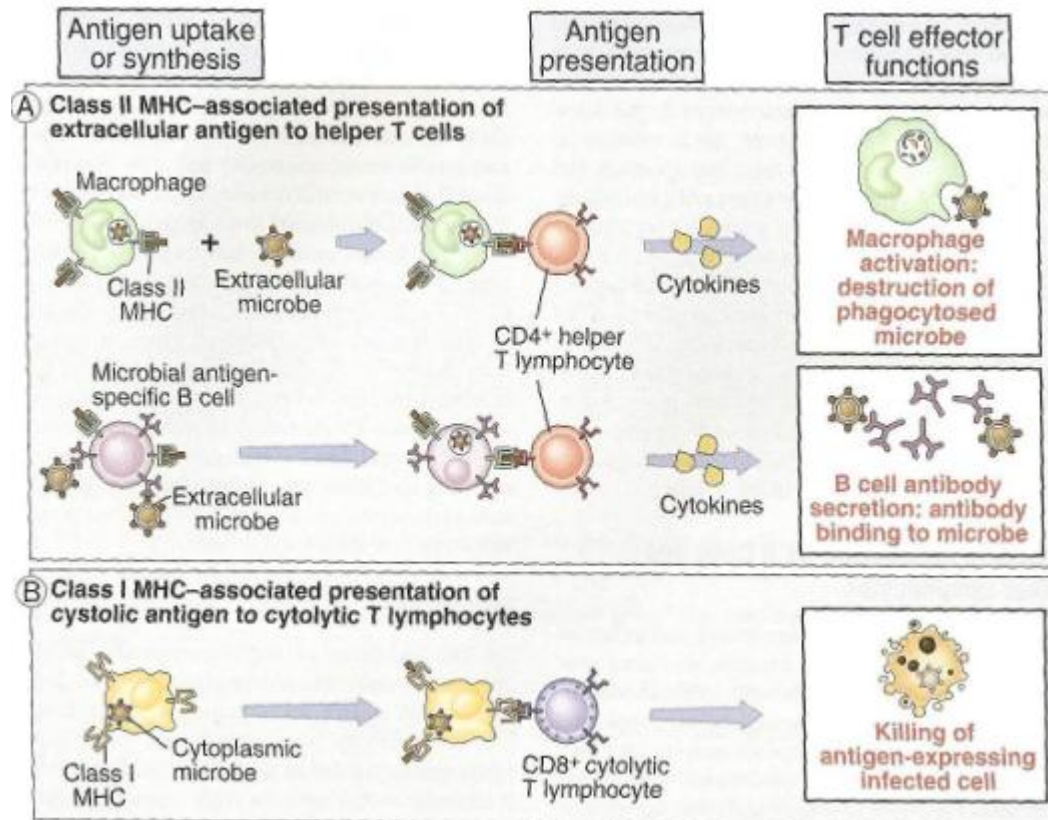
他先從患者身上取出病毒母株，把它的毒性減弱後進行繁殖，再製作成疫苗注入人體內，使人體產生抗體。因病毒毒性已減弱，所以不會造成疾病。這種減毒疫苗的原理廣泛應用在卡介苗、水痘疫苗、德國麻疹疫苗、腮腺炎疫苗等。減毒疫苗通常較不活化疫苗具有潛力，因為具有較佳之免疫記憶性效果。又因為製造容易且不需要任何免疫調節試劑，所以相對來說製造成本也較低廉。但減毒疫苗因包含了活菌，相對其穩定性較差且需冷凍儲藏以避免其活性降低的缺點。



(圖) 我們把病毒分離出來，在感染猴子細胞，為什麼要這樣做呢？因為這種病毒最適合生長的環境是人類，而培養在猴子細胞的話，也就是給予不利的環境，此時病毒會不斷的突變直到適應於猴子細胞，在猴子細胞適應後，在接種於人類細胞，此時毒性就會比較弱，這就是繼代的意思

## 免疫機制

減毒疫苗是以減毒的病原體做為免疫抗原。減毒疫苗多為病毒性疫苗，病毒感染動物後能在胞內增殖，成為源源不斷的內源性抗原（endogenous antigens）。兼性胞內寄生細菌（facultative intracellular bacteria），也能像病毒一樣能在宿主細胞內增殖，所以具有內源性抗原的特性。減毒的兼性胞內寄生細菌及病毒進入宿主細胞後，能長時間增殖及呈獻抗原刺激免疫反應，所接種單劑就能有效的誘發體液及細胞免疫反應，達到良好的免疫記憶效果而延長免疫保護時間。走向MHC I的途徑，內源性抗原所引發之免疫細胞以毒殺型T細胞（cytotoxic T cells）為主。毒殺型T細胞本身即具有殺死病原體的功能，所以免疫反應發生的比較迅速。合格的減毒疫苗原則上甚安全，但特殊情況下疫苗內之病毒或細菌有可能致病或造成持續性感染（persistent infection），此謂減毒疫苗之殘留毒力（residual virulence）。



(圖) 引起初級免疫反應後，在同時引發體液和細胞性免疫來對抗病毒，因為病毒是活的，感染細胞，引發MHCI反應走向產生CTL，因此免疫反應也比較為快速，與不活化疫苗最大的差別就在這

## 活毒疫苗的製備有二種方式：

1. 在試管中長期培養病原菌，此時病原菌可能會發生自發性的遺傳突變，我們便尋找突變的病原菌其所發生的突變會使其喪失致病力，這個突變的病原菌便可作為活毒疫苗使用。

減毒方法：

1. 弱毒化作用，是將強毒株繼代培養在不良條件下，使毒力減弱或消失
2. 直接使用 DNA 重組技術將病原菌的致病基因去除，如複製缺陷型狂犬病毒疫苗，用於製成疫苗的活體病毒經過改良，病毒中的基質基因(M 基因)被剔除，使得病毒無法自我複製，因此不會致病

例子：預防結核病之卡介苗 (bacille Calmette-Guerin, BCG) 是將 *Mycobacterium bovis* 繼代培養在膽汁培養基 13 年，使失去毒力成為無毒株。現用炭疽疫苗株是長久繼代培養於高濃度二氧化碳定溫箱，使炭疽桿菌喪失莢膜而毒力減弱。

2. 直接使用 DNA 重組技術將病原菌的致病基因去除。這種以 DNA 重組技術製成的活毒疫苗會比前述的篩選自發性的突變病原菌所製成的活毒疫苗的安全性來的高，因為自發性的突變病原菌也有可能再突變回原來的病原菌，而致病基因剔除的病原菌則不會有此問題。但在大量生產上技術上難度較高。

**活毒疫苗的優點：**

1. 活性疫苗通常要比死疫苗有效。
2. 有社區免疫的效果。

**活毒疫苗的缺點：**

1. 因是活的病毒，仍存在突變致病的風險。(DNA 重組技術製備法安全性較高)  
活體減毒疫苗是利用培養技術製造出的減低毒性活體微生物的品種。由於免疫反應主要偵測的是病菌本身外部的構造，因此減去毒性物質或微生物代謝產物仍可有效產生施打疫苗者的免疫力，例如黃熱病、麻疹、腮腺炎等疫苗。

目前，減毒疫苗仍存在幾個潛在的問題：1. 在宿主接種活菌或病毒顆粒後，微生物會隨著宿主黏膜表面、排泄物釋放到環境中，突變的菌株會污染環境，造成生態上的影響；尤其是病毒性的疫苗危險性更大，可能產生新病毒流行。2. 減毒疫苗（尤其是病毒性疫苗）的製造，亦存在因產生預期外的病原性病毒。如使用此類非預期中的減毒疫苗，將導致人工所產生的病毒於環境中傳播。

活性減毒疫苗種類：卡介苗、口服小兒麻痺疫苗、德國麻疹疫苗、腮腺炎疫苗、水痘疫苗、黃熱病疫苗等。

減毒疫苗需要一段潛伏期才會出現症狀，一般是在一、二週之間。

## 卡介苗

預防結核病，尤其是結核性腦膜炎和粟粒性結核。

結核病是一種由開放性結核病人咳嗽、打噴嚏及大聲說話時透過空氣傳染的疾病。被感染的病人會有咳嗽、倦怠、午後發燒、血痰和體重減輕的現象。

接受卡介苗接種，約三到四週後，會再接種部位發出一個小膿皰，為正常現象，數週後就會自然消失。有時同側的腋窩下，會出現淋巴腺腫大

處置：

1. 先去請教兒科醫生，仔細檢查鑑定一下
2. 如果是細菌發炎性的，需要使用抗生素治療
3. 局部的熱敷或覆蓋紗布可減輕症狀，但需要醫生檢查並同意後
4. 不可敷用不明的中草藥

不可注射：

1. 發高燒。
2. 患有嚴重急性症狀及免疫功能不全者。
3. 出生時伴有其他嚴重之先天性疾病。
4. 新生兒體重低於2500公克。
5. 可疑之結核病患，勿直接接種卡介苗，應先做結核菌素測驗。
6. 嚴重濕疹。



## 小兒麻痺

目前用來預防小兒麻痺的疫苗有兩種，一種是採注射方式的不活化疫苗 (IPV) 或稱為沙克疫苗，另一種是採口服式的減毒疫苗 (OPV)，又稱為沙賓疫苗。(國內目前上市的五合一、六合一疫苗，其中所含的即為IPV)。

這兩種小兒麻痺疫苗有其優點及缺點，應參考各國小兒麻痺症的流行病學特徵，國家的經濟，居民的教育與生活水準及日常對疫苗接種率之高低等，選擇一種最適合的疫苗推廣使用或兩種併用都可以，目前我國是選用沙賓疫苗。疫苗如按照規定之接種時程及劑次完成接種，皆能有效預防小兒麻痺的感染。

沙賓疫苗只要口服，使用方便，容易推行，預防效果也很好且持久，不但會產生抗體，也可以產生腸道的局部免疫，可以預防野生株病毒的繁殖及排泄。更好的是，口服疫苗可由接種後的小孩大便排泄以後散佈到周圍沒有免疫的人，使他(她)們間接得到免疫的效果。因接種率比較低的開發中國家，沙賓疫苗也可以發揮預防小兒麻痺症流行的奇效，這種效果沙克疫苗所做不到的。

沙克疫苗最大的優點是安全，因為它是死病毒，不會感染，更不會引起麻痺，幾乎沒有禁用的禁忌，可以給予成人、孕婦或有免疫障礙的人。沙克疫苗的缺點是需要打針會驚動小孩，且需注射三次以上才有預防效果，並且須要經常給予加強注射才可以維持長久的免疫效果。雖然對於接種的寶寶本身有充足的保護效果使其免於感染，但無法維持長久的腸胃道免疫力以阻斷小兒麻痺病毒及其排出可能造成的傳染。

由於台灣雖然已是小兒麻痺根除地區，但非洲及印度等地區尚未根除，仍有野生株病毒存在，近期又有葉門及印尼等地亦再度發生小兒麻痺疫情，台灣仍面臨小兒麻痺可能由境外再度引入、危及國人的危機。

基於提升群體免疫效果及防疫考量，衛生署預防接種諮詢委員會建議：國內維持於出生 2、4、6、18 個月、小一口服小兒麻痺疫苗的常規接種政策，另針對接種

2劑以上IPV或含IPV之多合一疫苗的幼兒，應配合後續其他疫苗接種時間，至少再口服2劑OPV，另於國小一年級依照常規疫苗接種時程口服第3劑OPV。

若有以下情況，未經醫師許可，不可使用口服小兒麻痺疫苗：

1. 發高燒。
2. 免疫能力受損者。
3. 接受腎上腺皮質素或抗癌藥物治療者。
4. 孕婦。

## 德國麻疹

德國麻疹又稱風疹，由德國麻疹病毒引起，經由飛沫或接觸傳染。一般人感染此症通常只持續一到三天，症狀輕微且無後遺症，但懷孕四個月內的孕婦萬一被感染，則有百分之十到六十的機會，會產下先天性缺陷兒。所以，女性必須接種德國麻疹疫苗，確保無論何時懷孕，均不會被感染，才是最安全的做法。

另外一件要注意的事情是，德國麻疹和麻疹是兩回事，無論是否曾經接種麻疹疫苗或曾感染過麻疹，對德國麻疹都沒有任何免疫力。

要預防德國麻疹，唯一的方法就是德國麻疹疫苗。

德國麻疹在台灣，除每隔十年左右會有一次較大的流行外，平時亦會有小規模之傳染，對沒有免疫力的孕婦構成相當的威脅。

## 德國麻疹所導致的先天性缺陷兒

懷孕四個月以內的孕婦如感染到德國麻疹，可能造成死胎、早產或具有先天性德國麻疹症候群的缺陷兒

凡是有下列情況之一的人，不適合接種德國麻疹疫苗：

1. 懷孕婦女(疫苗接種3個月內應避免懷孕)。
2. 有急性傳染病者。(一般感冒不在內)
3. 有進行急性、慢性疾病者。(使用上腺皮質素或抗癌物治療者)
4. 有先天性或後天性免疫缺乏症者。

麻疹為一急性經由空氣傳染的病毒性疾病，被感染經十天後陸續會有高燒、咳嗽、結膜炎、鼻炎、口腔黏膜出現白色(柯氏)斑點。疹子最先出現在臉頰及取後，隨即散佈至四肢及全身。嚴重者會併發中耳炎、肺炎或腦炎，導致耳聾或智力遲鈍，甚至死亡。俗稱“豬頭肥”，是一種經空氣傳染的病毒性疾病。常侵犯耳下腺，病人可出現發燒、頭痛、耳下腺腫大。有高比例病童產生腦膜炎及腦炎或聽覺受損。若在青春期受到感染，易併發睪丸炎或卵巢炎，可能影響生育能力。

## **MMR 接種的注意事項**

接種三個月內應避免懷孕。

如曾注射過免疫球蛋白、血漿或輸血，則要等三個月後才能接種，以免失效。

## **接種後可能產生反應**

局部反應很少。

與麻疹疫苗一樣在接種後第五至十二天，偶有疹子、咳嗽、鼻炎或發燒

與德國麻疹疫苗一樣，偶有發燒、暫時性關節痛

腮腺炎疫苗曾有引起輕微中樞神經反應之病例報告，但機率極小

## 黃熱病

黃熱病是一種急性病毒性發熱疾病，主要是由帶有黃熱病病毒之蚊子叮咬而感染。潛伏期約 3~6 天，輕微病例在臨床上難以診斷。典型的主要症狀包括有發燒、冷顫、發燒、頭痛、背痛、全身肌肉痛、虛脫、噁心、嘔吐、出血等症狀，初期黃疸輕微，但會隨病程而漸明顯。部分嚴重患者在數小時至 1 天之後，就轉而進入危險期，會出現出血徵候，如流鼻血、牙齦出血、吐血及黑便，甚至出現肝臟及腎臟衰竭。地方性流行區內人口的致死率約為 5%；但爆發流行時致死率可達 20%~40%。

## 副作用

5-10%的接種人士會於接種後第 5 至 12 天可能會有頭痛、肌肉痛及輕微發燒，經過 1 至 2 日即消失

## 禁忌

1. 發燒
2. 患有嚴重慢性疾病
3. 孕婦或 9 個月以下嬰兒
4. 正在接受免疫抑制性的治療或放射性治療
5. 對新黴素和雞蛋有過敏反應
6. 感染愛滋病

由於這類疫苗尚具有活性，會在人體內繼續增殖，有可能會出現自然感染的症狀，所以衛生署規定了一些禁忌：

- 免疫不全或正接受免疫抑制治療(如累過醇藥物的病患)
- 惡性疾病者
- 懷孕者
- 嚴重營養不良者
- 接受免疫球蛋白治療三個月內，接受靜脈注射高劑量免疫球蛋白六個月內，不宜注射減毒疫苗
- 減毒疫苗注射後兩周內，不宜接受免疫球蛋白治療

不活化疫苗至少須要接種兩次才能達到良好的免疫效果，而且僅產生體液免疫（humoral immunity, antibody-mediated immunity），不產生細胞免疫（cellular immunity, cell-mediated immunity），也不能產生分泌性 IgA 抗體。減毒疫苗僅需接種單劑就能達到良好免疫效果，而且兼具體液免疫及細胞免疫功能。

#### 不活化 VS 減毒疫苗

項目	不活化疫苗	減毒疫苗
補強注射	需多次補強注射	注射單劑即可
疫苗製造	以化學藥劑或放射線照射病原使不活化	強毒微生物培養於不良環境或累代通過不同宿主使毒力減弱
毒力回變	不會	有可能變回強毒株或突變
穩定性	非常穩定	較不穩定
免疫反應	體液免疫	體液及細胞免疫

Question :

什麼叫繼代，繼代要幾代才行？

繼代時須含名稱、來源、性狀及繼代保存方法等，最少五代，然後進行無毒力試驗（毒力回歸試驗）。

毒力回復試驗：必須確認減毒的疫苗株不會回復毒力。

# 陸、次單元疫苗

## 概論

1. 次單元疫苗是將病原體內最易產生抗體的部分（如蛋白質）基因選殖出來，利用製造蛋白質藥物的方法加以生產作為疫苗
2. 次單元疫苗大多需要免疫輔助劑(adjuvants)，也就是佐劑來促進免疫反應的誘導
3. 正在研製或已上市的次單元疫苗還包括流行性出血熱疫苗、輪狀病毒疫苗、乳頭瘤病毒疫苗及腦膜炎奈賽球菌疫苗等

## 優點

1. 由已知分子成分組成
2. 安全性高(次單位疫苗之抗原只是病原體的一部分，不會在動物內增殖，不具病原性)
3. 副作用低
4. 研製之技術並不難

## 缺點

1. 製造純化的免疫原成本偏高
2. 免疫期短

(蛋白質結構改變而失去抗原性，也就是在某些情況下，這種次單位疫苗的免疫原若是屬於蛋白質，可能所研製的蛋白質結構會有所改變，而導致抗原性之改變，因此影響免疫性，例如：對某些病毒而言，以基因工程大量生產所製造的蛋白衣或封套的蛋白或醣蛋白的結構可能不同於這些蛋白衣或封套的蛋白或醣蛋白在原來病毒顆粒內之結構，因而導致其抗原性或免疫性之改變。)

## 種類

1. 基因重組蛋白疫苗
2. 胜肽疫苗
3. 基因轉殖植物性疫苗
4. 基因型疫苗

☆ 事實上，只要符合是 ” 病原體的一部份 ” 就可以稱為次單元疫苗，故其範圍可說是非常的廣泛，例如類毒素疫苗就也是次單元疫苗的一種

## 基因重組蛋白疫苗

基因重組蛋白疫苗是利用基因工程將病原體誘發免疫反應的關鍵性抗原，或病原體生存所必須的基因產物製成疫苗。

而重組蛋白的表現可以利用下列幾種系統來進行

- (1)大腸桿菌表現系統
- (2)酵母菌表現系統
- (3)利用桿狀病毒(baculovirus)於昆蟲細胞株表現系統
- (4)哺乳類細胞表現系統
- (5)載體病毒表現系統
- (6)透過 DNA 疫苗在宿主體內表現而達到免疫保護作用。

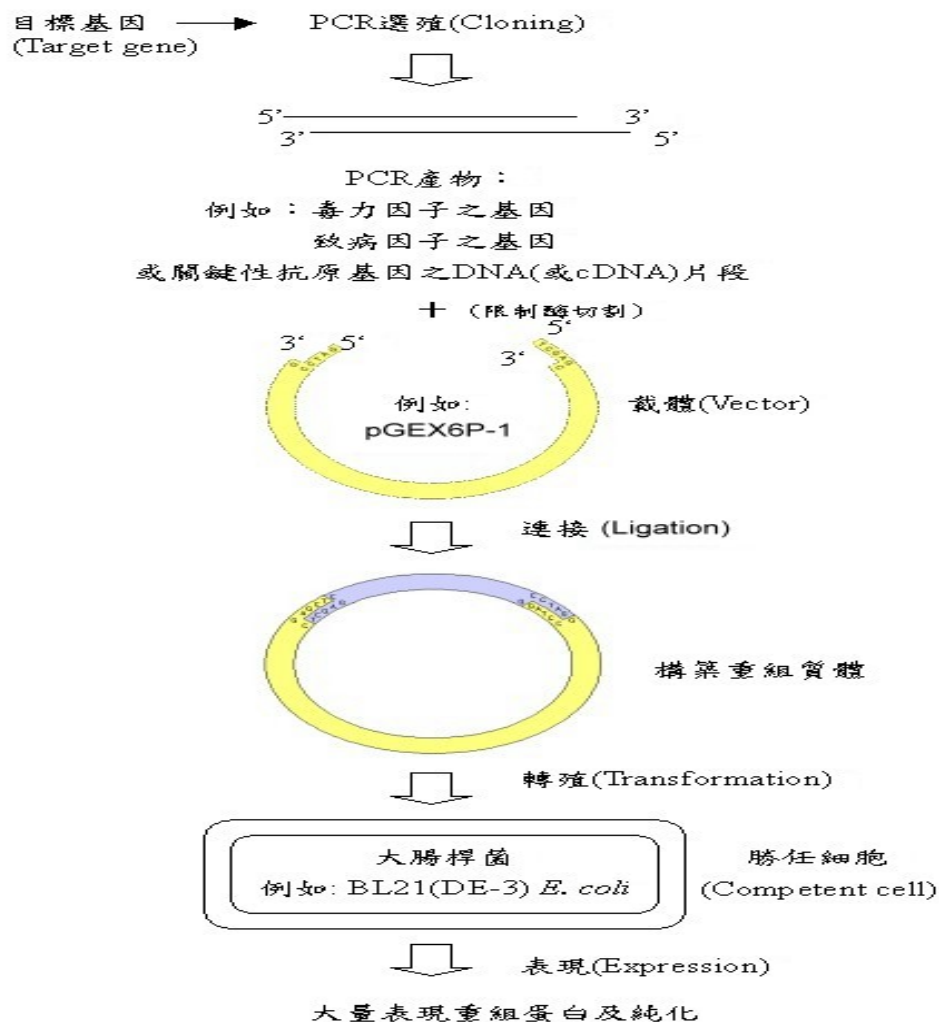
☆ 凡重組的蛋白不是醣蛋白，因不須醣化作用，所以可利用大腸桿菌表現系統，而重組蛋白如果是屬於醣蛋白的話，就必須利用具有醣化作用的表現系統，例如，酵母菌表現系統，桿狀病毒表現系統或哺乳類細胞表現系統等等。



## 大腸桿菌表現系統：

將想要表現的抗原基因經由 PCR 的選殖之後，利用限制酶的切割與質體連接，常用的載體有 pQE、pET 或 pGEX 等，pQE 及 pET 表現系統有 6 個 histidine 之標籤蛋白，而 pGEX 表現系統則有 GST 之標籤蛋白可資純化所表現的融合蛋白。細菌的毒素或非醣蛋白之抗原均可利用此表現系統例如霍亂弧菌之霍亂毒素或大腸桿菌忌熱性腸毒素等之重組蛋白均可利用此系統。

之後在轉殖進大腸桿菌，就可以讓大腸桿菌大量的表現出我們想要的重組蛋白



## 酵母菌表現系統：

酵母菌具有醱化作用的表現，可以表現醱蛋白。例如豬瘟病毒封套的 E2 醱蛋白可利用酵母菌表現該重組醱蛋白。又例如將 B 型肝炎病毒表面抗原 (HBsAg) 基因選殖後轉殖到 *Streptomyces cerevisiae* 酵母菌內可導致在表現的宿主細胞內產生約 22 nm 的 HBsAg 顆粒，如此生產之 HBsAg 的顆粒很像 B 型肝炎病毒顆粒之表面具有的抗原，稱之為類病毒顆粒，上述以酵母菌表現系統的抗原，自 1980 年代起即已通用於全球，其免疫保護作用亦佳。

## 桿狀病毒表現系統：

所謂的桿狀病毒是指昆蟲的病原體，主要為感染像是蝴蝶、蛾之類的鱗翅目昆蟲。桿狀病毒的分類上可分成 A、B、C 三群，我們作為載體的主要是 A 群。桿狀病毒之所以可發展成為表現載體主要是因為桿狀病毒的基因組中所含的多角體蛋白基因及 p10 基因都不是必要的結構性基因，而且都具有很強的啟動子。因此桿狀病毒缺乏這些基因，並不會影響桿狀病毒在昆蟲細胞及幼蟲體內的複製與增殖，所以利用限制切割這些結構性基因後，再接入我們想要表現的基因，那麼我們重組的目標外來基因就可以在強勢啟動子的驅動下大量表現。桿狀病毒表現載體系統已成功的表現出上百種具生物活性的蛋白，如干擾素和疫苗(E 型肝炎表面抗原)等。

## 哺乳類細胞表現系統：

哺乳類細胞表現系統也是能表現出醱蛋白的表現系統。例如牛皰疹病毒的醱蛋白 D 基因藉由於 HSP70 之啟動子之控制下在 MDBK (Maden Darby bovine kidney cells, 即牛腎臟細胞株)以 43°C，培養 6 小時，可誘發該分泌性的重組醱蛋白 D。對牛隻而言，純化的 gD 只要 10  $\mu$ g 即有免疫保護作用。

## 載體病毒表現系統：

因為病毒相當的小，我們很難直接的進行重組，所以我們必需將想要重組的 DNA 片段送入已經被病毒感染的細胞中進行同源基因的重組。

我們常用痘病毒 (POXVIRIOUS) 當作載體，其中又以牛痘病毒最為常用。這主要是因為 dna 病毒的基因較為穩定，而且大一點的 dna 比較好作，在加上牛痘病毒已經被利用了上百年，人們對他相當熟悉，再加上他還具有價格便宜、容易生產、容易保存，在冷凍後還能保持高度的活性等特性，故我們常用牛痘病毒來製作疫苗。

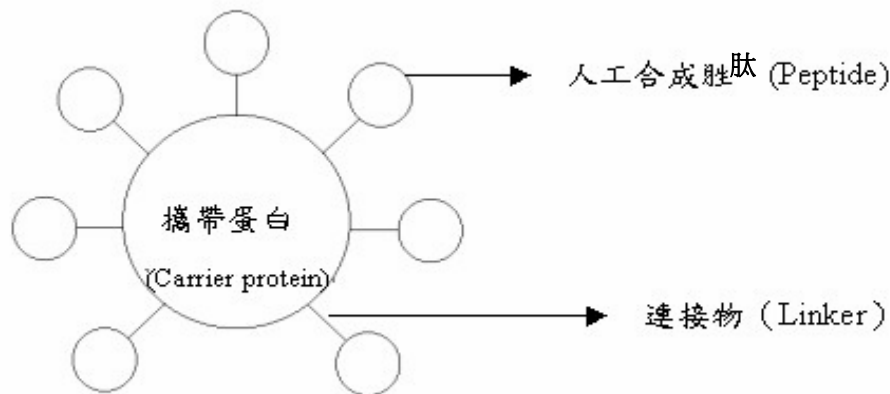
## 應用：

1. B 肝疫苗 (HBsAg)
2. 禽流感 H5N1 疫苗之研發 (HA)
3. 基因重組卡介苗 (recombinant BCG, rBCG ) (Ag85B)

## 胜肽疫苗

特性：

1. 胜肽疫苗是由胺基酸組合而成，通常分子量不大，都很小(大都是少於 30 個胺基酸的胜肽)，但是都具有抗原決定位(epitope)
2. 人工胜肽之結構通常是直線攤開的，而病原體的抗原通常都經過折疊，所以人工合成的胜肽不一定會像在病原體內特定的結構一樣
3. 人工合成的胜肽通常僅有一個 epitope，免疫性可能因而打折扣，不一定能滿足理想的免疫性
4. 胜肽疫苗現在常見的應用有：口蹄疫疫苗



### 人工合成的胜肽疫苗簡圖

人工合成的胜肽片段會透過某種 LINKER 與攜帶蛋白(CARRIER PROTEIN)作連結，因為如果不做連結的話，短小的胜肽在體內很容易變性或被破壞，所以我們需要把製造出來的胜肽片段與攜帶蛋白作連結

優點：

1. 作用位置很專一
2. 劑量很少就能發揮作用

缺點：

1. 需開發出有效的胜肽結構式
2. 非良好的胜肽結構式其效果和所需時間的長短是無法被預期的

## 基因轉殖植物性疫苗

基因轉殖植物性疫苗是用農桿菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 將外源基因遞送至植物(e.g. 菸草)細胞核，以植物生產動物疫苗



### 基因轉殖植物性疫苗介紹圖

1. 從病原體中找出抗原蛋白的基因
2. 載入質體中
3. 轉殖到桿菌
4. 讓桿菌去感染植物細胞
5. 讓目標基因結合到植物細胞的染色體裡，讓植物表現出我們需要的抗原蛋白。
6. 我們只要吃過經過轉殖的植物，就能夠得到與注射疫苗後相同的結果

### 優點：

1. 安全
2. 便宜
3. 穩定
4. 有效
5. 因為該可吃的植物可透過運輸工具廣泛地運送到全球各地，因此，具有全球性疫苗的潛力。

### 缺點：

1. 病毒蛋白質在植物中的表現量可能過低
2. 可能會受到消化系統的破壞。

應用：有家禽輪狀病毒(avian reovirus, ARV)疫苗。

## 基因型疫苗

亦稱抗基因型抗體

所謂的基因型疫苗是應用特定抗原所研製的單株抗體的基因型來免疫動物(例如兔子)所產生的抗體，即為抗基因型抗體，也就是第二波抗體(Ab2)。

### 第二波抗體

1. 第二波抗體是由第一波抗體(Ab1)的 idiotype 刺激動物體而產生的，故第二波抗體對於第一波抗體的 idiotype 具有特異性結合作用
2. 第二波抗體的 idiotype 與原來抗原的 epitope 的特異性結合作用的對象都一樣，所以第二波抗體的 idiotype 與原來抗原的 epitope 的結構非常相似。
3. 因此，第二波抗體會呈現原來抗原的內像(internal image)，理論上第二波抗體可以當做抗原使用，所以可以當作疫苗使用

### 第二波抗體(請參照課堂 PPT 檔案)

1. 將病原體的抗原特定位注射進動物體內
2. 這個抗原會誘發動物體內的抗原抗體反應
3. 動物體內就會產生出對應他的抗體，我們就把這個抗體稱為第一波抗體
4. 將這個第一波抗體純化出來
5. 以一些酵素將他多餘的部份去除，只留下第一波抗體的 idiotype
6. 將這個 idiotype 注射進另一個動物的體內
7. idiotype 會像抗原一樣讓被注射的動物產生抗原抗體反應，對這個 idiotype 產生出 anti-idiotypic antibody，也就是抗基因型抗體，也就是第二波抗體。
8. 這個第二波抗體，他的 idiotype 和病原體的 epitope 的結構會相當相似，所以理論上，這個抗基因型抗體可以當作疫苗來使用。

## 次單元疫苗的新趨勢多價疫苗

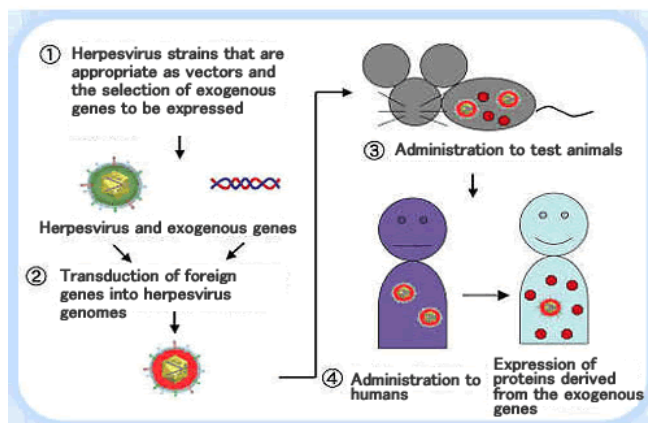
前面所介紹的次單元疫苗主要都是針對單一抗原所設計的，新的設計則希望能發展多價（multivalent）疫苗

特性：

1. 所謂多價疫苗就是同時帶有多個免疫原，可刺激多種抗體產生而對人體有更廣泛保護效果的疫苗
2. 只要一次施打或口服就能同時預防多種疾病，或能防治不同細菌或病毒株
3. 葛藍素-史美克占（GlaxoSmithkline）已發展出同時預防白喉、百日咳、破傷風（tetanus）與 B 型肝炎的多價疫苗
4. 愛滋病毒的多價疫苗現在也正在發展中，這種疫苗可將愛滋病毒上最易誘發免疫反應的抗原決定部位以實驗或生物資訊學方法找出，再將這些部位製成多胜肽（polypeptide）後，再將這些抗原與載體結合。所形成之混合載體，同時帶有多個免疫原，因此可望刺激多種抗體產生，而對人體有更廣泛保護效果。

## 多價疫苗圖

我們將我們想做出的疫苗基因，殖入病毒中，當然，殖入的可以不只一種  
然後將改造好的病毒進行動物實驗，確定安全以後就可以對人體使用，那個病毒在體內可以產生多種的抗原，達成免疫的效果



# 柒、分子疫苗

## 核酸疫苗(Nucleic acid vaccine)

### What?

核酸疫苗又稱基因疫苗或 DNA 疫苗，是屬於基因免疫 (genetic immunity) 技術一環。它的成分是一個質體 DNA 其內具有能表現病原菌一個特定蛋白質的基因。所以它的製作首先要鑑定哪一個病原菌蛋白質能誘發免疫反應並取得此病原菌蛋白質的基因，然後將這個基因以重組 DNA 的技術將其接至一個能於人類細胞表現的質體 DNA。最後，將接有病原菌基因的質體 DNA 送入細菌(通常為大腸桿菌)內，經由細菌的大量繁殖而將這基因質體 DNA 大量製備，再將基因質體自細菌中分離出來，便成為 DNA 疫苗。

### Mechanism

將帶有一種或多種特定抗原基因的質體 DNA 直接注入動物肌肉或其它組織，質體 DNA 能經由注射部位的細胞吸收並表現出抗原蛋白，誘發宿主產生體液性與細胞性兩種免疫反應。

基因疫苗之所以能有效的引發細胞毒性 T 細胞反應，主要和它的抗原呈現方式有關。傳統的死毒疫苗或重組蛋白疫苗，病毒抗原是由體外注射入人體，經抗原呈現細胞(antigen presenting cells, APC)吞噬後，被分解的抗原片段經由第二型組織抗原呈現。此種抗原呈現方式，主要是引發輔助 T(T helper)細胞，產生以抗體為主的免疫反應。基因疫苗和傳統疫苗的最大差別，在於注射入動物體內的是質體 DNA，這些質體 DNA 絕大部分被分解而失去活性，只有極少部分能由注射部位的細胞吸收，例如肌肉細胞和表皮的角質細胞。近來的研究指出，質體 DNA 也能在淋巴系統的樹狀細胞(dendritic cells, DC)發現，而樹狀細胞是人體最重要的抗原呈現細胞，經由樹狀細胞呈現抗原，可能是基因疫苗引發免疫反應的最重要途徑。這些進入細胞的質體 DNA 開始表達所攜帶的病毒基因，引發一



連串的免疫反應。以這種觀點而言，基因疫苗和活病毒感染有更多的相似性，因為病毒也是在進入體細胞後，才由細胞大量製造病毒蛋白。這種內生性蛋白，有部分會經酵素分解成蛋白片段，經由第一型組織抗原呈現後，活化細胞毒性 T 細胞。至於基因疫苗為何也能引發第二型組織抗原而產生抗體反應呢？可能的解釋是有些質體 DNA 製造的病毒抗原會被釋放到轉殖細胞外，經由抗原呈現細胞吞噬而引發抗體反應，這就解釋了為什麼基因疫苗能同時引發抗體反應和細胞毒性 T 細胞反應。

## Origin

西元 1993 年 Wolff 等人將 DNA 直接注入小鼠骨骼肌細胞，意外的發現可引起特异性免疫反應，而且持續二個月以上。從此，DNA 免疫成為熱門研究課題。

## Advantages

疫苗可以在生物體內產生抗體，抵擋入侵的外來病原菌，以預防疾病發生。傳統疫苗是失活或減毒菌經過增長、純化之後，已經不會致病，但仍具有誘導身體免疫抗體的能力，例如大家所熟知的百日咳、白喉、天花及破傷風等都是。

這種傳統疫苗技術在生產上仍有一些的瓶頸，例如某些病原菌在培養基上不易生長，因此無法生產疫苗；或病毒生長常需利用活動物細胞，生產成本高；生長慢、產量低等；疫苗的生產過程中，常會有致病物質無法完全分離乾淨，而導致安全性問題；減毒病毒有時會產生突變，因此必須經常作檢測；傳統方法生產的疫苗，對疾病預防效果不佳（如愛滋病疫苗）；工作人員需防護措施，以避免感染；疫苗有效期間短，造成使用上的限制等。

自 1970 年代有了重組 DNA 技術之後，藉由此種方法生產的遺傳工程疫苗解決了傳統疫苗生產的缺點，對於疾病預防上有極大貢獻，例如台灣的 B 型肝炎防治工作，就是靠著疫苗獲得顯著成效。

- (1) DNA 較蛋白質穩定，製成粉狀保存期間長；這對疫苗的運送和分配上有極大的助益。
- (2) DNA 不須在體外大量製造並純化蛋白質，因此製造萃取與量產均比蛋白質容易，比傳統疫苗及重組 DNA 疫苗成本低，節省人力與時間
- (3) 以人體細胞製造的蛋白質，會更接近天然免疫原
- (4) DNA 任一片段均可插入質體中製成疫苗，同一質體也能同時具有多個抗原基因，因此，注射一次 DNA 疫苗就能得到多種疾病的免疫力

## Disadvantages

- (1) 細胞並不易吸收注入的 DNA；需大量重複注射
- (2) 注入後 DNA 是分解或嵌入染色體並不易評估
- (3) 嵌入而打斷正常基因產生不可預期的副作用，例如細胞癌化
- (4) 對於免疫不全的人，例如愛滋病患者可能會有危險而不適用。

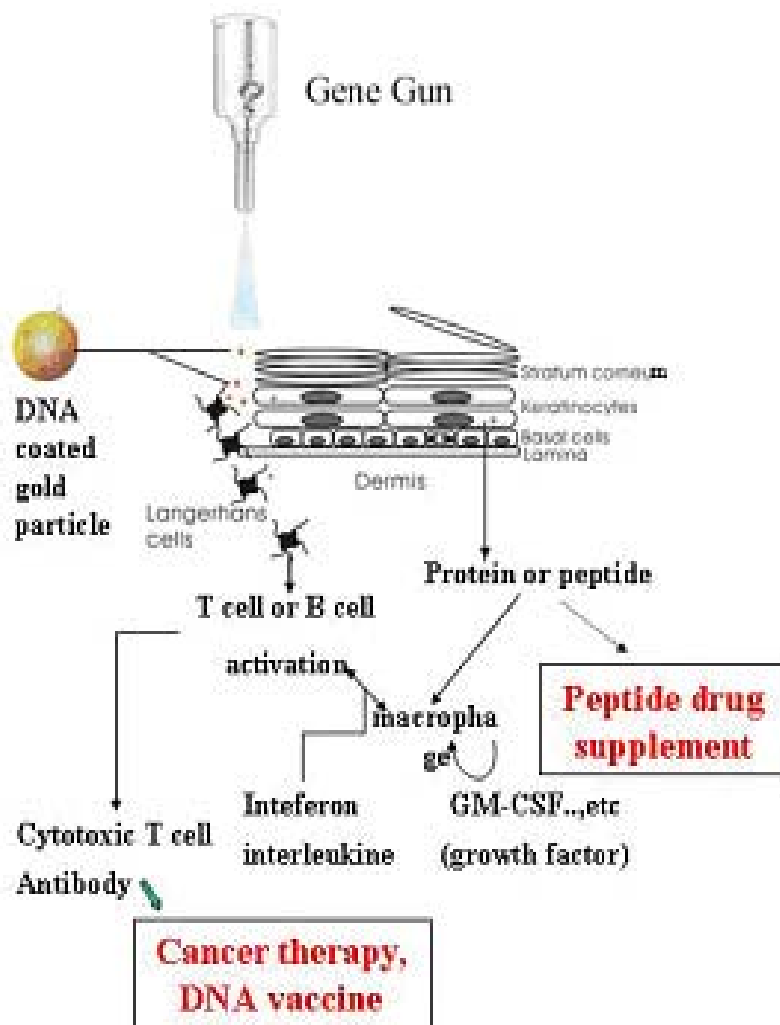
## Applications

- (1) 難以防治之疾病，以 DNA 疫苗能達免疫效果，例如結核菌、瘧疾原蟲等疾病
- (2) 病原體容易突變或有許多亞型者，不易以一般疫苗來防治，但可直接用 DNA 疫苗達到目的。

## 基因槍(Gene Gun)

基因槍直接將基因 DNA 送入細胞內部，因此避免了許多組織或細胞屏障阻礙的 DNA 消耗，也讓由基因槍在皮膚的投遞之 DNA 疫苗有比較良好的免疫效果。

使用步驟首先將外源基因 DNA 附著在微載體上，例如金粒或鎢粒上；而基因槍則利用衝力將微載體送入動物或植物細胞中，進行基因轉殖或蛋白質暫時性表現等作用。而基因槍之所以以槍為名，即是因為最早是以槍的子彈發射作為衝力的來源，但現今基因槍則多以氣流壓力為動力來源。



## DNA 投遞的方法比較

	肌肉注射法	基因槍法	微脂體或陽離子聚合物
<b>相 同 性</b>	均可將 DNA 送入體內表現外來基因，並引發免疫反應。均為暫時性表現，一段時間後即消失。不會引發 anti-DNA antibody。可重複接種，提高免疫效果。		
<b>相 異 性</b>	方法簡單，直接注射即可	須將 DNA 附著於金粒上，方法較複雜	方法簡單，可以直接注射或由血液傳送
	材料便宜	材料和設備均昂貴	材料尚需考慮微脂體的安全性與取得容易度
	DNA 進入細胞的原理不明	無此項困擾	無此項困擾
	使用 DNA 量高	使用 DNA 量少	使用 DNA 量高
	只能在骨骼肌或心肌作表現	不限定組織器官，但一般是皮膚	不限定組織器官
	表現蛋白時間較久	表現蛋白時間較久	

基因投遞的方法則很多，可分為病毒法和非病毒法。病毒法是利用修飾過的病毒載體來運送外源基因，病毒感染細胞後即將基因帶入細胞。病毒法的轉殖效率佳，有多種不同的病毒載體可選擇，是目前發展最快、應用最多的基因投遞方法，但有免疫和基因重組等等的副作用及疑慮。在 1999 年美國賓州大學用病毒法做基因治療實驗，造成兒童的意外死亡後，選用非病毒法來做基因投遞，就成為未來主流。

非病毒的方法又可分為兩類：一類是利用微脂體(liposome)或其他陽離子聚合物來攜帶基因，直接注射到目標組織或血液中；另一類則是直接以物理方式將

基因送達目標組織，例如顯微注射(microinjection)：將 DNA 以微針注射到卵核中；肌肉注射：將 DNA 直接注射入肌肉中、基因槍等等。非病毒法沒有免疫的副作用反應、載體建構容易、可同時多基因投遞等等優點。經由非病毒 DNA 的投遞發現，不管是哪一種方法都可以誘發專一的免疫反應，但不會產生抗 DNA 的免疫抗體；只會短暫表現專一性蛋白，顯示 DNA 並沒有與染色體產生非特異性基因重組的危險。

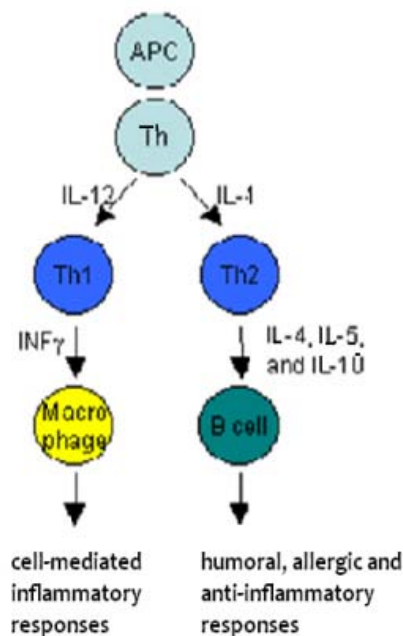
這些基因投遞方法各有其應用的特色、優點或缺點，並沒有一種方法可以通用於所有的轉殖或基因投遞，應該針對不同的狀況來選擇適用的方法，才能達到較好的轉殖效果，又能夠兼顧安全性。

基因槍和其他非病毒投遞法相比，基因槍主要使用在體表皮膚、黏膜或手術切開的外露器官組織上，肌肉注射法只限定在肌肉或心肌中，而微脂體法則不限組織，甚至可以透過血液循環來運送。但基因槍卻是使用基因 DNA 用量最少的方法，因為基因槍直接將基因 DNA 送入細胞內部，因此可以避免許多的組織或細胞間的屏障阻礙的 DNA 消耗。肌肉注射或微脂體法均需要藉由注射方式送入體內，手續直接方便，但會引發疼痛和針頭感染的疑慮；而基因槍則是直接以微粒射入皮膚表面細胞，因此無上述缺點。

然而，基因槍法的微粒製備手續繁雜，儲存時間短，還需要有基因槍的設備，以目前市面上的基因槍而言，的確是昂貴且不普遍的儀器；而注射法則無此缺點。基因槍和肌肉注射的主要不同點，尚在於 DNA 所送達的組織位置不同，因此所造成的反應也不大相同，基因槍一般是在皮膚表現蛋白，而肌肉注射則是在骨骼肌。

## 基因槍的臨床運用

基因槍運用在癌症治療上，主要是用 GM-CSF(Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor，顆粒球群落刺激因子)和配合其他 cytokines (如 IL-7、IL12)來治療皮膚黑色素瘤。其他以動物實驗來研究中的癌症治療也有腎癌、食道癌、甲狀腺癌、肝癌、乳房癌、肺癌、子宮頸癌等等。由於經由基因槍投遞，容易誘發的是體液性免疫，但對癌症細胞的攻擊而言，是以細胞性免疫較有治療效果，因此常在表現的細胞激素中，加入 IL-12 基因，使免疫反應朝向細胞性免疫進行(如下圖)。



相較肌肉和皮膚，皮膚中有豐富的淋巴細胞、巨噬細胞、樹狀細胞等免疫細胞，對於抗原呈現很有幫助，較容易引發免疫反應，尤其是藍蓋罕氏細胞(Langerhans cells)更是抗原濃度低時，呈現抗原的重要途徑。而肌肉中則很少有這類細胞，加上 DNA 進入肌肉組織的機制不明，因此所顯現的最明顯的差異就是肌肉注射所用 DNA 量必須多過基因槍的數百倍之多，原因是一方面需要較多的 DNA 量，用以突破肌肉細胞膜的阻隔，但只有少部分 DNA 被肌肉細胞吸收；但另一方面還是要製造足夠多的抗原蛋白，才能夠有免疫的效果，而基因槍只要直接將少量 DNA 直接送到皮膚細胞內，就可以有相同甚至更好的免疫效果。

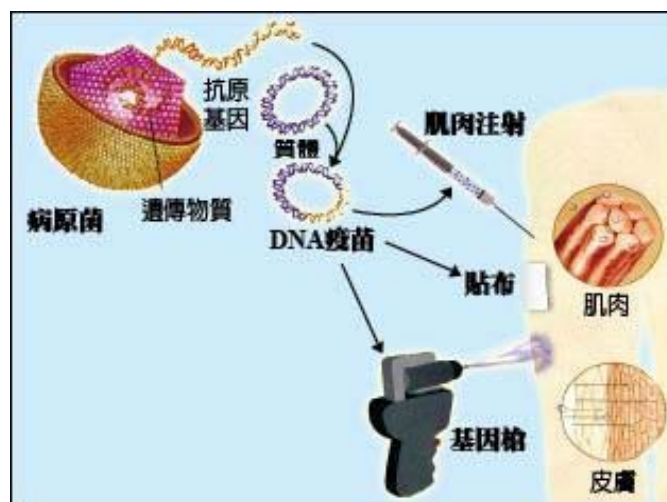
## DNA 疫苗貼布(DNA vaccine patch)

DNA 疫苗貼布 接種免當「針包」 【自由時報/ 記者林嘉琪/ 台北報導】2009.6.25

台灣科學家全球首創研發「用貼的」DNA 疫苗，不僅日本腦炎、C 型肝炎、登革熱都可使用疫苗貼布，甚至可望運用在嚴重急性呼吸道症候群(SARS)及 H1N1 新型流感疫苗，替預防疾病開闢革命性新途徑。利用微脂體經皮膚傳輸，以非侵入性的方式將疫苗傳入身體，價格成本差不多，卻免除了針頭注射的危險，而且還具有簡易操作及使用舒適性等優點。

DNA 疫苗貼布研究目前還在實驗室階段，最快十年可普及使用。

DNA 疫苗過去主要是運用肌肉注射或基因槍送進人體，調查卻發現，每一百次注射會發生五次針劑傷害，而感染 B 肝、C 肝肝炎病毒及愛滋病毒的個案裡，分別就有 32%、40%及 5%，是由於不當針劑所造成。



先用果酸把皮膚角質層去除，貼布中的 DNA 疫苗由微脂體包覆，由於研發的微脂體成份可與人體表皮細胞的細胞膜相結合，DNA 疫苗藉此就可進入表皮細胞，由皮膚傳進人體，釋出疫苗抗原啟動免疫反應。

## 傳統疫苗、DNA疫苗與DNA疫苗貼布比較

傳統疫苗		適用疾病	生物技術疫苗	
死毒疫苗 / 重組蛋白疫苗	減毒疫苗		DNA 疫苗	DNA 疫苗貼布
<ul style="list-style-type: none"> <li>•白喉、百日咳、破傷風三合一疫苗</li> <li>•沙克疫苗</li> <li>•日本腦炎</li> <li>•狂犬病</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•卡介苗</li> <li>•小兒麻疹口服疫苗</li> <li>•麻疹疫苗</li> <li>•水痘疫苗</li> </ul>		B肝、C肝疫苗已在臨床實驗中	日本腦炎DNA疫苗貼布正在動物實驗中
注射	注射或口服	使用方式	注射	外貼 
安全 (部分過敏的病患不適用)	安全 (部分接種者可能有副作用)	安全性	安全 (紅斑性狼瘡患者不適用)	非侵入式, 最安全 
易	難 	研發難易度	非常容易 	動物實驗階段
易	難	運送與儲存方便	易	可常溫保存最易 
高	低	製作成本	低	最低 

製表：記者林嘉琪；資料提供：台灣海洋大學食品科學系副教授吳彰哲提供



## 重組 DNA 疫苗 (Recombinant DNA vaccine)

### What?

重組 DNA 是一種被廣泛應用的技術的方法。重組 DNA 疫苗需和 DNA 疫苗做區別，是指用重組 DNA 的方法，將病原體的致病基因修飾或剔除，但保留抗原所製成的疫苗是指將病原物的某段基因表現，所生成的蛋白質可作為疫苗。例如：次單元疫苗

### Advantages

- (1) 重組基因產物多半無毒，不具致病性，但有強的抗原性
- (2) 比自發突變的活菌疫苗穩定且安全性高

### Disadvantages

將致病基因剔除後對病原菌的複製生長會產生負面影響，使得在大量生產上遇到問題。

### Applications

B 型肝炎疫苗 (HBsAg 次單元疫苗)

## 活體重組 DNA 疫苗 ( Live Recombinant vaccine)

### What?

特別強調以遺傳工程方法對細菌與病毒(活體)進行改造而作為疫苗。

### Mechanism

1. 利用非致病性微生物，以遺傳工程方法使其攜帶並表現某病原體的抗原決定基因，因而產生免疫抗原性(需要有減毒、溫和的病原作為載體)

\* 載體主要功能是運送及表現外來抗原的基因

\* 常用疫苗載體：痘苗病毒(vaccinia virus)、流感病毒(Mengo virus)、金絲雀痘病毒(canary poxvirus, CPV)、仙台病毒(Sendai virus)、麻疹病毒(Morbillivirus)，以及沙門氏菌(Salmonella)

這些病毒由於發展的時間較久，它們的基因、致病機轉、及在人體的使用性上，都較易被使用與掌控

2. 利用致病性微生物，以遺傳工程法修飾或去除毒性基因，但是仍然保有免疫原性。

### Applications

目前霍亂活體疫苗是研究的最多的一種。

## 預防型腫瘤疫苗( Tumor vaccine)/新型流感疫苗

中研院分子疫苗突破 可對抗新流感、癌症

【聯合晚報/ 記者林進修/ 台北報導】2009.10.13

研究發現乳癌、肺癌、大腸癌、卵巢癌和攝護腺癌，都有獨特醣分子結構 Globo-H，未來可望循此製作出分子疫苗對抗癌細胞。

中研院研究團隊昨日進一步發表，針對衝擊全球的流感病毒，透過醣分子研究，也可望找到疫苗製作新方法。這項研究登上最新一期美國國家科學院期刊 (PNAS)，雖尚未進行人體試驗，但已申請美國專利，並技術移轉給美國邁阿密 OPKO Health 公司，其台灣子公司將在台研發疫苗。

單醣分子疫苗 抗流感新招

自由時報 [記者謝文華/台北報導] 2009/10/14

中研院院長翁啟惠領導的團隊研究發現，將禽流感病毒的「血球凝集素」(簡稱 HA) 從「多醣」修飾為「單醣」製成疫苗，實驗小鼠免疫系統增強，對抗病毒的存活率從 20% 提升至 50%，不僅藉此可望發展出對付流感病毒的疫苗，也將可用來對抗其他諸如 C 型肝炎或愛滋病毒具有多量醣蛋白的人類病毒。

把小鼠分對照組、原型多醣、單醣型 H5 疫苗三組，注射後幾天，再讓小鼠暴露在 H5N1 病毒下，十四天後顯示，僅注射食鹽水的「對照組」存活率零，原型多醣組存活率 20%，單醣組存活率則提高到 50%。

藉由設計不同流感病毒 HA 共同的胺基酸序列，修飾蛋白表面的醣分子，並保留核心結構之後，即可望發展出能對付多種流感病毒的疫苗。

流感疫苗大多自雞隻蛋白取出整株病毒製成，因所有醣分子都存在，好比多了一層遮蔽「偽裝」，產生的抗體無法辨識蛋白體全貌。若將醣蛋白上多餘的醣除去再產生疫苗，不但不具病毒危險性，且可產生更好免疫力。而單醣分子疫苗在實驗室就能培養，穩定有效率，「不需雞蛋了」。

2009/6/17 今日新聞

研究過程發現，病毒會為了騙過主免疫系統進行偽裝，在病毒蛋白質表面上佈滿複雜的醣分子。翁啟惠指出，傳統疫苗觀念會認為要保留這些醣分子，以免破壞病毒疫苗蛋白質結構，但其實醣分子反而會遮住重要的「蛋白質抗原」，因此，這次創新研究中，是採用先水解酵素把病毒大部分「表面醣分子」切除，留下「核心醣分子」，讓裡頭真正有破壞力的蛋白質突顯出來。

這項研究顯示，切除複雜表面醣分子後的分子疫苗，抗原變得更強，原先被醣分子遮蔽的部份，基因序列不易改變，可提供未來發展「流感萬用疫苗」，面對不論是 H5N1 或 H1N1 等流感病毒，都可能產生抗體。

# 捌、治療性疫苗

## 預防性疫苗 v. s. 治療性疫苗

預防性疫苗就是身體在未感染前注射疫苗使身體產生免疫反應，以應付未來可能被傳染到的疾病

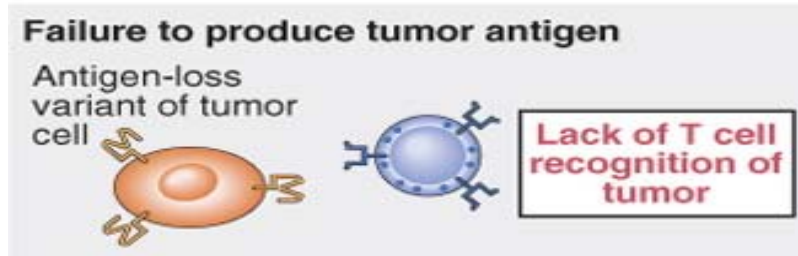
治療性疫苗則與預防性疫苗相反，是身體在已感染病原體或罹患某種疾病所注射的疫苗，那些疾病大部分都是慢性疾病，藉由免疫反應來達到治療及防止疾病惡化

## 第一個治療性疫苗

第一個治療性疫苗是巴斯德在 1885 年研發成功的狂犬病疫苗，當時一位九歲男童被狗咬傷，得到狂犬病，因此巴斯德將疫苗醫濃度低到高分批注射男童，在引發免疫反應後，疫苗殺死病毒，成功治好男童

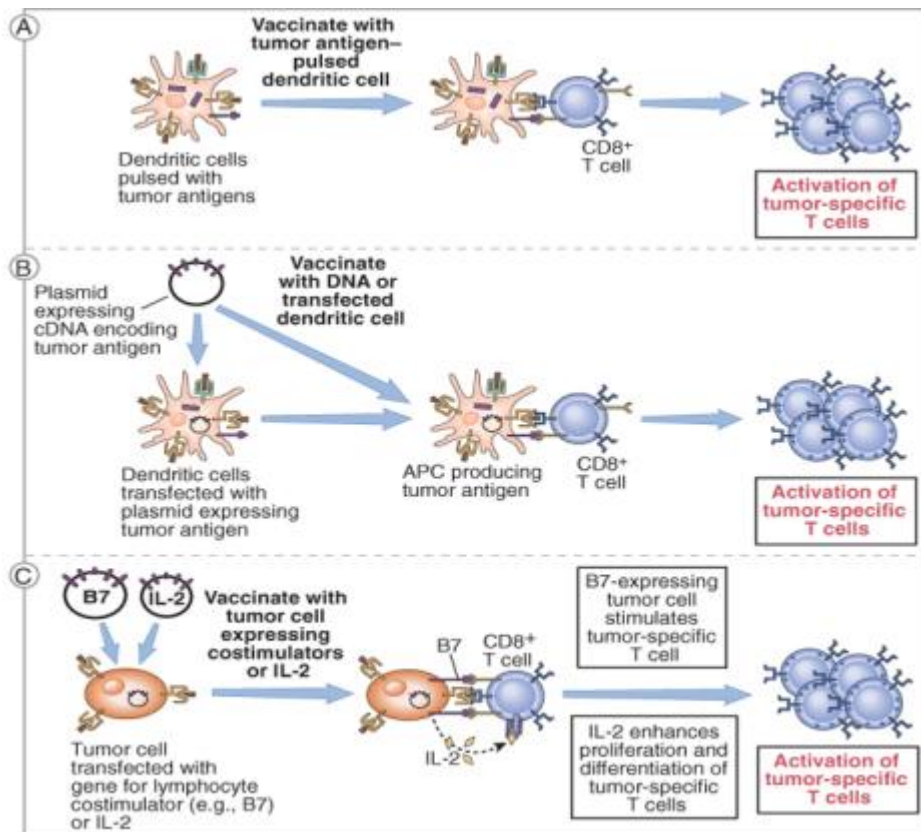
## 腫瘤治療性疫苗

因為癌細胞可以藉由失去、突變、減少自己的抗體來讓自己逃避 T cell



因此治療方式利用疫苗刺激人體的免疫系統，讓免疫系統辨認癌細胞，加強細胞毒殺作用

- 注射擁有腫瘤抗原的 APC，使 CD8+ T cell 辨認來活化 CD8+ T cell
- 將能夠 encode plasmid cDNA 打入人體，將 plasmid cDNA transfeted 到 DC 上，使 APC 能製造腫瘤抗原，使 CD8+ T cell 辨認來活化 CD8+ T cell
- 注射以 transfeted gene 能夠 coding 出 B7 or IL-2 的 tumor cell，使能調節及活化 CD8+ T cell



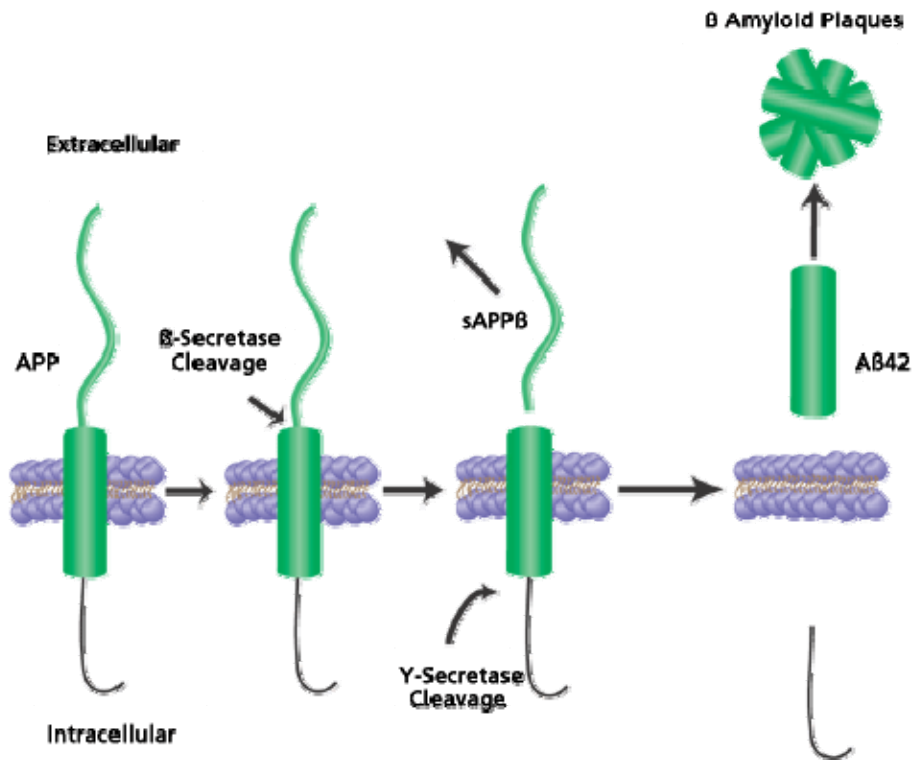
Abbas & Lichtman: Basic Immunology, 3rd Edition. Copyright © 2008 by Saunders, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

## 阿茲海默症疫苗

阿茲海默氏症是一種慢性神經退化疾病，主要症狀為認知能力、語言能力喪失、行為偏差、記憶退化一直到死亡

從患者死後腦部分析可觀察到兩處組織學上的異常，類澱粉塊斑與神經糾纏團塊。此塊斑的蛋白質成份是一類含 39~43 個胺基酸的類澱粉胜肽，來自於一種功能尚未清楚稱為類澱粉前驅蛋白(APP)的膜蛋白。其中毒性最高的是 A $\beta$ -42

圖中可看到，APP 經由  $\beta$ -secretase cleavage 及  $\gamma$ -secretase cleavage 後產生 A $\beta$ -42，導致 A $\beta$  的堆積



阿茲海默症疫苗

A antibody 的產生，能減少類澱粉胜肽沉澱在斑塊上，並能清除部分已存在的斑塊

在動物實驗中並未發現問題，但在注射的病患腦中發現 T cell，而引發發炎反應，目前正以減低此副作用研發中

## 自體免疫疾病疫苗

由於擁有自體免疫疾病的病人通常其 T cell or B cell 會攻擊自體組織 or 細胞，因此疫苗主要以調節 T cell 及 B cell，來改善病人的病情

## 類風濕性關節炎

- ◎ 患者本身在分辨自身及外來分子的能力上有缺憾
- ◎ 所造成的原因不明懷疑可能是因為感染所造成，也可能是由食物敏感或外來生物所造成
- ◎ 約 90%的病人都有著 HLA-DR4/DR19 標記，而對照中只有 40%帶有此標記，因此也懷疑與遺傳有關係

類風濕關節炎的病人血清中可以發現到高濃度抗 type II collagen 自體抗體及其關節液內含有 T 細胞會攻擊自己的關節組織，而這些 T 細胞的受器，會表現大量的 V 3、V 14、V 17

## 治療疫苗

1. 以 V 3、V 14、V 17 胜肽做為疫苗，以誘導患者產生抗體來與 T cell receptor 結合，因此會造成發炎反應的 T cell 將無法與 T cell receptor 結合，而不活化，減少發炎反應的發生
2. 使用口服耐受性療法，又稱為黏膜疫苗

## 黏膜疫苗

利用腸胃道黏膜反應的特性，腸道黏膜的免疫系統接受到無害的物質後，會產生認識該物質的抗原特異性調節型 T 細胞 (antigen-specific regulatory T cell, Treg)。這種 Treg 細胞，會分泌出 TGF- $\beta$ 、IL - 4、及 IL -10 這類抑制性的細胞激素，這些激素會抑制認識相同抗原的發炎性 Th1 細胞的活化，使免疫系統不產生發炎性的免疫反應

例如吃牛排時，牛肉蛋白進入腸胃道中與黏膜的免疫系統接觸，APC 就會將牛肉



蛋白呈現給免疫系統中認識牛肉蛋白的調節型 Treg 細胞，Treg 細胞活化後分泌出 TGF- $\beta$ 、IL-4、及 IL-10，這些抑制性的 cytokine 會抑制發炎性 Th1 細胞的活性，使它不去攻擊牛肉蛋白，減少發炎反應

在許多的動物實驗中也證明有它的效果存在，但在人體中效果並不是那麼明顯，後來發現腸道中的菌叢環境決定了口服耐受性的效果。因為當腸胃道中充滿了不好的菌，腸道到的免疫系統就會充滿了攻擊性高的發炎性 T 細胞，它們會分泌出產生發炎的 cytokin。相對的 Treg cell 就很難引起口服耐受性的免疫反應，另外也發現到，現有正常腸道菌叢的小鼠能被誘發口服耐受性，而無菌鼠(germ free mice)卻不能。如果讓無菌鼠服用某些特定的益生菌株就能夠誘發口服耐受性，這說明腸道菌叢對口服耐受治療的重要性

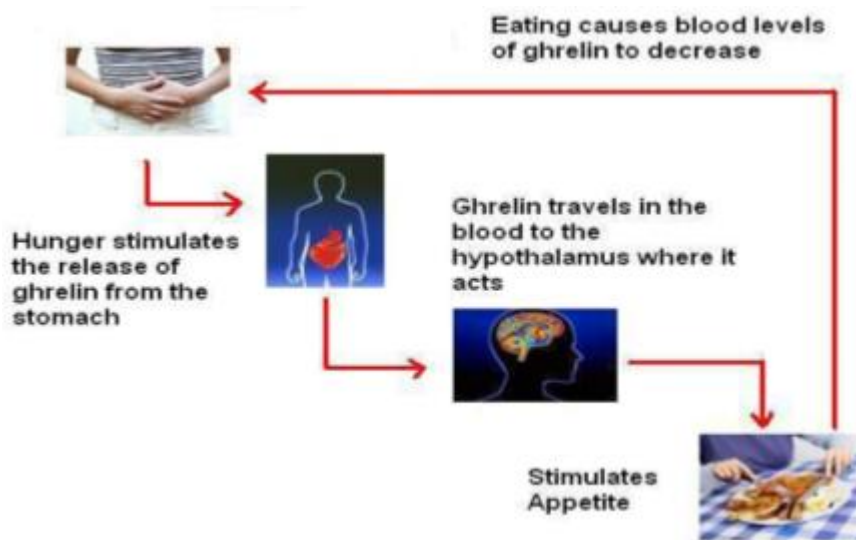
因此改良方法就是合併使用益生菌提高口服耐受性的療效

而這方法不僅能用在類風濕性關節炎，也能用在其他自體免疫疾病，然而並不是所有的抗原都能夠引起免疫耐受性，還是必須視個別抗原的特性與載體(vehicle)而定。

## 肥胖治療

目前發現空腹時人體血漿中 ghrelin 濃度會增加，在進食後一小時會達到最低。低卡飲食、長期運動、患有厭食症的人因為他們通常屬於飢餓狀態，因此他們的 ghrelin 濃度就會升高

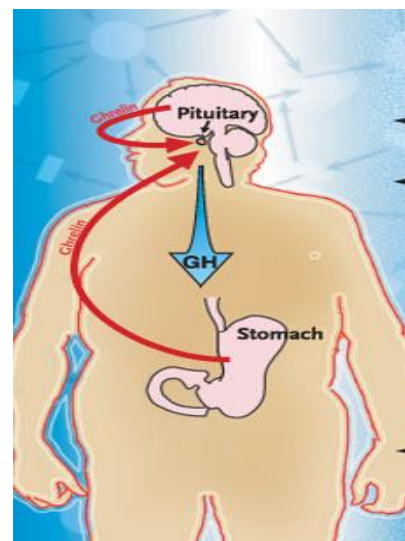
另外也 AD-36 病毒可以刺激人體免疫系統的某種幹細胞組織轉變成為「脂肪儲備倉」，也就是說經過此病毒感染的幹細胞會聚集大量的脂肪，造成肥胖



## Ghrelin

ghrelin 也是一種胜肽類激素，主要由胃底的上皮細胞分泌，刺激食慾。

ghrelin 會活化腦下垂體內的生長激素分泌受體與下視丘弓狀核中生長素促進素的神經元，刺激生長激素釋放。生長激素分泌受體被 ghrelin 活化後會刺激進食，造成體重增加。



## 抗肥胖疫苗

因此抗肥胖利用免疫特性，注入能辨識 ghrelin 的 antigen，並使其能附著於 ghrelin 上，在免疫系統辨識後產生 ghrelin 的 antibody，來減少血液中 Ghrelin 的濃度，但這種疫苗需大量注射才有效果

目前在動物實驗能有效抑制 Ghrelin 的影響，並產生免疫反應，降低 Ghrelin 的活動力，使小鼠的體重減緩增加，降低體脂肪累積量

雖然目前在人體實驗尚未公開有副作用，但可能對賀爾蒙的調控產生影響

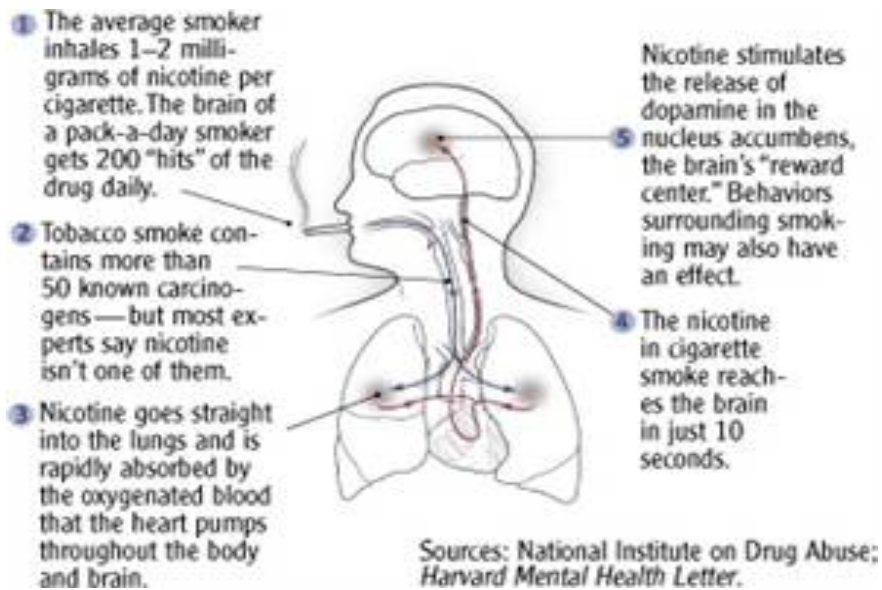
## 戒菸疫苗

### 尼古丁

經由吸菸得到的尼古丁經由血液運送，並穿過血腦屏障，能在 7 秒內到達腦部

尼古丁可與尼古丁乙醯膽鹼接受器結果，增加神經傳遞物的量，腦中的多巴胺增

加，產生幸福感和放鬆感，最後可能會因吸食而有成癮的現象。



## 戒菸疫苗

注射 anti-nicotine 疫苗後，人體會產生抗尼古丁的抗體，因此身體的免疫系統

就會將尼古丁去除，防止尼古丁進入腦部，尼古丁沒有進入腦部，抽菸的人就不

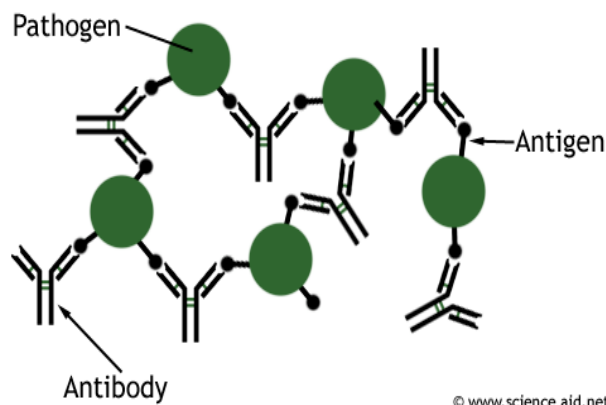
會感受到吸菸帶來的快樂，因此比較容易戒菸。

# 治療性疫苗---疫苗真的可以讓我們針到病除嗎？

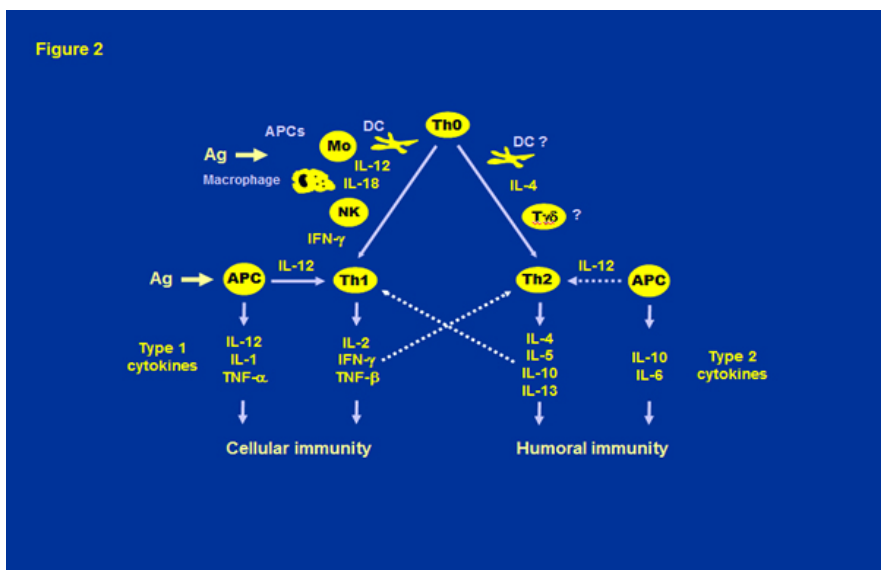
## 一、治療性疫苗簡介

時代的演進，傳染病盛行狀況已有所變化，疫苗的使用也在演變。在過去疫苗幾乎都使用在感染性疾病的預防，比如用牛痘來預防天花以及口服沙賓疫苗用來預防小兒麻痺。但在跨入二十一世紀的今天，在高生物科技的推波助瀾下，疫苗已朝向治療性的方向發展。尤其是治療性基因疫苗的設計更是具有潛力，我們可以藉著調整宿主的免疫反應或病原的抗原性而得到較好的治療。例如下面幾項：

1. 一般疫苗誘發的免疫反應-----利用製造疫苗的原理，使用疫苗來刺激人體的免疫系統對抗原產生反應，主要是利用挑選過的抗原或是加強免疫反應的佐劑。
2. 抗體---結合抗原或受器，利用抗原抗體結合的方式，block 受體或是抗原，使病毒的傳染途徑應此中斷，使病情好轉



3. 免疫調節-----利用疫苗的成分，調節免疫系統的走向，像是要偏向 Th1 還 Th2，利入 Th1 會誘發細胞性免疫反應，有助於對抗腫瘤、結核病和病毒感染，Th2 走向細胞免疫有助於產生中和抗體，阻斷感染。



現今治療性疫苗的應用大致上可歸納為以下四類：

- (一) 腫瘤疫苗
- (二) 自體免疫疾病疫苗
- (三) 過敏性疾病疫苗
- (四) 感染性治療疫苗

## 二、 感染性治療性疫苗

所謂的感染性疫苗幾乎就像是我們平常注射用的傳統疫苗，但是他不只擁有預防的能力，還能用來治療疾病，感染性治療疫苗目前的應用原理大致可分為胜肽或蛋白質疫苗、基因疫苗、疫苗加佐劑、活病毒……等等。以下我們就以原理分類來說明其使用現況。

### A. 病毒疾病的治療性疫苗

#### 1. 治療性的胜肽或蛋白質疫苗

- I. 胜肽或蛋白質疫苗的應用是較早就開始發展的，因此我們對於胜肽或蛋白質疫苗的安全性及效果也較清楚。
- II. 一般來說，由於胜肽或蛋白質對於宿主細胞而言是外來的抗原，故引發的免疫反應是以輔助型T細胞及B細胞產生特異性抗體為主。
- III. 例子

#### HIV系列的感染性治療性疫苗

由於HIV的外套膜蛋白有很多種類型，因此利用外套膜蛋白來製成可行的方案

- i. Benson等人嘗試用HIV的類病毒粒子 (viral like particle) P24-VLP加上治療性藥物Zidovudin，使用在HIV無症狀的患者身上，發現可加強這些患者的特異殺手T細胞反應，而單獨使用P24-VLP或Zidovudin就沒有此種效果。
- ii. Sandstrom等人則是利用合成的HIV外套蛋白gp-160做為疫苗使用於患者，同樣的也有加強淋巴增生及特異性殺手T細胞的功能，而使用愛滋病毒外套蛋白gp120做為疫苗使用於患者則已進入Phase III研究。
- iii. HIV進入T細胞時必須靠外套蛋白gp120與T細胞的CD4結合，而後就有人發展出CD4的映像抗體，這種抗體的抗原結合區結構與CD4的部份相似，因此也可與HIV的gp120外套蛋白結合，可以中和掉病毒並抑制HIV導致的細胞融合現象，映像抗體 (anti-idiotypic antibody) 的應用也是治療性疫苗的重點之一。
- iv. 結果HIV 治療型疫苗的結果

許多HIV疫苗的臨床測試，像長江後浪推前浪，無數的疫苗死在沙灘上，大家徘徊在悲觀與樂觀之間，GP120之類為標靶開發的疫苗，曾經失敗過，最近2009一種聯合型的疫苗在泰國由之前兩款失敗的疫苗混合而成，包括GP120的ALVAC® HIV和AIDSVAX®，這種疫苗出現了統計上的差異。

## HBV系列的感染性治療性疫苗的發展

- i. 在感染性疾病的治療與控制中，其實與MHC-I結合的殺手T細胞反應扮演了主要角色。
- ii. 以往胜肽或蛋白質疫苗誘發的是以體液型免疫反應為主，而殺手T細胞反應都不佳
- iii. 利用組合型疫苗，其中利用B型肝炎病毒核抗原胜月太18-27做為殺手T細胞辨認區（epitope），以破傷風類毒素胜月太830-843做為輔助T細胞辨認區，另外加上佐劑來加強免疫反應，這個三合一的治療性疫苗（Theradigm-HBV）証實可在人體誘發強烈的特異殺手T細胞反應，且已進入phase II
- iv. 臨床結果 --- 這種疫苗有肝組織被免疫細胞大量破壞的潛在危險。
- v. 未來可能發展出治療C型肝炎的疫苗 --- 如果我們能找到或合成一個C型肝炎病毒抗原epitope，則也可彌補自然感染所引起不足的免疫反應，用於治療C型肝炎。

## 2. 治療性基因疫苗（DNA vaccine）

由於胜肽或蛋白質疫苗的效果較短，價格昂貴且不易誘導細胞型免疫反應，因此近年來大家都把重心轉移到基因疫苗。

### I. 例子

- i. 有些人具有很強的抗HIV-1 nef蛋白的殺手T細胞反應，就算暴露在HIV的危險環境下，也不易被感染。這個nef蛋白是HIV的一個調節蛋白，具有較少的多樣性，於是利用nef蛋白的質體作為基因疫苗經由肌肉注射到鼠體內來誘導特異性殺手T細胞來治療病毒。
- ii. 目前HIV的基因治療有兩大主流，一是利用修改過的基因來對抗病毒，例如RevM10基因、核糖酵素基因（ribozyme gene）。第二則是使用自殺基因，利用病毒複製時啟動自殺基因，終結受感染細胞。



- iii. HIV-1有一個調節蛋白rev，是未修剪的mRNA要從細胞核送到細胞質所不可缺少的調控因子，這個rev蛋白有一種trans-dominant變異型，叫RevM10，很特別的是，RevM10卻會抑制愛滋病毒的複製，因此有人想到用RevM10質體做為基因疫苗，以抑制愛滋病毒在T細胞內的複製。
- iv. 另外有嘗試用一種核糖核酸酵素基因（ribozyme gene）植入愛滋病毒感染T細胞，這種核糖核酸酵素外型像髮夾，所以叫hairpin ribozyme，並在愛滋病毒複製時切斷愛滋病毒的RNA
- v. 自殺基因是利用疹病毒的tyrosine kinase基因，當受愛滋病毒感染的細胞被植入這種自殺基因後會使得受感染細胞容易被gancyclovir(抗病毒藥物)殺死，這樣就不讓病毒有機會繼續複製壯大。

### 3. 基因疫苗+佐劑

### 4. 其它活病毒

就像武俠小說一樣以毒攻毒，真的有抗病毒的病毒嗎Antivirus virus? 有人嘗試用一種病毒來治療另一種病毒感染。

#### I. 例子

有學者合成了一種新的單純疹病毒，這種病毒會表現出一種trans-dominant negative HSV-1 UL9 origin接合蛋白，經過實驗這種蛋白不但可抑制本身病毒的複製高達一百萬倍，此種蛋白也可抑制野型(wild type)單純疹病毒的複製達一百至二百倍。這種新病毒為單純疹病毒的治療開了一道新方向。還有人利用此發開發出類似讓病毒性肝炎緩解的疫苗

## B. 細菌疾病的治療性疫苗

### I. 幽門螺旋桿菌

幽門螺旋桿菌慢性感染與急慢性胃炎、胃潰瘍、胃癌及低度B細胞淋巴瘤有著密切的關係。由於抗生素的治療很容易引起抗藥性，故學者專家致力於治療性疫苗的研究，希望能找到更好的治療方法。

慢性幽門螺旋菌感染在人類引發的主要是Th1反應，但似乎Th2反應比較能有效治療幽門螺旋桿菌，所以在幽門螺旋桿菌的治療性疫苗方面，目前開發的多為胜肽或蛋白質疫苗。而由於胃部黏膜免疫反應對於治療幽門螺旋桿菌又比系統性免疫反應來的重要，故口服劑型的應用及適當可誘發胃部黏膜強大免疫反應的佐劑更是發展重心。

老鼠的體外實驗中，給予口服純化的空泡樣細胞毒素（Vac A）會導致幽門螺旋桿菌所造成的疾病。Crabtree等人曾使用合成的幽門螺旋菌抗原 Vac A 及 CagA 加上減毒的大腸桿菌腸毒素（E. coli enterotoxin），做為疫苗直接注入老鼠胃內，發現可以有效的治療慢性感染並能對抗再次感染（reinfection）。

Mattsspm等人嘗試著用口服BS-WC疫苗（含有霍亂弧菌B subunit 及幽門螺旋桿菌完整死菌whole cell）給予那些受幽門螺旋桿菌感染的患者，發現那些患者的胃竇部份（antrum）的IgA分泌細胞可大量增加，比起未受感染的人可高達八十倍。以霍亂弧菌B subunit做為佐劑，除了可促進胃壁黏膜分泌IgA外，它也少有免疫容忍性（immune tolerance）的問題。

### II. mycobacterium tuberculosis（結核菌）

雖然卡介苗（BCG vaccine）已經被廣為使用於結核菌的預防，但結核菌的治療依舊必須靠多種藥物的長期使用。不僅只是藥物服用困擾，抗藥性菌種的快速產生也是令人束手無策。因此發展出治療性的疫

苗用以加強宿主本身的免疫功能加上治療藥物的使用以達到有效治療的目的似乎是一個具潛力的方向。

因為基因疫苗誘導的主要是Th1反應，故基因疫苗被視為極具潛力的結核菌治療方法。1999年Lowrie等人用基因疫苗合併傳統治療藥物來治療結核菌感染的小鼠，發現可改善原來較弱的免疫反應，殺死病菌。

另外有人用熱休克蛋白65（HSP65）基因做為基因疫苗給予小鼠單次肌肉注射，結果發現脾臟及肺臟中的活菌數大量減少；如果先給予傳統藥物治療再加上基因疫苗，結果絕大多數的結核菌都被清除乾淨。

目前大家都認為要有效治療細胞內寄生菌必須靠Th1的作用，既然用TB結核菌做為疫苗引發的第一型輔助T細胞反應並不是這麼有效，就有人試著用同屬性但較易誘導第一型輔助T細胞的他種結核菌如 *Mycobacterium vaccae* 做為疫苗以治療結核菌，結果發現與傳統藥物合併使用後可明顯減少治療失敗的機會及降低死亡率。

### III. 寄生蟲疾病的治療性疫苗

曾有20個未受瘧疾感染的自願者在接受熱帶瘧原蟲（*Plasmodium falciparum*）的pf CSP抗原體肌肉注射後，可以明顯的加強特異性殺手T細胞反應。

Weiss等人則報告用鼠瘧疾抗原pCSP質體可促進使老鼠產生特異性抗體對抗瘧原蟲孢子的感染，如果再合併GM-CSF質體則效果更好。由於瘧原蟲的多變抗原性與抗藥性的特性，使得基因疫苗的開發更顯得重要。



## H1N1

### 什麼是 H1N1 新型流感

H1N1 新型流感是由新的流感病毒株所引起的流感，自 2009 年 4 月在墨西哥發生以來，已造成全球大流行。H1N1 新型流感(豬流感)原是一種於豬隻中感染的疾病，屬於 **A 型流感病毒**，常見病毒為 H1N1、H1N2、H3N1 與 H3N2。流感病毒有三種外表相似的型態，A B C，C 型流感只會引發輕微的呼吸道疾病，而 A 型和 B 型會造成大流行。更複雜的是 A 型病毒還會分成亞型，以他們表面蛋白來命名，分別是**血球凝集素 (HA: Hemagglutinin)** 和 **神經胺酸酶 (NA: Neuraminidase)**，**A 型流感的亞型中，可以引發人類疾病的一種，就是 A 型 H1N1**，A 型流感 H1N1 亞型，又可再細分成不同的病毒株，像是 1918 年 A 型 (H1N1) 西班牙流感病毒，還有目前的 A 型 H1N1 豬流感病毒，他們雖然有類似的表面蛋白，但基因有些微差距。**目前全世界爆發的豬流感疫情，即為 H1N1 病毒所引起**，但目前對此種結合豬流感、人類流感的新病毒型所知不多。另外食用豬肉或豬肉製品並不會患豬流感，將豬肉加熱到攝氏 70°C 左右就能殺死病毒。



## H1N1 新型流感傳染方式

H1N1 新型流感傳染途徑與季節性流感類似，主要是透過飛沫傳染(咳嗽、打噴嚏等飛沫傳染給周圍的人)與接觸傳染(經由雙手觸碰到病毒後，再觸摸自己的眼、口、鼻而感染)。一般成人在症狀出現前 1 天到發病後 7 天均有傳染性，但對於病程較長之病患，亦不能排除其發病期間繼續散播病毒。另兒童病例的可傳染期通常較成人病例為長。潛伏期並不清楚，可能的範圍是 1-7 天，最可能是 1-4 天。

感染者被認為發病的前一天即可以傳播病毒，直到症狀消除為止。

## 新型流感確定病例定義

依據 WHO 於 2009 年 7 月 10 日所公布之全球監視指引(Human infection with pandemic (H1N1) virus: updated interim WHO guidance on global surveillance)，確定病例的定義為：

經實驗室確診為 H1N1 新型流感病毒陽性，其檢驗方法包括下列任何一項：

1. PCR
2. 病毒培養
3. H1N1 新型流感病毒中和抗體 4 倍上升

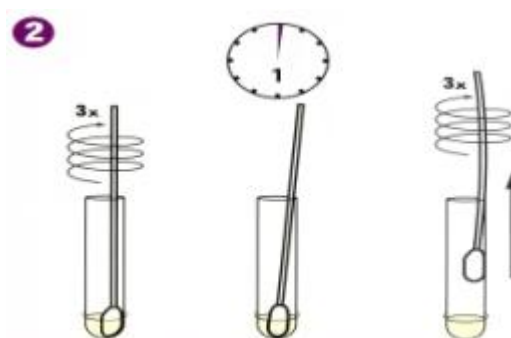
## Rapid influenza diagnostic tests (RIDTs)

(1) Rapid influenza diagnostic tests (RIDTs) for seasonal influenza sometimes can detect novel influenza A (H1N1) virus, but sensitivity has been estimated at 40%--70%.

(2) Negative RIDTs should not be used to exclude the diagnosis of novel influenza A (H1N1) virus infection.

## Rapid influenza diagnostic tests (RIDTs)檢驗流程

- (1)以棉棒採取病患口咽或鼻腔分泌物。
- (2)將棉棒放入試劑中旋轉3圈，靜置1分鐘，再反方向旋轉3圈（盡量將檢體



擠進試藥內)，取出棉棒後 蓋上蓋子。

- (3) 在試管上貼上病患相關識別資料。
- (4) 將試管及醫令單一起送至檢驗科。

↓  
**檢驗科**

將於 40 分內將檢查結果上傳電腦

## 臨床表現

人類感染 H1N1 新型流感症狀與季節性流感類似，無嚴重併發症之新型流感病人會出現發燒、畏寒、頭痛、上呼吸道症狀（咳嗽、喉嚨痛、流鼻水、呼吸急促）、肌肉痛、關節痛、疲勞、嘔吐、或腹瀉等症狀，絕大部分患者於一週內可康復，然而小部份患者會產生肺炎或其他併發症，甚至導致死亡。

## 如果出現 H1N1 新型流感相關症狀應該怎麼做

- (1)具一般呼吸道症狀民眾：停止上班上課在家休息、戴口罩、咳嗽時用衛生紙遮口鼻並丟入垃圾桶、手部接觸到呼吸道分泌物之後要洗手、儘可能與別人距離保持 2 公尺以上。
- (2)如出現發燒、咳嗽、流鼻水、打噴嚏、肌肉酸痛、頭痛或極度倦怠感等類流

感症狀，應立即配戴口罩就醫，並告知醫師相關病史、工作史、禽畜接觸史及旅遊史；如醫師經臨床診斷認為符合 H1N1 流感調查病例之條件，將依規定向衛生單位通報，並於採檢後視醫療評估結果提供流感抗病毒藥劑及相關治療。

## H1N1 新型流感有沒有治療藥物

- (1) 流感抗病毒藥劑是一種可以治療流感病毒感染的藥品
- (2) 目前克流感(Tamiflu)及瑞樂沙(Relenza)均可用於治療 H1N1 新型流感，但使用抗病毒藥劑前仍應由醫師評估。
- (3) 流感抗病毒藥劑有二類，  
其一為 M2 蛋白抑制劑 (M2 protein inhibitor)，  
其二為神經胺酸酶抑制劑 (neuraminidase inhibitor)。
- (4) 早期的抗病毒藥劑為 M2 蛋白抑制劑，主要在抑制 A 型流感病毒的複製，不過對 B 型流感病毒不具療效，且有神經及精神之副作用，並容易產生抗藥性的問題。目前政府採購之克流感®及瑞樂沙™等流感抗病毒藥劑，均為新成分之神經胺酸酶抑制劑可有效抑制流感病毒的擴散，並可同時治療 A 及 B 型流感，副作用輕微（少數噁心嘔吐）且較不易產生抗藥性



## 抗病毒藥劑療效如何及其療程

- (1)在症狀開始後 48 小時內服用藥物，可以減輕症狀及縮短病程 1 或 2 天，減少併發症及住院率等。
- (2)一個療程劑量為**每日投藥 2 次，連續投藥 5 日**

## 抗流感病毒藥物的不良反應

### (1)克流感(Oseltamivir)

- 成人：10%噁心(安慰劑組有 6%)，9%嘔吐(安慰劑組有 3%)。
- 兒童：14%嘔吐(安慰劑組有 8.5%)。
- 短暫性精神性反應（自殘或譫妄）：大多是居住於日本的青少年或成人。

### (2)瑞樂沙(Zanamivir)

- 常見副作用有 (<5%)：腹瀉、噁心、鼻症狀或鼻竇炎、支氣管炎、咳嗽、頭痛、耳鼻喉部位感染。
- 氣喘與慢性肺病病人的研究：瑞樂沙治療組中 13%產生 FEV1 下降 20% (安慰劑組有 14%)。

(3)13 個輕至中度氣喘病患使用瑞樂沙後發生支氣管痙攣。

(4)曾經報告過使用瑞樂沙口咽及臉部水腫之嚴重過敏反應。

\*安慰劑是指給予假的藥物，並非克流感或瑞樂沙

\*一秒用力吐氣量(FEV1)

## 如何預防 H1N1 感染

- (1)注意個人衛生及保健：**勤洗手**，養成良好衛生習慣。
- (2)注意呼吸道衛生及咳嗽禮節
- (3)**有咳嗽等呼吸道症狀時應戴口罩**，當口罩沾到口鼻分泌物時，應立即更換並



丟進垃圾桶。

(4)打噴嚏時，應用面紙或手帕遮住口鼻，若無面紙或手帕時，可用衣袖代替。

(5)如有呼吸道症狀，與他人交談時，儘可能保持 2 公尺以上距離。

(6)手部接觸到呼吸道分泌物時，要立即澈底清潔雙手。

(7)生病時應在家休息，除就醫外，儘量避免外出。

(8)遠離感染來源，避免前往 H1N1 新型流感發生地區。

(9)施打 H1N1 疫苗

## H1N1 疫苗

注射 H1N1 新型流感疫苗可以預防感染 H1N1 新型流感病毒，其製造過程與原來每年接種的季節性流感疫苗相同，因此安全性和有效性也應該與季節性流感疫苗相同；接種 H1N1 新型流感疫苗無法預防其他季節性流感病毒，如想預防季節性流感，應接種季節性流感疫苗。它是屬於傳統疫苗的裂解型疫苗。

## 疫苗製作過程

我們可以看到影片中有 3 種方法，利用雞胚胎，動物細胞，基因反轉製造。

一般流感疫苗的製作，是使用認證後的雞胚胎蛋，再將流感毒株打入胚胎內，萃取蛋中的尿囊液製成流感疫苗，接種的人會產生抗體及免疫力。確保無特定病原實驗動物 (specific-pathogen-free laboratory animals) 的健康品質，需飼養在隔離式房舍 (barrier facility) 且嚴格管控人員進出、空氣、飼料、飲水及物品的實驗動物，並定期疾病監測不得含有該實驗動物之特定重要傳染病，進而確保實驗及產品的準確性及再現性。但使用胚胎蛋來製作疫苗，非但病毒可能產生突變，對蛋白過敏的使用者也有疑慮。

## 接種途徑與劑量

- (1)我國採購的 H1N1 新型流感疫苗是不活化疫苗，採**肌肉注射**方式接種
- (2)國小三年級(含)以下接種 2 劑，國小四年級(含)以上 1 劑；2 劑次接種應間隔一個月以上
- (3)不論廠牌 6 個月以上未滿 3 歲之幼兒，每次之接種劑量為 0.25ml ，3 歲以上之接種劑量為 0.5ml
- (4)**6 個月以下之幼兒，因無臨床試驗資料，所以不適宜接種**

## 出產公司

- (1)現在有**諾華公司**和**國光生物科技股份有限公司**出產的疫苗
- (2)台灣採購**一千五百萬劑**新流感疫苗，分別是**國光一千萬劑、諾華五百萬劑**。  
諾華首批三十七萬劑十月二十二日抵台，十一月一日已經開打。陸續為八八水災災民、醫護人員、六個月以上嬰兒、孕婦、一到六歲兒童、重大傷病患者接種。國小以上學生十二月開打。衛生署預估今年年底前可打完其中一千萬劑。
- (3) 諾華公司是國外出產的疫苗，國光是國內出產的疫苗

## 諾華疫苗成分

- (1)組成：**每 0.5ml 含有流感病毒株之表面抗原(HA&NA)**
- (2)病毒株：**A/California/7/2009 (H1N1)v-like virus (7.5 micrograms)**
- (3)佐劑：squalene (9.75 mg)  
polysorbate 80 (1.175 mg)  
sorbitan trioleate (1.175 mg)  
劑型：**注射用懸浮液劑(乳白色液體)**

- (4)新流感疫苗將從 11 月 1 日起開始施打，首波以諾華的疫苗為主
- (5)國光公司 H1N1 疫苗首批 500 萬劑已進行點收作業，等到完成全部驗收程序後，預計 11 月 16 日開打。
- (6)2 種疫苗上市後，採隨機施打，民眾只能決定要不要打，不能選擇廠牌，不過，未滿 1 歲的嬰兒只能打諾華疫苗，且 2 劑需間隔 3 至 4 週。



← 諾華的疫苗



← 國光的疫苗

- (7)國光和諾華的主要差別：

有佐劑的疫苗(諾華)，用的抗原量(死病毒)可以減半，利用佐劑來增強免疫效果。沒有佐劑的疫苗(國光)，疫苗成份相對單純，靠身體產生免疫力

\*國光公司強調，添加佐劑可以增加產量，但在世界各國對添加佐劑仍未有一致的共識前，國光公司自製的新流感疫苗堅持不添加佐劑國光疫苗未添加佐劑，純度比較高，預期施打後發生局部疼痛感及副作用的機率也比諾華少。

\*仿病毒顆粒佐劑 (Virosome)，廣為運用在DNA (去氧核糖核酸) 及 RNA (核糖核酸) 或其它治療性藥物之抗原傳輸系統，因其效力佳，不需再添加其他佐劑，且避免一般

佐劑在注射時造成刺激或發炎反應的問題，增強免疫系統。因此仿病毒顆粒佐劑為基劑之疫苗比起其他佐劑擁更優越之免疫遺傳能力及耐受性。

## 接種後注意事項

- (1) 為即時處理發生率極低的可能嚴重過敏反應，接種後應於接種單位或附近稍微休息，並觀察至少30分鐘以上，待無不適後再離開。
- (2) 如有持續發燒，嚴重過敏反應，如呼吸困難、氣喘、昏眩、心跳加速等不適症狀，應儘速就醫，並打電話通報當地衛生局或疾病管制局。
- (3) 完成疫苗接種後，雖可有效降低感染流感病毒的機率，但仍可能罹患其他病毒所引起的感冒，請注意個人衛生保健及各種預防措施，維護身體健康。
- (4) 接種流感疫苗後48小時內約有1-2%可能有發燒反應，應告知醫師曾經接種過疫苗，若48小時後仍有發燒時，應考慮可能另有其他原因。

## 副作用

- (1) 可能發生的副作用與季節性流感疫苗類似，接種後可能會有注射部位疼痛、紅腫，少數的人會有發燒、頭痛、噁心的輕微反應，一般會在接種後1-2天內恢復。
- (2) 極少數人有嚴重的副作用如過敏反應，甚至過敏性休克（如呼吸困難、氣喘、眩昏、心跳加速等）之不適情況；而其他如顏面神經麻痺或多發性神經病變（Guillain-Barré Syndrome, GBS）等相關神經症狀，雖有報告病例出現，但證據顯示並不一定與接種流感疫苗相關。

## 使用禁忌症

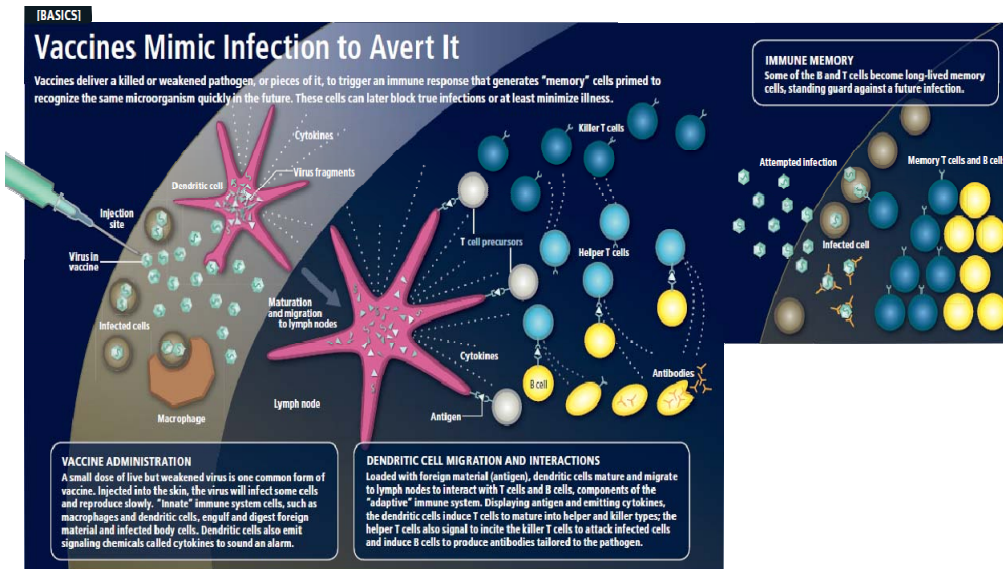
- (1) 已知對「蛋」之蛋白質或疫苗其他成分過敏者，不予接種。
- (2) 過去注射流感疫苗曾經發生嚴重不良反應者，不予接種。
- (3) 其他經醫師評估不適合接種者，不予接種。
- (4) 特殊疾病或狀況，須先經由醫生診斷是否適合接種。
- (5) 發燒或急性疾病宜延後接種。

## 未來趨勢

目前我們看到的這一波 H1N1 病毒流行是溫和的，但是我們要知道，1918 年的西班牙流感，她第一波也是溫和的，但第二波就醫發不可收拾。但是我們還不清楚到秋天的流感季節它會不會回來，會不會有了突變，唯一能預測的就是在我們有生之年，一定會持續有流感挑戰。

# 玖、佐劑

## 疫苗的基本原理 review



1. 疫苗模擬感染以避免感染 ----- 疫苗藉由引進死亡或減毒的病源或病原片段來誘發免疫反應，以產生「記憶」細胞，準備好在將來迅速辨識相同微生物。之後，這些細胞可以阻擋真正的感染，或者至少減輕病症。
2. 接種疫苗後的免疫反應
  - i. 接種疫苗---假如疫苗是少量的減毒病毒。注射進皮下後，病毒會感染部分細胞，並且緩慢繁殖。先天免疫系統(如巨噬細胞與樹突細胞)會吞噬外來物質以及受感染的細胞，並且分解它們。樹突細胞也會釋放名為細胞素(cytokines)的警訊分子。
  - ii. 樹突細胞遷移並與其他細胞互動-----樹突細胞處理好外來物質(抗原)後會成熟並遷移至淋巴結，與T細胞、B細胞產生互動，後兩者屬於適應性免疫系統。樹突細胞藉由呈現抗原和釋放細胞激素，來誘發T細胞發展為輔助T細胞或是殺手T細胞；而輔助T細胞也會釋放訊號，讓殺手T細胞去攻擊受感染細胞，並刺激B細胞產生辨識病源的抗體。

- iii. 產生記憶的免疫細胞---部分 B 細胞和 T 細胞會形成長壽的記憶細胞，做為對抗之後再度感染的保衛者。

## 一、佐劑簡介

1. 增強免疫反應的物質稱為佐劑(adjuvant)
2. Adjuvant --- 由拉丁文幫助 adjuvare 衍生而來
3. 1880 年代，美國紐約的一名骨科醫生無意中發明了加強整體免疫反應的技術，這視為佐劑的首次使用。那時紐約癌症醫院的柯里(Willam B. Coley)對癌症病人感染釀膿鏈球菌後，腫瘤萎縮或消失感到興趣，柯里直覺認為，病人免疫系統對抗細菌的反應增強了他們抵抗腫瘤的能力，於是他在 1881 年開始一系列的實驗，替癌症病人注射活菌或死菌，發展”柯里毒素”的抗癌療法。

PS 柯里被視為是癌症免疫療法的先驅，TGF- $\alpha$  的辨認也與他有關係

## 二、佐劑是什麼？功用？

佐劑 ----- 是一種分子、化合物或是大分子複合物，促進產生一個有力且長效的特異性免疫反應

- ✿ 可能會有些許的毒性和長時間持續的免疫的效應。
- ✿ 可以加強、維持、或指導對抗原產生免疫反應。
- ✿ 有效調節適當的免疫反應。
- ✿ 減少抗原使用的劑量。
- ✿ 提高疫苗對新生兒、老人、免疫缺陷者的有效性。
- ✿ 佐劑可能會因為配方不對而失效，例如：乳化的效果、顆粒大小、電荷，對於配方是相當重要的。

#### EX-1 :

The importance of formulation can be illustrated with the glycolipid monophosphoryl lipid A (MPL1), the first TLR ligand and biological adjuvant approved for human use (i.e. the Hepatitis B vaccine Fendrix<sup>1</sup>). Unformulated MPL1 is insoluble and prone to aggregation, which adversely affects its bioavailability. Formulations that enhance its solubility, enhance its efficacy and reliability include aqueous phospholipids (MPL1-AF) or combining it with Alum (AS04; GSK Biologicals). Although **MPL1 in aqueous formulation enhances antibody responses, MPL1 in oil formulation stimulates T-cell responses.** Moreover, formulations that generate defined structures, such as liposomal AS01B, induce much more potent CTL responses in mice than formulations with similar components but smaller particle size, such as AS02A (GSK Biologicals).

#### EX-2:

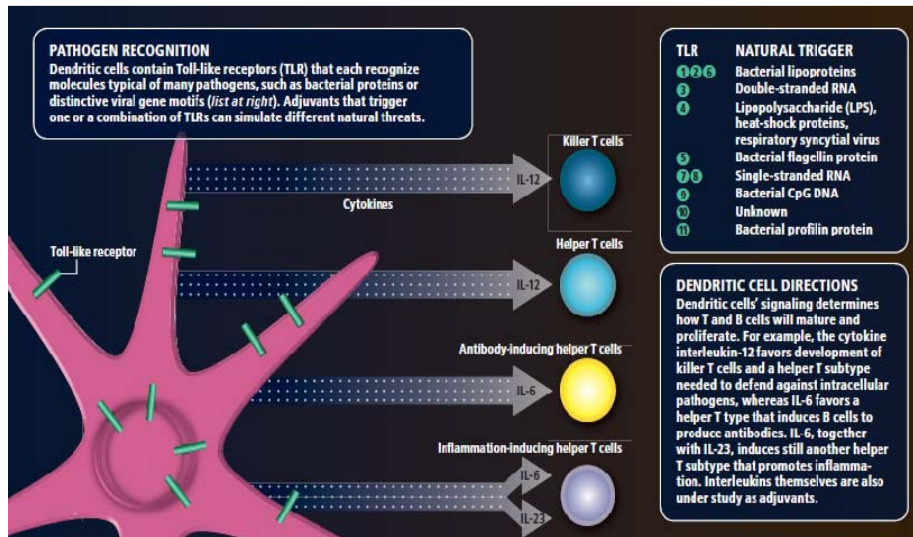
配方必須與抗原原生的免疫特性相互補，單體分子比多聚體分子缺乏免疫性，佐劑的配方要讓它成為 multimeric 像是 virosomes，但如果已經是 multimeric 的蛋白就要把他在做成 virosomes 大小可能會太大，取而代之的方法是讓他們吸附在礦物鹽使他可以增加免疫原性和穩定，可見抗原顆粒的大小是相當重要的，20 - 100 nm 的 range 較容易與 DC 產生互動並且活化 DC。



### 三、佐劑主要作用機制

1. 有效的佐劑利用許多的化合物和機制來達到預期的免疫增強作用，主要的作用機制有疫苗遞送系統和免疫調節劑
2. 做為一個有效的長期抗原儲存站(緩釋和保存)
3. 增加對疫苗抗原的免疫表現透過樹突細胞上面的受體的活化 例如 PRR or damage-associated molecular pattern
4. 誘發 CTL 8 或 CD4 也就偏向是 Th1 或 Th 2

**The immune system recognizes pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) by means of pathogen-recognition receptors (PRRs), which include the Toll-like receptors (TLRs), C-type lectin-like receptors, cytosolic nucleotide oligomerization domain-like receptors and retinoic acid inducible gene-based- I-like receptors. These receptors bind microbial ligands (including cell wall components, lipoproteins, proteins, lipopolysaccharides, DNA and RNA of bacteria, viruses, protozoa and fungi) to trigger different types of immune responses. These PAMPs, specifically those binding the TLRs, are the basis of many adjuvants. In addition, cytokines, bacterial toxins and glycolipids that alter antigen processing are being used in adjuvants to elicit immune responses. Effective adjuvants and adjuvant formulations utilize multiple compounds and mechanisms to achieve the desired immunological enhancement . These mechanisms include the generation of long lasting antigen depots, increased immunological presentation of vaccine antigens by dendritic cells (DC) activated through the engagement of PRR or damage-associated molecular pattern (DAMP) receptors (danger or signal 0) and induction of CD8+ cytotoxic T-lymphocyte (CTL) responses and/or CD4+ T-helper (Th) lymphocyte responses (Th1 or Th2)**



佐劑當中最有效的方式，可能是經由活化樹突細胞上的微生物辨識受體。樹突細胞會根據它感知到的威脅形式，來引導其他免疫細胞以不同的方式反應。疫苗研發者可以運用這些知識來選擇佐劑，因此不只可以增進免疫反應，也能著重加強需要的反應。

## 病原辨識

樹突細胞含有類鐸受體(TLR)，TLR 能辨識多種病原的基本成分，如細菌蛋白質或特殊的病毒基因片段。佐劑可以激發一種或多種 TLR 來模擬不同的天然威脅。

## 樹突細胞指引

樹突細胞的訊號會決定 T 細胞與 B 細胞如何成熟與增殖。舉例來說，IL-12 偏好刺激殺手細胞與類輔助 T 細胞發育，而 IL-6 偏好刺激另一類會促使 B 細胞產生抗體的輔助 T 細胞發育。IL-6 和 IL23 一起能刺激另一種促進發炎反應的輔助 T 細胞發育。科學家也正在研究以 IL 作為佐劑的可能性。

## 四、 佐劑應用的地方

幾乎只要是非活病毒疫苗都需要考慮使用佐劑

- ✿ 增強去活化疫苗
- ✿ 加強蛋白質胜肽疫苗
- ✿ 次單元疫苗
- ✿ DNA 疫苗
- ✿ 裂解疫苗

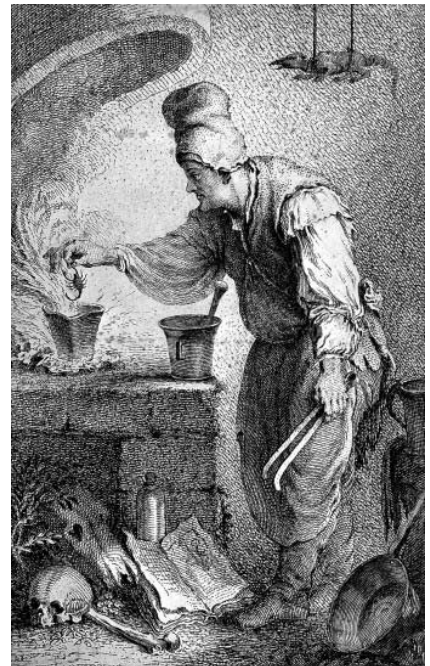
以上疫苗使用佐劑可產生有效且是長效的免疫保護力

## 五、 良好的佐劑應具有下列幾點

1. 施打前要安全、穩定
2. 容易被生物分解消除
3. 可以促進想要的特異性免疫反應 (Th1 或 Th2)
4. 製造便宜
5. 成分明確且品質穩定工廠容易生產

## 六、 那疫苗要選用哪一種佐劑？

1. 考慮疫苗抗原的性質
2. 想要激發出哪一種免疫反應途徑 (Th1 或 Th2)
3. 施打方式
4. 要避免有強大的副作用
5. 疫苗佐劑產品要穩定、容易保存



## 七、 常見的疫苗佐劑

### 1. 礦物質：

一些如鋁鹽 (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。

鋁鹽的發現：鋁鹽的發現就像是女巫調製魔藥一樣，無意間發現的，20世紀初期，法國獸醫拉蒙(Gaston Ramon)與英國免疫學家葛列尼(Alexander T. Glenny)進行動物實驗，測試了許多種物質，像是樹薯和氫氧化鋁等多種不同物質，來測試他們是否能加強白猴與破傷風疫苗的效用，結果發現鋁鹽可以提升免疫力。

鋁鹽的配方作用機制：

- i. 吸附抗原利於持續的抗原釋放：透過鋁粒子帶電來吸附抗原
- ii. 形成微粒構造：利於抗原被 APC 吞噬，例如 DC、巨噬細胞或是 B 細胞
- iii. 誘發發炎反應，導致巨噬細胞被徵招和活化
- iv. 刺激 MHC 2 的表現
- v. 誘導釋放趨化因子 chemokines by human monocytes and macrophages
- vi. 導致啟動和持久性的 Th2 細胞，然後製造 IL-4, IL-5 and IL-10
- vii. 促進體液免疫
- viii. 最新研究顯示鋁鹽會提高尿酸濃度產生結晶，刺激 TLR-2 產生作用



### 鋁鹽的優勢

- i. 安全
- ii. 增強抗原的免疫反應
- iii. 增加抗原的穩定性
- iv. 配方簡單易大規模製造

### 鋁鹽的缺點

- i. 很多感染控制需要**細胞免疫**的協助
- ii. 但是鋁鹽會**導致肉芽腫**

## 2. 其他佐劑簡介

MONOPHOSPHORYL LIPID A (MPLA)單磷酸脂 A 是一種新的佐劑，來自去毒化並進一步存化的脂多醣，刺激 TLR-4，但不會產生毒性反應。

Gram-negative bacteria extracts have strong immunopotentiating effects, however they are too toxic for routine use in human vaccines. Most of the immunostimulatory or toxic effects are derived from the lipid A portion of LPS, which is located in the outer-membrane of gram-negative bacteria. **Further analysis showed that by removing a phosphate group, sugar moiety, and an ester-linked fatty acid group the toxicity could be reduced 100- to 1000-fold, while still retaining the immunostimulatory function.** Similar to LPS, **MPLA interacts with TLR-4 on APCs**, although immune enhancement is observed in the absence of TLR-4. **MPLA initiates signaling through TRIF transcriptional activation rather than NF-kB**, which induces many pro-inflammatory cytokines associated with the toxic effects of LPS. **Binding of MPLA to TLR-4 initiates the synthesis of IL-1b, IL-12, and IFN-g, all of which are necessary for DC maturation, migration, and initiation of the T cell response.**

**油質乳化液**——例如MF59(水包油乳化液)、AS03(水包油乳化液+維他命E) MF59 is an oil-in-water microemulsion that includes squalene (derived from biodegradable plant oil), Polysorbate 80, and Span 85 (stabilizers) and small amount of MTP, a novel synthetic component derived from mycobacterial cell walls. **MF59 has been shown to stimulate a strong Th2 biased immune**

response to a large number of antigens and may be more suitable for subunit vaccines than alum. MF59-based vaccines that have incorporated recombinant antigens induce high titer antibody responses and T cell proliferative responses. Combination of MF59 with influenza subunits enhanced the immune response of elderly patients over that obtained using other adjuvants and is being evaluated for use in children. **MF59 does not induce Th1-type immunity (e.g., IFN-g) and, therefore, may not be suitable for vaccines where cell-mediated immunity is needed for protection.**

saponin---有Quil-A和QS21。saponin是一種天然的清潔劑，直接注射會導致溶血，而且機制尚未闡明，主要是增進抗原呈現，促使T細胞反應。

**Saponins are natural detergents which, when injected in a free form, cause severe reactogenicity and toxicity including hemolysis of red blood cells because of their ability to lower surface tension and interaction with membrane cholesterol which produces destabilization of the membrane and haemolysis. Presumably, cytotoxicity could involve the same mechanism, although some saponins induce an apoptotic process. The mechanism of action of the saponin derivative Quillaja saponaria 21 (QS21) is not fully elucidated, but in vitro experiments indicate that QS21 could improve antigen presentation and, therefore, optimize T-cell response.** Association of saponin with cholesterol reduces its lytic activity, and enhances its adjuvant effects possibly by improving bioavailability or targeting DC.

**CpG** 是特殊的細菌DNA片段，會被TLR-9辨認，而使樹突細胞活化強烈的T細胞反應。

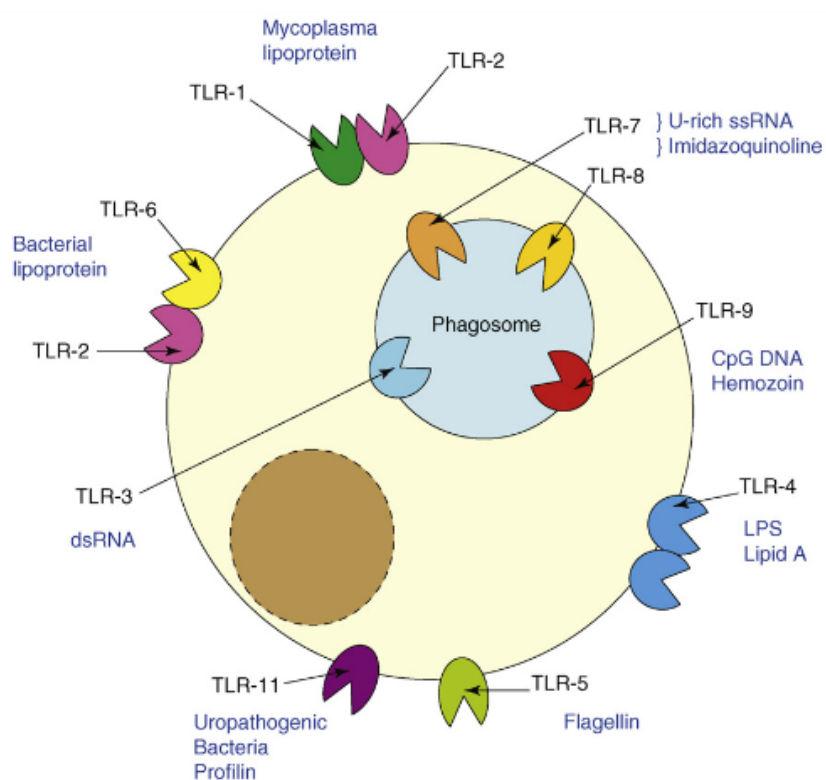
**CpG motifs, act through TLR-9 and induce activation of DC and secretion of pro-inflammatory cytokines** such as tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , IL-1 and IL-6. TLR-9 activation also leads to secretion of the proinflammatory cytokines interferon (IFN)- $\alpha$ , IFN-g and IL-12. **CpGs are extremely efficient inducers of Th1 immunity and CTL responses and induce protection against infectious disease, allergy and cancer in mice and primate models** . Ongoing clinical studies indicate that CpGs are relatively safe and well-tolerated in humans but their use has been limited in most cases to therapy rather than prophylactic indications. These are being evaluated both in the absence of antigen, for certain types of cancer therapy, and with allergens. **Because of the biological instability of CpG and their resulting short half-life, several**

approaches have been used to enhance their bioavailability.

微脂體用來運送抗原提供了類似保護的作用，成為一個延長免疫細胞與抗原接觸的補給站，類似概念有天然多醣類、人工聚脂組合合成的聚合物抗原籠，這些材料如果攜帶其他免疫調節劑稱為ISCOM。

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。

## 八、 TLR的ligand可作為佐劑開發的目標



TRENDS in Immunology

## 拾、疫苗安全性

活性減毒方面：減毒不足或是轉變成野生株，如小兒麻痺疫苗。

- ✧ 非活性疫苗方面：毒素或過敏反應如傳統全細胞(whole cell)百日咳疫苗。其內毒素(Endotoxin, 細菌細胞壁的 lipopolysaccharide, lipida)誘使 Macrophage 分泌 cytokine 如 IL-1、TNF 等，產生發燒、shock-like syndrome 等症狀。嚴重更會導致嚴重急性神經異常(有 80.5%的案例是在注射後 24 小時內發作)、智能發育嚴重或中度障礙、永久半身不遂(hemiplegia)、急性腦病變(Acute encephalopathy)、休克、過敏性休克。因此現在百日咳都採用非全細胞型(acellular component)與白喉、破傷風製成 DPT 疫苗。

### 沙賓、沙克疫苗之安全性

沙賓疫苗(OPV)－活性減毒疫苗；沙克疫苗(IPV)－去活性疫苗

- ✧ 口服第一劑沙賓小兒麻痺疫苗約七十五萬分之一會造成 vaccine-associated paralytic poliomyelitis(VAPP)，VAPP 多發生在口服第一劑的新生兒。即所謂因注射疫苗後引發與小兒麻痺類似的麻痺症狀。
- ✧ 免疫不全的人遭到 vaccine-derived polioviruses(VDPVs)感染引致，VDPV：當疫苗注入人體後再轉變成其他的致毒菌株，造成小兒麻痺症。
- ✧ 發症狀如皮膚炎、注射部位附近關節疼痛、過敏反應、抽搐、多發性神經病變(Polyneuropathy)、脊髓炎、面癱、基林－巴瑞症候群(syndrome de Guillain-Barré)、亞急性硬化全腦炎(SSPE)都相當嚴重。
  - 基林－巴瑞症候群(syndrome de Guillain-Barré)  
為一種感染後的多發性神經炎，因為小兒麻痺病毒主要侵犯周圍神經及腦神經，因此感染人體後會誘導 Macrophage 移動，當巨噬細胞吞噬病毒時會再侵蝕、破壞髓鞘，阻礙神經傳導造成軀幹、四肢無力及吞嚥上的障礙。



## 卡介苗(Bacillus Calmette-Guérin, BCG)之安全性

- ◇ BCG 為減毒性疫苗，人類歷史上是用最多的疫苗，其在一定程度上可以預防肺結核。
- ◇ 從沒有廣泛使用卡介苗的北美，結核病的盛行率也自然下降。廣泛應用卡介苗的國家，結核病的盛行率並無因為卡介苗的使用而下降。而流行病學研究也無法證明卡介苗可以預防肺結核。
- ◇ 目前比較肯定的是，卡介苗可以預防嬰幼兒的進行性初發性感染，因此為新生兒接種卡介苗還是有其重要意義的，但不應作為控制結核病的主要措施。
- ◇ 卡介苗在北歐造成發生率約 1/25000 的骨炎(osteitis)、也會引發「卡介苗炎」(BCGitis, becegites)，多發現於患有 SCID (severe combined immunodeficiency)的孩童。

## 其他疫苗之安全性

- ◇ 麻疹、德國麻疹、腮腺炎混合疫苗可引起紫斑、血小板減少、腦膜炎。
- ◇ 流感疫苗 (Flu vaccine) 可能引起過敏反應或基林－巴瑞症候群(GBS)。
- ◇ B 型肝炎疫苗 關節炎、腎絲球腎(Glomerulonephritis)、血小板減少 (thrombocytopenia)、紅斑(Erythema)、血管炎(vascularitis)、急性心包炎。
- ◇ 水痘疫苗可能引發過敏性休克(Anaphylaxis)。
- ◇ 黃熱病疫苗注射之後頭、背部不適，通常兩天內症狀會消失，但也有較為緊急的情況，如過敏、紅疹(rash)、紅斑、血管性水腫。
- ◇ 傷寒熱疫苗可引起腎病變(nephropathy) …… 等等。
- 不過疫苗大多都是經過許多臨床試驗才會開放給民眾施打，上述之副作用也是研究人員對此疫苗作安全上的評估，而如果體質特殊者或是有家族遺傳史的人，在疫苗施打之前應多諮詢醫護人員才是最佳之道。
- 族群免疫力 (herd immunity)

疫苗接種的使用成功地消滅了天花這種具有高度傳染力且極易致死的人類疾

病，今日有越來越多的新興疾病，由於大多數人免疫系統未有遭遇的經驗，一旦傳入人群中，極易發生大流行，此時若有疫苗的使用，將可有效阻止疫情的爆發，這種情況便稱為族群免疫力。（對於一般健康的青年人可以不用每個人都施打疫苗）

### 混合的多合一疫苗－未來接種的趨勢

✧ 混合型疫苗，又可稱為雞尾酒式的混合疫苗，就如同將不同酒類調成一杯雞尾酒一樣，其特色為：混合多種防疫項目於一種疫苗當中，讓寶寶打一針，就擁有多重的保障，且可省去多次施打的麻煩。

	名稱	包含疫苗內容	免費/自費
1	傳統三合一(DPT)	白喉、百日咳、破傷風	免費
2	新型三合一(或第二代)(DTaP)	白喉、非細胞性百日咳、破傷風	自費
3	五合一(DTaP-Hib-IPV)	白喉、非細胞性百日咳、破傷風、小兒麻痺及 B 型嗜血桿菌	自費
4	六合一 (DTaP-Hib-HepB-IPV)	白喉、非細胞性百日咳、破傷風、小兒麻痺之混合疫苗、B 型嗜血桿菌及 B 型肝炎	自費

p. s. 四合一：三合一加上 b 型嗜血桿菌。

## 結語與展望

✚ 理想的疫苗最少應具備下列幾種特性

1. 使用於人、畜必須十分安全，無副作用，且能產生良好及持久的保護性免疫力。
2. 價格低廉。
3. 便於保存。
4. 使用方便易於接種，且接種次數不須太多次。
5. 對於具有造成潛伏性感染的病原(pathogen)，不但要能抑制發病，還要能預防感染。

✚ 現在可以看到許多疫苗的研發(分子疫苗、次單元疫苗…等等)，都是以生物技術來做出，其目的都是希望能夠引發足夠的免疫反應，但卻不會對人體造成負擔，因此不管是預防性疫苗(對抗流感…等等)或是治療性疫苗(對抗癌症)都是需要大家不斷努力去研發，因為病原體如：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。