

出國報告（出國類別：參加會議）

至美國波士頓參加免疫治療及  
疫苗學會年會

服務機關：疾病管制署

姓名職稱：江正榮簡任技正

派赴國家：美國波士頓

出國期間：08/11/2013 - 08/18/2013

報告日期：10/18/2013

## 壹、摘要

此次參加免疫治療及疫苗學會年會舉辦之第 8 屆新型疫苗-創新技術與佐劑 (Novel Vaccine : Innovation & Adjuvant)會議，其主要目的為 1.獲得最新疫苗開發趨勢、技術及產品等相關資訊。2.增加與國際疫苗廠或研發單位實務性交流的機會。3.提供本署、其他研發機構或合作廠商意見，供疫苗政策制定及研發方向之參考。

此次會議是由 Cambridge Healthtech Institute 主辦，會議地點位於美國波士頓，Hilton Boston Black Bay Hotel，期程由 8/13-8/15，共計三天。會議內容包括 1.流感 2.正待克服之疾病 3.佐劑 4.DNA 疫苗 5.抗原相關洞見 6.開發疫苗新技術與趨勢 7.微粒技術等七大主題。

參加會議後認為在細胞培養方式建立疫苗株種庫，Prime-Boost 策略，佐劑與發展中的新疫苗標的物整合共同開發、使上游學研成果運用至商品的機制、各部會橫向溝通並定出研發優先順序，有機會了解 NIH『PSIIM 計畫』尋求合作等方面，都是我們以後可努力加油的部份。

# 目 次

壹、摘要-----	2
貳、目的-----	4
參、過程-----	4
流感(Influenza)-----	5
正待克服之疾病(Conquering Disease) -----	14
佐劑(Adjuvant) -----	16
DNA 疫苗(DNA Vaccine)-----	23
抗原相關洞見(Antigen Insight)-----	24
開發疫苗新技術與趨勢(New Technologies and Approaches for Development Vaccines)-----	26
微粒技術(Particle Technology)-----	30
肆、心得與建議-----	33

## 貳、目的

每年免疫治療及疫苗學會年會(The Immunotherapeutics and Vaccine Summit ; ImVacS)聚集全球的疫苗專家，針對疫苗開發的重要議題進行討論。這個學會，可作為重要人際網路建立、信息交流和合作管道建立之重要場合。"Novel Vaccines"學會，則為提供系統生物學和反轉疫苗學等方式製作更有效的疫苗，驗證如何推動對疫苗開發相關的訊息。此次參加免疫治療及疫苗學會年會舉辦之第 8 屆新型疫苗-創新技術與佐劑(Novel Vaccine : Innovation & Adjuvant)會議，其主要目的為 1.獲得最新疫苗開發趨勢、技術及產品等相關資訊。2.增加與國際疫苗廠或研發單位實務性交流的機會。3.提供本署、其他研發機構或合作廠商意見，供疫苗政策制定及研發方向之參考。

## 參、過程

此次會議是由 Cambridge Healthtech Institute 主辦，會議地點位於美國波士頓，Hilton Boston Black Bay Hotel，期程由 8/13-8/15，共計三天。會議內容包括 1. 流感(Influenza)2. 正待克服之疾病(Conquering Disease)3. 佐劑(Adjuvant)4. DNA 疫苗(DNA Vaccine)5. 抗原相關洞見(Antigen Insight)6. 開發疫苗新技術與趨勢(New Technologies and Approaches for Development Vaccines)7. 微粒技術 (Particle Technology) 等七大主題。Keynote Presentation 包括 Dr. Michael T. Osterholm、和 Dr. Peter Palese，另外 Featured Presentation 則為 Dr. Manon Cox、Dr. Nathalie Garçonc 和 Dr. John Tsang 等三位。

Tuesday, August 13

## INFLUENZA

### 一、The Compelling Need for Game-Changing Influenza Vaccines

*Michael T. Osterholm, Ph.D., MPH, Director, Center for Infectious Disease Research and Policy (CIDRAP), Professor, Environmental Health Sciences, School of Public Health, University of Minnesota*

當前以血凝素 (HA)-為主要抗原的流感疫苗，不管其產品產製的平台為何，針對多種不同病毒株或是長期保護效益，他們都不足以提供強健的臨床保護效果。現今這一代流感疫苗中，特別是針對醫療併發症風險高個的人或那些 65 歲以上老年人，要達到一致性的高保護效價，目前是難以找到證據的。由於季節性流感和嚴重的流感大流行的全球潛在影響，將會造成公共衛生重大負擔，所以我們急需創建新一代高效且具交叉保護的疫苗，並可以迅速地製造。含創新抗原且具脫胎換骨(game-challenging)的流感疫苗是最低要求，開發一種通用性疫苗則應該是最終目標。

該計畫總目標為以目前新型 H1N1 疫苗的推動為例，從各個面向(製造端至顧客接受度)提供客觀的評估，進而提供未來更細節和更實際之建議來改善國家的政策與能力，使得有關流感大流行疫苗之推動可更成功，同時亦可鑑定與描述出相關教訓與經驗，作為其他大規模疫苗接種活動推展之參考。該計畫總共審視超過 12,000 篇有關流感疫苗之文章、文件、抄本和筆記，年代甚至追溯至 1936 年。另外亦與在疫苗研究、開發和使用相關之專家 88 位進行面訪與簡報。

研究結果有下列重大發現：

1. Trivalent inactivated influenza vaccine(TIV)：18 歲至 64 歲之健康成人具中等保護效價(59%)；2-17 歲之小孩沒有一致性之保護效價證據；65 歲上之老人保護效價證據薄弱。
2. live attenuated Influenza vaccine (LAIV)：對 6 個月至 7 歲兒童具有高保護價(83%)；對於 65 歲或以上之老人保護效價證據非常薄弱；8-59 歲之個人缺乏保護效價證據
3. 開發出脫胎換骨的流感疫苗，其最大的阻礙就是對現有的疫苗，認為其對防止流感感染具有高效性。
4. 為努力降低致病率與致死率，過去 30 年來 ACIP 致力鼓勵擴大疫苗接種族群，但這些建議都是建立於專業判斷而非具有科學性證據。
5. 開發中之新抗原流感疫苗宣稱能提供有效、寬廣和持續性之保護效價，但須更實質之研究支援，做進一步開發和評估。
6. 目前美國核准流感疫苗的相關法規程序，是依據現有市場上之疫苗如何改善而設計的，所以這是發展脫胎換骨的流感疫苗最大的瓶頸。
7. 實質的財務風險和不足之誘因造成許多重大的困難，亦是無法將脫胎換骨的流感疫苗擴展至市場的原因。
8. 如何將政府機構、藥廠、學界和投資團體之間建立整合機構，將是新疫苗進入臨床試驗與取得執照之重要關鍵。
9. 目前政策目標著重於生產能力之提升，並未強調新型疫苗有效性對公共衛生造成之挑戰。

10. 相關政策、投資項目、組織架構和領導人才等相關困境都必須克服，才能創造出新抗原且具脫胎換骨的流感疫苗。

11. 流感大流行仍清楚和強烈的威脅著我們國家安全，故在政府機構、學界、和私人機構之間需要有相對應之優先順序策略和前所未有之整合，才能降低威脅。

計畫提出之相關建議：

1. 和現有之疫苗比較，新抗原的季節性 or 大流行流感疫苗必須具有較佳之效價與保護性，但它的安全性必須比現有之疫苗更好或相當。

2. 有關疫苗使用或是需要開發新型且更具保護力之疫苗等政策建議，其主要基石是應用科學性證據來臆測流感疫苗之效價與保護力，所以開發建立國際標準之方法來評估流感疫苗效價與保護性，包括診斷、研究方法設計、和分析方法等都是需要加以考量。

3. 任何大流行流感疫苗皆應該依據不同大流行之流病型態，證實其效價與保護性。只有大流行流感疫苗能依據國際公認之標準來證實其保護性，故應被考慮當成目前醫療之對策。這些疫苗必需儲備足夠量來保護全球之民眾，不管是流感大流行之前或是初期。

4. 要克服將脫胎換骨的流感疫苗推展至市場所衍生之許多困難，就是要為一個專為脫胎換骨的流感疫苗開發與取得執照而設計之模式，例如

(1) 美國政府必需將此脫胎換骨的流感疫苗開發計畫列為國家最優先的政策。

- (2) 合理的財務解決方案必須執行，以解決目前造成新型流感疫苗無法進入市場所衍生之經濟不利因素。
  - (3) 針對流感疫苗企業，需要建立新的組織和領導人才架構，提供科學和事業方面強力之領導方向，並作為一個計畫管理之模範，進而使資源擴大化。
5. 美國政府應在推展全球流感疫苗企業中扮演領導的角色，努力開發脫胎換骨的流感疫苗並推展至市場。WHO、其他國際組織、政府和私人企業夥伴皆應對這個以任務導向與和關鍵優先之策略所付出的努力強力支持。
  6. 國際所公認之標準用來評估流感疫苗有效性 (efficacy) 與效能 (effectiveness) 之方法應該被用來計算流感疫苗之成本效益 (cost effectiveness)。購買者可利用此一疫苗效果好壞的訊息建立一套合適之報銷標準，因為這些都是驅使疫苗市場往新型流感疫苗開發動力的重要因素。

## 二、Toward a Universal Influenza Virus Vaccine

*Peter Palese, Ph.D., Horace W. Goldsmith Professor and Chair, Microbiology, Professor, Department of Medicine, Icahn School of Medicine at Mount Sina*

流行在人類的流感病毒發生抗原 drift，流感疫苗接種計畫則需每年再接種。依據最近有關具廣泛中和抗流感病毒血凝素抗體產生的報告，建議只要給予正確的免疫抗原，引起寬廣範圍之體液免疫反應來對流感病毒應該是可行。我們設計了以血凝素為基礎的不同病毒相關構造（例如，無頭血凝素，嵌合血凝素），其中針對血凝素的莖部 (Stalk) 區域可直接反應，有效地促進交叉免疫反應。發展的通用型流感病毒疫苗，需要像其他病毒性疫苗一樣，只要單一或少許免疫抗原接種，這才能說這是代表朝著控制全球流感所邁進的一大步。

### 三、Flublok, the First FDA Approved Recombinant Influenza Vaccine

*Manon Cox, Ph.D., CEO, Protein Sciences*

Flublok 是重組血凝素流感疫苗，此技術平台(Baculovirus Expression Vector System；BEVS)提供非常有吸引力的替代方案來取代當前利用雞胚胎蛋產製流感疫苗(TIV)的製造過程。為防備流感大流行，2009 年 6 月從美國衛生與人類服務部授予 Protein Sciences Corporation 一份合同，進一步發展以重組流感疫苗為主的生產技術平台，最終於 2013 年 1 月 16 日美國 FDA 核准 Flublok，可適用於預防流行性感冒的成年人（18-49 歲）。Cox 博士將討論 Flublok/Panblok 在批准和製造過程中所遇到的挑戰，特別是每年疫苗成分變化應該如何處理。Flublok 目前已用於超過 3,000 人；是一種且生產速率快過雞胚胎蛋產製疫苗；對於 65 歲以上老人，尤其是 75 歲以上提供更好的保護效價；目前正著手進行年輕人與小孩之臨床試驗，並期望 FDA 能核准適用於 50 歲以上成年與老年人。

### 四、Cell Culture-Based Influenza Vaccine, Current and Future Prospects

*Theodore Tsai, Ph.D., Senior Vice President, Scientific Affairs, Novartis Vaccines*

2003-2004 和 2012-2013 這兩年提供之季節性感疫苗皆無法有效對抗 H3N2 流行株之感染。其主要原因是 2004 年 WHO 無法利用雞胚胎蛋選擇到與當時流行之 H3N2 株(Fujian/411-like)吻合之疫苗株，由於時間緊迫只好選擇吻合度次好之疫苗株(Moscow/10-Panama/2007-like)，結果 2004 年發生嚴重季節性流感(Fujian/411)流行，造成史無前例之小孩死於流感案例，所以美國就規定必須通報與流感相關之小孩死亡案例。2012-13 年也是所提供之 H3N2 疫苗株無法完全符合流行株。經研究證實，以細胞培養繼代產生之 H3N2 疫苗株與當時流行之 H3N2 野生株比較，發現人類與雪貂之血清抗體力價比為 160 vs 160-640，相差倍數介於 2-4 倍之間，如果以以雞胚胎蛋培養繼代產生之 H3N2 疫苗株與當時流行之

H3N2 野生株比較，抗體力價比為 1280 vs 40-80，則相差倍數大於 8 倍以上。綜上，只以 MDCK 細胞培養不用雞胚胎蛋繼代其所產生之病毒較能代表當時之流行株且能產生較佳之抗原。

目前有三種細胞產製流感疫苗取得執照，但這些疫苗在製造過程中遇到的阻礙，就是疫苗廠必需依靠 WHO 提供候選疫苗病毒株，而這些疫苗株都是在雞胚胎蛋中培養。候選疫苗病毒株經由雞胚胎蛋繼代培養，會造成人類流感病毒之抗原性改變，進而是疫苗效價降低。如果利用某種特定細胞繼代培養，則會降低因為寄主細胞繼代而改變的機率，進而增強疫苗效價。

流感病毒在人類呼吸道之接受器為 Sia $\alpha$ -2,6Gal，而在雞胚胎蛋的尿囊液內則屬於 Sia $\alpha$ -2,3Gal，所以如果利用 MDCK 細胞繼代培養人類流感病毒，病毒仍保有對 Sia $\alpha$ -2,6Gal 接受器之專一親和力，但如果在雞胚胎蛋的羊膜液繼代 2 次，尿囊液繼代 3 次，則發現大部分病毒對 Sia $\alpha$ -2,3Gal 接受器之專一親和力較高。所以利用 MDCK 細胞繼代培養可提供較具代表性與真實性之抗原。

總而言之，1.細胞培養產製過程不需依賴雞胚胎蛋的供應情形，容易控制且能促進對於疫苗株基因之掌控。2.MDCK細胞仍能對於人類臨床分離之病毒株保有其敏感性，可將流行病學相關之病毒株有效呈現在季節流感疫苗成分中。3.雞胚胎蛋繼代會使從人類分離出之野生株產生突變造成抗原特性改變，然而利用MDCK細胞繼代培養可防止此現象發生，且保留野生株基因和抗原特性，進而改善疫苗的效價。4.建議利用合成病毒當疫苗株，因它能準確從基因序列資料庫中快速地、準確地和可信賴地產生。另外利用細胞培養比雞胚胎蛋培養之優勢包括：1.半自動且可彈性控制較大產量之製程。2.可使用生物反應器替代雞胚胎蛋。3.無須使用抗生素和防腐劑(Thimerosal)。4.是在一密閉系統內操作，生物負載低，尤其在製造流感大流行疫苗可快速啟動。5.對臨床分離株有較好之敏感度。6.疫苗株比

較有潛力和野生株相匹配。

## 五、New Influenza Vaccines; This Should Be Easy

*Alan Shaw, Ph.D., President and CEO, Vedantra*

1933 年流感病毒被分離出，疫苗被投入使用起於在 1940 年代中期，而最初使用於軍事人員。雞胚胎蛋產製流感疫苗起始於 1960 年代，這些疫苗自從使用以來已有一些成功案例。亞洲發生之事件驅使對新的流感疫苗更有興趣，並帶動許多新技術來開發更好的流感疫苗。

新型流感有許多選擇

### 1.以 HA 基礎之疫苗

- (1) Protein Sciences：以昆蟲細胞(Baculovirus Expression Vector System)生產 HA 蛋白質，是一種通用型即插即用的產程(plug and play process)，從知道基因到生產完成只需 21 天的時間，所以比雞胚胎蛋生產更快速，其生產之 Flublok 為第 1 個美國 FDA 核准的基因重組流感疫苗，適用於 18-49 歲成年人預防流行性感冒。工廠設施是採取拋棄式，所以具備多功能用途且能快速擴充其量能，且無需處理具傳染性和危險性之病毒，故非常適合製備流感大流行疫苗。
- (2) Novava：以昆蟲細胞(Baculovirus Expression Vector system)生產含 HA、NA、M1 三種蛋白質之類病毒顆粒，這種方式可避免以雞胚胎蛋或是哺乳類細胞繼代生產引起之 HA 蛋白質改變。
- (3) VaxInmate：將血凝素(HA) 蛋白質之球型頭部區域 globular head domain 和細菌 Salmonella typhimurium type 2 蛋白質 flagellin 在基

因層級融合一起，然後於 E Coli 表現生產，低劑量可激發先天和後天免疫反應。

- (4) Vical：經過特殊調劑之質體(plasmid)DNA。
- (5) AlphaVax：利用 Alphavirus 載體表現 HA 蛋白質。
- (6) Hawaii Biotech：以昆蟲(Baculo)細胞生產類病毒。
- (7) Fraunhofer &Medicago：在菸草葉中生產類病毒顆粒，Landry N et al 等人((2010) Preclinical and Clinical Development of Plant-Made Virus-Like Particle Vaccine against Avian H5N1 Influenza. PLoS ONE 5(12): e15559) 發現每劑量只要 20  $\mu\text{g}$ ，且具備可快速大量生產，快速產生免疫反應和以植物為基礎的技術平台十分簡便等好處，另外在臨床試驗 1 期顯示其安全性佳，故建議在流感大流行之前或期間去進一步以評估植物製造類病毒疫苗的效價。

## **2. 活病毒疫苗(以噴鼻式方式接種)**

- (1) BioDiem：Leningrad 57 live attenuated，此疫苗株來自 Institute of Experimental Medicine in St Petersburg, Russia
- (2) Medimmune-AZ：Flumist
- (3) Vivaldi：live attenuated NS1 突變株，於 Vero 或 MDCK 細胞中培養。
- (4) Green Hills：live attenuated NS1 修飾(某些區域刪除)株，於 Vero 細胞中培養。

### 3.以載體基因傳遞之疫苗

- (1) replication-deficient modified adenovirus Ankara vector : Vaxine  
以此系統表現 HA，以噴鼻式方式接種；Vaxart 以此系統表現 HA 和 dsRNA(Toll like receptor 3)，以口服式方式接種。
- (2) 以 modified vaccinia virus Ankara (MVA)系統表現 conserved 抗原。
- (3) Vical：該公司具有 DNA 傳遞技術，並進行了 H1N1 和 H5N1 pandemic influenza DNA vaccines 臨床試驗。

### 4.通用型(Universal)M2e (matrix protein 2)疫苗

- (1) Acambis：3 個複製 M2e 表現在 hepatitis B virus core (HBVc)蛋白質上。
- (2) Merck：M2e 以化學共軛結合至 Neisseria meningitides 之 outer membrane complex (OMPC) 當成抗原，另外加上佐劑鋁鹽或 isomatrix(QS21)。
- (3) Dynavax：8 個複製之 M2e 和 NP 融合當成抗原並加上 CpG 佐劑。
- (4) VaxInnate：4 個複製之 M2e 和 Salmonella typhimurium flagellin 融合當成抗原，和 3M 合作利用經皮吸收技術發展皮膚貼片。

流感大流行有關疫苗考量最重要問題是「時間」，其中包括 1.製造疫苗株種庫的時間；2.建構足夠生產量；3.生產抗原時間；4.生產每劑之時間；5.產品檢驗所需時間；6.包裝與核准所需時間；7.運送時間。

下一個有關疫苗需考量的問題

1. 新疫苗將面臨以效價為基礎的證據，這將需要長時間與高成本的計畫
2. 以 HA 為基礎之疫苗在保護力之相關性具有優勢
3. 目前流感造成的意外非常低，故臨床實驗需要更多的人數
4. 美國一致建議需要有對照組，但目前臨床實驗無法進行，到底要在何處進行？
5. 針對老人發展較好疫苗

## CONQUERING DISEASE

### 一、TB Vaccine Development

*Jerald Sadoff, M.D., Head, Early Development, Crucell Vaccine Institute*

依據 Laith J. Abu-Raddad et al PNAS vol. 106 no. 33 13980 - 13985 Epidemiological benefits of more-effective tuberculosis vaccines, drugs, and diagnostics 研究結果，利用模擬模式發現，在東南亞地區每年每百萬人將會有 1,755 新 TB 案例的發生率，與 309 個和 TB 相關死亡案例，如果沒有新的防治方法，2015 至 2050 年將會有 101.7 百萬新 TB 案例和 17.9 百萬 TB 相關死亡案例，如果祇有新生兒接種疫苗至 2050 年發生率只有下降 39%，而接種疫苗加上其他防制方法可下降至 52%，大規模接種疫苗發生率則快速下降 80%。

Crucell 開發之 TB 疫苗 AERAS-402/Crucell Ad35.TBS 是利用一種不會複製之 Ad35 病毒載體來表現 TB 85A、85B 和 10.4 三種抗原，主要用途是做為 BCG 疫苗

之補接種用。臨床試驗結果發現使用在無感染 TB、已曝露或已感染 TB 成人、HIV 感染成人和 14 週齡嬰兒等都是安全的。

總而言之，在上述所有族群皆能產生抗原專一之 CD8<sup>+</sup>和 CD4<sup>+</sup>T 細胞；如果已接種過 BCG 能產生較佳之免疫反應；感染成人具有較佳之免疫反應；成人比小孩具有較佳之免疫反應；在嬰兒如果接種第三劑或許可增加免疫反應；如果以噴霧方式接種 AERAS-402，可產生較高之抗原專一之 CD8<sup>+</sup>和 CD4<sup>+</sup>T 細胞(CD8<sup>+</sup>遠高於 CD4<sup>+</sup>)；在 Bronchoalveolar lavage (BAL)之 T 細胞可消除 BAL 之感染；年輕人和成人大規模接種 AERAS-402 和其他 TB 疫苗對流行區域會有非常大之衝擊。

## 二、GeoVax Aids Vaccine, Progress towards Prevention of Infection

*Harriet Robinson, Ph.D., CSO, GeoVax Labs, Inc.*

GeoVax 開發愛滋病毒疫苗是先由重組 DNA 引起初效，接者再以重組改良 vaccinia Ankara (MVA)系統表現之成分刺激引發作用。這兩個成分都是以非傳染性類病毒類粒呈現。DNA 元件和巨噬細胞群刺激因子 granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)共同表現，不僅可增強了血清中抗體和粘膜性抗體反應，且臨床前實驗也證實可預防感染。SIV 原型疫苗證明經由多個直腸挑戰感染研究證明為期 3 年內皆具保護效果，且已達成最佳預防感染的目的。現在的臨床試驗更進一步透過美國政府贊助愛滋病毒疫苗試驗網路，證實該疫苗非常的安全，可產生重現的免疫反應和最佳種類的抗體反應。

## 三、Development of a Novel Vaccine for the Prevention of Clostridium difficile Infection

*Jon Heinrichs, Ph.D., Director, Microbial Vaccines, Vaccines Research, Merck & Co., Inc.*

Clostridium difficile 是發生抗生素相關性腹瀉之主要原因，特別是在醫院設施。最近 Clostridium difficile 疾病的發生率一直上升主要歸功於流行的 NAP1 株的出現。開發之疫苗如果包含了 TcdA、TcdB 和以 Binary 型式呈現之毒素 (CDTa 和 CDTb)，在倉鼠實驗中針對 NAP1 株之感染可產生保護效果。重組疫苗的效果和利用福馬林不活化 Clostridium difficile 毒素相當。TcdA、TcdB、CDTa 和 CDTb 等四種毒素可利用桿狀病毒表現載體系統表現出來並進行純化。另外倉鼠對於 NAP1 株之感受性是與腸道內之微生物叢的改變有相關性。

**Wednesday, August 14**

## **ADJUVANT**

### **一、Adjuvants: Yesterday, Today and Tomorrow**

*Nathalie Garçon, Ph.D., Vice President and Head, Global Center for Adjuvants and Technology Innovation, GlaxoSmithKline Biologicals*

目前疫苗研發之挑戰有 1. 新興病原或傳染病 2. 難以推廣之目標族群，包括嬰兒、懷孕婦女、老人和免疫系統有缺陷的個人等。要克服這些挑戰，可從下列方向去著手 1. 發現新抗原 2. 新抗原的呈現方式 3. 新傳遞系統 4 新佐劑。最早使用之佐劑為 1913 年之 Coley's toxin，主要適用於治療癌症。1925 年 G. Ramon 正式稱那些能協助抗原增加抗體產生之物質為佐劑 (adjuvant)。1926 年 A. Glenn 第一位證實鋁鹽具有佐劑效果。目前核准的疫苗新佐劑，在歐洲為 AS04 (HPV16/18, Hep B)、AS03 (H5N1)、MF59 (Pandemic Flu、Elderly Flu) 和 AF03 (Pandemic Flu) 等 4 種，並有針對人類使用的疫苗佐劑開發指引；在日本為 AS04 (HPV) 和 AS03 (Pandemic Flu，緊急狀況才能使用)，並無佐劑開發指引；在美國為 AS04 (HPV)，亦無佐劑開發指引。

新一代佐劑之研發基礎是以觀察或嘗試錯誤的方式進行，2011 年諾貝爾醫學獎其主要發現有二：1. 發現先天免疫反應如何被活化 2. 發現樹突狀細胞 (dendritic cell) 在後天反應所扮演之角色。而這些發現將更助於了解佐劑在細胞或分子方面之作用機轉，進而使佐劑開發更向前邁進一大步。有關佐劑法規方面之要求包括 1. 成份物質：佐劑不應加入產品中，除非能提出令人滿意的證據，證明佐劑不會引起副作用且能增強產品的效價。2 佐劑不能單獨申請執照，但如果是特殊之抗原和佐劑調劑則可：FDA Code for Federal Regulation Title 21, 210.3(b)(7) 明白定義佐劑並非有效成分，故無法和疫苗分別申請執照；接種疫苗時，佐劑必須是產品劑型的一部分。綜上，證明產品在使用族群之風險與效益是獲得產品執照之重要關鍵，然而一但證明添加佐劑之效益，接下來安全性評估則為疫苗被接收之主要基石。一般含佐劑疫苗之安全性評估與監測，在臨床前試驗需進行毒理試驗，費時約 5-15 年，接下來臨床試驗亦費時約 5-15 年，至於上市後市場監測則需進行產品整個生命週期。

有關安全性評估與監測的挑戰包括下列：

1. 潛在安全問題和理論上所關心之議題：

例如：嚴重局部性或全身性反應原性 (reactogenicity)；全身性發炎反應；不良免疫反應之理論風險值所造成之免疫反應失調。

2. 經常被引用之假說：

例如：鋁鹽相關之 macrophagic myofasciitis (MMF)；Squalene 相關之 Gulf War Syndrome 等。

3. 需要隨時具備持續性安全監測系統，能快速鑑定和評估暫時與疫苗相關之嚴重或罕見副作用 (例如猝死、免疫反應失調如 GBS、narcolepsy 等)。

4. 當需要時，必須能啟動有關安全訊息評估和分辨可能致病原因且非巧合之研究。

至目前為止有關佐劑我們所獲得之經驗：

1. 佐劑並非所有作用皆相同，他們不同點包括 1. 誘導免疫反應的型式 2. 直接作用的細胞 3. 相關的發炎反應或其他副作用 4. 依據標的組織不同，其作用亦不同。
2. 針對重組抗原為主之疫苗，當它需要同時引起細胞性或體液性免疫反應時，組合佐劑是目前令人感到有前景的趨勢。
3. 如何使這些佐劑系統發揮最大效果且保證作用至想要到達之免疫細胞，調劑是最重要的關鍵。
4. 目前為止尚未有重組抗原和佐劑之組合能有效持續刺激 CD8<sup>+</sup>細胞反應。

至目前為止我們所獲得之經驗對未來影響為何：

1. 對於有關先天與後天免疫反應互相交叉作用之了解愈多，愈是為我們新一代佐劑開發或是現有佐劑之了解開了一扇門。
2. 對於副作用之預測模式仍是非常關鍵與需要。當然第一步驟就要鑑定出人類和動物體內之生物指標，這些將會影響預測模式之開發。
3. 佐劑之調劑將是疫苗開發的關鍵步驟之一，尤其是新佐劑的開發更是需要在這方面多著墨。
4. CD8<sup>+</sup>和體液性免疫反應之產生可能需要依賴 Prime-boost 的趨勢。
5. 接種途徑開發仍然落後，我們應考量除了肌肉與靜脈注射之外能展現更有效之途徑。

## **二、Making a "Super" Vaccine: Using TNF Superfamily Ligands to Adjuvant Antibody and T Cell Responses from HIV-1 DNA and Viral Vector Vaccines**

*Geoffrey Stone, Ph.D., Assistant Professor, Microbiology, and Group Leader, Immunology, HIV Immunotherapy Program, University of Miami Miller School of Medicine*

腫瘤壞死因子大家族配體(TNF superfamily of ligands (TNFSFL))包括超過 15 種以上(例如 CD40 L、4-1BBL、CD27L、OX40L、GITRL、TL1A、LIGHT、BAFF、APRIL 等)之誘導劑來共同刺激樹突狀細胞和 T 細胞。我們將提出下列證據說明這個家庭的成員可以基因工程方式增加 DNA 和病毒載體疫苗免疫原性和有效性。某些 TNFSFL 可提高抗 gp120 抗體的品質，導致增強中和效果和小鼠的存活率。其他 TNFSFL 已可大大提高 T 細胞反應，例如與 Ad5 載體 DNA 疫苗劑型。

## **三、Inducing Broadly Cross-Protective Antiviral Immunity with Advax, a 3rd Generation Vaccine Adjuvant**

*Nikolai Petrovsky, Ph.D., Professor, Endocrinology Department, Flinders Medical Centre, Flinders University, and Research Director, Vaxine Pty Ltd.*

研究趨勢轉移到高度純化的抗原卻發生了疫苗免疫原反應缺乏的問題。目前解決此問題的想法就是使用先天免疫反應啟動劑來作為佐劑，因為它是以模仿自然感染模式而設計。Advax™佐劑來自 inulin，該物質是從天然植物分離出的一種多醣體，能有效加強細胞與體液性免疫反應。在雪貂實驗，接種分裂病毒粒子 H5N1 疫苗加上 Advax™，可有效加強免疫性、增加存活率和降低死亡率(Vaccine. 2011 Aug 26;29(37):6242-51)。另外在老鼠與天竺鼠試驗，免疫 hepatitis B surface antigen (HBs) 加上 Advax™，可有效增強 anti-HBs 抗體力價和 anti-HBs CD4 and CD8 T 細胞，亦可增加 Th1, Th2 和 Th17 細胞因子反應(Vaccine. 2013 Apr 8;31(15):1999-2007)。接種流感疫苗和 Advax™佐劑，可增加中和抗體和 T 細胞

反應，進而加強保護效價，降低發生率與死亡率。Advax™佐劑作用模式類似 MF59，是一種屬 Th0 型態之佐劑 (Vaccine. 2012 August 3; 30(36): 5373 – 5381.)。

#### **四、Improving the Efficacy of Cancer and Infectious Disease Vaccines with the Novel Synthetic Saponin Adjuvants**

*Jeffrey Gardner, CEO, Executive, Adjuvance Technologies, Inc.*

QS-21 一直為免疫佐劑選項之一，並且在許多癌症、感染性疾病和甚至退化性疾病之疫苗試驗中已證明其效價。目前已參與 100 個以上臨床試驗，超過 14,000 個病人使用過。最近已開發新的合成技術 TriSST(Tritertpene Saponin Synthesis Technology)，且合成 QS-21 相似物包括 TiterQuil-1-0-5-5 和一些新的類似物。這些合成物被用於 Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) 共軛疫苗來對抗一系列的糖脂和多肽癌症抗原。另外這些以截斷合成和半合成之 QS21 類似物已取得重大進展，不僅克服了 QS 21 本身之問題，且現已改善純度的問題、穩定性、安全性、可用性和佐劑效價/毒性比例等。

#### **五、Development of Cyclic Dinucleotides (CDNs) as STING-Targeted Molecular Adjuvants**

*Thomas Dubensky, Ph.D., CSO, Research and Development, AduroBioTech, Inc.*

我們証實重組蛋白配合 CDN 佐劑之疫苗可促進胞液轉運進而誘導抗原特異性 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 細胞反應，並且在病毒性挑戰模型中會產生和保護性免疫具關聯的 Th1 抗體。當 CDN 與經輻照之 GM-CSF 分泌腫瘤細胞疫苗(STINGVAX)共同調劑，會於體內調節並啟動樹突狀細胞，在一種嚴格的 B16 黑色素瘤治療模型中，證實 CDN 能有效的降低腫瘤生長。針對傳染性和惡性疾病，有效疫苗的發展和臨床轉譯，STING 可代表是一個新佐劑的目標族群。

總結，CDN 可加強疫苗效價，主要機轉為 1.加強抗原特異性 CD8<sup>+</sup>和 CD4<sup>+</sup>T 細胞反應 2.誘導 Th1 為基礎之體液性免疫反應 3.誘導產生以 T 細胞調節之保護免疫反應。與 CDN 調劑可加強區隔效益使抗原直接至 cytosol 繼而加強效價，另外將 CDN 修飾其結構可降低寄主細胞 phosphodiesterase 的分解，進而加強疫苗的有效性。另外如果結構中不具有 non-canonical phosphate bridge 則可成爲 Peripheral blood mononuclear cells (PBMC)有效的活化劑。

## 六、Development of Protein Capsular Matrix Vaccine (PCMV) Platform Technology

*Kevin P. Killeen, Ph.D., CSO, Matrivax Research & Development Corp.*

目前主要多醣體疫苗市場有

1. 肺炎鏈球菌疫苗：肺炎鏈球菌每年全球造成超過 1 百萬人死亡；在美國每年約 3,000 腦膜炎案例；5 萬菌血症案例；50 萬肺炎案例和 7 百萬中耳炎案例。目前疫苗產品有 Pneumovax 是 23 價疫苗，效價無法長久持續，而另 1 種 13 價疫苗產品爲 Prevnar，適用族群有限制，2012 年售出金額爲 37.2 億，全世界市場預估有 80 億，其中 5 億來自中低收入國家。
2. 流行性腦脊髓膜炎苗：全球每年約 17 萬由細菌性腦膜炎造成之死亡案例，美國每年約 3,000 案例，死亡率爲 10% ，市面上有 Sanofi 生產之 4 價疫苗，適用年齡 2-55 歲，銷售金額爲 10 億，最近 Novartis 將有 4 價疫苗 Menveo 上市。
3. 傷寒疫苗：有大於 2 千 6 百萬案例；全世界因傷寒熱死亡每年約 200-6000 人，S. paratyphi A 在中國有高發生率；Typhim Vi 和 Vivotif 具適中保護效價(約 70%)；傷寒熱市場銷售大於 2 億，如果包括副傷寒則大於 3.5 億。

Matrivax R&D 公司正在開發專有疫苗技術平台，被稱為蛋白質鞘膜矩陣疫苗 Protein Capsular Matrix Vaccine (PCMV)，主要是將多醣體嵌入交叉鍵結之 CRM197 蛋白矩陣中。以生產 13 價肺炎鏈球菌疫苗為例，傳統製造多醣體聚合 (glycoconjugate) 疫苗需要約 92 個 GMP 步驟，而為 PCMV 技術平台只需約 5-10 個 GMP 步驟，故製造容易且主營業務成本(Cost of Goods)低。

目前以 3 或 4 價 pneumococcal polysaccharide (PPS) 產品結果顯示：和 13 價 Prevnar 疫苗必較，針對 4、5、14、18C 等四種抗原，以 PCMV 技術產製之產品有較佳之免疫反應特性。如果是 13 價(PPS) 產品結果顯示：和 13 價 Prevnar 疫苗必較，針對 10 種 PPS 抗原，其中 3 種抗原產生之免疫特性大大優於 Prevnar，另外 2 種抗原相當，5 種抗原只達到 Prevnar 疫苗 15%劑量之效價。如果是 23 價(PPS) 產品結果顯示，和 13 價 Prevnar 疫苗必較，針對 10 種 PPS 抗原，其中 3 種抗原產生之免疫特性大大優於 Prevnar，另外 2 種抗原相當，5 種抗原只達到 Prevnar 疫苗 12%劑量之效價。

綜上，多價 PPS PCM 劑型產品證實，針對 10 種 PPS 抗原，其中 6 種包括 PPS 1、4、5、14、18C、19F 其免疫特性優於 Prevnar 疫苗。另外 Matrivax 亦開發傷寒之 PCMV 候選疫苗(Vi)，目前亦完成臨床試驗用藥之 GMP 生產，預計 2014 年進行第一期臨床試驗計畫。

## DNA VACCINES

### 一、New Insight on the Induction of High Quality Antibody Responses by DNA Immunization

*Shan Lu, M.D., Ph.D., Professor, Infectious Diseases and Immunology, University of Massachusetts Medical School*

DNA 疫苗接種概念被正式接納於 20 年前，1990-1993 是 DNA 疫苗最令人興奮之發現期，1993-2008 大規模進行臨床前與前趨臨床試驗，但結果都是免疫反應低，2009-至今則以人體臨床試驗為基礎進行許多創新的研究。最近的結果包括人體臨床試驗，表明 DNA 免疫能有效激發 B 細胞並產生抗原專一、細胞性調節之高品質抗體反應。先天和後天免疫系統中的多個以前未知的機轉都是參與此一進程。

成功之 HIV-1 疫苗需要能產生中和抗體且能產生細胞性 T 細胞免疫反應。以 HIV 疫苗為例，如果是 heterologous prime-boost 方式之疫苗因包含兩種不同成分，其所產生之效果比以 homologous prime-boost 方式之疫苗其只含 1 種單一成分來的更令人期待。

最近研究發現 DNA 疫苗在初始接種和補接種策略中是十分有效的。DNA 疫苗初始接種和不活化疫苗補接種策略比 DNA 或不活化疫苗單獨接種更能產生保護效價。雪貂實驗亦發現先以 DNA 疫苗初始接種再以減毒流感疫苗補接種，其對抗 H5N1 病毒所生之免疫反應與清除病毒效果高於接種兩劑減毒流感疫苗。

因此 DNA 疫苗可當成第一次接種之疫苗(大流行前接種)，不論是在爆發大流行之前或距離相當一段期間，如此就可降低爆發大流行需製造大量不活化疫苗之壓力，但如何訂定第一次接種疫苗之時機，仍需進一步研究。另外 DNA 疫苗儲存期長，所以製造此產品非常吸引人。

## 二、Turning Self-Destructing *Salmonella* into a Universal DNA Vaccine Delivery Platform for Prevention and Treatment of a Diversity of Diseases

*Wei Kong, Ph.D., Research Assistant Professor, Center for Infectious Diseases and Vaccinology, The Biodesign Institute, Arizona State University*

將重組減毒自毀沙門氏菌疫苗 (RASV) 株變成普遍使用的 DNA 疫苗傳遞工具，我們的做法是以基因改造的 RASV 菌株，使其產生超強之的表現型，能以最大效率進入宿主細胞，內化，使沙門氏菌 endosomal escape，釋放 DNA 疫苗到細胞質，另外能減少沙門氏菌對宿主細胞產生 pyroptosis/凋亡，允許 DNA 疫苗能有充裕時間到達細胞核，進而合成編碼保護性抗原。通過這些技術的改進，將 DNA 疫苗有效地傳遞至經刺激的黏膜系統，和產生細胞性免疫反應，並在成本效益控制和多樣性的疾病預防提供有效的典範。

## ANTIGEN INSIGHTS

### 一、A Microbial Achilles Heel: Poly-N-acetyl Glucosamine is a Ubiquitously Expressed Vaccine Target on Bacterial, Fungal and Protozoan Pathogens

*Gerald Pier, Ph.D., Professor, Medicine, Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School*

聚-N-乙醯葡萄糖胺(PNAG)，是一種  $\beta$ -1-6 鍵結之 N-乙醯葡萄糖胺的聚合物，且目前已知存在於大多數細菌、真菌和原生動物寄生蟲等表面之多醣體。如同以鞘膜抗原為基礎之有效疫苗，例如抵抗 S. 肺炎、H 流感嗜血桿菌 b 型和 meningococci 等疫苗，在此疫苗抗原類別中尋找到另一個保守的標的抗原 PNAG，且能針對從鏈球菌、結核分枝桿菌、C. albicans 到瘧疾等病原體，引發

寬廣保護效果的可能性。對 PNAG 產生自然免疫力是常見，雖具備人類自然產生之 IgG<sub>2</sub> 抗體但由於缺乏補體系統之 opsonins，故在微生物表面是無效的。合成一非乙醯化 9-氨基葡萄糖低聚糖(9GlcNH<sub>2</sub>)並與破傷風類毒素結合所產生之疫苗，針對眾多能表現 PNAG 的生物體可產生有效殺菌/調理/保護抗體。

## 二、Breast Cancer Vaccines Targeting the Thomsen- Friedenreich Antigen

*Kate Rittenhouse-Olson, Ph.D., Professor and Director,  
Biotechnology Program, Department of Biotechnical and Clinical  
Laboratory Sciences, University at Buffalo*

Thomsen-Friedenreich 抗原(TF-Ag)，(GalBeta1-3GalNacAlpha0-Ser/Thr)，是一與腫瘤相關的醣類抗原，在正常細胞是隱藏的，但在腫瘤細胞則會暴露產生免疫反應。在 80%以上的人體腺癌都會表現，並且在腫瘤細胞轉移 metastasis 中發揮著重要作用。抗-TF-Ag 抗體被動給予證明在人和小鼠腫瘤模型中，可有效阻止轉移 metastasis，並可增加腫瘤小鼠的存活率，由此可顯示主動 TF Ag 免疫治療可能在臨床上是有效的。對此抗原產生免疫反應已經證明很困難，但有 2 種成功新型主動免疫做法將介紹，一種是利用金納米粒子(AuNPs)作為疫苗的平台，另一種是利用一個古銅色的紅血細胞 tanned red blood cells 胞作為疫苗的平台。

Thursday, August 15

## NEW TECHNOLOGIES AND APPROACHES

### FOR DEVELOPMENT VACCINES

#### 一、Systematic Dissection of Immune Responses in Humans by Utilizing Natural Variations and Vaccination

*John Tsang, Ph.D., Chief, Systems Genomics and Bioinformatics Unit, LSB, Head, Computational Systems Biology, Trans-NIH Center for Human Immunology (CHI), NIAID-NIH*

NIH 有一計畫名稱爲「The Program in System Immunology and Infectious Disease Modeling(PSIIM)」，他們是利用 System Biology 趨勢去了解生物體內所有零件間相互作用之架構與圖像。爲了在一整合的層面了解感染或疫苗接種之後的反應，實驗室研究了解先天和後天接受器依賴途徑的交叉反應情形以及其控制之基因架構。

研究者有從下至上的計畫去了解和建立在特殊型態細胞間訊息傳遞的模式。另外亦有從上至下的趨勢研究，主要是利用干擾分析，不僅在細胞層級甚至是在組織或生物體中，去探討大範圍相互反應的架構。爲完成此目標目前著重於 1. 病原如何感官重要的先天細胞例如巨噬細胞 (macrophage) 2. 了解抗原接受器包括細胞因子和 TLRs 之間訊息的交叉反應，進而解釋這些反應如何決定 B 細胞變成記憶細胞或是具長效性之血漿細胞。另外利用寄主基因群或是微生物叢去開發尋找免疫反應的調整點，進而決定感染或是疫苗接種的反應。以上研究對於疫苗研發都是非常關鍵。

首先發展人體在健康狀態或是疾病時之免疫力系統生物學模型，該實驗室廣泛且深入分析各種免疫參數在基準線和接種流感疫苗後之回應。接種疫苗前後測量個別間變化包括周邊血液 transcriptomes、血清力價、細胞亞群頻率和 B 細胞反應等，用於建立接種後抗體反應的預測模型。我們發現利用單獨使用干擾前之參數數據可以產生準確的模型。值得注意的是，許多有助於預測模型的關鍵因素涉及跨越個別最穩定的基線差，這些都可做為臨床接種疫苗前，增進健康監測免疫系統中的有效性。

## **二、Novel AIDS Vaccine Approaches: Focus on Epitopes Linked to Vaccine Protection**

*Ruth M. Ruprecht, M.D., Ph.D., Professor of Medicine, Harvard Medical School and the Dana-Farber Cancer Institute*

在此研究中，無論疫苗目標物或傳染性病原體，我們開發以保護相關聯之 biopanning 方式，作為一種通用工具來探測與疫苗保護相聯繫的抗體 paratopes。在概念驗證實驗中，我們利用疫苗免疫之獼猴進行不同種類之 SHIV 感染，發現具有完全或部分保護效果之獼猴，其體內具備 anti-HIV-1 Tat 中和抗體。綜言之，利用新開發保護相關聯之 biopanning 方式，我們證實在多成份疫苗中包含 HIV-1 Tat，應可尋求到促使體液及細胞性免疫反應之目標。

## **三、Messenger RNA-Based RNAActive Vaccine- A University Applicable, Disruptive Technology for Immunization**

*Karl-Josef Kallen, M.D., Ph.D., CSO, CureVac GmbH*

一種新型且以核苷酸為基礎免疫技術產製之 RNAActive® 疫苗，具備抗原和佐劑之特性且可引起先天和後天免疫反應。它主要是修飾野生型 mRNA 自然發生之核苷酸 A、G、C、U，不僅可增強其安定性，且可大程度增強蛋白的表現(約 4-5 倍)，另外與魚精蛋白結合可增加其佐劑效果且啟動免疫系統經由 Toll-like 接受器 7 (TLR7)。具有佐劑功能之 RNAActive® 疫苗可誘導產生強烈且平衡體液性

和 T 細胞調節之免疫反應、重要次族群之免疫細胞如 Th1 和 Th2。臨床前實驗中發現，接受多種流感病毒株挑戰，RNAActive<sup>®</sup> 疫苗可成功產生保護效果，避免感染。另外在多種具有抗腫瘤活性實驗中，臨床前試驗不管是治療或是預防都具備抗腫瘤效果。臨床經驗亦證明安全和對人類具免疫原性。

#### 四、Adjuvant-Guidance of T-cell response

*Magdalena Tary-Lehmann, M.D., Ph.D., CSO, Cellular Technology Limited (C.T.L.)*

目前執行 Cell Mediated Immunity(CMI)所遇到之挑戰：

1. 功能性或相關性之生物標誌檢測方式需要活的檢體或細胞
2. 需要不同之臨床場所收集足量且好品質之細胞，且通常無法當場進行檢測。
3. 對於初代細胞(Primary Cell)檢驗方法須建立有效之監測測試系統、確效系統和配製標準品。

在相關法規環境下，監測 CMI 的方法其最低要求項目：

1. 能測量生理與臨床上之相關反應
2. 具備高靈敏度能檢測低頻率之反應
3. 檢驗方法必須確效達到準確度、精確度、一致性、線性關係和能偵測之限度等要求，且一連串的檢測結果能達到重覆性。
4. 資料分析儀器設施所輸出之資料必須具客觀性且能符合 21 CFR Part 11 Compliant Laboratory Setting 相關規定。

在相關法規環境下，監測 CMI 的方法其最想要的功能項目：

1. 對於新鮮和先前已冷凍之檢體所得結果都是一樣。
2. 適用於外來且遺傳不同之族群
3. 可量化，尤其是臨床試驗後期需要一次能操作上百個檢體
4. 可標準化，不管內部實驗室或是多中心，甚至大型國際臨床試驗所得結果都是穩定一致性。

目前用於評估細胞因子(cytokine)產生之 CMI 檢測方法有：

1. 以上清液 (supernatant) 為基礎的方式包括：Enzyme-Linked Immunosorbant Assay(ELISA)和Luminex & Cytometric Bead Array.
2. 以細胞為基礎的方式：Enzyme-Linked Immunosport Assay(ELISPOT)和 Fluorescence-Activated Cell Sorter(FACS)。

結論：

1. 免疫學檢驗在臨床開發和監測階段是非常關鍵的。
2. 免疫學檢驗在科學上是合理且正確的。
3. 針對免疫性監測，ELISPOT 是一理想的檢測系統
  - (1) 對於新鮮檢體和冷凍細胞所得結果都是一樣。
  - (2) 是利用生理性之刺激物質例如抗原、胜肽、蛋白質。
  - (3) 非常具靈敏度
  - (4) 穩定的
  - (5) 可大量操作
  - (6) 可標準化
  - (7) 重覆性高
4. 要評估疫苗或生物製劑，適當的資料解析系統是必需的，如果沒有，將無法有效評估其藥效與有效性，甚至無法偵測到想要的結果，導致整個計畫失敗。

## **五、Fungal Antigens that Protect Against Fungal and Bacterial Pathogens**

*John P. Hennessey, Jr., Ph.D., Vice President, Novadigm Therapeutics, Inc*

儘管最近核准上市之疫苗強調為新的目標，但對真菌感染仍沒有核准上市的疫苗。最近在這一領域研究發現含兩個真菌抗原(agglutinin-like sequence 3 protein (Als3p))之疫苗(NDVA-3)，臨床前實驗結果證實對特定細菌病原

(Staphylococcus aureus)有不錯的效價，這是第 1 個疫苗證實同時有抗真菌和細菌抗原之跨界保護效用。這前所未有的跨界保護作用預測，主要是利用由 UCLA, Dr. Michael Yeaman 和同事所發展之電腦模擬模式評估其基因序列和結構之相似性所得到之成果。

## PARTICLE TECHNOLOGY

### 一、Skin Delivery of Flu Vaccine with Micro Arrays

*Derek O'Hagan, Ph.D., Global Head, Vaccine Delivery Research, Novartis Vaccines*

人的生命週期愈來愈長，目前懷孕婦女需要抵抗 8 種主要病原，嬰兒與小孩(0-8 歲)則有 13 種，8-18 歲年輕人有 7 種，55 歲以上老人則高達 15 種，未來幾年將看到一系列針對重要傳染性疾病的新疫苗引入，這將是一項挑戰，因為這些疫苗要納入已經十分擁擠的嬰兒免疫時程表。此外，這些疫苗將針對不同人口族群，通常他們並不需要接受週期性疫苗接種，這些族群包括青少年和老年人。要患者依從，我們的確需要新的接種方式使其更易執行，最好就是無需使用傳統的刺針。雖然新型疫苗接種方式引起興趣已很久遠了，目前為止只有有限的商業成功案例。

目前黏膜式免疫方式具有下列優勢：1.更易接種且能改善抱怨；2.產生地區性免疫效益，能抑制感染地區病原之傳染；3.具備多次接種的潛力；4 是屬於較安全的接種可避免因針具再使用引起之感染。然而目前只有減毒疫苗成功的案例，次單元蛋白質和共軛疫苗並無成功案例，且尚未具備寬廣有效性之載體(carrier)產生。該免疫方式的接種途徑有：1.噴鼻方式：目前有產品執照為減毒性流感疫苗，但有安全性方面之考量，例如含佐劑之流感疫苗有 Bells Palsy 副作用之產生。2.口服方式：目前有產品執照為減毒小兒麻痺和輪狀病毒疫苗等。但內臟對於非活病原疫苗仍難以達到所需效果且是否有潛力適用於口腔仍值得懷疑。另有關口服免疫方式的瓶頸包括(1)胃內的 pH 值低(2)會遭遇許多釋放蛋白質分解酵

素(3)經由黏膜的擴散速率低(4)易受膽鹽分解(5)對於黏膜性抗體無法產生專一性結合(6)對蛋白質的吸收性低(7)在表皮細胞中會降解(8)飲食中有須多競爭性蛋白質。3.經皮吸收方式：最近獲得產品執照為 ID 流感疫苗，但此接種方式並非無針頭方式。此方式有自我接種、改善疫苗安定性和劑量節約等好處，惟如何才能最有效經由皮膚傳遞仍需進一步研究討論。

最近對皮膚傳遞方式有了進展，許多疫苗經由皮內注射的觀念被證實，流感疫苗臨床前試驗結果發現：它能改善保護效價，免疫反應有較長得持續性和產生黏膜式免疫反應。至於那一類的疫苗較適用於皮膚傳遞，可著重於 1.年齡族群：以嬰兒、年輕人和老人為主。2.新觀念之疫苗：例如癌症疫苗和治療性疫苗。3.接種次數較頻繁之疫苗：流感和需要補接種之疫苗如 DPT。最後調查發現母親心目中最理想之小兒疫苗：口服，一撕開就能溶解於口中、小孩專一性和容易接種等。

## **二、Tuning Innate Immune Activation by Surface Texturing of Polymer Microparticles: The Role of Shape in Inflammasome Activation**

*Evelyn A. Kurt-Jones, Ph.D., Professor of Medicine, University of Massachusetts Medical School*

聚合物微粒已廣泛作為藥物傳遞和疫苗學之平台，應用此聚合物微粒有免疫細胞的吞噬功能和啟動固有免疫反應的等兩個關鍵要素須考慮。粒子被吞沒之效率與它進入的具體途徑，在其細胞內的命運(回收、endosomal or lysosomal) 和分泌至細胞外的信號(cytokines) 等都具有重要的前因後果相關性，且決定粒子的最終命運和下游的免疫反應。

當粒子碰到 macrophage，首先接觸是粒子得表面，所以 Phagocytosis 的速率取決於粒子的形狀而非大小，如果表面具有較深的紋理則產生快速之內化步驟(internalization)，如果紋理較淺則不會進行內化步驟或速率降低。我們的同事博士萊恩海沃德(麻塞諸塞大學阿默斯特)已用新穎產製方式合成一種光滑

或紋理表面的微粒。我們証實紋理表面的粒子不管是免疫細胞攝取或是 inflammasome 的啟動都有明顯的影響。

### **三、Replicating Adenovirus Serotype 4 Vector Vaccine for H5N1 Influenza: Phase I Clinical Study Results and Proof-of-Concept**

*Marc Gurwith, M.D., CMO, PaxVax*

我們針對新型口服 Ad4 載體表達 H5N1 流感血凝素 (HA) 疫苗進行了多中心、隨機研究。166 位志願者分 5 種劑量從  $10^7$  至  $10^{11}$  病毒顆粒或安慰劑。隨後，志願者再接種不活化 subvirion H5N1 疫苗。結果指出產生 HA 專一性細胞性免疫反應，並且在 H5N1 subvirion 的接種刺激後，有急速 HAI 抗體反應產生。

### **四、The Versatile Utility of Biodegradable Particles in Vaccinations**

*Aliasger K. Salem, Ph.D., Leader, Cancer Signalling and Experimental Therapeutics, Holden Comprehensive Cancer Center, Pharmaceutical Sciences and Experimental Therapeutics, Chemical and Biochemical Engineering and Biomedical Engineering, College of Pharmacy and Engineering, University of Iowa*

載入抗原或抗原塗層之可降解粒子有能力被抗原呈現細胞(APC)積極的攝取，且在免疫治療中具備潛能，因為他們會導致強烈免疫刺激梯級反應，進而產生強烈性抗原特異性免疫反應來對抗標的抗原。這種以粒子為基礎的載體系統提供多功能性，因為他們可同時共同提供佐劑與抗原，進而加強呈現細胞之啟動和成熟。另抗原塗層可降解粒子有很強的潛力作為 heterologous 重組腺病毒載體 prime-boost 免疫法之初始疫苗，因為它可產生抗原專一性之  $CD8^+$  T 細胞反應，且和 homologous 重組腺病毒載體疫苗 prime-boosts 方式一樣有效，但會減少治療性抑制抗腺病毒抗體的產生和其他潛在不利的風險。

聚合微粒子已廣泛應用於藥物和疫苗之傳遞平台，且臨床應用也愈來愈頻繁。微粒子可活化 inflammasome 複合物並誘發先天免疫反應之關鍵細胞因子  $IL-1\beta$ 。

## 肆、心得與建議

- 一、參加國際研討會可了解新產品的相關訊息和國際疫苗開發的新趨勢，並學習如何自我推銷，相信這些對未來的疫苗採購皆有所幫助。雖然本中心即將吹起息燈號，但委託製造尚未完成之際，都存在許多風險，故個人建議以後將出國學習改為參加品保相關會議與此次相類似會議相互交錯，直至工廠真正關閉為止。
- 二、每年都在追逐新的流感疫苗，真正的保護效價又不是很好，加上近幾年之 H5N1、新型 H1N1 和 H7N9 流感病毒之流行，所以會議都會有流感的主題，且一旦出現新的病原，各個研究單位或工廠就以此當抗原，快速套入自己的技術平台來證明自己的能力並推銷技術，我國經由這幾次的流感戰役，也建立許多流感疫苗自製的機制，且已具有國際認證之流感疫苗製造工廠，的確讓人對抗流感戰役更具信心，但有些問題仍需注意加強。例如因應 H5N1 流感大流行之際，我國當初已針對流感疫苗株之製備建立機制，從長庚施信如教授實驗室至本署之研究檢驗及疫苗研製中心，最後到國衛院疫苗中心先導工廠皆具備利用 Reverse Genetic 的方式製備疫苗株的能力，上一次新型 H1N1 大流行因為時間緊迫，無法自行演練已錯失一次機會，今年遇到 H7N9 流行，應該是個好機會，但考量自製疫苗株可否用於未來產品、是否有能力進行疫苗株安全性檢測、還有時間和金錢等因素，又再度跳過這一步驟。我們國內學者的研究結果說明台灣流行流感病毒株常比其他地區快 2 年，有時都會用這個結果來說明白製流感疫苗重要性或是疫苗成分不吻合等現象，如果疫苗株的製備能力不足，自製就會變為空談，萬一大流行發生在台灣，我們到還要等別人幫我們製備嗎？這一切將嚴重影響防疫作戰。談到疫苗株製備，另一問題就是利用雞胚胎蛋培養繼代的問題，Dr. Theodore Tsai 報告強調雞胚胎蛋培養病毒易產生突變，致使分離株抗原特性漸改變，尤其是 H3N2，進而導致疫苗有效性降低，建議未來以細胞培養方式建立疫苗株種庫，雖然台灣目前所需之疫苗株都來自 WHO，尚

未真正遇到此問題，但台灣唯一流感疫苗工廠是以雞胚胎蛋為主要生產線，且以 PR8 骨架來篩選疫苗株的技術也是以雞胚胎蛋為主，加上最近國衛院利用從美國 CDC 取得之 H7N9 上海株(以雞胚胎蛋繼代而得)以細胞培養繼代製備疫苗株，竟發生需繼代 7 次才能達到生產所需的力價，還好繼代未發生突變符合預期的結果，以上都是我們必須認真考量的問題。另外目前製備疫苗株已不需要取得分離株，只需要 HA 和 NA 的基因序列，就有辦法生產疫苗株，希望我們也能使某些單位建立此相關技術平台，以備不時之需。另外就是 Prime-Boost 策略，Dr. Shan Lu 報告如果是 heterologous prime-boost 方式之疫苗因包含兩種不同成分，其所產生之效果比以 homologous DNA 疫苗初始接種和不活化疫苗補接種方式之疫苗其只含 1 種單一成分來的更令人期待。另 H5N1DNA 疫苗初始接種和減毒疫苗補接種比 DNA 或減毒疫苗單獨接種更能產生保護效價。這個議題也引起會中熱烈討論，由其是針對流感大流行準備計畫中疫苗之儲備，prime 可以是任何不同類之病毒成份，boost 則為當時流行之病毒或某些蛋白質成份，如此將可減輕大流行時購買或製備疫苗之壓力。當然 Prime 和 Boost 之間的時間仍是一重要關鍵因素，以一般研究成果結果得知 Protein-Protein 之間大約是 4 週的時間，而 DNA-Protein 之間可能需要較長時間，故這些都是值得我們進一步去評估其效益。

三、以目前疫苗產製技術平台開發之趨勢，抗原的設計愈來愈傾向於單一成分或是多個結構蛋白一起調劑，但相對之抗原性也跟著有降低的趨勢，為能有效達到 dose-sparing 的效果，佐劑相對也扮演重要的角色，但是目前美、日、歐核准之佐劑除了鋁鹽外，只有 4 種，加上 FDA 法規明白定義佐劑並非有效成分，故無法和疫苗分別申請執照；接種疫苗時，佐劑必須是產品劑型的一部分。所以有人常開玩笑的說阻礙佐劑發展的罪魁禍首就是法規。最近我國也有人進行佐劑之開發，我個人建議多利用我國正在發展的疫苗標的物例如日本腦炎病毒、腸病毒 71 型、H5N1、H1N1 和 H7N9 流感病毒等，將計畫整合共同開發，這樣比較容易在研發成果商品化上達成雙贏

的目的。

四、以昆蟲細胞(Baculovirus Expression Vector system)生產結構蛋白或類病毒顆粒的技術平台愈來愈多公司都具備此技術且更成熟，我記得清華大學胡育誠教授也是以類似的技術平台生產出腸病毒 71 型類病毒顆粒，當初也至國外尋求技轉，個人不知結果如何，但國內廠商似乎都沒興趣，我國如何使上游學研成果能真正運用至商品的機制仍待加強，各部會橫向溝通需要有人統籌規劃，訂定出研發優先順序，大家加油了。另外近幾年卡介苗副作用一直給本中心帶來不安，原期待 TB 有新發現，結果仍停留在原先我已知的進展當成 Boost 用途，有點失望。

五、NIH 有一計畫名稱爲「The Program in System Immunology and Infectious Disease Modeling(PSIIM)」，Dr. John Tsang 此次報告是利用 System Biology 趨勢去了解分析各種免疫參數在基準線和接種流感疫苗後之回應，雖然個人目前在這方面不是十分了解，但我覺得如有機會可找 NIH 合作，來分析國人施打疫苗前後之免疫反應參數，或許能建立預測模式達到預期的防疫效果。