

出國報告（出國類別：研究）

參與全球疫苗研習

服務機關：衛生福利部疾病管制署

姓名職稱：張耘誠 技士

派赴國家：馬來西亞

出國期間：105年11月13日至11月17日

報告日期：106年1月12日

摘要

預防接種是傳染病控制、清除及根除最有效的策略。然而，疫苗除了有效性之外，安全性亦是相當重要的課題。本次赴馬來西亞吉隆坡參與由 **Scientific Future Group** 主辦之 **2nd Global Conference on Vaccines**，研習關於疫苗的基礎科學研究結果及未來的發展方向，自 **Keynote speech** 瞭解到兩個不同團隊的 **HIV** 疫苗研發策略，另亦有結合型疫苗生產方式的改進以及研發不活化輪狀病毒疫苗之相關議題，其中以不活化輪狀病毒疫苗與疫苗安全性最為相關。由於現行使用的口服活性減毒疫苗仍有極低機率導致腸套疊，致嚴格限制使用對象的年齡，故有學者進行不活化疫苗之研發，欲取代現行的活性減毒疫苗。希望本次研討會獲取的知識，可運用於預防接種相關業務的推行。

目次

目的.....	1
過程	
一、議程.....	2
二、Keynote Speech.....	3
三、結合型疫苗製造的技術.....	5
四、不活化輪狀病毒疫苗發展.....	6
五、其他馬來西亞的見聞.....	7
心得與建議.....	9
致謝.....	10

目的

本研習由 Scientific Future Group 主辦，前一屆於 2015 年 4 月舉辦於阿拉伯聯合大公國的杜拜，邀請全球的疫苗研究與實務工作者，討論關於疫苗的基礎科學研究結果及未來的發展方向，除了理論之外亦兼顧實務。本次主題為”Vaccine and Vaccination: A vision to foresee.”，議程共有 3 日，涵蓋主題有人用疫苗、疫苗對 B 細胞或 T 細胞產生的反應、年齡與疫苗反應、疫苗設計之新策略、疫苗發展新技術、疫苗製造與生產、疫苗安全、臨床研究與試驗、動物模式與免疫學、佐劑與投藥方式、疫苗管控以及社會經濟法律問題探討等。本次出國參與研習之重點在於獲取疫苗安全相關資訊，包括其他各國對於疫苗不良反應之報告，獲取疫苗相關的新知與經驗。

過程

一、議程

本次之研討會於舉辦前半個月，因報名人數不足，臨時與同一主辦單位舉行之病毒學研討會合併舉行，故最終名稱為”2nd Global Conference on Virology & Vaccines”，且規模相當小，其內容多數為病毒學的部分，僅少部分與疫苗學有關，議程如下：

第一日 (2016 年 11 月 14 日)

0800-0900	Registration
0900-0925	Opening Ceremony
Keynote Forum	
0930-1010	Broad spectrum Antivirals: Nature’s Bullets against Currently Pandemic Virus Infections like HIV and Emerging Viral Infections like Zika, Ebola and bird flu
1010-1050	Development of an Effective HIV-1 T-cell Vaccine through Targeting Conserved Regions of the HIV-1 Proteome
1110-1150	A novel HIV Vaccine Targeting the 12 Protease Cleavage Sites: Preclinical Evaluation
Session 1	
1150-1220	Selective Killing of Virus-transduced or Cancer Cells using a NA Trans-Splicing based Suicide Gene Therapy approach
1220-1250	The not available Herpes Virus vaccines: Old Problems and New Challenges
1350-1420	Preclinical Evaluation of a Herbal Therapy for Herpes Infection
1420-1450	Rabies Encephalitis: Advanced in our Understanding of the Disease and New Therapeutic Approaches for the Future
1450-1520	Method of Inhibiting Plant Virus Using Gold Nanoparticles
1540-1610	Double Rolling Circle Replication: A model of Amplification of Oncogene as well as Drug-resistant Genes and Replication of HSV and Chloroplast DNA
1610-1640	Vaccination with Novel Protein Nanoparticles Provides Protection against Lethal Influenza Challenge
1640-1710	Evaluation of the Susceptibility to Influenza Virus in People Suffering from Hypercholesterolemia and Diabetes in term of IFITM3 Polymorphism rs12252-C

1710-1740	The application of Protein Glycan Coupling Technology for the Production of Inexpensive Recombinant Glycoconjugate Vaccines
1740-1800	Development of candidate Rotavirus Vaccines derived from RF and Human RV4 viruses

第二-三日(2016年11月15-16日)

Oral Presentation and Poster Session	
	Production and Evaluation of Rabbit Polyclonal Antibody against Influenza Virus Hemagglutinin Domains (HA1 & HA2)
	Detection of HPIV viruses in Patients with Respiratory Symptoms using Multiplex Real Time RT-PCR Method
	The Antiviral Activity of Extracts of Chrysanthemum Cineraria Folium (Pyrethrum) Grown in Kenya against HSV
	Human Parainfluenza Viruses among Critically III Patients in Kuwait, 2013-2015
	The Differences between Three Detection Kits of Rotavirus in Sensitivity and Specificity in Five Iraqi Governorate
	Analysis of Divergent Coat Protein of Two Hungarian Grapevine Leaf Roll Associated Virus-3 (Grlav-3) Isolates
	Detection of HSV I and II in Cerebrospinal Fluid Specimens of Iraqi Children resenting with Aseptic Meningitis by using Real Time PCR Assay
	Evaluation the Cyclophillin A Concentration in Immunosuppressive Male Rat, Pregnant Female Rat and Pups Tissue infected and Non-infected with Rat CMV Malaysian strain ALL-3
	Isolation and Phylogenetic Analysis of Caprine Orf Virus in Malaysia
	Closing the Gaps in Genomic Scaffold of Rat CMV ALL-3 (Malaysian Strain)

二、Keynote speech

本研討會有 3 場 keynote speech，其中 1 場與病毒學相關，另 2 場與疫苗學相關。病毒學相關之演講由麻州大學醫學院的 Girish Kotwal 教授主講，主題是「廣效性抗病毒藥物」。現有的抗病毒藥劑對於病毒種類極具特異性，如 oseltamivir 僅針對流感病毒、NRTIs 僅對於具有反轉錄酶的病毒有效，故長久以

來沒有廣效性的抗病毒藥物。本演講內容著重於紅石榴汁萃取物，於細胞培養感染病毒的實驗中，可有效抑制病毒的生長，然而該研究面臨到的問題，即是當純化特定成分後再進行實驗，並無中和病毒的效果，故中和病毒的機制尚不明確，可能是多種天然物協同作用的結果。

後兩場 keynote speech 的主題皆為 HIV 疫苗相關研究，分別由牛津大學的 Tomas Hanke 教授及加拿大國家微生物實驗室的 Ma Luo 教授演講。

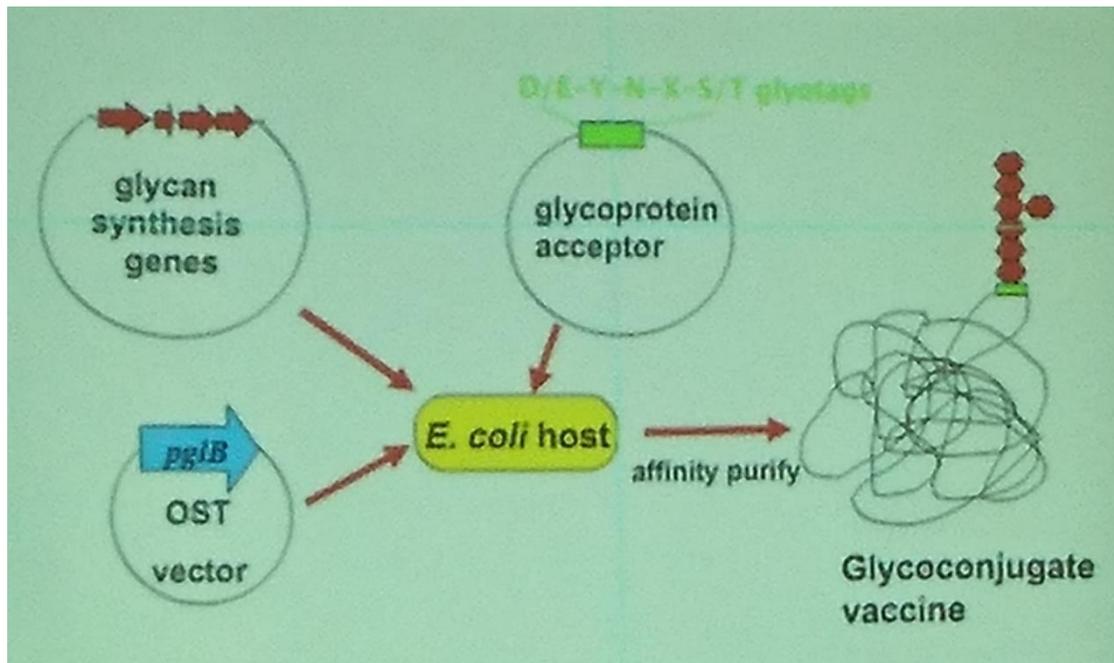
HIV 疫苗之研發仍然面臨極大的挑戰，原因為：(1)病毒感染的目標是免疫系統中具有相當重要角色的 CD4+ T 細胞；(2)病毒的多樣性及快速突變。因此，傳統疫苗設計的策略對於 HIV 皆告失敗。傳統疫苗的策略，在於對病毒表面的蛋白質產生中和抗體並有免疫記憶性，故於再次感染同一病毒時，能快速生成中和性抗體中和病毒，使之無法感染細胞。同樣具多樣性且突變速率快的流感病毒，現行以每年預測病毒型別，且每年接種的策略執行預防接種，然廣效且長效的流感疫苗仍是現今研發的目標。

本次演講兩個講者皆著重於 HIV 基因體中的「保守區」(conserved region)，於突變率高的病毒中，保守區意味著較不容許突變，或是突變後對於病毒的生長影響很大。加拿大國家微生物實驗室係針對 HIV 的 12 個蛋白酶切位設計疫苗，為治療性的疫苗，於使用抗病毒藥物抑制病毒量時，同時接種疫苗，人體若產生針對蛋白酶切位的免疫記憶性，病毒會因為免疫壓力而在蛋白酶切位產生突變，而蛋白酶切位突變將嚴重抑制病毒的複製，故體內的病毒可維持低複製活性。目前這兩個團隊的研究仍在非常初期，還在動物實驗以及健康人體的試驗，由於以腺病毒或痘病毒作為基因表現載體，雖類似傳統的活性減毒疫苗，但實際運用於人體的經驗有限，故仍須花費不少時間研究。

近年許多新疫苗之研發，多朝以使用病毒做為表現載體，有名的例子為 Sanofi Pasteur 以黃熱病 17D 病毒株為載體製造相關疫苗，如登革疫苗 Dengvaxia 及國內核准上市的日本腦炎疫苗 Imojev。除了現有的黃熱病 17D 病毒株外，考量細胞趨性、重組基因片段的長度等因素，還有 AAV、腺病毒、痘病毒等載體可作為重組病毒疫苗的選擇。由於成本較不活化疫苗低廉，許多開發中的疫苗皆以基因重組病毒的策略進行研發，惟對接種後的不良反應、接種副作用等研究資料，以及病毒株發生毒力回復、與野生株重組等風險，必須審慎研究與監測。

三、結合型疫苗製造的技術

本研討會亦有討論細菌疫苗的製造技術，由倫敦大學公衛學院的 Brandon Wren 教授主講。近年許多新型態的細菌疫苗採用醣類與蛋白質結合的「結合型疫苗」策略，如 PCV、Hib 等。細菌的莢膜富含的醣類抗原由於引發 T-cell independent 免疫反應，故無免疫記憶性，只能產生 IgM 進行調理作用 (opsonization)，且對於年紀較小的幼兒效果較差。為了提升疫苗效果，才有了結合型疫苗的策略，將醣類抗原結合於蛋白質抗原上，故可引發 T-cell dependent 免疫反應，且可對於年紀較小的幼兒使用。傳統上結合型疫苗的製造，為分別製造醣類抗原及載體蛋白，再以化學方式結合，由於過程繁複，故生產成本高，價格無法壓低，致新興國家推行困難。Protein Glycan Coupling Technology (PGCT)的起源於對 *Campylobacter jejuni* 的全基因體完成定序後，發現其基因體>8%的基因皆與醣類合成及醣蛋白製造有關，故可應用基因重組技術，使 *E. coli* 表現醣蛋白。使用策略為將 3 個不同的 plasmid 轉形至同一個 *E. coli* 勝任細胞(competent cell)：(1)帶有合成目標醣類各個基因的 plasmid；(2)帶有合成目標載體蛋白的 plasmid；(3)帶有合成 *C. jejuni* 之 N-oligosaccharyltransferase 的 plasmid；於是在 *E. coli* 即可製造目標的結合型疫苗成分，後續再加以純化後即可使用於疫苗，圖示如下：



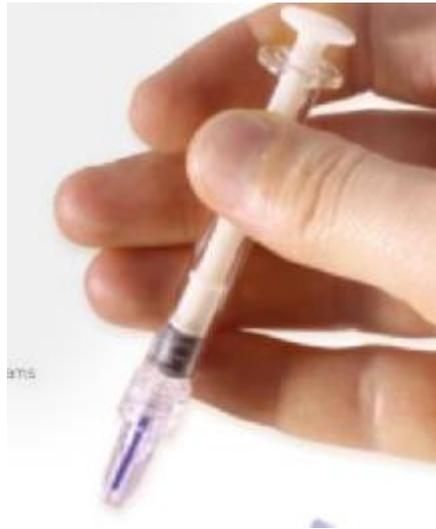
講者認為以此策略製造接合型疫苗可降低成本，並對於設計新型疫苗(新的抗原組合或替換載體蛋白)較具有彈性，歐洲亦有公司以商業化製造為目標 (Glycovaxyn, Switzerland)。然回國後與中研院的醣類相關研究者討論，該技術實際應用仍有許多疑慮，包括醣分子是否有正確構型、目標產物佔總體產物的比例是否過低、以及純化時如何去除其他細菌成分等。

四、不活化輪狀病毒疫苗發展

現行市面上的輪狀病毒疫苗為 GSK 產製之 Rotarix 及 MSD 產製之 RotaTeq，皆為口服之減毒活性疫苗。由於最初上市的疫苗(Rotashild)甫上市即發現接種的寶寶腸套疊的發生率顯著上升，故後續的產品，雖然發生腸套疊風險極低，但對於接種年齡有相當嚴格的規定。此外，減毒活性疫苗對於熱耐受性較差，怕熱不怕冷，故於亞非新興國家使用，可能因溫度導致疫苗效果不佳。活性減毒疫苗亦有一些先天上的缺點，如極低但機率不為零的毒力恢復突變(revertant)、與野生病毒株產生重組病毒的風險、以及對於免疫缺陷孩童使用的禁忌等。

為解決上述問題，美國 CDC 研發不活化輪狀病毒疫苗。Baoming Jiang 等使用 CDC-9 病毒株(human G1P virus strain)，經由 58°C 作用 4 小時去活化後，製備

不活化輪狀病毒疫苗。該團隊以兩種接種策略實驗：(1)肌肉注射；(2)皮內注射。肌肉注射採用傳統的針具，注射 5 mcg/1.0 ml 之抗原(吸附於氫氧化鋁)；皮內注射使用 MicronJet600 針具(如下圖)，該裝置內含 3 支長 0.6 mm 的微針頭，為美國 FDA 核准使用長度最短的針頭，且操作容易不需太多訓練。皮內注射每次體積 0.2 ml，無添加佐劑。



經由在動物模式(使用定菌小豬 *Gnotobiotic piglets*)的實驗，顯示皮內注射與肌肉注射皆可有效預防輪狀病毒引發的腸胃炎，然皮內注射多了許多優點：(1)若使用特殊針具接種較為不痛；(2)不須添加佐劑；(3)不良反應可能較少。現行核准上市的疫苗亦有使用特殊針具進行皮內注射的例子，即 Sanofi Pasteur 之流感疫苗 Fluzone (Intanza)。由於佐劑通常使用含鋁的化合物(氫氧化鋁等)，雖長期使用以來顯示對人體無害，但仍有部分人士因此拒絕接種，故以現在先進國家疫苗研發，盡量減少可能有害成分(如硫柳汞)的策略看來，對於不活化疫苗改以皮內注射，減少佐劑使用可能是未來的趨勢。

五、其他馬來西亞的見聞

本次共在吉隆坡生活 5 日，馬來西亞人口只比臺灣略多，但面積為臺灣的 9 倍大。國內主要分三個族群：馬來人約佔 1 半、華人約佔 25 %，另約 10% 為印度人。該國的 GDP 約為臺灣的一半，於東南亞國家除新加坡外，為經濟發展較

好的國家，基礎建設如鐵公路皆比鄰近國家發達。然出入公共場所可以感覺，該國公家機關或公營事業的工作態度較為隨興，據當地友人表示，「如果及格是 60 分，就只會做到 60 分」，因此公共設施的維護品質仍有許多的改善空間。

下圖是吉隆坡國際機場唯一的茲卡防疫措施，於該國入境時，並未見有檢疫櫃檯，即使是茲卡病毒如此受到國際關注，也僅有一面立牌提醒旅客：若有疑似症狀時，就醫時要告知醫師，對於傳染病的邊境檢疫，我國完善許多。



在當地可見中國大陸投資甚多，市中心的摩天大樓多由中國大陸的國營事業承建，現任首相與中國關係亦相當良好。當地有許多有留學臺灣經驗的華人，故臺灣與該國民間關係非常好。近期我國之新南向政策於當地華人圈亦有討論，唯中國大陸之「一帶一路」投入巨額之實質資源，相較之下新南向政策當地民眾是比較無感的。

心得與建議

這次會議可以瞭解開發中國家以及新興國家對於疫苗發展(以及抗病毒藥物)的策略:「降低成本」。由於越來越多疫苗品項導入國家接種計畫,雖有的國家有聯合國或其他團體(如 GAVI)的援助,但仍推動於當地自產成本低廉的疫苗,例如印度即有相當多新興的疫苗廠,伊朗亦有投入自產疫苗的研究。現仍有許多新興國家仍採用不良反應較多的口服小兒麻痺疫苗(OPV)及含全細胞性百日咳成分之疫苗(DTwP),顯示仍有許多地區,目前的首要目的並非追求疫苗安全性,而是希望以較低的成本防止傳染病疫情的發生。

在已開發國家之疫苗可預防疾病發生率,因實施預防接種而下降,故對於疫苗之選用及研發著重安全性,將原本已極低的風險降至更低,並減少不良反應的發生,另盡可能去除一些非必要的成分(保存劑等),且不計較造成的成本上升。美國國內上市的疫苗皆不含有硫柳汞,然對於開發中國家或新興國家,因沒有較完善的冷運冷藏設備,硫柳汞仍是疫苗保存必須添加的保存劑。

本次開會的地點選在馬來西亞有許多缺點,因馬來西亞學術研究並不強,難以吸引歐美傑出學者出席,另該國屬伊斯蘭教國家,與中東國家交流密切,故參與研討會的學者,以伊朗、伊拉克、沙烏地阿拉伯等地居多,研究主題較為在地化,如病原檢測試劑比較、地方流行病毒株定序、天然物抗病毒功效等主題為主,不易連結至我國經驗。自己過去亦曾兩次出席東南亞地區舉辦之研討會,一次在新加坡、一次在泰國。該兩次皆辦得相當盛大,分析其原因,可能因由當地的頂尖大學或政府機關主辦,或由國際上重量級學者號召,及需有大型藥廠贊助。本次主辦單位為印度之民間策劃單位,舉辦研討會屬商業性質,又因主題過大,各講者講題不太有交集。疫苗研究在不同階段,有不同的執行人員,如上市前的研究主要在學界,臨床試驗主要在醫界,上市後監測主要在公衛領域及政府部門,故純粹學術性的研討會難以涵蓋到疫苗產品自研發至使用的各個階段,必須由產

官學界共同舉辦，才能有廣泛的討論。

致謝

感謝雪隆留台同學會的陳先生以及其他在當地提供協助的友人。