

出國報告（出國類別：研究）

流感疫苗製備及研發相關研習

服務機關：衛生福利部疾病管制署

姓名職稱：林智暉 副研究員

派赴國家：日本

出國期間：民國 106 年 8 月 23 至 8 月 29 日

報告日期：民國 106 年 10 月 19 日

摘要

流感是全球性的傳染病，想要預防流感，除了正確洗手、戴口罩外，施打流感疫苗是最有效的方法之一。流感疫苗除了可提供保護力，讓民眾免於感染，也可降低感染時併發重症的比例。目前全球流感疫苗製造主要仍是使用雞胚胎蛋進行疫苗的產製，然而近年來由於病毒不斷的變異，蛋株病毒在製造的過程中面臨不少的困境與挑戰。因此本次赴日本國立感染症研究所 (National Institute of Infectious Diseases, NIID) 的流感研究中心進行流感疫苗製備及研發相關研習，除深入瞭解蛋株疫苗的應變處置，同時也研習疫苗用之細胞病毒株，鼻腔疫苗 (intranasal vaccine) 等其他流感疫苗相關研製作業，獲取最新流感疫苗研發應變策略及規劃。同時也透過本次研習，也進一步加強並穩固既有之雙邊研究合作關係，對日後的國際交流與合作延續有實質的幫助。

目錄

壹、 目的	4
貳、 過程	5
參、 研習內容重點	6
肆、 心得及建議	11

壹、目的

流感一直是全球性的傳染病，世界衛生組織爲了確切掌握全球流感病毒的變異以及疾病控制，每年均透過全球各實驗室所提供的監測資料，邀請流感專家召開流感疫苗株選株會議，分析並預測具潛力可能造成民眾感染的病毒株，提供作爲疫苗製造參考。流感疫苗可提供民眾對病毒產生免疫效果，除了可保護抵抗力弱的民眾免於感染，也能降低感染時併發重症的比例。目前流感疫苗主要仍是使用雞胚胎蛋進行疫苗的產製，然而近年來由於病毒不斷的變異，蛋株病毒在製造的過程中面臨不少的困境與挑戰，因此透過此次赴日本進行流感疫苗製備及研發相關研習，除瞭解 NIID 因應蛋株疫苗株培養困難的應變策略外，也深入其他流感疫苗的研發與製備，同時也透過本次研習，進一步加強我國與日本流感研究中心的研究合作以及資訊交流，對兩國研究合作之延續有實質的助益。

貳、過程

日期	地點	工作紀要
8 月 23 日	台北→日本東京	啓程
8 月 24-28 日	日本國立感染症研究所	研習
8 月 29 日	日本東京→台北	回程

參、研習內容重點

本次研習地點為國立感染症研究所位於武藏村山市的村山廳舍的流感病毒研究中心。流感病毒的檢驗及研究原本屬於所內之病毒部門，因鑒於 2009 年全球爆發 H1N1pdm(09) A 型流感大流行，以及近年來陸陸續續出現的新型流感/禽流感病毒疫情，於是在 2009 年 4 月將流感病毒由原本的病毒部門獨立出來，成立直隸於研究所部門架構下的研究中心（下圖）。中心橫跨村山廳舍的 6 號棟及新建感染研 9 號棟樓，業務範圍囊括流感病原、病因、預防等相關之研究、WHO 參考實驗室相關業務、細胞培養、疫苗製劑品質管理及其他國際合作相關業務等。

組織 図 ORGANIZATION OF NIID



近年來由於流感不斷的變異，傳統的流感疫苗製備臨極大的挑戰，由於病毒於雞胚胎蛋的培養愈來愈不容易，病毒效價無法有效拉高，其中 A(H3N2) 型流感病毒的蛋株病毒的培養更是困難，無法以野生分離株進行疫苗的產製。近年來 NIID 以及其他流感參考實驗室以普遍利用反轉錄技術(Reverse Genetics) 將流行株的抗原基因與高表現的載體組合製成反轉錄病毒，作為流感疫苗用種株，以提高蛋株病毒的產量。而為了因應病毒抗原產量無法拉高的問題，在以蛋株為疫苗產製的平台之下，日本 NIID 不斷進行及修正反轉錄病毒的製造過程，所使用的方法除了研究修正野生株(wild type virus)與既有的載體病毒 (backbone virus)基因組成的比例，找出病毒產量最高的反轉錄疫苗株病毒以外，也進一步去進行病毒序列上某些胺基酸位點的置換，在不影響病毒抗原性的表現下，使得到的疫苗病毒株達到最大的複製與表面蛋白產量 (下表)。同時也從載體病毒著手進行研究，除了已被普遍使用已久的 PR8 以及 WSN33 載體病毒基因外，NIID 流感研究中心也積極與美國 Wisconsin-Madison 大學的 Dr. Yoshihiro Kawaoka 合作，進行載體病毒的研發，以期能夠開發更有效率的載體病毒，來解決現有的季節性流感疫苗的困境，同時也可應付愈來愈多的新型流感病毒的威脅，能即時且大量的穩定生產疫苗，因應突發疫情。

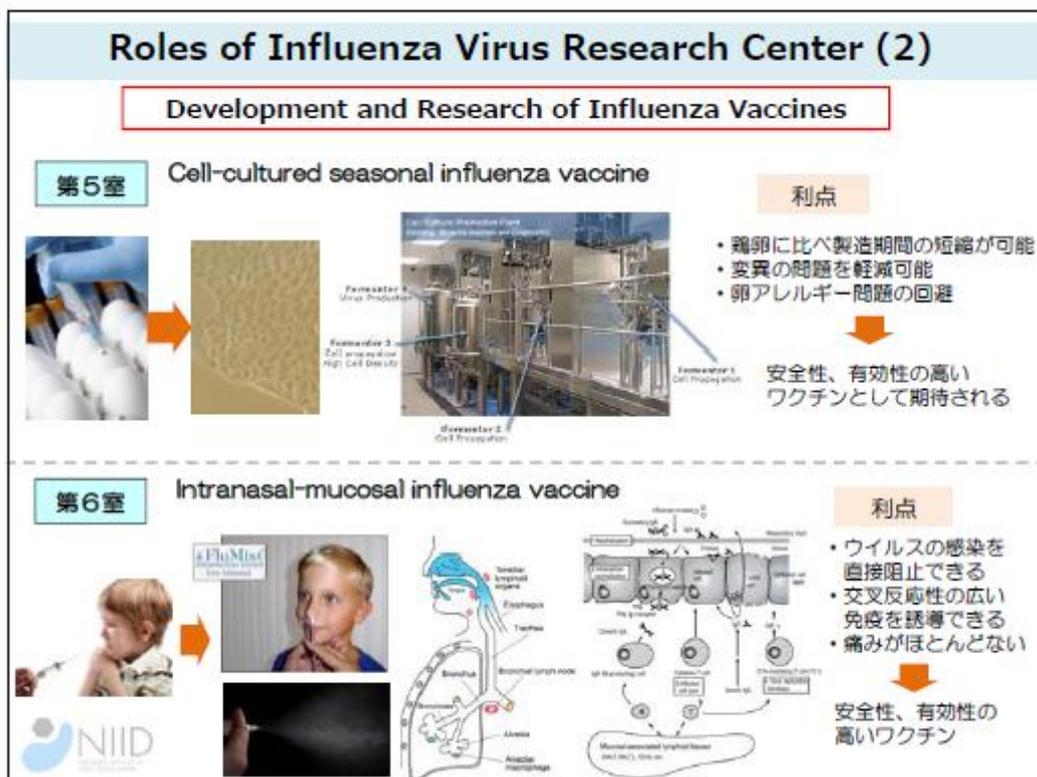
Table 1. Differences in the amino acid sequences of HA and the infectivity titers of viruses

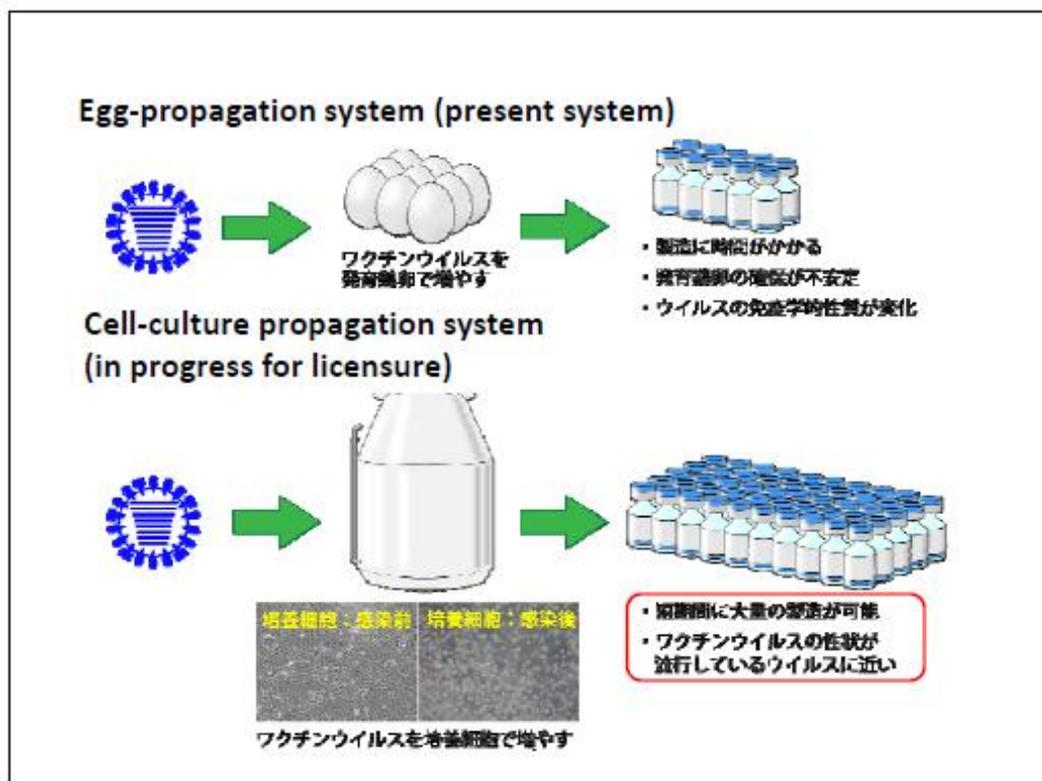
Virus ¹⁾	Passage history	Gene constellation	Amino acid at the indicated HA positions ²⁾					EID ₅₀ (log ₁₀ /EID ₅₀ ml) ³⁾	
			125	191	209	222	223	Exp. 1	Exp. 2
A/California/7/2009	—	—	N	L	K	D/G	Q/R	n.d.	n.d.
X-179A	E7/E1/E6	5:3	.	.	T	D	R	9.4	9.3
NIIDRG-1	LLC1E2	6:2	.	I	.	D	Q	8.3	8.4
NIIDRG-3	LLC1E2	5:3	.	I	.	D	Q	8.2	8.3
NIIDRG-5	LLC1E4	6:2	.	.	.	D	R	9.1	9.0
NIIDRG-6	LLC1E5	5:3	N/D	.	.	D	R	9.0	8.9
NIIDRG-7	LLC1E2	7:1	.	.	.	D	R	9.9	10.0
NIIDRG-8	LLC1E3	7:1	.	I	.	D	Q	9.3	9.1

(資料來源: *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2013;66:65-68)

過去傳統的流感蛋株疫苗製造，是將疫苗病毒株接種於受精過之雞胚胎蛋，之後收取尿囊腔的病毒液(allantonic fluid)來進行後續疫苗的製備，缺點除了蛋

的來源需能穩定供應，每顆蛋能得到的病毒液體積也有限，每顆蛋接種後的狀況也都不同，接種成功與否因蛋而異，HA titer的高低可能不一致，很難達到一致的水準與產量，且考量禽流感日趨活躍，雞胚胎蛋的供應來源可能會發生問題，日本NIID流感研究中心第5研究室為細胞株疫苗研究部門，專職進行細胞培養疫苗株的研發。由於細胞株可大量且穩定培養，對病毒的感受性佳，可以快速的大量複製病毒，比蛋株疫苗大幅縮短培養以及製造時程，也可降低培養過程中病毒產生變異的風險，培養基的取得與品管也較容易控制，因此細胞疫苗株的製造可多方改善目前流感疫苗製造的困境，可縮短製程，品管容易，亦能量產。第5研究室除了研發並保存符合GMP規範的製造疫苗的細胞株，也要確保疫苗病毒株經過細胞培養後的基因組成以及抗原性表現的特性。同時肩負在上游端進行細胞培養的疫苗候選株的品質管控，將細胞疫苗候選株提供給日本國內的疫苗製造廠，進行流感疫苗的產製。





目前可用於生產流感疫苗的細胞株則包括MDCK以及Vero細胞株。為因應2009年H1N1pdm09流感大流行時，少部分疫苗廠為緊急因應全球疫情，而在當時獲得了細胞培養疫苗生產的許可，然而目前細胞培養產製的流感疫苗市面上仍然少於蛋株疫苗，細胞株疫苗的生產成本高於蛋株疫苗是主要的原因之一，在設備等基礎成本無法降低的情況下，目前疫苗株病毒培養所使用的細胞株已朝無血清培養方向研發，除了可降低成本，也減少疫苗成分內其他動物而來的衍生物。利用細胞培養進行疫苗的產製，不但可以解決部分對蛋的成分過敏而無法接種流感疫苗的情形，且在因應突發性大規模疫情發生時，細胞株疫苗能夠快速量產且穩定的即時供應民眾施打，細胞株疫苗的研發仍為因應流感大規模流行疫情時首要的防治規劃方向及考量之一。

此次研習亦對非針劑式疫苗的研發進行瞭解。鼻腔噴霧式的鼻腔疫苗 (Nasal mucosal influenza vaccine) 主要是利用減毒之疫苗病毒，在病毒具有抗原

特性但對人體卻無致病力的情況下，由鼻腔吸入使其刺激身體免疫系統，以接近自然感染的方式產生保護力。鼻噴劑型疫苗在使用上具有方便性，且可提供對注射產生恐懼的民眾接種。NIID亦成立專門研究部門(第6研究室)進行鼻腔接種疫苗的研發，除了改進研發更有效的鼻吸式流感疫苗外，同時也對現有疫苗的免疫效果進行臨床研究與評估。此外也負責開發尋找更適合的佐劑以提升疫苗的免疫力，使其達到最佳的免疫成效。雖然上市的鼻噴式疫苗仍較稀少，相關的技術研發也仍有長遠的路要走，但因其不需注射施打，具有可隨時使用的方便性，該中心仍認為具有實質上的研發必要。

6th Lab Development of Nasal mucosal Influenza Vaccine

- **Development of nasal inhalation vaccine as a vaccine of next generation**
- **Clinical studies to assess the immunogenicity**
- **Research to find appropriate adjuvants**

Lots of issues are under investigation.

肆、心得及建議

1. 本次研習在日本國立感染症研究所流感研究中心主任 Dr. Takato Odagiri 以及其研究團隊包括第一室室長 Dr. Shinji、第三室室長 Dr. Itamura、及第四、五室室長 Dr. Nobusawa 傾力相授下，雖然研習行程相當緊湊，但是研習內容充實且獲益良多，對最新流感疫苗研發方向以及疫苗產製的應變策略都有進一步的瞭解。
2. 對於流感的防治，接種疫苗仍是預防流感最有效的方法之一，然而鑑於近年來季節性流感病毒的不斷變異，在目前仍以蛋株生產平台的作業環境下，病毒在雞胚胎蛋所產生的效價愈來愈低，對疫苗的產製造成極大的影響。透過這次研習瞭解日本不斷精進反轉錄技術來改善疫苗株製備，本署檢驗中心透過病毒資訊交流與技術合作，與 NIID 一直維持良好的夥伴關係，未來也將透過合作模式，將台灣具潛力的抗原變異株以反轉錄技術製成具競爭力的疫苗候選株，提供 WHO 的疫苗選株會議參考，為台灣在全球流感防治工作上盡一分心力。
3. 近年來 H7N9、H3N2v 等新型流感感染人類案例亦時有所聞，不但世界衛生組織每年兩次的疫苗選株會議已固定將禽流感以及其他動物型流感列入議題，也已於每次會議中針對監測結論提出建議的疫苗株。面對隨時可能發生的突發性大流行或新型流感疫情，細胞培養疫苗株具有製程穩定、可快速大量生產且維持良好品管的特性，即時生產疫苗提供民眾施打，具有防疫上的機動性，在我國未來流感防治方向，亦可將之列為參酌選項。
4. 流感的防治工作是屬於全球性的防疫戰線，透過持續的國際合作及交流，不但能提升我國在全球公共衛生領域的能見度，也能強化我國自己的防疫

能力。建議本署可與各國建立相關培訓合作模式，以派員方式讓本署同仁出國研習時能有順暢的聯繫管道，專心研習，瞭解國際研發趨勢，將所學心得與經驗應用於實務工作中。