

出國報告（出國類別：其他會議）

赴馬來西亞吉隆坡參加第 2 屆全球疫苗研討會「2nd Global Conference on Vaccines」

服務機關：衛生福利部疾病管制署

姓名職稱：梁清萍技士

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 13 日

摘要

本次參加 Scientific Future Group 主辦的第 2 屆全球疫苗研討會(2nd Global Conference on Vaccines)，而行前主辦單位通知變更議題為第 2 屆全球病毒學與疫苗研討會(2nd Global Conference on Virology & Vaccines)，與會者實際多為大學教授、研究人員及學生，研討會之進行模式分成主題演講、口頭報告、海報三方面，課程內容多為與病毒學相關議題。其中有關疫苗學部份主要為探討疫苗研發之基礎科學研究結果及未來發展方向，內容包括：新型 HIV 疫苗研發策略及現況、新一代不活化輪狀病毒疫苗的設計和製造新方法、結合型疫苗產製新技術、植物性生物製劑研發現況等議題，讓與會者學習並瞭解許多有關疫苗學的知識及新型疫苗發展現況與趨勢。藉能將參加此次研討會獲得之疫苗相關專業知識與國際經驗外，運用於日後推動預防接種業務之參考。

目次

壹、目的	3
貳、會議過程	4
參、心得及建議	10
肆、附錄	11
一、議程	
二、照片	

壹、目的

2015 年 Scientific Future Group 主辦之第 2 屆全球疫苗研討會(2nd Global Conference on Vaccines)，係邀請全球疫苗相關領域之科學家、衛生部門、大學教授及學生等研究人員參與，並提供與會者進行疫苗研發、各國預防接種策略與推行經驗之交流平台。其探討主題包括人用傳染病/非傳染性疾病疫苗、獸醫用疫苗、疫苗誘導 B 細胞或 T 細胞產生的反應、接種年齡的特異性免疫反應、疫苗對抗傳染病和癌症、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、免疫學與動物模式、載體/佐劑/投藥傳遞方式、疫苗監管/計畫/社會/經濟/法律等議題，期藉由參加此課程研習國際疫苗研發新知、各國之疫苗接種與管理策略，以及預防接種之推行經驗與成就，並汲取專家學者意見及先進國家經驗，增進對於疫苗接種及管理之專業與實務智識，作為國內預防接種政策擬定、推行預防接種業務之參考。

貳、會議過程

本次參加為第 2 屆全球病毒學與疫苗研討會(2nd Global Conference on Virology & Vaccines)，由 Scientific Future Group 主辦，課程為期 3 天，與會人數約 20 人，進行模式分成主題演講、口頭報告、海報三方面，議程內容詳如附錄一。本次研討會內容主要為病毒學，其次為疫苗學相關，以下擇幾個主題做重點摘錄：

一、Keynote Forum

第一場講者為美國麻州大學醫學院病毒學 Girish J. Kotwal 教授，演講主題為針對大流行病毒感染(如愛滋病毒)和新再崛起出現的病毒感染(如茲卡、伊波拉、禽流感病毒)的天然廣效性抗病毒藥物發展研究。此研究背景因現行大流行性病毒感染如治療愛滋病毒的多種抗病毒藥物面臨抗病毒藥物引起的許多不良反應、病患治療成本及條件限制(如療指南要求 CD4 計數降至 350 或更低)等問題；另外如近年經歷伊波拉或寨卡病毒的擴散蔓延疫情，許多國家沒有能為新再崛起出現的病毒感染或新興流行病毒感染做好準備。為解決這些公共衛生所面臨的問題，針對天然物質可能存在抗病毒的化合物：石榴汁(pomegranate juice)和富里酸(Fulvic Acid)，進行測試對各種包膜病毒的殺病毒作用研究。結果顯示 100%無菌石榴汁、富里酸能夠分別在 5 分鐘內及 1 分鐘內中和 100 萬個痘苗病毒顆粒，且對細胞不會產生毒性。但也發現在純化特定成分時，影響其中和病毒的效果減低或消失，仍需進一步研究分析找出問題所在。

第二、三場演講之主題皆為關於研發 HIV 疫苗進展的研究，講者分別為英國牛津大學的 Tomas Hanke 教授及加拿大國家微生物實驗室的 Ma Luo 教授。由於目前 HIV 疫苗的研發進展仍面臨挑戰，主要原因為其病毒感染的目標為免疫系統中扮演關鍵角色的 CD4⁺ T 細胞，以及細胞病毒的高遺傳變異性與快速突變問題，因此，以傳統設計對抗其他病毒疫苗的方法，用於研發治療第 1 型 HIV 感染 (HIV type 1；HIV-1) 疫苗，迄今仍宣告失敗或難以產生適度效果。而該兩位講者皆就 HIV-1 的蛋白質組保守區進行相關研究，為針對 HIV-1 的 12 個蛋白酶(protease cleavage sites；PCS)切割位點設計疫苗，且兩研究結果均顯示刺激對抗 HIV-1 的 T 細胞疫苗可能為一種新的有效治療 HIV 的方法，惟目前兩研究均僅處於動物實驗階段，仍需進一步分析及進行臨床開發研究。

二、Oral Presentation Session

(一)結合型疫苗製造技術

講者為倫敦大學衛生和熱帶醫學 Brendan W. Wren，報告主題為介紹應用蛋白質醣偶聯技術(Protein Glycan Coupling Technology ; PGCT)生產低成本重組醣複合物疫苗研究。此研究背景因歷年許多上市預防細菌疾病的疫苗採用醣類與蛋白質結合-結合型疫苗技術研發，如 b 型嗜血桿菌 (*Haemophilus influenzae*)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、腦膜炎雙球菌(*Neisseria meningitidis*)等，其對兒童可有效誘導 T 細胞免疫反應並有助於記憶性免疫 B 細胞的產生。惟蛋白質疫苗的製造過程複雜且需要花費相當高的成本，故市場疫苗價格也高居不下，導致低開發國家難以推行相關疫苗接種計劃；因此，本研究開發 PGCT 技術降低結合型疫苗生產成本。而 PGCT 的研發起始於 *Campylobacter jejuni* N 連結醣基化系統的研究中，發現對於 *Campylobacter jejuni* 的全基因定序後，其部分基因體(>8%)與醣類合成及蛋白質製造有關，故運用於基因重組技術，於大腸桿菌 (*E.coli*)中促使產生醣蛋白。研發技術的策略為將 3 個不同質體((Plasmid)載入大腸桿菌中，合成預定目標的結合型疫苗成分，再加以純化後使用於製造疫苗。

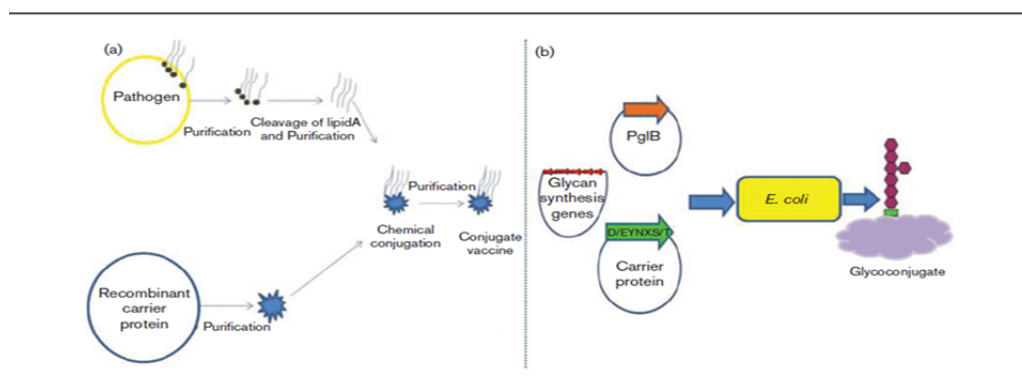


Figure. 比較說明以化學方式結合醣類和蛋白質產生醣複合物(a)和以 PGCT 方式重組醣複合物(b)

目前研究者已使用 PGCT 設計針對肺炎鏈球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、土倫病法蘭西斯氏菌 (*Francisella tularensis*)、貝氏考克斯菌 (*Coxiella burnetii*) 及伯克霍爾德菌 (*Burkholderia cenocepacia*) 的病原體製造新的醣複合物疫苗。另外，PGCT 還設計醣類和蛋白質的不同組合偶聯在不同的宿主減毒株中，誘導對多種病原體的保護力，但仍需進一步研究。

(二) 人類疱疹病毒疫苗

講者為 Júlíus Rajčáni 博士說明尚未上市的疱疹病毒疫苗的現況與問題，指出對於疱疹病毒如第 1 型、第 2 型單純疱疹病毒 (herpes simplex virus ; HSV-1 HSV-2)及 EB 病毒 (Epstein Barr virus ; EBV) 之病原體抗原的免疫治療、免疫預防用途仍是研究的焦點，關於 HSV-1、EBV 感染的發病機制，以及其疫苗接種及免疫治療性策略仍在動物模型評估研究中，發現大多數重要的抗原表現位於與病毒吸附和穿透相關的包膜糖蛋白 (如 gB, gD, gE, gC 和 gG)，而且免疫反應的結果取決於細胞毒性 CD8⁺ T 淋巴細胞的活性。中。而迄今為止所設計的 HSV-1、HSV-2 實驗疫苗均是衍生自感染細胞 (subunit vaccines) 的純化的病毒體產物或重組 HSV 編碼的蛋白質或缺少其一些包膜糖蛋白的減毒活病毒 (例如 gH 和/ gE)，並無法產生有效的免疫反應。另針對 EBV 胜肽疫苗的功效已經制定兔模型(rabbit model)，發現病原體 12 個表位所排列的 5 種組合是具保護性效力，但後續仍需進一步研究。

三、Accepted Abstract /Literature Review

(一) 輪病毒疫苗

由於現行上市的兩種輪狀病毒疫苗(GSK/Rotarix、MSD/RotaTeq)，皆為口服活性減毒疫苗，並無法接種於免疫不全的嬰幼兒。而目前腹瀉仍然是非洲和亞洲低收入國家兒童的主要疾病負擔和致死殺手，由於活性減毒疫苗對熱耐受性較差，於該國家使用時可能因疫苗儲存高溫的問題，導致其接種效果不佳，且這兩種疫苗已被證實可能與嬰兒接種疫苗所引發罕見但嚴重的腸套疊相關；此外，當這些疫苗病毒株和野生型人輪狀病毒存在於腸道中時，它們可能可以重組產生新的病毒菌株，包括毒性雙牛 -人類輪狀病毒(double bovine-human rotavirus)的重組變異病原體。

為了解決上述口服輪狀病毒疫苗相關問題，美國 CDC 胃腸炎和呼吸道病毒實驗室 Baoming Jiang 等研發採用皮膚接種之不活化輪狀病毒疫苗 (inactivated rotavirus vaccine ; IRV)。該研究使用 CDC-9 病毒株 (human G1P rotavirus strain)，經過 58°C 下孵育 4 小時等過程，使其去活化並通過在 Vero 細胞中連續三個傳代缺乏病毒生長，來證實 CDC-9 去活化後用以製造 IRV。

另並設計比較兩種疫苗接種方式的效果:1.肌肉注射(IM)5 μ g/1.0ml 含氫氧化鋁成分的抗原、2.皮內注射(ID)5 μ g/0.2ml 不含佐劑的抗原，並使用 FDA 許可之單次使用的微針注射器(MicronJet600[®])。研究顯示經由定菌小豬 (Gnotobiotic piglet)之動物模式實驗，顯示 IM 及 ID 注射之效果均可有效預防輪狀病毒引發的腸胃炎。另以 ID 注射較 IM 注射的較佳的優點包括:注射部位感覺較為不痛、因不添加佐劑而可能減少出現不良反應等。此外，以 ID 接種可節省劑量，減少成本；類似的研究如針對不活化流感疫苗 (Fluzone)使用 ID 接種之劑量為以 IM 注射疫苗劑量的 60%，結果並顯示據保護功效。

Table. RV antigen shedding and diarrhea in Gn piglets post-challenge with VirHRV Wa.

Treatment Group	N	RV antigen shedding ^a			Diarrhea ^b				
		Animals with shedding (%)	Mean duration (days)	Mean cumulative OD	% Decrease in shedding	Animals with diarrhea (%)	Mean duration (days)	Mean cumulative score ^c	% Decrease in cumulative score
Control	3	3/3 (100%)	5.3	2.05	-	2/3 (66%)	1.3	2.7	-
ID	4	1/4 (25%)	0.75	0.19	91%	0/4 (0%)	0	0	100%
IM	4	1/4 (25%)	0.5	0.07	97%	2/4 (50%)	0.5	1	63%
P-value ^d	-	0.143	0.026	<0.001		0.143	0.068	0.078	
P-value ^e	-	0.143	0.016	<0.001		1.000	0.415	0.445	

Gn piglets were vaccinated with control, ID and IM IRV and orally challenged with VirHRV Wa as described in the text. N = number of animals per group.

^a Determined by Premiere™ Rotaclone®.

^b Diarrhea duration was defined as the number of days with fecal score ≥ 2 . Stool consistency was scored daily (0 = normal; 1 = pasty; 2 = semi-liquid [moderate diarrhea]; 3 = liquid [severe diarrhea]).

^c Mean cumulative score was \sum (faecal scores ≥ 2)/number of animals.

^d Control vs ID.

^e Control vs IM.

(二) 植物製造藥品/疫苗的發展

預防接種已成為維持公共衛生預防傳染定之必要策略，而且因應流感疫情爆發或生物防禦威脅所需之擴大生產疫苗需求，故於 1986 年起開始進行進行以植物(New Plant Expression Systems)製造藥品/疫苗技術分享平台，其依靠植物生物技術和重組 DNA 技術在植物中產生重組蛋白，適用於重組蛋白質生產的植物提供高產率和相對較低的投資成本，而目前已有許多細胞培養過程使用植物萃取的產物，如 InVitriaI 製造之 Cellastim (rhAlbumin) 產品，即為無 IgG 的重組人類血清白蛋白 (rHSA)。

Table.1 Milestones in the development of plant-made pharmaceuticals.

Year	Event
1986	Conception of plant-made vaccine strategy by Curtiss and Cardineau
1988	First plant expression data of vaccine antigen, patent filed (US patents issued in 1997)
1990	First animal immunogenicity data for plant-made antigen. Patent application published by WIPO
1997	First human clinical trial with plant-made vaccine, phase I (potato LTB)
1998	First human clinical trial with plant-made antibody, phase I (purified, against dental caries)
2003	Sixth human clinical trial with plant-made vaccine, phase I (corn LTB)
2005	Development of Magniffection and corresponding increase of recombinant protein expression to commercially viable levels
2006	First plant-made vaccine licensed for use in animals (NT1 cells NDV vaccine)
2006	Phase I/II trials investigating a purified, plant-made therapeutic for Gaucher's disease (carrot cell suspension)
2008	Demonstration of plants as rapid, vaccine production systems (purified injectable for influenza)
2008	First human clinical trial with a plant-made vaccine against cancer (antibody)
2009	First Phase III clinical trial investigating plant-made therapeutic for Gaucher's disease (sponsored by Proalix)
2010	First Phase II trial with plant-made antibody against tooth decay (CaroRX)
2010	Expanded access granted for carrot-made treatment for Gaucher's disease
2012	FDA permission granted for use of carrot-made treatment for Gaucher's disease in humans

WIPO, World Intellectual Property Organisation; HBsAg, Hepatitis B surface antigen; LTB, *Escherichia coli* heat labile enterotoxin B subunit; NDV, Newcastle Disease Virus; NT1 Cells, plant cell culture of *Nicotiana tabacum*; NVCP, Norwalk virus capsid protein; RVgp, Rabies virus glycoprotein.

目前植物重組藥品/疫苗的技術包括:1.農桿菌屬的核轉化 (Agrobacterium-based nucleus transformation):以直接或通過使用革蘭氏陰性細菌根癌土壤桿菌將基因引入植物中，用聚乙二醇或通過電穿孔的植物轉化通常包括通過去除細胞壁的原生質體製備。2.質體轉化(Plastid transformation):其目標是葉綠體基因組而不是核基因組，該葉綠體基因組是母系遺傳的，並且植物可以穩定地產生蛋白質，而不須通過花粉傳遞的轉基因外交。3.用植物病毒作為載體(Transient expression with plant virus expression vectors) :第一代植物病毒表達載體編碼幾乎全病毒補體，將編碼感興趣的蛋白質或肽的基因置於病毒聚合酶，運動蛋白和外殼蛋白基因的下游，該技術已經用於生產各種植物疫苗，如人類乳突病毒(HPV)和流感病毒。而第二代病毒載體為依賴於具有載體複製所需的最小數量的病毒元件的整合系統，如 DNA 遞送，由非病毒元件提供，提供比用全病毒載體獲得的產量更高的產量，同時更具安全性。4.浸潤技術(Infiltration technologies for transient expression) :為將重組基因引入植物的新的節省時間的技術，被稱為“農桿菌浸潤”(agroinfiltration)和“擴大”(magniffection)的方案，使用真空或注射器以含有雙元載體或解構病毒載體的土壤桿菌浸潤 6 週齡植物。在疫苗生產中使用農桿菌浸潤是由加拿大生物技術公司 Medicago 開發用於流感 HA 抗原的病毒樣顆粒 (VLP) 疫苗，並且進行臨床試驗。

Table.2 Plant-based human vaccines in clinical trials.

Pathogen or disease	Antigen	Plant	Expression system	Administration route	Clinical trial	Reference
Enterotoxigenic <i>E. coli</i>	LTB	Potato	Transgenic	Oral	Phase I	Tacket et al. [1998]
Enterotoxigenic <i>E. coli</i>	LTB	Maize	Transgenic	Oral	Phase I	Tacket et al. [2004]
Norovirus	Capsid protein	Potato	Transgenic	Oral	Phase I	Tacket et al. [2000]
Hepatitis B virus	Viral major surface protein	Lettuce	Transgenic	Oral	Phase I	Kapusta et al. [1999]
Hepatitis B virus	Viral major surface protein	Potato	Transgenic	Oral	Phase I	Thanavala et al. [2005]
Rabies virus	Glycoprotein and nucleoprotein (fusion)	Spinach	Viral vector (transient)	Oral	Phase I	Yusibov et al. [2002]
Influenza virus (H5N1)	HA	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Launch vector (transient)	Intramuscular	Phase I	Chichester et al. [2012]
Influenza virus (H1N1; 2009 pandemic)	HA	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Launch vector (transient)	Intramuscular	Phase I	Cummings et al. [2014]
Influenza virus (H5N1)	HA (H5; VLP)	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Agrobacterial binary vector (transient)	Intramuscular	Phase I/Phase II	D'Aoust et al. [2008] Landry et al. [2010]
Influenza virus (H7N9)	HA (H7; VLP)	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Agrobacterial binary vector (transient)	Intramuscular	Phase I	Medicago Inc. (http://www.medicago.com)
Influenza virus	HA (VLP) (seasonal; quadrivalent)	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Agrobacterial binary vector (transient)	Intramuscular	Phase I	Medicago Inc. (http://www.medicago.com)
Cholera	CTB	Rice	Transgenic	Oral	Phase I	Nochi et al. [2009] Yuki et al. [2013]

研究也指出使用植物疫苗的風險包括口服疫苗過敏反應、對環境的影響，另外尚需政府部門的法律支持、安全檢驗技術把關等因素影響限制，後續仍需不斷進行植物製劑之發展研究，期待其未來可成為快速製造真正大規模（百萬或甚至十億劑量）的疫苗抗原，成為生產快速、有效、安全、穩定易於管理及廉價的疫苗方法。

叁、心得及建議：

預防接種一直公共衛生最具效益之傳染病介入措施，因此，各國在經費許可情形下無不積極設法推動各項疫苗接種政策，藉此維護國民健康，免於受傳染病的威脅。而位於非洲及亞洲等許多新興國家，因無法負擔疫苗接種與傳染病防治介入措施之經費，雖有 UNICEF、GAVI 等組織支援，惟所需疫苗費用龐大，仍難以周全，故現今仍是傳染病盛行地區。

另外，國際往來互動頻繁，近年來許多傳染病之病毒變異導致疾病再崛起或新興疾病，唯恐爆發疫病。因此，全球公共衛生、疫苗等相關領域專家無不絞盡腦汁不斷研究，以開發有效並可快速生產、廉價、安全及便利接種與管理的新疫苗製造技術。而本次研討會主要為探討疫苗之基礎科學研發結果及未來發展方向，藉由此課程，認識了新一代不活化輪狀病毒疫苗、結合型疫苗及植物分子技術等之研發新知與疫苗發展趨勢，獲益菲淺。

綜觀我國自 1944 年實施牛痘接種起，經由政府積極的實施各項疫苗政策及基層落實執行下，使多種侵襲我國民健康甚鉅的傳染病受有效控制或消失。如 1955 年起無天花病例（全球 1979 年絕跡），1981 年後白喉病例完全消失，1991 年起無小兒麻痺病例，2000 年 10 月宣告根除；另 6 歲以下兒童 B 肝帶原率於 2007 年亦由早期之 10.5% 降至 0.8% 等，顯示推動之預防接種政策對於傳染病控制的良好成效，較優於亞洲多數國家，且幾與歐美並駕齊驅。另亦深刻體認疫苗對於防治傳染病的重要性，及國家疫苗政策之永續推行，有賴穩定的疫苗財源，因此惟有建立穩健的疫苗財源基礎，方能因應國際趨勢推展疫苗政策，保障國人健康。

肆、附錄

一、議程

第1日(105年11月14日)

08:00-09:00	Registrations
09:00-09:25	Opening Ceremony
Keynote Forum	
9:30-10:10	Broad spectrum antivirals:natures magic bullets against currently pandemic viral infections like HIV and emerging viral infections like Zika,Ebola and bird flu
10:10-10:50	Development of an effective HIV-1 T-cell vaccine through targeting conserved regions of the HIV-1 proteome
11:10-11:50	A novel HIV vaccine targeting the 12 protease cleavage sites:preclinical evaluation
Oral Presentation Session	
11:50-12:20	Preclinical Evaluation of a Herbal Therapy for Herpes Infection
14:20-14:50	Rabies Encephalitis: Advances in our Understanding of the Disease and New Therapeutic Approaches for the Future
14:50-15:20	Method of Inhibiting Plant Virus Using Gold Nanoparticles
15:40-16:10	Double Rolling Circle Replication (DRCR): A mode of Amplification of Oncogene as well as Drug-resistant Genes and Replication of HSV and Chloroplast DNA.
16:10-16:40	Vaccination with Novel Protein Nanoparticles Provides Protection against Lethal Influenza Challenge
16:40-17:10	Evaluation of the Susceptibility to Influenza Virus in People Suffering from Hypercholesterolemia and Diabetes in terms of IFITM3 Polymorphism rs12252-C
17:10-17:40	The application of Protein Glycan Coupling Technology for the Production of Inexpensive Recombinant Glycoconjugate Vaccines
17:40-18:00	Development of candidate Rotavirus Vaccines derived from Bovine RF and Human RV4 viruses

第 2-3 日(105 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 Herpes Simplex Virus
	Human Parainfluenza Viruses among Critically Ill 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 Gene of Two Hungarian Grapevine Leaf Roll Associated Virus-3 (Glrav-3) Isolates
	Detection of Herpes Simplex Viruses I and II in Cerebrospinal Fluid Specimens of Iraqi Children presenting with Aseptic Meningitis by using Real Time PCR Assay
	Evaluation the Cyclophilin A Concentration in Immunosuppressive Male Rat, Pregnant Female Rat and Pups Tissueinfected and Non-infected with Rat Cytomegalovirus Malaysian strain ALL-03
	Isolation and Phylogenetic Analysis of Caprine Orf Virus in Malaysia
	Closing the Gaps in Genomic Scaffold of Rat Cytomegalovirus ALL-03 (Malaysian Strain)

二、照片

研討會會場



機場檢疫警示立牌

