

COVID-19

疫苗研發

| 何美鄉博士

| 李敏西博士



進展與前瞻

新興感染症的疫苗需求

新出現於2019年底的新冠病毒（SARS-CoV-2）雖與2003年的SARS病毒同屬冠狀病毒，但其流行病學特徵卻迥然不同。受SARS病毒感染的人，在出現病徵之後，才具感染力，因此可透過隔離病人來將病毒全然堵絕。新冠病毒則與許多已有疫苗可預防的病毒傳染病（例如麻疹、水痘）一樣，感染者在未發病之前就具有傳播病毒的能力，而且有高比例的無症狀或輕症感染者可持續有效的傳播病毒^[1]，這都是此新興病毒無法以隔離病人的方式來遏止病毒持續傳播的特徵。而且新冠病毒傳播週期時間短，被感染的人數可在短時間內快速上升而超越醫療體系的負荷。這些都是導致此新興病毒在短時間內在全球造成上千萬確診病例及59萬人死亡的原因。在沒有有效藥物與疫苗之際，雖然圍堵措施可暫時控制疫情，但疫情的終極控制，仍需仰賴有效的疫苗或藥劑。從靈長類的研究可知感染新冠病毒後所產生的免疫力是可以保護動物免於再次感染^[2, 3]

迄今為止，新冠病毒疫苗的研究和發展以前所未有的速度發展。新冠病毒的基因序列在1月8日公諸於世，僅僅60多天後，第一劑新冠病毒疫苗在3月16日接種到人體，進行第一期臨床試驗。全球可以如此神速的研發新冠病毒疫苗，有其歷史背景，其中受惠於SARS和MERS的疫苗研究的進展[4]，還有近年來多種創新疫苗技術平台，也應用於數種病毒疫苗之研發，且已進入人體臨床試驗的[5-7]。本文主要針對以這些創新技術平台開發新冠病毒疫苗時，如何在控制疫苗研發的風險，且不違反傳統的安全考量，以有別於傳統的漸進式臨床試驗，改為平行試驗來加速研發速度，加以闡述。

冠狀病毒的標的抗原－疫苗研發的第一步驟是確定標的抗原為何？病毒表面有多種蛋白質都可能刺激抗體的產生，但只有特定的抗體才能中和病毒的感染性。過往研究已知，SARS冠狀病毒利用其表面的棘蛋白（Spike蛋白）與細胞的受體（ACE2）結合而侵入細胞[8, 9]。透過基因比對，科學界在第一時間就知道2019新冠病毒也是利用棘蛋白與細胞ACE2的結合來侵入細胞，由此可知，借力於SARS的研究成果，新冠病毒的疫苗研發的第一步，就已縮短了數年的時間。此外，針對SARS-CoV的研究，科學界也已確定，僅有S蛋白的一較小片段扮演與細胞受體結合的功能，為受體結合域（Receptor binding domain, 簡稱RBD）[10]。因此，SARS-CoV2疫苗候選設計必須包括全部或不同長度的S蛋白，而且必須含有RBD。

傳統疫苗研發流程與時程

疫苗研發必須經過幾個測試階段，以確保其安全性和有效性。傳統疫苗平均都需要十多年的時間才能完成[11]。在進入臨床試驗的每一階段都需符合法規單位查核的標準，才會繼續下一階段的研發。

臨床前期

1. 建立疫苗生產的技術平台(包括疫苗抗原及佐劑)，然後進行製程開發及試產，並在適當的動物模型測試其安全性與有效性。
2. 完成新藥臨床前測試的文件，並向法規單位申請核准後，才能進入下一階段。

臨床階段 (<https://vaccine-safety-training.org/pre-licensure-vaccine-safety.html>)

－以下三階段臨床試驗進行前，都需有法規單位核准之後才能進行。

第1階段－安全性試驗，在少數（通常數十人）健康族群測試，觀察其接種後是否有任何不良反應。

第2階段－在更多的人（通常數百人）測試疫苗，需要對照組，用以確定抗體反應是來自疫苗，而非自然感染，第二期的另一重要功能，是依據免疫反應（通常是保護性抗體）的程度，來決定疫苗所需的劑量及劑數。

第3階段－通常需要上千人，也需有對照組，並需歷經足夠的時間以接觸病原，要有足夠的受試者受感染，才能看出對照組與疫苗組之間，感染率及致病率是否有差異。

通常需要成功通過每個階段才能繼續進行下一階段。在進入第3期臨床試驗之前，疫苗製程需已確定。在通過第三期試驗後，法規單位也會對疫苗製程進行審核。所以疫苗證照的核發，是含有疫苗的最終成品的品質、疫苗製造的設施及製造流程。

上市後監測－因為臨床試驗受試者最多就是幾千人，但某些疫苗可能會有嚴重但罕見的副作用(定義為萬分之一以上的發生率)，因此需要建立上市後通報或監控的機制。

(<https://vaccine-safety-training.org/post-licensure-vaccine-safety.html>)



傳染病預防創新聯盟 (Coalition of Epidemic Preparedness Innovation, 簡稱 CEPI)

傳染病預防創新聯盟（CEPI）是一個涵蓋公部門，私人，及民間慈善組織共同支持的一個國際性的非政府組織(non-government organization, NGO)，以資助針對新興傳染病疫苗的開發計畫（EID），強調創新，以期在有突發疫病時，創新技術具有可快速應用於研發出有效疫苗的技術平台[12]。CEPI於2015年構思，於2017年在瑞士達沃斯的世界經濟論壇（WEF）中正式宣佈成立，總部位於挪威首都奧斯陸。

自成立至今僅僅數年，已經有應用數種創新技術平台，針對世界衛生組織（WHO）所設定為“優先疾病”（及優先研發疫苗之意）來研發疫苗（<http://origin.who.int/blueprint/priority-diseases/en/#>）。列入“優先疾病”的考量因素如下：1) 可能造成大流行、2) 具有構成公共衛生危害潛力、3) 目前無有效藥物及疫苗。這些疾病包含 中東呼吸症候冠狀病毒（MERS-CoV）、重症急性呼吸症候冠狀病毒（SARS-CoV）、依波拉病毒（Ebola）、力百（Nipah）病毒、拉撒出血熱（Lassa）和裂谷熱（Rift Valley）病毒、屈公（Chikungunya）病毒及未知病原體的“疾病X”。CEPI 在2020年新冠病毒浮現之後的第一時間，就啟動新冠病毒研發計畫，迅速注入資金並進行協調，依據既有的技術脈絡，與有創新疫苗技術平台的機構簽約，這是SARS-CoV2研發初期進展的主要驅動力（圖一）。CEPI的協調涵蓋了來自全球疫苗產業和研究機構的廣泛可用技術，並在疫苗研發的多面向提供了大方向的指引^[13]，且已證明在防制全球大流行的緊急應變中即時並成功地跨出了第一步。

疫苗技術平台

所有的疫苗平台均具有某種優勢，也都有一些局限性。重要的考量包括生產的速度和靈活性，安全性和誘發免疫力（immunogenicity），體液和細胞免疫原性的概況，免疫力的持久性，生產的規模和成本，疫苗的穩定性以及冷鏈需求。因為是全球大流行，因此沒有任何一種疫苗或疫苗平台可以單獨滿足全球需求，因此採取多管齊下的戰略方針絕對至關重要。根據世衛組織（WHO）即時統計網頁（<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>）截至7月14日統計資料，已有23個候選疫苗進入不同階段的臨床試驗。以下就創新與傳統平台兩大類來討論。

創新技術平台

目前已進入臨床測試的新冠病毒疫苗，大多數是以創新技術平台製造出來的。包括病毒載體，DNA和RNA三大類。有關此類創新平台的技術細節可如何快速應用於突發大流行的疫病，可參考近期的一篇文獻回顧的文章^[14]。其中核酸疫苗，包括DNA和RNA，都具有在

CEPI 所協調的新冠病毒疫苗計畫 (資料來源：CEPI website news <https://cepi.net/news/>)

Jan 23	University Queensland –molecular clamp InovioPharm –DNA ModernaInc –RNA (NIH and others for further studies)
Jan 31	CureVac-RNA Printer™ lipid nanoparticle (LNP)
Feb 3	GSK -adjuvant
Feb 4	CSIRO –Animal study; scale up Production
Mar 3	DynaVaxtechnology –CpG adjuvant
Mar 10	Hong Kong University –Modified nasal spray NovaVax–Protein-coupled nanoparticles
Mar 16	Moderna vaccine trial begins
Mar 18	Oxford -ChAdOx1 vector vaccine

圖一

接種疫苗者的細胞中準確表達蛋白抗原的優勢，如此其抗原結構與病毒感染人所產生的抗原結構是相同的。此類創新平台都有已經完成了第一期臨床試驗的疫苗，如MERS的DNA疫苗，H7N9禽流感的疫苗，顯示這些疫苗平台的安全性已經歷某種程度的檢驗^[5-7]。由於核酸疫苗完全可以透過化學合成來製造，因此只要確定所要使用的抗原基因，就可以在數週內快速提供足夠的劑量來進行動物及臨床試驗。這是為何，新冠病毒的疫苗最早進入人體實驗的是RNA及DNA疫苗，因為此平台的安全性已被檢驗，因此人體試驗與動物試驗，可並行進行^[15]。RNA疫苗需使用脂質納米顆粒來保護和遞送，其缺點是不穩定性，因此需要非常嚴謹的低溫保存與運送。而當前，DNA的最佳配方需要電穿孔或特殊的注射器等輸送裝置，來確保DNA可以進入細胞。同時DNA與RNA疫苗兩者的免疫刺激都不甚強，可能需要較大的劑量，或多劑數。

另一個創新疫苗平台是利用一個對人類不致病的病毒當載體，如某型的腺病毒或動物病毒（如vesicular stomatitis virus,簡稱VSV），把新冠病毒疫苗的抗原基因，以基因工程的方法插入病毒基因組中後，直接培養病毒，再把病毒施打於人。而病毒載體又可分為可複製，或複製缺陷兩種。美國FDA批准的第一批依波拉疫苗就是使用VSV來表現依波拉的表面醣蛋白^[16]，VSV具有複製能力，因此所需的單劑量較小，且免疫力較持久。這些臨床經驗，都是可快速的應用於對抗新冠病毒的重要背景資料，也反映了此類疫苗已有第一篇第一期臨床資料的文獻^[17]。牛津大學和阿斯利康開發的重組腺病毒載體（ChAdOx1）也已進入臨床試驗。而且此平台具有大規模生產的潛力。但病毒載體疫苗的缺點是接

種者也會產生載體病毒的抗體，因此同一技術平台，應會限制了未來重複使用於其他疫苗的可能^[17]。

傳統疫苗技術平台

使用於新冠病毒疫苗的傳統技術如下：1) 去活性的全病毒疫苗（只有中國的5個不同單位在進行臨床測試）；2) 含RBD或更大的S蛋白的次單位重組蛋白；3) 重組類病毒顆粒（VLP）疫苗。台灣三家疫苗廠，都是使用次單位重組蛋白技術平台。此類傳統的重組蛋白技術儘管建立生產所需細胞庫所需的時間比核酸疫苗要更長，但是此類蛋白質和VLP疫苗具有長久且豐富的臨床經驗，如B型肝炎疫苗，人類乳頭瘤病毒，水痘帶狀疱疹和流感等疫苗，都有多年的經驗。因此，起頭雖較慢，但在藥證的審核過程中可減少不確定性。蛋白疫苗將需要有效的佐劑，這對於誘導以TH1型為主的免疫反應至關重要。

副作用

借鏡SARS疫苗研發的經驗，可知施打去活性全病毒的高齡小鼠，在攻毒後其肺部有嗜酸性細胞發炎反應（eosinophilic pneumonitis）^[18]。基於全病毒的疫苗可能與嗜酸性細胞肺病理有關，因而不是最佳選擇^[18, 19]。加上某些不具中和病毒能力的抗體可能會增強病毒侵入細胞（antibody dependent enhancement, 簡稱ADE）^[20]。這些SARS疫苗在動物產生的副作用將是研發新冠病毒的疑慮，至於研發過程要如何盡量避免，在CEPI所召開的會議中有充分的討論^[13]。

最後一里路的挑戰

在取得藥證前，需證實疫苗具保護性（第三期臨床試驗），也就是在社區感染的人群中，顯示疫苗接種者的感染率或發病率有統計意義的低於沒有接種疫苗的對照組。但感染新冠病毒後，至少50%的人沒有症狀^[21]，而且無症狀的比例也可能會與年紀成反比^[22]，因此把感染率設為疫苗功效的標的沒有太大的臨床意義。若以預防重症（約只有20%左右）為疫苗效果的標的，則受試者的人數要非常的多。如此一來，會大大的拖延疫苗上市時程。而對於全世界正在被研發的100多種疫苗，要一一進行如此大型的臨床試驗，是非常不可

能的，因此，WHO、美國FDA、CEPI等與疫苗研發相關的產官學界，將盡力協調以期共享有限的資源。

若臨床科學已經掌握了”保護性免疫指標的質與量”為何，如流感或日本腦炎，則僅需進行第二期臨床試驗，就可依免疫指標來核發藥證。而新冠病毒卻沒有這些數據。科學界已在多方討論，是否可以進行”人體攻毒試驗”（human challenge）來瞭解感染劑量，並可證實疫苗的保護力。WHO針對”人體攻毒試驗”已撰寫了原則性指引文件

(<https://www.who.int/ethics/publications/key-criteria-ethical-acceptability-of-covid-19-human-challenge/en/>)。備製”人體攻毒試驗”所需要的臨床級且具致病性的病毒（pathogenic virus），也是挑戰之一。美國NIH已同意備製並提供此病毒。雖然，現在已有數萬人自願擔當此類試驗的受試者，但仍須取得告知後的同意才算數。參與此試驗的受試者，勢必為低死亡率的年輕族群，但即便是年輕人，也不保證零死亡率。此實驗最重要的目的是找到保護性免疫反應，如此，我們就可以直接檢驗疫苗受試者的免疫反應是否足夠。當然法規單位是否願意以免疫指標來替代第三期臨床實驗，還未有定論。雖然有多種變數與不確定性，但全球對新冠病毒疫苗研發，無庸置疑已經盡全力地進行，若一切順利如期，預計2020年底前，全球會有數億劑的疫苗。這一切都是為了在面對下一波嚴峻疫情，即便疫苗的測試還未歷經最完整最理想的測試，第一線防疫人員可以有多一種防疫工具的選擇。

一個大家所關心的問題是：是否只有買得起疫苗的國家會有疫苗？所幸，聯合國已在4月23日做了“疫苗使用於全球防疫需具公平與即時性”的決議。至於屆時，將以何種細節讓全球各國在疫苗的使用，都可滿足其防疫基本需求，仍值得拭目以待。無論結果如何，科學界可以確定的是，歷經了新冠病毒疫苗快速研發的抗疫歷程後，未來面對下一個突發傳染病大流行時，人類會以更快更精準的方式讓疫苗問世。



作者介紹



| 何美鄉博士 Dr. Ho, Mei-Shang

印第安納州立大學醫學博士MD
 哈佛大學公衛公衛碩士
 中央研究院生物醫學科學研究所兼任研究員
 國內首位參加美國疫情調查服務隊的流行病學家
 曾任臺灣國光疫苗公司研發長
 歷經腸病毒71型、SARS、伊波拉、人流感與禽流感及新冠肺炎等疫情
 專長：病毒學及流行病學。



作者介紹

| 李敏西博士 Min-Shi Lee, MPH, PhD

流行病學博士(1995年到1999年)：英國牛津大學
 公衛碩士(1988年到1990年)：國立台灣大學公衛所
 理學士(1984年到1988年)：國立陽明醫學院醫技系

李敏西博士於1999年6月取得英國牛津大學博士學位，同年12月加入美國MedImmune Vaccines公司，參與過巨細胞病毒(CMV)、副流感病毒(parainfluenza)、呼吸道融合病毒(RSV)及流感疫苗之研發工作，並協助該公司的流感疫苗(FluMist)於2003年取得美國上市許可。

2005年加入國衛院參與新型流感H5N1疫苗及腸病毒71型疫苗開發，新型流感H5N1疫苗技術已專屬授權轉給基亞生技公司，腸病毒71型疫苗已經由非專屬授權轉給國光生技及高端生技公司，目前正進行第三期臨床試驗。2013年參與新型流感H7N9疫苗開發，新型流感H7N9疫苗技術於2014年以非專屬授權轉給基亞疫苗公司，目前已完成第二期臨床試驗。李敏西博士於2010年獲得國衛院年輕學者學術成就獎，2011年獲得國家生技醫療產業策進會國家新創獎，2017年獲得台北生技獎，2019年獲得國家生技醫療產業策進會精進獎。

李敏西博士積極參與國際學術聯盟，於2010年獲邀加入國際製藥協會聯盟(IFPMA)細胞培養流感疫苗工作小組，亞洲只有日本NID及台灣國衛院加入；於2015年2月獲邀加入國際EV71標準血清工作小組，台灣只有TFDA及國衛院李敏西研究員加入此工作小組；2017年發起成立亞太腸病毒偵測網絡(Asia-Pacific Network for Enterovirus Surveillance, APNES)；2018年參與NIBSC EV-A71共標試驗。



參考文獻

1. Li R, Pei S, Chen B, et al. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV2). *Science* (New York, NY) 2020.
2. Deng W, Bao L, Liu J, et al. Primary exposure to SARS-CoV-2 protects against reinfection in rhesus macaques. *Science* (New York, NY) 2020.
3. Chandrashekar A, Liu J, Martinot AJ, et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science* (New York, NY) 2020.
4. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pacific journal of allergy and immunology* 2020; 38:1-9.
5. Bahl K, Senn JJ, Yuzhakov O, et al. Preclinical and Clinical Demonstration of Immunogenicity by mRNA Vaccines against H10N8 and H7N9 Influenza Viruses. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* 2017; 25:1316-27.
6. Martin JE, Louder MK, Holman LA, et al. A SARS DNA vaccine induces neutralizing antibody and cellular immune responses in healthy adults in a Phase I clinical trial. *Vaccine* 2008; 26:6338-43.
7. Modjarrad K, Roberts CC, Mills KT, et al. Safety and immunogenicity of an anti-Middle East respiratory syndrome coronavirus DNA vaccine: a phase 1, open-label, single-arm, dose-escalation trial. *The Lancet Infectious diseases* 2019; 19:1013-22.
8. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 2003; 426:450-4.
9. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020; 579:270-3.
10. Wong SK, Li W, Moore MJ, Choe H, Farzan M. A 193-amino acid fragment of the SARS coronavirus S protein efficiently binds angiotensin-converting enzyme 2. *The Journal of biological chemistry* 2004; 279:3197-201.
11. Morris ZS, Wooding S, Grant J. The answer is 17 years, what is the question: understanding time lags in translational research. *Journal of the Royal Society of Medicine* 2011; 104:510-20.
12. Gouglas D, Christodoulou M, Plotkin SA, Hatchett R. CEPI: Driving Progress Towards Epidemic Preparedness And Response. *Epidemiologic reviews* 2019.
13. Lambert PH, Ambrosino DM, Andersen SR, et al. Consensus summary report for CEPI/BC March 12-13, 2020 meeting: Assessment of risk of disease enhancement with COVID-19 vaccines. *Vaccine* 2020; 38:4783-91.
14. Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, Petsch B. New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations. 2018; 9.
15. Yu J, Tostanoski LH, Peter L, et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science* (New York, NY) 2020.
16. Marzi A, Robertson SJ, Haddock E, et al. EBOLA VACCINE. VSV-EBOV rapidly protects macaques against infection with the 2014/15 Ebola virus outbreak strain. *Science* (New York, NY) 2015; 349:739-42.
17. Zhu FC, Li YH, Guan XH, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet* (London, England) 2020; 395:1845-54.
18. Bolles M, Deming D, Long K, et al. A double-inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge. *Journal of virology* 2011; 85:12201-15.
19. Agrawal AS, Tao X, Algaissi A, et al. Immunization with inactivated Middle East Respiratory Syndrome coronavirus vaccine leads to lung immunopathology on challenge with live virus. *Human vaccines & immunotherapeutics* 2016; 12:2351-6.
20. Wang Q, Zhang L, Kuwahara K, et al. Immunodominant SARS Coronavirus Epitopes in Humans Elicited both Enhancing and Neutralizing Effects on Infection in Non-human Primates. *ACS infectious diseases* 2016; 2:361-76.
21. Yoshimura Y, Sasaki H, Horiuchi H, Miyata N, Tachikawa N. Clinical characteristics of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak on a cruise ship. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy* 2020.
22. Stringhini S, Wisniak A, Piumatti G, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study. *Lancet* (London, England) 2020.
23. Dawson L, Earl J, Livezey J. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Human Challenge Trials: Too Risky, Too Soon. *The Journal of infectious diseases* 2020; 222:514-6.
24. Eyal N, Lipsitch M, Smith PG. Human Challenge Studies to Accelerate Coronavirus Vaccine Licensure. *The Journal of infectious diseases* 2020; 221:1752-6.
25. Jamrozik E, Selgelid MJ. COVID-19 human challenge studies: ethical issues. *The Lancet Infectious diseases* 2020.
26. Nguyen LC, Bakerlee CW, McKelvey TG, et al. Evaluating use cases for human challenge trials in accelerating SARS-CoV-2 vaccine development. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2020.