

主编 闻玉梅

# 治疗性疫苗

*Therapeutic Vaccines*



科学出版社

[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)

主编 周爱梅

# 治疗性疫苗

Therapeutic Vaccines



科学出版社  
Science Press

# 治疗性疫苗

Therapeutic Vaccines

主编 闻玉梅

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

治疗性疫苗作为一种新型制品,目前国内外已在基础及临床研究、应用基础、临床前及临床研究的理论与技术方面积累了大量经验。本书全面介绍了治疗性疫苗的作用机制及其应用,共分两部分:总论部分从整体理论和技术上进行了阐述,包括疫苗及其种类,持续性感染,治疗性疫苗的历史、理论和实验基础、动物实验,基于抗原-抗体复合物型、DNA、多肽、树突状细胞的治疗性疫苗,以及治疗性疫苗的临床研究和验证等章节;各论则深入介绍一些治疗具体疾病的疫苗,包括乙肝、丙肝、艾滋病、人乳头瘤病毒、结核病、细菌慢性感染及肿瘤治疗性疫苗等。

本书适合从事疫苗研究和开发的科研人员、教学人员及研究生参考使用。

### 图书在版编目(CIP)数据

治疗性疫苗 / 闻玉梅主编. —北京:科学出版社, 2010.9

ISBN 978-7-03-028545-4

I. 治… II. 闻… III. 疫苗-基本知识 IV. R979.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 156891 号

策划编辑:沈红芬 / 责任编辑:黄相刚 / 责任校对:李影  
责任印制:刘士平 / 封面设计:黄超

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2010年9月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2010年9月第1次印刷 印张:21 3/4 插页:4

印数:1—2 000 字数:508 000

定价:98.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

## 《治疗性疫苗》编写人员

- 主 编** 闻玉梅 复旦大学
- 编 委** (按姓氏汉语拼音排序)
- 李兰娟 浙江大学
- 瞿 涤 复旦大学
- 阮 力 中国疾病预防控制中心
- 田厚文 中国疾病预防控制中心
- 汪莹怡 复旦大学
- 王 宾 中国农业大学
- 王福生 北京 302 医院
- 王洪海 复旦大学
- 魏于全 四川大学
- 闻玉梅 复旦大学
- 吴玉章 国家免疫制品工程技术研究中心
- 谢幼华 复旦大学
- 徐道振 北京地坛医院
- 徐建青 上海市公共卫生临床中心
- 杨东亮 华中科技大学
- 袁正宏 复旦大学
- 赵 超 复旦大学
- 赵 铠 北京生物制品研究所
- Douglas B. Lowrie 上海市公共卫生临床中心

# 序

疫苗 (vaccine) 这一术语来源于 Edward Jenner 在 1796 年使用牛痘为人类接种以预防天花。疫苗为人类预防和控制传染病做出了重要贡献。近几十年, 疫苗的研究和应用, 从传染病扩大到系统性疾病, 包括癌症; 从预防扩大到治疗。治疗性疫苗的研究和应用是当今生物技术领域的一个研发热点。

以该书主编闻玉梅院士为首的一批科学家, 对疫苗研究都有扎实的理论基础和长期的应用经验。该书以治疗性疫苗为主线, 总论部分包括疫苗及其种类、持续性感染、治疗性疫苗的历史、治疗性疫苗的基础理论与基本知识、治疗性疫苗的动物模型与实验、抗原-抗体复合物型治疗性疫苗、DNA 治疗性疫苗、多肽治疗性疫苗、基于树突状细胞的治疗性疫苗、治疗性疫苗的临床研究、治疗性疫苗验证等, 从各个方面对治疗性疫苗进行了系统全面的论述; 各论部分则选择了对我国人民健康最为关注的主要治疗性疫苗, 进行了深入的介绍, 包括乙肝治疗性疫苗、乙肝治疗性疫苗的临床研究、丙肝治疗性疫苗、艾滋病治疗性疫苗、人乳头瘤病毒治疗性疫苗、结核病治疗性疫苗、细菌慢性感染治疗性疫苗、肿瘤治疗性疫苗等。

理论与实际、基础研究与临床研究密切结合以及多学科交叉集成是本书的特点, 这体现了当代转化医学的特色。在该专著的撰写者中除了有闻玉梅、赵铠、李兰娟、魏于全等院士, 还有病毒学、细菌学、免疫学、临床医学与流行病学的其他老、中、青年专家参加, 该书内容不仅反映了本领域国内外的最新进展, 还包括了各位专家的研究成果。该书的出版无疑可以促进我国疫苗, 特别是治疗性疫苗的研究和开发, 也为从事疫苗研究和开发的医务与防控人员、教学人员及研究生提供了极有价值的参考书。

病毒基因工程国家重点实验室



2010 年 5 月

# 前 言

疫苗，特别是治疗性疫苗的研发与应用，是当今国际基础科学研究机构及生物高新技术企业极为关注并投入巨资进行研究的热点领域。治疗性疫苗的成就将会为人类带来极大的经济与社会效益。早在1988年，我向刚刚启动的国家“863”高科技计划递交了“建立动物模型消除乙肝免疫耐受性”的课题申请书，这一课题仅是开展乙肝治疗性疫苗研究的雏形，但当时就得到“863”高科技计划评审专家及领导的极大支持。至今“863”高科技计划支持乙肝治疗性疫苗研究已达二十余年。面对即将完成的三期临床研究，不胜感慨！今天的结果充分表明了国家对控制严重危害人民健康疾病的决心与关怀，体现了多位专家的远见卓识。回顾过去二十多年的漫长路途，许多同事、学生为参加治疗性疫苗的研究与开发而奉献出的心血真是难以言表。在本书付梓之时，我向大家深深鞠躬致敬！

治疗性疫苗作为一种新型的制品，目前国内外已在基础及临床研究、应用基础、临床前及临床研究的理论与技术方面积累了大量的经验，但全面介绍治疗性疫苗的专著却极少。本书全面介绍了既有类似预防性疫苗诱生机体的免疫应答作用，又具有类似药物治疗疾病作用的治疗性疫苗。全书共分两部分：总论部分从整体理论、技术上予以阐述，包括疫苗及其种类、持续性感染、治疗性疫苗的历史、治疗性疫苗的理论 and 实验基础、治疗性疫苗的动物实验、抗原-抗体复合物型治疗性疫苗、DNA治疗性疫苗、多肽治疗性疫苗、基于树突状细胞的治疗性疫苗、治疗性疫苗的临床研究、治疗性疫苗验证等章节；各论部分则选择一些治疗具体疾病的疫苗进行较深入的介绍，包括乙肝治疗性疫苗、丙肝治疗性疫苗、艾滋病治疗性疫苗、人乳头瘤病毒治疗性疫苗、结核病治疗性疫苗、细菌慢性感染治疗性疫苗、肿瘤治疗性疫苗等。

本书的特点为理论密切结合实际应用，体现了基础研究与临床研究双向转化型研究的特色；即从临床提出问题，围绕解决临床问题展开基础研究，再以提出新的治疗方法为导向进行多学科交叉研究，从而得出结果并开发出产品。治疗性疫苗的研发成功需要多学科专家的通力合作，不仅要有疫苗学、微生物学、免疫学、细胞生物学、肿瘤学等专家做基础研究，还需有临床医学、临床检验学专家，以及流行病学专家等加入。本书的撰写邀请到了赵铠、李兰娟、魏于全院士，以及诸多病毒学、细菌学、免疫学、临床医学与流行病学的其他老、中、青年专家参与，因此，本书既反映了学科国外的新进展、新动态，也包括了各位专家学者最新的研究成果。本书的出版一方面是表达对从事治疗性疫苗诸多专家的敬意，另一方面也是希望能为激发我国治疗性疫苗的研发与应用增添一份活力。

复旦大学上海医学院  
教育部/卫生部 医学分子病毒学实验室  
闻玉梅  
2010年5月

# 目 录

## 第一篇 总 论

<b>第一章 疫苗及其种类</b> .....	3
第一节 疫苗的发展.....	4
第二节 疫苗的种类.....	5
<b>第二章 持续性感染</b> .....	14
第一节 持续性感染的分类 .....	15
第二节 人类持续性感染的疾病 .....	18
第三节 持续性感染的模型 .....	19
第四节 构成持续性感染的机制 .....	21
<b>第三章 治疗性疫苗的历史</b> .....	29
第一节 前驱期 (1850~1885 年) .....	31
第二节 启动期 (1890~1911 年) .....	32
第三节 发展期 (1912~1947 年) .....	32
第四节 缓慢期 (1950~1993 年) .....	33
第五节 复兴期 (1993 年至今) .....	34
<b>第四章 治疗性疫苗的基础理论与基本知识</b> .....	36
第一节 治疗性疫苗的分类 .....	37
第二节 病原体及其组分作为治疗性疫苗的基础理论 .....	38
第三节 调控固有免疫治疗性疫苗的基础理论 .....	39
第四节 靶向特异性免疫治疗性疫苗的基础理论 .....	43
第五节 临床前的实验研究与临床研究 .....	45
<b>第五章 治疗性疫苗的动物模型与实验</b> .....	48
第一节 鸭乙肝病毒 .....	48
第二节 土拨鼠动物模型 .....	56
第三节 乙肝病毒的转基因小鼠模型 .....	64
第四节 其他动物模型 .....	72
<b>第六章 抗原-抗体复合物型治疗性疫苗</b> .....	81
第一节 抗原-抗体反应.....	82
第二节 抗原-抗体复合物的生物学作用.....	86
第三节 抗原-抗体免疫原性复合物 (IC) 与治疗性疫苗.....	87
<b>第七章 DNA 治疗性疫苗</b> .....	95
第一节 DNA 疫苗概述.....	95
第二节 改进和增强 DNA 疫苗的策略 .....	99



第三节	治疗性 DNA 疫苗的应用 .....	105
第四节	DNA 治疗性疫苗的产业化 .....	109
<b>第八章</b>	<b>多肽治疗性疫苗</b> .....	<b>118</b>
第一节	多肽治疗性疫苗的概念 .....	119
第二节	多肽治疗性疫苗的研制策略 .....	120
第三节	多肽治疗性疫苗的研究技术 .....	121
第四节	多肽治疗性疫苗的研究进展 .....	129
第五节	多肽疫苗研制存在的问题和展望 .....	132
<b>第九章</b>	<b>树突状细胞治疗性疫苗</b> .....	<b>135</b>
第一节	概述 .....	135
第二节	DC 的生物学特征 .....	136
第三节	DC 负载抗原的条件与方法 .....	138
第四节	靶向抗原负载的 DC 疫苗分类 .....	139
第五节	DC 疫苗的制备 .....	140
第六节	DC 疫苗的治疗方案设计和相关问题 .....	143
第七节	DC 疫苗的临床试验及其评价 .....	147
第八节	存在问题和应用前景展望 .....	150
<b>第十章</b>	<b>治疗性疫苗的临床研究</b> .....	<b>153</b>
第一节	治疗性疫苗临床研究的国内外进展 .....	154
第二节	治疗性疫苗的临床疗效和安全性研究进展 .....	161
第三节	建议在治疗性疫苗临床研究中开展实验研究 .....	163
<b>第十一章</b>	<b>复合物型治疗性疫苗疗效的临床验证</b> .....	<b>167</b>
第一节	临床研究的分期 .....	169
第二节	临床试验的设计 .....	172
第三节	临床试验的质量保证与质量控制 .....	180
第四节	治疗性疫苗疗效验证的特殊性 .....	185

## 第二篇 各 论

<b>第十二章</b>	<b>乙肝治疗性疫苗</b> .....	<b>193</b>
第一节	乙肝病毒的基本生物学特性 .....	193
第二节	乙肝病毒致持续性感染机制 .....	198
第三节	乙肝治疗性疫苗的研发 .....	201
第四节	复合物型治疗性乙肝疫苗 (乙克) .....	203
第五节	乙肝治疗性疫苗的机遇与挑战 .....	209
<b>第十三章</b>	<b>复合物型乙肝治疗性疫苗的临床研究</b> .....	<b>212</b>
第一节	I 期临床试验 .....	213
第二节	II a 期临床试验 .....	215
第三节	II b 期临床试验 .....	217

第四节	关于治疗性疫苗乙克的几个问题·····	219
<b>第十四章</b>	<b>丙肝治疗性疫苗</b> ·····	222
第一节	丙肝病毒的基本生物学特性·····	223
第二节	丙肝病毒持续性感染的免疫学机制·····	226
第三节	丙肝预防与治疗性疫苗的研发·····	229
<b>第十五章</b>	<b>艾滋病治疗性疫苗</b> ·····	237
第一节	研制艾滋病治疗性疫苗的必要性·····	237
第二节	研制艾滋病治疗性疫苗的可能性·····	239
第三节	艾滋病治疗性疫苗的主要进展·····	240
第四节	艾滋病治疗性疫苗研究有待解决的问题及展望·····	247
<b>第十六章</b>	<b>人乳头瘤病毒治疗性疫苗</b> ·····	251
第一节	HPV 生物学及分子生物学特性 ·····	253
第二节	HPV 感染的免疫反应 ·····	257
第三节	HPV 治疗性疫苗 ·····	263
<b>第十七章</b>	<b>结核病治疗性疫苗</b> ·····	275
第一节	结核菌感染的特性·····	276
第二节	研究结核病治疗性疫苗的紧迫性·····	276
第三节	结核病疫苗研究的历史·····	277
第四节	卡介苗免疫保护效力差的原因·····	278
第五节	结核病疫苗的免疫机制·····	280
第六节	结核病治疗性疫苗的研究现状·····	281
第七节	结核病治疗性疫苗的研究发展趋势·····	287
<b>第十八章</b>	<b>细菌慢性感染治疗性疫苗</b> ·····	292
第一节	细菌感染的特性及抗菌免疫机制·····	293
第二节	细菌治疗性疫苗的研究·····	294
<b>第十九章</b>	<b>肿瘤治疗性疫苗</b> ·····	306
第一节	肿瘤疫苗的概念·····	307
第二节	肿瘤免疫逃逸机制·····	308
第三节	肿瘤疫苗的基本策略·····	312
第四节	肿瘤疫苗的类型·····	314
第五节	肿瘤疫苗的发展方向·····	325
<b>第二十章</b>	<b>治疗性疫苗的发展前景</b> ·····	331
第一节	扎根于多学科深厚的基础理论·····	331
第二节	逐步建立标准化的评价体系·····	332
第三节	逐步拓宽领域·····	332
第四节	密切联系临床与生产企业·····	333
第五节	建立基地、培养人才·····	333

彩图

# 第一篇 总 论



# 第一章 疫苗及其种类

## Vaccines and Classification of Vaccines

### 摘要

疫苗是生物制品，是应用传统方法或基因工程等生物技术，由获得的微生物和微生物的蛋白、多糖或核酸等生物材料制成，用于人类疾病的预防和治疗。根据制备疫苗的技术和疫苗成分，疫苗分为传统疫苗和新型疫苗或高技术疫苗。传统疫苗有灭活疫苗、减毒活疫苗和从微生物及其衍生物分离提取的亚单位疫苗，如蛋白疫苗和多糖疫苗；新型疫苗有基因工程亚单位疫苗、重组载体活疫苗、核酸疫苗、基因缺失活疫苗、遗传重配疫苗及合成肽疫苗等。

### Abstract

Vaccines are biological products prepared from biological substances such as microbes for the purpose of prophylaxis and treatment of diseases. They may be whole microbes or their components such as protein, polysaccharide or nucleic acid which may be prepared by using conventional fractionation methods or by sophisticated biological techniques such as genetic engineering. Vaccines can be classified into traditional vaccines and new generation or high-tech vaccines according to the technologies used for making them and their composition. Traditional vaccines include inactivated vaccines, attenuated vaccines and subunit vaccines, which are obtained by separation and purification of the relevant microbes or their derivatives; examples are protein vaccines and polysaccharide vaccines. The new generation of vaccines includes genetically engineered subunit vaccines, vectored live vaccines, gene-deleted live vaccines, nucleic acid vaccines, genetic reassortment vaccines and synthetic peptide vaccines etc.

疫苗的防病效果已为世人公认。如普遍接种痘苗（vaccinia），在全球根除了天花（smallpox）；强化脊髓灰质炎疫苗（poliomyelitis vaccine）免疫，已在许多国家无小儿麻痹症；自实施扩大免疫规划以来，麻疹（measles）、白喉（diphtheria）和百日咳（pertussis）等的发病率已大幅度下降；新生儿实施乙型肝炎疫苗（hepatitis B vaccine）免疫接种，在儿童中乙型肝炎表面抗原（hepatitis B surface antigen, HBsAg）携带率降低了90%。但近些年来一些新现和再现传染病对人类健康又构成新威胁；同时抗感染免疫学理论的进展、现代生物技术的广泛应用，又为研发新疫苗和改进现有疫苗奠定了基础、创造了条件。预期更多的疫苗将不断问世，疫苗在保护人类健康方面将发挥更大的作用。

## 第一节 疫苗的发展

据记载,公元10世纪宋真宗时代我国即采用接种人痘 (variolation) 以预防天花,当时称“种花”,在人类历史上开创了人工主动免疫。人痘接种曾流传到许多国家,但有时也可引起天花传播。1776年,英国医生 Edward Jenner 用实验证实接种牛痘 (cowpox) 可预防天花。接种牛痘只引起局部皮损,故逐渐替代了人痘接种。当时的牛痘接种,是将自然牛痘接种于人体,而后再取其痘浆给他人接种,痘浆来源很有限。直至19世纪才将自然牛痘的痘浆接种到小牛皮肤,取其痘浆作为疫苗,称痘苗,以此开始了实验室人工制备疫苗。

法国 L. Pasteur 采用延长细菌培养时间和提高细菌培养温度 (42~43℃) 使毒力减弱,先后制成减毒的鸡霍乱 (chicken cholera) 疫苗和动物用炭疽 (anthrax) 疫苗;于1885年,他采用兔脑内连续传代使狂犬病 (rabies) 街毒成为固定毒,制成人用狂犬病疫苗。Pasteur 的工作是疫苗史上又一显著标志,给后人的重要启示是致病力强的流行株在实验室更换其宿主或改变培养条件可获得致病力弱的变异株,为疫苗发展开辟了广阔前景。但有些微生物毒力不易减弱或毒力减弱后即失去免疫原性。1886年,Salmon Smith 发现加热杀死的强毒猪霍乱菌仍具有很好的免疫原性,随后一些死菌疫苗相继问世,如鼠疫 (plague)、霍乱 (cholera)、伤寒 (typhoid)、百日咳 (pertussis) 等疫苗。

疫苗的发展与微生物分离、培养技术的发展关系密切,特别是病毒疫苗,病毒培养技术的创新是疫苗发展的首要基础。早期的病毒疫苗都采用动物培养法,如牛痘苗、羊或兔脑狂犬病疫苗、Dakar 株鼠脑黄热病 (yellow fever) 疫苗及鼠脑乙型脑炎 (Japanese encephalitis) 疫苗等。1931年,Goodpasture 发现鸡胚培养能大量增殖病毒,此后相继开发了流感 (influenza)、腮腺炎 (mumps) 和 17D 株黄热病疫苗等。1949年,Enders 等研究证实病毒能在离体的细胞培养物中增殖,随后采用细胞培养技术开发了多种病毒疫苗,如脊髓灰质炎、麻疹、风疹 (rubella) 和水痘 (varicella) 等疫苗。曾采用动物和鸡胚培养制备的疫苗亦相继改进为细胞培养疫苗,如痘苗、狂犬病疫苗、乙脑疫苗和腮腺炎疫苗等,其中痘苗、狂犬病疫苗和乙脑疫苗都经历了动物疫苗、鸡胚疫苗和细胞培养疫苗的发展历程。

1969年,Gotschlich 采用十六烷基三甲基氨溴化物 (cetavlon) 处理及提取 A 群脑膜炎球菌 (group A meningococci) 荚膜多糖抗原,获得纯度高、分子质量大的多糖抗原,并制成 A 群、C 群多糖疫苗 (polysaccharide vaccine)。经临床研究证明多糖疫苗安全有效,且受种者获得的免疫力能维持数年。流脑 A、C 群多糖疫苗的研究成功,促进了其他细菌多糖疫苗研究,并相继开发了 b 型流感嗜血杆菌 (hemophilus influenza type b, Hib) 多糖疫苗、肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 多糖疫苗和伤寒 Vi 多糖疫苗 (Vi polysaccharide typhoid vaccine)。细菌荚膜多糖是非 T 细胞依赖性抗原,只激活 B 细胞,且几乎不产生 B 记忆细胞,在免疫接种实践中对婴幼儿 (小于 18 月龄) 及有免疫缺陷的成年人免疫效果不佳。为提高多糖疫苗的免疫效果又研究开发了结合疫苗,即将荚膜多糖与蛋白如白喉类毒素 (diphtheria toxoid) 或破伤风类毒素 (tetanus toxoid) 等结合在一起,使之成为 T 细胞依赖性,以提高免疫原性。

20 世纪 70 年代, 基因工程技术结合蛋白分离纯化技术已应用于疫苗开发。1975 年, 美国默沙东公司采用重组酵母表达 HBsAg 研制乙型肝炎疫苗, 于 1986 年获准生产, 是最早也是最成功的基因工程疫苗。重组酵母表达的多肽为脂质膜包裹形成 22nm 颗粒, 从而增加了免疫原性。其后采用基因重组技术相继开发了莱姆病 (Lyme disease) 疫苗 (rOspA)、霍乱疫苗 (全菌体和基因重组霍乱毒素 B 亚单位) 以及重组痢疾 (dysentery) 活疫苗 (FS) 等。在此期间, 基因缺失活疫苗、活载体疫苗以及核酸疫苗的研究亦取得明显进展。进入 21 世纪, 采用基因工程技术又相继开发了人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 疫苗、五价牛-人轮状病毒 (rotavirus) 基因重配疫苗。近几年我国学者采用基因工程技术研制的幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 疫苗已获新药证书, 戊型肝炎 (hepatitis E) 疫苗亦已进入 III 期临床研究。人用疫苗发展简史参见表 1-1。

表 1-1 人用疫苗发展史

时间	减毒活疫苗	灭活疫苗	蛋白及多糖疫苗	基因工程疫苗
18 世纪	天花 (1798 年)			
19 世纪	狂犬病 (1885 年)	伤寒 (1896 年) 霍乱 (1896 年) 鼠疫 (1897 年)		
20 世纪 (前 50 年)	卡介苗 (1927 年) 黄热病 (1935 年)	百日咳 (1926 年全细胞) 流感 (1936 年) 斑疹伤寒 (1938 年)	白喉 (1923 年) 破伤风 (1926 年)	
20 世纪 (后 50 年)	脊髓灰质炎 (口服) 麻疹 腮腺炎 风疹 腺病毒 伤寒 (Ty21a) 水痘 轮状病毒 (人-猴重配) 乙型脑炎 甲型肝炎	脊髓灰质炎 (注射) 狂犬病 (细胞培养) 乙型脑炎 甲型肝炎 森林脑炎 肾综合征出血热	肺炎球菌 脑膜炎球菌 b 型流感嗜血杆菌 乙型肝炎 (血源) b 型流感嗜血杆菌 (结合) 伤寒 (Vi) 无细胞百日咳 炭疽	乙型肝炎 (酵母和 CHO) 百日咳类毒素 霍乱 (rCTB+WC) 痢疾 (FS) 霍乱 (基因缺失)
21 世纪	流感 (冷适应) 轮状病毒 (人-牛重配) 带状疱疹		肺炎球菌 (结合) 四价脑膜炎球菌 (结合)	人乳头瘤病毒

## 第二节 疫苗的种类

疫苗曾定义为: 针对疾病产生免疫力的疫苗是灭活或减毒的病原体, 即疫苗是由病原体制成。随着新型疫苗的发展, 如亚单位疫苗、活载体疫苗和核酸疫苗等疫苗的出现, 疫苗已不是完整的病原体, 灭活和减毒的概念亦模糊不清。根据现有疫苗的种类, 疫苗现代的定义是: 疫苗是针对疾病的致病原或其相关的蛋白 (多肽、肽)、多糖或核酸, 以一种或多种成分, 直接或通过载体经免疫接种进入机体后, 能诱导产生特异的体液和细胞免



疫，从而使机体获得预防该病的免疫力。当前疫苗的应用已从预防疾病发展到治疗疾病，有预防性疫苗和治疗性疫苗。本章主要介绍预防性疫苗的种类。

### 1. 灭活疫苗 (inactivated vaccine)

通常选择抗原性较全、免疫原性和遗传稳定性良好的细菌或病毒毒种，一般毒力较强。需比较研究不同来源菌、毒种的生物学性状况，包括不同地区、不同时间、不同年龄以及疾病不同严重程度的菌毒种；通过交叉免疫保护水平的比较，选择交叉保护范围广、诱导免疫应答水平高的菌、毒种。在遗传稳定性方面，需对菌、毒种进行纯化，如挑选单颗菌落或单颗病毒空斑，经传代扩增后与原始菌、毒种比较，证明二者主要保护区域核苷酸或氨基酸序列的一致性。经比较选择菌、毒种后采用适宜的培养方法以获得大量的细菌或病毒，以化学灭活剂如甲醛溶液或 $\beta$ -丙内酯等灭活处理，破坏细菌或病毒的感染性但仍保留其免疫原性。接种灭活疫苗后，灭活的细菌或病毒在机体内不会繁殖，所以也称死疫苗。灭活疫苗稳定性好，亦较安全；但一般需接种2或3次，受种者接种后接种反应较大，获得的免疫力其维持时间也较短。

随着纯化技术在疫苗制备过程中的应用，灭活疫苗也随之改进为纯化的灭活疫苗。制备疫苗过程中收取的细菌或病毒液含有细菌培养基或病毒培养液中的各类有机物和无机物，病毒疫苗则还有细胞和细胞碎片，采用分离纯化技术去除杂质可获得高纯度疫苗。对病毒疫苗中含有的宿主细胞蛋白残留量有明确的限度要求。目前使用的灭活疫苗已都改进为纯化疫苗，如乙型脑炎、狂犬病、肾综合征出血热 (hemorrhagic fever with renal syndrome) 和伤寒疫苗等。

### 2. 减毒活疫苗 (attenuated vaccine)

在传统疫苗中特别是病毒性疫苗，减毒活疫苗是研制的主导方向。防病效果很好的痘苗 (天花疫苗)、麻疹疫苗、脊髓灰质炎疫苗，以及腮腺炎、风疹、水痘等疫苗均属于减毒活疫苗。接种减毒活疫苗后，减毒的病原体在机体内有一定程度的生长繁殖能力，类似隐性感染产生细胞、体液和局部免疫。接种次数少，受种者接种反应轻微，获得的免疫力较持久。活疫苗的保存稳定性较差，经制成冻干疫苗后，疫苗稳定性已有很好改进。

研发减毒活疫苗，其关键是选育减毒适宜、毒力低而免疫原性和遗传稳定性均良好的菌、毒种。

首先在细菌培养基或动物、鸡胚和细胞培养中适应传代以获得较高量的细菌数或病毒量。细菌选择敏感培养基，病毒则根据其动物、鸡胚或细胞培养的敏感性选择。减毒的方法有以下几种：

(1) 体内、外传代减毒：卡介苗是传统传代方法筛选细菌疫苗株的典型例子。法国巴斯德研究所的 Calmette 和 Guerin 将牛型结核杆菌接种在5%的甘油胆汁马铃薯培养基上，每隔2~3周传代一次，经传230余代，历时13年，使致病力丧失而仍保持免疫力，终于开发了预防结核病的卡介苗 (BCG vaccine)。由罗马尼亚引入的痢疾福氏2aT32减毒株，是痢疾福氏2a菌株在含去氧胆酸的培养基上连续传32代后，挑选出一株无侵袭力、豚鼠角膜试验阴性的菌株，命名为T32疫苗株。后经检查T32疫苗株中大质粒的编码毒力基因已缺失，减毒成为无毒菌株。该无毒菌株在我国已用做痢疾双价活疫苗的受体菌。

自20世纪50年代，体外细胞培养技术已广泛应用于病毒疫苗的研究。现用于儿童免疫接种的多种病毒性减毒活疫苗，如脊髓灰质炎、麻疹、腮腺炎、风疹、水痘、甲型肝



炎、乙型脑炎等活疫苗，都是采用原代细胞或人二倍体细胞经一定代数的传代并结合温度筛选或空斑挑选方法选育成功的。其中麻疹、风疹、甲型肝炎和乙型脑炎活疫苗是我国学者采用本土分离的流行病毒经减毒成功制成。流行性乙型脑炎病毒具有明显的嗜神经性特征，对其减毒困难，减毒的要求和验证更为严格。为研究减毒活疫苗，20世纪60年代曾设计采用鸡胚细胞传代减毒的方案，用3株病毒分别于鸡胚细胞传200多代后仍未能达到满意的减毒要求，后改用地鼠肾细胞传代减毒的方案。将分离自西安蚊幼虫的SA14株乙脑病毒在原代地鼠细胞传100代后空斑纯化3次，获得的12-1-7株病毒对小鼠和恒河猴已基本不致病，但再经细胞或小鼠脑内传代后，病毒毒力容易回升。后再采用动物神经外传代和空斑纯化交替筛选，获得毒力低、未返祖的9-7株病毒，因免疫力较弱又经动物神经外组织多次传代增殖提高了免疫力，最终获得毒力低并稳定、免疫性高的可用于疫苗制备的SA14-14-2减毒株。乙型脑炎SA14-14-2减毒株的选育过程见表1-2。

表 1-2 乙脑 SA14-14-2 减毒株选育过程

选育过程	毒株名称
SA14 乙脑野毒株，小鼠脑内传 11 代	SA14 (母株)
原代地鼠肾细胞 (PHK) 传 100 代，蚀斑纯化 3 次	12-1-7
蚀斑纯化 2 次	17-4
小白鼠腹腔传 1 代，取脾，蚀斑纯化 1 次	2
蚀斑纯化 3 次	9
小白鼠皮下传 1 代，取皮下组织，蚀斑 1 次	9-7
地鼠口服传 6 代，取脾，蚀斑 2 次	5-3
乳鼠皮下传 5 代，取皮肤和皮下组织，蚀斑 2 次	14-2

风疹病毒的减毒过程则较简易，系采用体外连续传代培养结合温度筛选法进行减毒。以人二倍体细胞从一典型风疹女孩的咽拭子中分离病毒，经鉴定确认为风疹病毒后在 36℃ 培养下连续传 11 代，使病毒适应人二倍体细胞。而后在低温培养下 (30℃) 连续传代，低温培养可加速病毒减毒进程。在低温培养下经传 12 代获得减毒株，定名为 BRD II 株。临床研究证明，BRD II 株风疹疫苗接种人体后反应轻微、免疫原性良好，受种者咽部可排出有限病毒，但无传播性。风疹 BRD II 减毒株选育过程见图 1-1。

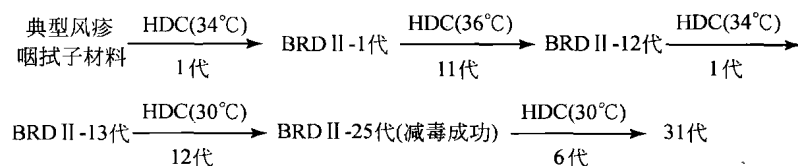


图 1-1 风疹 BRD II 减毒株选育过程

采用体内外培养法减毒，可能获得毒力低和毒力强的混合病毒液。需采用空斑挑选或终末稀释法对毒力已减弱的毒液进一步纯化筛选，可使弱毒病毒更均一，弱毒毒力特性更加稳定。

(2) 低温培养筛选：为降低病毒毒力可采用低温连续培养方法，即将病毒接种细胞培