

现代生物技术制药丛书

疫苗技术基础与应用

Basis and Application of Vaccine Technology

董德祥 主 编

李琦涵 褚嘉祐

孙茂盛 曹逸云

副主编



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

现代生物技术制药丛书

疫苗技术基础与应用

董德祥 主编

李琦涵 褚嘉祐
孙茂盛 曹逸云 副主编

化 学 工 业 出 版 社

现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

疫苗技术基础与应用/董德祥主编. —北京: 化学工业出版社, 2002. 10
(现代生物技术制药丛书)
ISBN 7-5025-4106-3

I. 疫… II. 董… III. 疫苗-制造 IV. R979.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 071775 号

现代生物技术制药丛书

疫苗技术基础与应用

董德祥 主编

李琦涵 褚嘉祐 孙茂盛 曹逸云 副主编

责任编辑: 叶 露 周 旭

责任校对: 李 丽 王素芹

封面设计: 潘 峰

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市彩桥印刷厂印刷

三河市宇新装订厂装订

开本 787 毫米×1092 毫米 1/16 印张 19 插页 1 字数 448 千字

2002 年 11 月第 1 版 2002 年 11 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-4106-3/Q·37

定 价: 45.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

序

在人类基因组工程和生物信息学的推动下，生物技术创新日新月异，生物医药产业正在经历一个飞速发展的新阶段。生物技术将为人类解决疾病防治、人口膨胀、食物短缺、能源匮乏、环境污染等一系列问题。发展生物技术产业是我国难得的机遇与挑战。生物技术产业在今后 20 年内，将与 30 年以前的计算机产业一样，对人类社会产生愈来愈大的影响。近几年来，科学家、金融家、企业家对生物医药产业的信心倍增，表现在用于生物医药产业发展的研究和发展（R&D）费用每 5 年翻一番，是世界上用于 R&D 费用最多的产业。在开发生物医药的品种上也正在发生明显的转变，即从治疗一般疾病转向治疗疑难病症，从防治儿童和成人疾病转向防治老年病，从治疗疾病转向提高人的生活质量，从生产药品转向生产功能性食品。

2002 年 5 月 1 日世界卫生组织发表的关于基因研究报告中指出，基因研究可以大幅度地提高发展中国家的医疗保健事业，振兴民族经济。我国在 2001 年已有 20 多种基因工程药物和疫苗被批准进行商业化生产，奠定了我国现代生物技术制药产业的基础。我国政府对发展生物技术极为重视：我国“十五”计划高技术产业化规划中“生物技术产业化工程”已列为十二项重点之一。在我国“十五”计划科技规划中“功能基因组和生物芯片”已列为十二个重点科技专项之一。

2002 年 4 月 18 日美国参议院一致通过一项决议，指定 4 月 21~28 日为“国家生物技术周”，以示国家对生物技术的重视。现代生物技术可提高健康保障水平，振兴医药工业，在农业上可提高产量，改进农产品的质量，并可保护环境。确定“国家生物技术周”的目的是要使美国人民了解生物技术对改善人的生活质量和环境质量是多么重要。

正值国际上生物制药蓬勃发展之时，化学工业出版社组织编写的《现代生物技术制药丛书》的出版，是我国生物技术界的一件大事。丛书从理论到实践全面系统地概括介绍了现代生物技术制药最新进展。丛书包括《基因工程药物》、《抗体工程药物》、《动物细胞与转基因动物制药》、《植物细胞工程制药》、《酶工程制药》、《海洋生物制药》、《微生物制药》、《疫苗技术基础与应用》、《生物制药设备和分离纯化技术》以及《生物制药生产规范与质量控制》等 10 个分册。本丛书的作者均是国内一流的专家或院士，不仅具有很高的学术水平，而且也有丰富的实践经验。本书宗旨是基础理论与实用技术相结合，并侧重于实用性，它不仅适合于生物制药相关领域的技术人员，也适用于大专院校相关专业的师生们。我坚信，本套丛书的出版必将对提高我国现代生物技术制药水平发挥积极作用，从而促进我国生物医药产业的发展。

中国工程院院士

侯云德

2002 年 5 月于北京

前 言

20 世纪以来, 由于生物技术的迅速发展, 使得曾经作为经验归纳学科的免疫学、疫苗学出现了革命性的变化, 免疫学所涉及的理论范围的扩大, 以及疫苗学在应用中所积累的丰富知识及经验, 使人类在征服传染病、肿瘤以及其他疾病方面有了得心应手的工具和系统的技术理论。因此, 在人类展望 21 世纪生物学的辉煌之时, 作为直接用于消除这些威胁人类健康疾病的疫苗学而言, 具有了更为明显和重要的意义。从这个角度讲, 疫苗研制成为制药工业中的一个重要支柱已是无可争辩的事实。

众所周知, 疫苗的应用无论在古老的东方还是文艺复兴后的欧洲都有悠久的历史, 但作为人类征服传染病的手段应用于众多人群却只有几十年的时间。20 世纪生物技术的发展, 使得疫苗的研制开发成为生物技术产业的组成部分之一。也正是免疫技术、细胞生物学和分子生物学的飞跃进展, 使得人类在 20 世纪 70 年代能够第一次骄傲地宣布: 人类依靠自身的知识和力量, 消灭了曾经肆虐世界的烈性传染病——天花。同时, 这些技术的进一步发展, 使我们又站到了全球消灭脊髓灰质炎的门槛之上。这也就是本书作为疫苗学的入门读本所设定的基本内容。由于疫苗的研究与开发制造不论从理论上, 还是技术上都涉及很多学科, 所以, 如何界定一个系统的疫苗学学科是一项很费气力的工作。到目前为止, 就这个学科而言, 国内外尚无一个清楚明晰的界定概念。近年来, 已有从不同角度来囊括各种疫苗的理论及技术的著作问世, 使得人们对疫苗学的应用意义及其与健康的关系有了直接的认识。

本书基于上述认识, 希望从生物技术学的基础出发, 对疫苗学的相关概念和特定内容作一初步介绍, 其内容包括疫苗发生、发展的历史; 与疫苗相关的免疫学基础; 疫苗研制的技术学和疫苗效果的分析指标; 疫苗流行病学效果分析的基本知识和技术特点。但由于疫苗领域所涉及的内容及学科较广, 而本书的设计考虑主要着重于疫苗发展的技术基础、疫苗设计的技术原则、疫苗制作的技术背景、疫苗效果的技术指标等, 因此, 在此篇幅有限的手册中, 我们只能在每一个专题的技术基础上作一概念性的介绍和相应内容的延伸。同时, 仅对不同的疫苗进行分类介绍, 未能像疫苗学专著那样对每一种疫苗都作具体的叙述, 这仅仅是为读者提供一条链接现代生物学技术与疫苗学现况和未来的思路, 希望能起到抛砖引玉的作用。

本书共计 11 章, 各章作者为: 第 1 章 褚嘉祐、史荔, 第 2 章 李琦涵、姜莉, 第 3 章 刘龙丁、曹逸云, 第 4 章 施海晶、胡云章, 第 5 章 董少忠、和绍清, 第 6 章 陈元鼎、董德祥, 第 7 章 李映波、张丽旌, 第 8 章 侯宗柳、董荫良, 第 9 章 徐维明、孙强明, 第 10 章 孙茂盛、丁云菲, 第 11 章 马雁冰、李鸿钧。本书的编写者基本上是中青年科技工作者, 我们深切地希望本书的出版能加强我们与广大疫苗学工作者的相互联系, 并得到疫苗学界及相关学科的前辈和同行们的指导帮助。

毫无疑问, 虽然本书可作为相关领域内的研究及技术人员、研究生、大学生的参考书, 但由于编者水平所限, 书中肯定存在诸多挂一漏万甚至谬误之处, 若蒙读者斧正指教, 编者将不胜感激之至。

编 者

2002 年 5 月

目 录

第 1 章 疫苗概论	1
1.1 疫苗概念的产生及其背景	1
1.1.1 从牛痘的发明看疫苗概念的诞生	1
1.1.2 疫苗的种类	2
1.1.3 疫苗的基本成分、性质和特征	3
1.1.4 疫苗制备的基本过程、质量检定及生产的质量管理	4
1.1.5 疫苗的应用	5
1.2 疫苗的应用、发展及其评价	6
1.2.1 细菌性疫苗	6
1.2.2 病毒性疫苗	7
1.2.3 类毒素	8
1.3 疫苗的技术发展	9
1.3.1 免疫原的技术发展	9
1.3.2 佐剂的技术发展	10
1.3.3 免疫途径的技术进展	11
1.3.4 联合免疫的进展	11
1.3.5 疫苗生产和使用管理的进展	12
1.4 疫苗运用的现状及其效果分析	12
1.4.1 疫苗的人体现场考核及流行病学效果评价	12
1.4.2 计划免疫与非计划免疫	13
1.5 疫苗的发展前景	13
1.5.1 联合疫苗	13
1.5.2 治疗性疫苗	15
1.5.3 通过食物摄取的疫苗和个性化疫苗	15
1.5.4 其他疫苗	16
参考文献	17
附录 疫苗接种的里程碑	18
第 2 章 疫苗的免疫学理论	19
2.1 疫苗相关免疫学基础	19
2.1.1 经验演绎出的免疫学概念	19
2.1.2 免疫学系统及其分子生物学基础	20
2.2 免疫应答的基本过程	26
2.2.1 树突状细胞及其抗原递呈	26
2.2.2 T 细胞、B 细胞的受体与免疫识别	29
2.3 免疫应答层次的多元分析	32

2.3.1	抗原对免疫反应的调节作用	32
2.3.2	免疫感应与免疫反应	33
2.3.3	免疫记忆的综合机制	36
2.3.4	效应细胞与记忆细胞生物学特性的深入探讨	38
2.4	免疫反应的系统分析	40
2.4.1	免疫应答反应中群体细胞的生物学特性	40
2.4.2	免疫反应的系统性质及内容	41
2.4.3	免疫反应系统的动力学考虑	42
	参考文献	43
第3章	疫苗设计的技术基础	44
3.1	疫苗设计概述	44
3.1.1	疫苗设计与普通药品设计的区别	44
3.1.2	疫苗的设计开发与 GLP 原则	46
3.2	经典疫苗及新型疫苗的技术异同	47
3.2.1	经典疫苗的种类及技术要点	47
3.2.2	新型疫苗的种类及技术要点	48
3.3	经典疫苗设计原则的诠释	49
3.3.1	经典疫苗设计原则概述	49
3.3.2	减毒活疫苗的设计要点	49
3.3.3	灭活疫苗和亚单位疫苗	50
3.3.4	疫苗佐剂在设计中的考虑	52
3.4	基因工程疫苗、重组疫苗及 DNA 疫苗设计所需遵循的原则	52
3.4.1	基因工程亚单位疫苗的设计	53
3.4.2	重组疫苗的设计	53
3.4.3	核酸疫苗的设计	54
3.5	理想疫苗的设计	57
3.5.1	理想疫苗的概念	57
3.5.2	保护性免疫应答的性质与理想疫苗的设计	57
3.6	疫苗设计的生物学技术	58
3.6.1	体液免疫或细胞免疫的设计考虑	58
3.6.2	疫苗设计中 B 细胞、T 细胞表位的选择	60
3.6.3	疫苗配方设计——输送系统和佐剂设计	64
3.6.4	单剂疫苗的控释技术设计	65
3.6.5	黏膜免疫设计	67
3.6.6	绿色革命与以植物为基础的疫苗 (plant-based vaccine)	68
3.6.7	反向疫苗学在疫苗设计中的应用	68
3.7	非常规疫苗	69
3.8	疫苗设计中实验动物的使用原则	71
3.8.1	动物模型的选择和评价	71
3.8.2	关于动物伦理	72

参考文献	72
第 4 章 疫苗生产制备的基本技术特点	74
4.1 大规模组织培养技术	74
4.1.1 组织培养技术的基本方法	74
4.1.2 大规模组织培养技术	76
4.2 原核及真核细胞发酵技术	78
4.2.1 表达系统的选择	78
4.2.2 发酵技术的原理及发酵过程的最优化控制	80
4.2.3 发酵罐及其检测和控制系统	85
4.3 疫苗制品的纯化	89
4.3.1 疫苗制品的纯化原理	89
4.3.2 疫苗制品纯化技术的种类	90
4.3.3 疫苗制备过程中纯化技术的实际应用	96
4.4 疫苗生产制备过程中的质量控制	96
4.4.1 质量管理的概念和 GMP	97
4.4.2 疫苗制品的质量控制	98
参考文献	101
第 5 章 疫苗效果的免疫学分析	102
5.1 疫苗所诱导的免疫学效应	102
5.1.1 天然免疫与获得性免疫概述	102
5.1.2 疫苗所诱导的天然免疫反应	103
5.1.3 疫苗所诱导的特异性免疫反应	105
5.2 疫苗效果的免疫学指标	107
5.2.1 疫苗效果的体液免疫指标	107
5.2.2 疫苗效果的细胞免疫指标	112
5.2.3 疫苗所导致的不良反应及判定标准	114
5.3 疫苗效果的个体及群体免疫学意义	116
5.3.1 疫苗效果的免疫学评价	116
5.3.2 特定免疫人群的免疫学监测	119
5.3.3 疫苗的免疫学效果评价与现场流行病学效果评价	119
5.4 免疫佐剂	119
5.4.1 免疫佐剂的定义和类别	119
5.4.2 临床研究中的新型佐剂	120
5.4.3 免疫佐剂对免疫系统的影响	123
5.4.4 免疫佐剂的安全性及发展前景	124
参考文献	125
第 6 章 疫苗效果的流行病学评价	127
6.1 传染病的流行与疫苗的作用策略	127
6.1.1 传染病的流行及其流行病学特征	127
6.1.2 影响传染病流行的因素	128

6.1.3	疫苗在控制传染病流行中的作用	129
6.1.4	疫苗的作用策略	129
6.2	疫苗效果调查的流行病学设计	130
6.2.1	调查对象的选定	131
6.2.2	现场调查的设计原则	131
6.2.3	现场调查的时间	132
6.2.4	观察时期	132
6.3	疫苗效果的流行病学指标	132
6.3.1	血清流行病学指标	132
6.3.2	临床流行病学指标	132
6.3.3	隐性感染率、慢性感染率、健康携带率	133
6.3.4	潜伏期	133
6.3.5	病原学指标	133
6.3.6	交叉保护作用	133
6.3.7	长期免疫效果观察	133
6.3.8	疫苗反应	133
6.4	疫苗效果的流行病学分析监测	134
6.4.1	建立监测系统网络	134
6.4.2	流行病学监测	134
6.4.3	疫苗接种监测	135
6.4.4	疫苗免疫效果的流行病学效果评价	140
6.4.5	疫苗效果的显著性测定	146
	参考文献	148
第七章	灭活疫苗	149
7.1	灭活疫苗概述及现况	149
7.1.1	灭活疫苗概述	149
7.1.2	灭活疫苗的研究现状	149
7.1.3	灭活疫苗使用情况	153
7.1.4	联合免疫研究现状	154
7.2	灭活疫苗设计和制备的技术要求	156
7.2.1	灭活疫苗的设计要求	156
7.2.2	细菌性灭活疫苗的设计和制备要求	157
7.2.3	细菌性灭活疫苗和类毒素的制备工艺	157
7.2.4	病毒性灭活疫苗的设计及制备要求	160
7.2.5	其他灭活疫苗	166
7.3	疫苗灭活方法对机体免疫应答的影响	166
7.3.1	灭活方法及其作用原理	167
7.3.2	病毒灭活对机体免疫应答的影响	169
7.3.3	细菌和毒素灭活对机体免疫应答的影响	169
7.3.4	不同免疫策略对机体免疫应答的影响	170

7.4 灭活疫苗的展望	172
参考文献	173
第8章 减毒活疫苗	175
8.1 减毒活疫苗的原理与现状	175
8.1.1 减毒活疫苗的原理	175
8.1.2 减毒活疫苗的使用和研究现状	175
8.1.3 减毒活疫苗的研究策略	181
8.1.4 减毒活疫苗研究面临的问题	184
8.2 减毒活疫苗设计与制备的技术要求	185
8.2.1 减毒活疫苗设计要求	185
8.2.2 减毒活疫苗制备技术要求	186
8.3 减毒活疫苗的免疫学特性	190
8.3.1 减毒活疫苗的体液免疫特性	190
8.3.2 减毒活疫苗的细胞免疫特性	190
8.3.3 减毒活疫苗的局部免疫特性	191
8.4 减毒活疫苗的综合评价	191
8.4.1 减毒活疫苗的优缺点	191
8.4.2 减毒活疫苗使用策略的评估	192
8.4.3 疾病性质与疫苗效果的评估	193
8.4.4 减毒活疫苗的前景	194
参考文献	194
第9章 DNA疫苗	196
9.1 概述	196
9.1.1 DNA疫苗的产生	196
9.1.2 DNA疫苗的组成	196
9.1.3 DNA疫苗的特点	197
9.2 DNA疫苗的构建及免疫	197
9.2.1 DNA疫苗的构建	197
9.2.2 DNA疫苗的制备	200
9.2.3 体外哺乳动物细胞短暂转染试验	203
9.2.4 动物免疫试验	204
9.2.5 DNA疫苗的免疫学效果评价	206
9.3 DNA疫苗的发展及现状	207
9.3.1 DNA疫苗国内外研究现状	207
9.3.2 DNA疫苗的应用	209
9.4 DNA疫苗的免疫学原理	217
9.4.1 诱导体液免疫反应的基本过程	217
9.4.2 诱导细胞免疫反应的基本过程	217
9.5 DNA疫苗的安全性	218
9.5.1 DNA疫苗的安全性评价	218

9.5.2 DNA 疫苗存在的问题·····	219
9.6 DNA 疫苗的前景及发展趋势·····	220
参考文献·····	221
第 10 章 重组疫苗与多肽疫苗 ·····	223
10.1 重组疫苗与多肽疫苗的概念·····	223
10.2 重组疫苗与多肽疫苗的免疫学基础·····	224
10.2.1 重组疫苗及多肽疫苗的反应原性与免疫原性·····	225
10.2.2 空间构象对多肽疫苗免疫原性和稳定性的影响·····	226
10.2.3 重组疫苗和多肽疫苗诱导的机体免疫反应·····	227
10.3 重组疫苗及多肽疫苗的设计与技术·····	229
10.3.1 目的基因的选择与改造·····	230
10.3.2 表达载体及表达系统的选择·····	233
10.3.3 重组质粒的构建及表达·····	238
10.3.4 病毒做载体的重组疫苗·····	242
10.3.5 自然感染形成的重组疫苗·····	244
10.3.6 合成多肽疫苗·····	244
10.4 重组疫苗及多肽疫苗在应用中的优势和存在的问题·····	247
10.5 重组疫苗及多肽疫苗的综合评价·····	248
参考文献·····	249
第 11 章 重组疫苗的载体研究 ·····	250
11.1 原核载体及其技术特点·····	250
11.1.1 大肠杆菌表达系统·····	250
11.2 真核载体及其技术特点·····	253
11.2.1 酵母表达系统·····	253
11.2.2 杆状病毒表达载体系统·····	256
11.2.3 哺乳动物细胞表达系统·····	259
11.3 重组活疫苗载体及其技术特点·····	263
11.3.1 腺病毒载体·····	263
11.3.2 痘病毒载体·····	267
11.3.3 脊髓灰质炎病毒载体·····	270
11.3.4 甲病毒载体·····	272
11.3.5 其他疫苗研究应用的病毒载体·····	275
11.3.6 细菌载体·····	276
参考文献·····	278
中文索引·····	280
英文索引·····	285

第1章 疫苗概论

疫苗是一种特殊的药物，作为免疫学经验、理论和生物技术共同发展而产生的生物制品，它从防患于未然的角度免除了众多传染病对人类生命群体的威胁，对人类健康做出了巨大的贡献。疫苗与一般药物具有明显的不同点，主要区别在于：一般药物主要用于患病人群，而疫苗主要用于健康人群；一般药物因疾病分布不同而用于不同年龄段的患者，而疫苗主要用于婴幼儿和儿童；一般药物主要用于治疗疾病或减轻病人的症状，而疫苗主要用于通过免疫机制使健康人预防疾病；一般药物包括天然药物、化学合成药物、生物药品等不同类型，而疫苗均为生物制品；人类可以通过一般药物减轻病痛，但只有通过疫苗才能彻底控制和消灭某一种疾病，如已被人类消灭的天花和正要被人类消灭的脊髓灰质炎。

人类通过疫苗消灭疾病的尝试已经有了近千年的历史，本章介绍疫苗的概念、疫苗的发展历程及展望，希望读者能从这简短的历史回顾中，认识疫苗对人类健康的贡献，并为更详细地阅读以下各章打下基础。

1.1 疫苗概念的产生及其背景

1.1.1 从牛痘的发明看疫苗概念的诞生

2000年，美国疾病控制与预防中心（Centers for Disease Control and Prevention, CDC）出版了《疫苗可预防疾病的流行病学与预防学》第6版。在这本被誉为疫苗学权威手册首页的“疫苗接种的里程碑”中，第一项即是“12世纪，中国开始用人痘接种预防天花”，这是对中国首先开始使用人痘接种预防天花是最早的免疫接种形式的肯定。事实上，中国早在宋真宗时期（998~1023年），已有关于人痘法预防天花的记载，医者从症状轻微的天花病人身上进行人工接种到健康儿童，使其通过产生轻微症状的感染获得免疫力，避免天花引起的严重疾病甚至死亡。人痘法经过几百年的民间改良，至明朝隆庆年间（1567—1572年）趋于完善，据明朝医学书籍记载，人痘有痘衣法、痘浆法、旱痘法和水苗法等多种接种方法。这一方法经阿拉伯人传到欧洲并流传开来，但人痘法的缺点是有时也会引起严重的天花。1721年，人痘接种法传入英国。英国医生 E. Jenner（琴纳，1749—1823年）注意到感染过牛痘（牛群发生的类似人天花的轻微疾病）的人不会再感染天花。经过多次实验，Jenner 于1796年从一挤奶女工感染的痘疱中，取出疱浆，接种于8岁男孩 J. Phipps 的手臂上，然后让其接种天花脓疱液，结果该男孩并未染上天花，证明其对天花确实具有了免疫力。1798年，医学界正式承认“疫苗接种确实是一种行之有效的免疫方法”。经过一百多年的努力，1980年，世界卫生组织（World Health Organization, WHO）宣布全球消灭了天花。Jenner 的创造性发明，为人类预防和消灭天花做出了卓越贡献。

Jenner（图 1-1）是牛痘的发明者，但 Jenner 当时并不清楚为什么牛痘能够预防天花。1870年，法国科学家 L. Pasteur（巴斯德，图 1-2）在对鸡霍乱病的研究中发现，将鸡霍乱弧菌连续培养几代，可以将细菌的毒力降到很低。给鸡接种这种减毒细菌后，可使鸡获得对霍乱的免疫力，从而发明了第一个细菌减毒活疫苗——鸡霍乱疫苗。L. Pasteur 将此归纳为对动物接种什么细菌就可以使其不受该病菌感染的免疫接种原理，从而奠定了疫苗的理论基

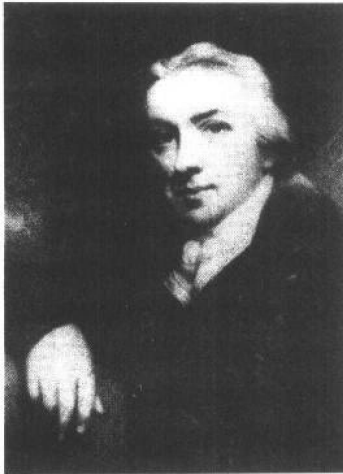


图 1-1 英国科学家 Jenner

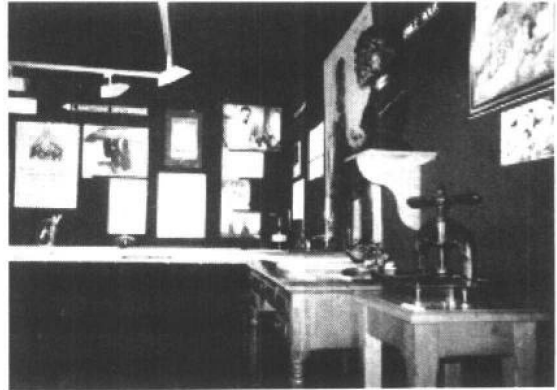


图 1-2 法国科学家 Pasteur 的实验室

础，因此，人们把 L. Pasteur 称为疫苗之父。

1.1.2 疫苗的种类

疫苗的英文名 vaccine 最初就因牛痘而得名，即用牛制备的疫苗。疫苗的现代定义为：一切通过注射或黏膜途径接种，可以诱导机体产生针对特定致病原的特异性抗体或细胞免疫，从而使机体获得保护或消灭该致病原能力的生物制品统称为疫苗，包括蛋白质、多糖、核酸、活载体或感染因子等，见表 1-1。预防用生物制品按所用材料一般分细菌性疫苗、病毒性疫苗及类毒素三大类，以前曾将细菌性抗原制剂称为菌苗，将病毒性抗原制剂称为疫苗，近年来，科学界普遍倾向将它们统一称为疫苗。

表 1-1 国际上已注册的疫苗

病毒类疫苗	细菌类疫苗	病毒类疫苗	细菌类疫苗
减毒活疫苗 牛痘疫苗 脊髓灰质炎疫苗(OPV) 麻疹疫苗 腺病毒疫苗 黄热病疫苗 风疹疫苗 腮腺炎疫苗 甲型肝炎疫苗 流感疫苗 水痘疫苗 轮状病毒疫苗(基因重配) 乙型脑炎疫苗 全菌体或全病毒灭活疫苗 流感疫苗 狂犬病疫苗 脊髓灰质炎疫苗(IPV) 甲型肝炎疫苗	卡介苗(BCG) 伤寒疫苗(Ty21a 株) 霍乱疫苗(基因工程 CDV-HgR) 布氏菌疫苗 炭疽疫苗 痢疾疫苗(基因工程 FS) 霍乱疫苗 百日咳疫苗 鼠疫疫苗 伤寒疫苗	全菌体或全病毒灭活疫苗 乙型脑炎疫苗 流行性出血热疫苗 斑疹伤寒疫苗 亚单位疫苗 乙型肝炎疫苗 流感嗜血杆菌疫苗 结合疫苗(多糖或蛋白质载体疫苗) 类毒素 联合疫苗 麻疹、风疹、腮腺炎疫苗(MMR)	肺炎链球菌疫苗 沙门 Vi 多糖疫苗 无细胞百日咳疫苗 A 型及 C 型脑膜炎球菌疫苗 霍乱疫苗(CTB+WC) b 型流感嗜血杆菌疫苗 破伤风疫苗 白喉疫苗 百白破疫苗(DPT) 百白破、b 型流感嗜血杆菌联合疫苗

从疫苗研制技术又可将疫苗分为传统疫苗和新型疫苗两大类。传统疫苗包括灭活疫苗、

减毒活疫苗和用天然微生物的某些成分制成的亚单位疫苗。新型疫苗主要指基因工程技术研制的疫苗，包括基因工程亚单位疫苗、基因工程载体疫苗、核酸疫苗、基因缺失活疫苗，通常也习惯地将遗传重组疫苗、合成肽疫苗和抗独特型抗体疫苗包括在新型疫苗范畴。尽管新型疫苗种类很多，但根据其基本特征，也可分为活疫苗和灭活疫苗两大类。载体疫苗可视为活疫苗，除核酸疫苗以外的其他疫苗可视为灭活疫苗，核酸疫苗则可认为是一类特殊的疫苗。疫苗的发展已经从经典的病毒疫苗和细菌疫苗，发展到寄生虫疫苗、肿瘤疫苗、避孕疫苗等；从预防性疫苗发展到治疗性疫苗。以传统疫苗为例，对活疫苗、灭活疫苗和亚单位疫苗三类疫苗的比较见表 1-2。

表 1-2 三类疫苗的比较

项目	活疫苗	灭活疫苗	亚单位疫苗
抗原制备	用减毒或无毒的全病原体作为抗原	用化学或物理方法将病原体杀死	以化学方法获得病原体的某些具免疫原性的成分
免疫机理	接种后病原体在体内有一定生长繁殖能力,类似隐性感染,产生细胞、体液和局部免疫	病原体失去毒力但保持免疫原性,接种后产生特异抗体或致敏淋巴细胞	接种后能刺激机体产生特异性免疫效果
优缺点	接种次数少,反应小,免疫效果持久。稳定性较差,应考虑减毒株毒力返祖问题	一般要接种 2~3 次,反应较大,维持时间较短。稳定性好,较安全	制品纯度较高,副反应小,需多次接种
常用疫苗	卡介苗、麻疹、鼠疫、脊髓灰质炎减毒活疫苗	伤寒、霍乱、百日咳、乙脑、脊髓灰质炎灭活疫苗	白喉、破伤风类毒素,A 群脑膜炎球菌多糖疫苗

此外，近年来研究的亚单位疫苗是以化学裂解、重组或合成方式制备病原体亚单位（如表面抗原）制成的。亚单位抗原能刺激机体产生细胞或体液免疫，由于去除了病原体中与特异反应无关的活性物质，故反应小，接种次数少，较安全。已成功应用的亚单位疫苗有流脑亚单位疫苗、乙型肝炎表面抗原疫苗等。

1.1.3 疫苗的基本成分、性质和特征

1.1.3.1 疫苗的基本成分

疫苗的基本成分包括抗原、佐剂、防腐剂、稳定剂、灭活剂及其他活性成分。

(1) 抗原 抗原是疫苗最主要的有效活性成分，它决定了疫苗的特异免疫原性。构成抗原的三个基本条件是：①异物性，由于机体自身组织不能刺激机体的免疫反应，故抗原必须为外来物质；②一定的理化特性，包括分子量、化学结构等；③特异性，使抗原进入机体后引起相应抗体或引起致敏淋巴细胞发生反应。

可用做抗原的生物活性物质有：灭活病毒或细菌、活病毒或细菌通过实验室多次传代得到的减毒株、病毒或菌体提纯物、有效蛋白成分、类毒素、细菌多糖、合成多肽以及近年来发展 DNA 疫苗所用的核酸等。抗原应能有效地激发机体的免疫反应，包括体液免疫或/和细胞免疫，产生保护性抗体或致敏淋巴细胞，从而对同种细菌或病毒的感染产生有效的预防作用。

(2) 佐剂 佐剂能增强抗原的特异性免疫应答，理想的佐剂除了应有确切的增强抗原免疫应答作用外，应该是无毒、安全的，且必须在非冷藏条件下保持稳定。目前疫苗中最常用的佐剂为铝佐剂和油制佐剂。

(3) 防腐剂 防腐剂用于防止外来微生物的污染。一般液体疫苗为避免在保存期间微量污染的细菌繁殖，均加入适宜的防腐剂。大多数的灭活疫苗都使用防腐剂，如硫柳汞、2-苯

氧乙醇、氯仿等。

(4) 稳定剂 为保证作为抗原的病毒或其他微生物存活并保持免疫原性，疫苗中常加入适宜的稳定剂或保护剂，如冻干疫苗中常用的乳糖、明胶、山梨醇等。

(5) 灭活剂 灭活病毒或细菌抗原的方法除了可用物理方法如加热、紫外线照射等之外，也常采用化学方法灭活，常用的化学灭活试剂有丙酮、酚、甲醛等，这些物质对人体有一定毒害作用，因此在灭活抗原后必须及时从疫苗中除去，并经严格检定以保证疫苗的安全性。

此外，疫苗在制备时还需使用缓冲液、盐类等非活性成分。缓冲液的种类、盐类的含量都可影响疫苗的效力、纯度和安全性，因此都有严格的质量标准。

1.1.3.2 疫苗的基本性质和特征

疫苗的基本性质包括免疫原性、安全性和稳定性。

(1) 免疫原性 指疫苗接种进入机体后引起抗体产生免疫应答的强度和持续时间。影响免疫原性强弱的因素包括机体的因素和疫苗的因素，从疫苗的角度看是由疫苗的抗原决定的。抗原的影响因素主要包括：①抗原的强弱、大小和稳定性。抗原分子量过小易被体内分解、过滤，均不易产生良好的免疫应答，这就是为什么半抗原物质和游离 DNA 缺乏免疫原性的原因；②抗原的理化性质。颗粒型抗原、不可溶性抗原的免疫原性最强，各类蛋白质的免疫原性较强，多糖次之，类脂则较差。有些较弱的抗原可以通过与佐剂合用来增强免疫应答。

(2) 安全性 大多数疫苗主要用于儿童和健康人群，因此其安全性要求极高。疫苗的安全性包括：接种后的全身和局部反应；接种引起免疫应答的安全程度；人群接种后引起的疫苗株散播情况等。

(3) 稳定性 疫苗必须保持稳定，以保证经过一定时间的疫苗贮存和冷链运输过程后疫苗仍能保持其有效的生物活性。

1.1.4 疫苗制备的基本过程、质量检定及生产的质量管理

1.1.4.1 疫苗制备的基本过程

疫苗因种类不同，其制备方法也不相同，但总的来讲，经典疫苗制备的基本过程包括：选择适宜的培养基或细胞进行菌、毒株大量繁殖，收集培养物，提纯，半成品检定，稀释，分装，成品检定。基因工程技术使疫苗研制方法发生了革命性的变化，加速了新疫苗的开发速度，制备疫苗的方法更加多样化。但疫苗制备必须保证疫苗的基本性质即免疫原性、安全性和稳定性的原则是不变的。

1.1.4.2 疫苗的质量检定

疫苗的检定按以下几方面进行。

(1) 理化检定 即通过物理或化学分析手段进行疫苗有效成分及杂质的检测。理化检测主要包括物理性状检查、蛋白含量测定、防腐剂含量测定、纯度测定、吸附剂含量测定、可能有害物的检测等。理化检测的项目根据每一制品的不同要求而确定，必须达到灵敏、快速、准确的要求。随着纯化疫苗、亚单位疫苗、基因重组疫苗等的不断问世，理化检测的项目正逐步增加。目前我国疫苗理化检定项目以《中国生物制品化学检定规程》(2000 年版)为准，新增项目必须通过国家检定机关认证，并编入该制品的检定规程。

(2) 安全检定 疫苗的安全检定是保证疫苗能够安全使用的重要措施。疫苗成品、半成品及制备疫苗所用的菌种、毒种等都需要进行安全检定。方法包括一般性安全检查，如无菌

试验, 热原试验, 灭菌、灭活和减毒情况检查, 外源因子检查, 过敏性物质检查等, 安全检定还包括用动物进行的急性和亚急性毒性试验等。

(3) 效力检定 效力试验是检测疫苗有效性的重要环节, 其目的在于了解制品是否能够达到预期效果。虽然动物试验结果并不完全能代表人体结果, 但大多数效力试验结果是具有实际意义的。效力试验主要包括免疫原性检测, 即活菌数测定、病毒滴度测定、抗毒素和类毒素单位测定、小鼠半数有效量 (50% effective dose, ED_{50}) 测定以及动物保护力试验、血清学试验等。

(4) 稳定性检定 稳定性是衡量疫苗质量的一个重要指标。稳定性试验包括长期稳定性试验和加速稳定性试验。长期稳定性试验在疫苗的实际保存温度下进行, 存放一定时间之后考察其真实稳定性并确定保存期。加速稳定性试验则让疫苗在较高温度下 (一般为 37°C) 存放一定时间, 考察疫苗在较高温度时的稳定性, 以对其稳定性做出评价。

随着新制品的不断增多和免疫学技术的进展, 疫苗检定技术和方法也不断更新。需要说明的是, 每一种新的检定方法都应进行可信限研究和进行标准化, 并经国家检定机关认证后方可正式使用。

1.1.4.3 疫苗生产的质量管理

目前世界各国的疫苗生产企业和研究单位都在实施 GMP 管理, 以保证其产品质量。GMP (good manufacturing practices for drugs) 即药品生产质量管理规范, 是在药品生产全过程中, 用科学、合理、规范化的条件和方法保证生产出优良药品的一整套科学管理方法。GMP 是药品生产和质量管理的基本准则, 是药品生产企业必须强制达到的最低标准。GMP 管理包括人员、厂房设备和软件管理, 涉及从原材料采购入库、检验、发料、加工到半成品检验、分包装、产品检定、成品销售、运输以及用户意见及使用反应处理等在内的全过程。GMP 的主要内容包括三个方面: ①人员 (实施 GMP 的保证); ②厂房设施、设备和原材料等 (实施 GMP 的基本条件); ③管理制度和要求、记录等。只有实施 GMP 管理, 对生产全过程的每一步骤做最大可能的控制, 才能更有效的使产品符合所有质量要求和设计规范。1969 年, WHO 公布了药品管理的 GMP, 随后各国都制定了本国的 GMP。1988 年, 我国颁布了《药品生产质量管理规范》, 并于 1992 年进行了重新修订。目前我国推行的是 1998 年国家药品监督管理局发布的修订版, 从 1999 年 8 月 1 日起执行。

1.1.5 疫苗的应用

疫苗的接种需求是根据各地区的流行病学情况来确定。一般说, 婴幼儿和儿童是预防接种的主要对象, 此外, 当某种传染病流行时, 流行区域的健康人群和易感者是主要接种对象。疫苗的使用, 首先是保护接种者个人。随着接种人数的增加, 当产生免疫的人数达到人群的 80% 以上时, 整个人群形成一个免疫屏障, 形成群体免疫。

迄今最广泛和成功施行的全球疫苗接种计划是以 9 月龄以下婴儿为对象的扩大免疫计划 (expanded programme on immunization, EPI)。利用母婴/母胎转移系统则是扩大婴儿免疫接种的又一方法。由于 EPI 的成功实施对主要传染病的流行模式产生了重要的长期影响, 近年来传染病发病年龄后移。为此, WHO 呼吁将青少年 (10~19 岁) 年龄组作为免疫接种的重要目标人群。

预防接种的时间, 一般以流行季节到来前 1~2 月为佳。每种疫苗都有确定的免疫程序, 需严格按期接种以确保疫苗的有效性。各类疫苗都有规定的禁忌征, 在使用疫苗时应严格把握, 以防产生严重不良反应及发生事故。

疫苗的安全性是疫苗使用中必须密切注意的问题,为此,WHO 近期专门制定了预防接种的安全重点方案,其目标是在 2003 年建成全面的系统,保证国家预防接种的安全。内容包括疫苗的质量、疫苗的贮存与运输、疫苗的管理和使用、注射后针头及针管等的处理、及时发现和有效处理预防接种后的副反应事件等。

实践证明,预防儿童期传染病的常规免疫接种是非常成功的。目前,发达国家已很少发生疫苗可预防的疾病,自动免疫至少在白喉、腮腺炎、风疹、破伤风、脊髓灰质炎、麻疹、黄热病、百日咳、天花等九大传染病的预防和控制中取得十分显著的效果。但另一方面,随着可预防疾病的不断减少,对疫苗相关病例危险性的担忧变得日益突出。现有疫苗并无一种能保证绝对安全,且无长期后遗症。在权衡群体保护和个人安全的情况下,绝大多数国家以不允许因接种疫苗而发生的死亡率超过百万分之一作为安全标准之一。在极少情况下,有部分接种对象因个体免疫系统差异,在接种后仍然得不到保护,甚至会发生严重的副作用。在疫苗相关的麻痹型脊髓灰质炎病例(vaccine-associated paralytic poliomyelitis, VAPP)中,免疫缺陷儿童的发病率为正常者的 10000 倍。因而,在疫苗使用中,需不断改进,以确定最佳的疫苗使用策略。

1.2 疫苗的应用、发展及其评价

1.2.1 细菌性疫苗

1.2.1.1 霍乱疫苗

1885 年,西班牙科学家 J. Ferran 用霍乱肉汤培养物经皮下注射入人体,这成为疫苗人体注射的开始。1896 年,德国科学家 Kolle 用琼脂培养霍乱弧菌,再加热杀死后制成菌苗,在 1902 年日本霍乱病大流行时得到大量成功使用,这种菌苗基本是现用霍乱疫苗的原型。霍乱弧菌具有热不稳定的鞭毛抗原和热稳定的菌体抗原,菌体抗原以脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)为基础,根据 LPS 抗原决定簇的不同又分为群特异性抗原 A、群特异性抗原 B、群特异性抗原 C。霍乱弧菌外膜蛋白也是菌体的重要抗原。此外,霍乱弧菌还产生肠毒素(cholera toxin, CT),又称霍乱原。由于霍乱弧菌具有多种抗原,其疫苗也是多样化的。

现用霍乱疫苗有:①加热或化学灭活的全菌体疫苗 WC、WC/BS 株等,它们一般含有 O1、O139 群抗原,具有 75% 的保护力,维持期 3~6 个月,制造价格低廉;②菌体衍生物,如脂多糖、菌体抽提物等制备的疫苗;③类毒素疫苗,如菌体加类毒素或佐剂制成的混合菌苗等,其免疫效果较差,免疫时间较短,不能有效防止非典型感染;④正在进行的活菌苗研究主要是应用基因重组技术去除编码 CT 和其他已知弧菌毒素的 A 亚单位基因制备而得,具有 3 年以上的长期免疫效果,如 Texas-star-SR、CVD103、CVD110、Peru-15 等,它们均能诱导高滴度抗体,有望成为安全有效的口服疫苗;⑤正在研究的古典稻叶型 CVD103HgR 和 ELTOR 小川型 CVD111 制备的联合疫苗,具有较好的安全性和免疫原性。

至今还没有一种理想的霍乱疫苗,这与霍乱弧菌的有效保护性抗原成分不清、抗原漂移、难以得到足够的有效抗原量等因素有关。

1.2.1.2 伤寒疫苗

1896 年 Preiffer 和 Kolle 在德国、1897 年 Wright 在英国分别研制了伤寒全菌体疫苗,至今已有 100 多年的历史。伤寒的预防效果因其制备方法而异,总体来说是有效的,但因其副反应过强,如局部红肿疼痛、发热、头痛、乏力等,影响了推广。