

江苏省重点教材

VACCINE ENGINEERING

疫苗工程学

(第2版)

窦骏◎主编



东南大学出版社
SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

全国高等学校教材

供生物学、基础医学、临床医学、预防医学、生物工程、药学、兽医学、生物医学类专业用

疫苗工程学

(第2版)

主 编 窦 骏

副主编 赵 宇



东南大学出版社
SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

· 南京 ·

图书在版编目(CIP)数据

疫苗工程学/窦骏主编.—2版.—南京:东南大学出版社,2014.8

ISBN 978-7-5641-5154-6

I. ①疫… II. ①窦… III. ①疫苗 IV. ①R979.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 190780 号

疫苗工程学(第2版)

出版发行	东南大学出版社
出 版 人	江建中
责任编辑	褚 蔚(Tel:025-83790586)
社 址	南京市四牌楼2号
邮 编	210096
经 销	全国各地新华书店
印 刷	江苏凤凰盐城印刷有限公司
开 本	787 mm×1092 mm 1/16
印 张	28
字 数	681 千字
版 次	2014 年 8 月第 2 版
印 次	2014 年 8 月第 1 次印刷
书 号	ISBN 978-7-5641-5154-6
定 价	68.00 元

(本社图书若有印装质量问题,请直接与营销部联系。电话:025-83791830)

编者名单

(以姓氏笔画为序)

- 王 净(东南大学中大医院)
王立新(东南大学医学院)
沈传来(东南大学医学院)
余方流(皖南医学院)
张 莹(东南大学医学院)
严春光(东南大学医学院)
杨瑞丽(东南大学医学院)
赵 宇(东南大学医学院)
赵枫姝(东南大学医学院)
何向锋(南通大学附属肿瘤医院)
胡 凯(东南大学中大医院)
高大庆(东南大学医学院)
窦 骏(东南大学医学院)
蔡 凯(南京解放军八一医院)
廖继佩(东南大学医学院)
潘 宁(东南大学医学院)

再版前言

疫苗工程学与生物学、基础医学、预防医学和临床医学密切相关,是一门理论与实践紧密结合、综合性和实用性很强的学科。为了满足我校生物工程专业教学需要,2007年编写了本教材。疫苗工程学出版以来,受到广大读者喜爱,有多所高校将其选为教材,在人才培养、科学研究以及疫苗科普宣传等方面起到了应有的作用。2007年第1版教材使用至今已经7年,疫苗研究有了较大的进展,有些内容发生了改变。为紧密联系实际,提高疫苗工程学教材水平,编写人员对原版教材进行了修订和删除,并增加《单纯疱疹病毒疫苗》章节,使再版教材内容更为合理。

总论篇共十章,介绍了疫苗研究的历史、研制疫苗对人类的贡献和面临的挑战,疫苗研制的理论、技术、流程、应用、计划免疫、市场管理及疫苗相应法规等,并提供了新疫苗研究和开发的新技术和新信息。各论部分从第十一章开始,按细菌类疫苗、病毒类疫苗、真菌类疫苗、寄生虫类疫苗、肿瘤疫苗等分类,介绍了预防艾滋病、肝炎、结核病、疟疾、SARS、禽流感等传染病的新疫苗的研究进展。本次再版特别对肿瘤疫苗、结核疫苗、治疗性疫苗、寄生虫类疫苗等做了较大幅度修改,使其更具新颖性和可读性。

疫苗工程学可作为大专院校生物学、生物工程学、预防医学、药学、临床医学、生物医学、兽医学等专业的本科教材,亦可作为从事生物高科技专业人员、科研人员、疫苗研制人员和进修人员的参考读物。

我国正面临着疫苗研制发展的新时期,需要培养大量疫苗研究的专业人才。2007年我们编写《疫苗工程学》第1版时,因国内无疫苗工程学教材,主要以张延龄、张晖教授主编的《疫苗学》和李忠明教授主编的《现代疫苗学》为蓝本,参考相关教材和论著,并结合自身在疫苗研究工作中的经验,完成了编写。在此,编写人员对三位教授表示真挚的感谢。对原版和再版教材中涉及三位教授编写的上述两本书相关内容,我们愿与三位教授交流与沟通,以便更好地为教学和科研服务。

疫苗研究进展迅速,限于编者水平,编写内容定有疏漏之处,恳请读者与同行不吝指正。

窦骏

2014年4月于东南大学

目 录

总论篇

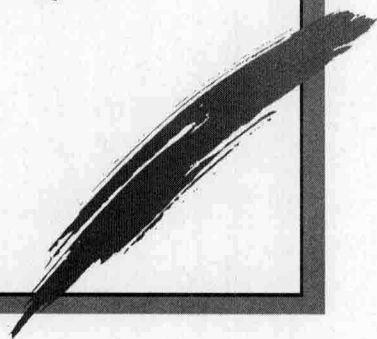
第一章 绪论	3
第一节 疫苗学概述	3
第二节 疫苗学发展简史	4
第三节 疫苗对人类的贡献和疫苗研究面临的任务	13
第四节 疫苗工程学	15
第二章 免疫学与疫苗	19
第一节 免疫学概述	19
第二节 疫苗有效免疫反应的基本要素	42
第三章 传染病与疫苗	44
第一节 传染病特征	44
第二节 传染病流行及疫苗应用	45
第三节 疫苗分类和使用要求	47
第四节 实施疫苗接种规范	52
第五节 计划免疫	59
第四章 免疫佐剂	65
第一节 概述	65
第二节 免疫佐剂的分类、作用机制及使用原则	65
第三节 疫苗中使用的免疫佐剂	67
第四节 临床试验疫苗中使用的免疫佐剂	68
第五节 传递系统	73
第六节 问题与展望	74
第五章 疫苗的设计及效果评价	75
第一节 疫苗的设计	75
第二节 疫苗的体外检定	80
第三节 疫苗效果评价	83
第六章 疫苗研制的程序	90
第一节 疫苗研制的一般过程	90
第二节 疫苗临床前研究技术指导原则	91
第三节 疫苗临床试验技术指导原则	95
第四节 疫苗的质量控制与管理	101
第五节 疫苗的注册管理及要求	104

第七章 实验动物的管理	106
第一节 实验动物管理的组织机构	106
第二节 动物房的分类	107
第三节 动物房的设备及原材料	108
第四节 动物房的卫生	110
第八章 疫苗的供给和市场管理	113
第一节 疫苗经济	113
第二节 疫苗市场的特点	114
第三节 疫苗市场的管理	115
第九章 免疫预防在抵御生物战中的作用	117
第一节 生物战的历史与现状	117
第二节 微生物的遗传改造带来生物武器的无限发展空间	118
第三节 抵御生物战的武器	119
第四节 生物战剂的杀伤力评估	121
第五节 应重点防御的生物战剂	123
第十章 新型疫苗研制	126
第一节 核酸疫苗	126
第二节 转基因植物疫苗	134
第三节 T 细胞疫苗	141
各论篇	
第十一章 细菌类疫苗(一)消化道传播的细菌疫苗	147
第一节 霍乱疫苗	147
第二节 伤寒疫苗	153
第三节 痢疾疫苗	157
第四节 幽门螺杆菌疫苗	161
第五节 肠毒素大肠杆菌疫苗	165
第六节 肉毒中毒及其生物制品	170
第十二章 细菌类疫苗(二)呼吸道传播的细菌疫苗	174
第一节 结核病疫苗	174
第二节 百日咳疫苗、白喉疫苗	190
第三节 脑膜炎球菌疫苗	190
第四节 肺炎链球菌疫苗	193
第五节 B 族链球菌疫苗	196
第六节 流感嗜血杆菌疫苗	199
第十三章 细菌类疫苗(三)经皮肤感染的细菌疫苗	202
第一节 鼠疫疫苗	202
第二节 炭疽疫苗	206

第三节 破伤风类毒素疫苗	210
第十四章 钩端螺旋体疫苗	211
第一节 概述	211
第二节 病原学与流行病学	212
第三节 疫苗研制	214
第十五章 病毒类疫苗(一)呼吸道传播的病毒疫苗	217
第一节 流行性感疫苗	218
第二节 麻疹、腮腺炎、风疹三联活疫苗	226
第三节 呼吸道合胞病毒疫苗	229
第十六章 病毒类疫苗(二)消化道传播的病毒疫苗	232
第一节 脊髓灰质炎疫苗	232
第二节 轮状病毒疫苗	237
第三节 甲型肝炎病毒疫苗	240
第四节 戊型肝炎病毒疫苗	245
第十七章 病毒类疫苗(三)血源及血制品传播的肝炎病毒疫苗	249
第一节 乙型肝炎病毒疫苗	249
第二节 丙型肝炎病毒疫苗	258
第十八章 病毒类疫苗(四)经皮肤感染的病毒疫苗	263
第一节 汉坦病毒疫苗	263
第二节 狂犬病疫苗	265
第三节 流行性乙型脑炎疫苗	268
第十九章 病毒类疫苗(五)HIV 疫苗	271
第一节 概述	271
第二节 流行病学	275
第三节 HIV 感染的免疫反应	278
第四节 HIV 疫苗研究	281
第二十章 人乳头瘤病毒疫苗	287
第一节 人乳头瘤病毒的生物学特征	287
第二节 人乳头瘤病毒与宫颈癌	288
第三节 宫颈癌的预防措施	290
第四节 人乳头瘤病毒疫苗	291
第二十一章 单纯疱疹病毒疫苗	296
第一节 单纯疱疹病毒概述	296
第二节 单纯疱疹病毒疫苗研究概况	297
第二十二章 真菌类疫苗	305
第一节 念珠菌疫苗	305
第二节 球孢子疫苗	306
第三节 隐球菌疫苗	308

第二十三章 寄生虫类疫苗(一)疟疾疫苗	310
第一节 概述	310
第二节 疟原虫靶抗原	312
第三节 疟疾疫苗研究主要进展	313
第二十四章 寄生虫类疫苗(二)血吸虫病疫苗	320
第一节 概述	320
第二节 血吸虫感染免疫	323
第三节 血吸虫病疫苗研究进展	326
第二十五章 寄生虫类疫苗(三)弓形虫病疫苗	333
第一节 概述	333
第二节 弓形虫抗原研究	334
第三节 弓形虫病疫苗研究进展	335
第二十六章 肿瘤疫苗	340
第一节 概述	340
第二节 肿瘤与免疫系统	341
第三节 肿瘤疫苗制备	352
第四节 若干肿瘤疫苗研制	366
第五节 肿瘤疫苗治疗的其他问题	371
第二十七章 免疫避孕疫苗	377
第一节 概述	377
第二节 不孕、避孕与免疫避孕	378
第三节 免疫避孕疫苗的研制现状	380
第四节 免疫避孕疫苗的前景	386
第二十八章 自身免疫病疫苗	388
第一节 概述	388
第二节 自身免疫病疫苗研究进展	389
第二十九章 治疗性疫苗	396
第一节 概述	396
第二节 治疗性疫苗的分类	397
第三节 治疗性疫苗的基本原理和设计策略	400
第四节 治疗性疫苗的研究和应用	405
第三十章 新现传染病的疫苗研制	415
第一节 新现传染病基本概况	415
第二节 SARS 疫苗的研究进展	415
第三节 猪链球菌疫苗的研究进展	416
第四节 禽流感疫苗的研制	416
附:疫苗相关用语的英文缩写、全名及中文译名	420
参考文献	427

总
论
篇



愚
公
移
山

第一章 绪 论

回顾人类的生存史,历史上曾经威胁人类生命的烈性传染病已得到了有效控制,人类的平均寿命在逐渐延长,您知道其中的奥秘吗?面对各种新现和再现的传染病对人类生存的威胁,若您想提高生活质量、延长寿命,您有何种对策?如果您很茫然,那么请打开疫苗学绪论,您会从中找到答案,悟出可行的预防策略。

第一节 疫苗学概述

人类的天性之一是对瘟疫怀有巨大恐惧,本能地想方设法来预防或阻止瘟疫的传播。尽管古代社会对瘟疫缺乏科学认识,但在长期的实践中也积累了一些预防瘟疫的经验,并逐步形成“以毒攻毒”的观念。天花(smallpox)曾是人类历史上的烈性传染病,是人类生存的主要杀手之一。在欧洲 17 世纪中叶,患天花后的死亡者达 30%。我国早在 11 世纪宋朝已有吸入天花痂粉预防天花的传说。在公元 17 世纪的 70 年代明代,已有接种“人痘”预防天花的正式记载。经验告知人们,将沾有疱浆的患者衣服给正常儿童穿戴,或将天花愈合后的局部痂皮磨碎成细粉,经鼻给正常儿童吸入,可预防天花。这些方法经陆上丝绸之路西传至欧亚各国,经海上丝绸之路东传至朝鲜、日本及东南亚国家。例如,英国 1721 年流行天花期间,曾以少数犯人试种“人痘”预防天花获得成功,但因当时英国学者的保守,加上该法有一定的危险性未予推广,到 1840 年,终止了将天花病人的结痂接种到人的危险方法。用“人痘”预防天花就是基于“以毒攻毒”的认识,对以后人类寻求预防天花的方法有重要的影响。如在 18 世纪后叶,英国乡村医生 Edward Jenner(爱德华·琴纳,1749—1823)观察到牛患有牛痘(cowpox),局部痘疹酷似人类天花,挤奶女工为患有牛痘的病牛挤奶,其手臂部亦易得牛痘,但却不得天花。于是他意识到接种牛痘可预防天花。为证实这一设想,他将牛痘接种于一位 8 岁男孩手臂,两个月后,再接种从天花患者来源的痘液,受者局部出现手臂疱疹,未引起全身天花。1798 年他公布了论文,把接种牛痘称为“Vaccination”(拉丁语中,牛写为 Vacca),即接



图 1-1 琴纳接种牛痘图

种牛痘预防天花。在琴纳年代,人们全然不知天花是由天花病毒感染所致,而他在实践中总结发现的种牛痘预防天花,既安全又有效,是一划时代的发明。接种牛痘在 19 世纪初至中叶,在欧洲广泛推广。

从此,疫苗的研究蓬勃发展,为人类防病治病做出了重大贡献。现已公认,疫苗是利用病毒、细菌、寄生虫等病原体,经过严格复杂的技术工艺制造的生物制品。通过接种疫苗,使机体产生免疫力,从而达到预防或治疗相应感染性疾病的目的。经过漫长的历史发展,疫苗的研究、制造、检定、使用和管理已经成为一门具有特色的独立学科。

疫苗学(vaccinology)是一门理论与实践高度结合、综合性、应用性很强的科学,是集病原生物学、传染病学、免疫学、病理学、化学、药学、生物化学、分子生物学、流行病学和统计学为一体的新兴边缘学科。传统的疫苗学以预防感染性疾病为主,包括人用疫苗学和兽用疫苗学,主要用于健康人和家畜。由于人类与疾病斗争和社会的需要,随着上述各学科的发展,近年来出现了治疗性疫苗,如抗肿瘤疫苗、抗感染疫苗和免疫避孕疫苗等。广义而言,治疗或短期用的抗血清免疫球蛋白也包括在疫苗学之中。此外,尚有“鱼疫苗”,早在 20 世纪 30 年代就已报道,鱼类有免疫反应。后来抗生素的应用成为预防疾病的主要措施,直至 70 年代由于化学治疗的抗药性及价格较贵,鱼疫苗又再度兴起,近年已成为疫苗学的一个分支。

回顾和研究疫苗的产生、研制、开发、使用和管理等,将对人类的生存发展产生重大影响。本书以论述人用疫苗为主,对疫苗的研制、开发、使用、管理、市场和主要相关理论、技术及各种常用疫苗予以介绍。

第二节 疫苗学发展简史

疫苗的应用使多种危害人类健康的疾病或瘟疫得到消灭或控制,拯救了数亿人生命,在医学史上是最为广泛和有效的保障健康办法。从这一角度而言,疫苗学对人类的贡献是任何一学科都难以与之相比的,但疫苗学发展经历了漫长的历程,也面临重大的挑战。

一、疫苗学发展经验时期

人类历史早期就有了对疾病和免疫的记载,经过长期的实践,疫苗的研究逐步完善,才使得多种疫苗能在人类广泛使用。

(一) 人类对免疫的记载

公元前 5 世纪,古希腊医生、医药的先驱 Hippocrates 认为,疾病不是由于神秘和不可思议的影响所致,而是由于气候和大气的影响干扰了体液。用现代医学分析他的观念是不妥的,但他的贡献是建立了根据观察和试验而作科学推论的原则。

公元前 2 世纪古罗马著名医生 Galen,他的医学和哲学著作进一步推动了流行病学的革命。他认为大气的变化、个体的易感染性以及某种程度上接触感染(源)对流行病均起作用。这种模糊的观念直到 19 世纪法国巴斯德时代才被人们所接受。

公元前 1 世纪人们曾认为喝鸭致死量感染后的鸭血能防病。约 1 个世纪后,Elder 建议用

疯狗的肝治疗狂犬病。非洲曾以同类的某些物质免疫预防蛇毒及其他毒物,而在中国则很早就有“以毒攻毒”的说法。

人患天花病愈后可获得免疫,这是人类最早有关免疫的知识,记载在公元前 590 年。在印度波斯曾用经皮肤接种的方式,即将粘有感染材料的棉花敷于划破的皮肤上,并保持一年;在波斯也曾有吞食结痂的记载。当然这种原始的“免疫”措施未能有效控制当时的天花流行。

(二) 爱德华·琴纳的贡献

英国医生爱德华·琴纳经过长期观察,认为牛痘即牛的天花(cow smallpox),可以保护人的天花。正如前述,琴纳的试验证明,轻微的牛痘可以预防人的天花,所有这些被接种牛痘的人以后接种天花均无反应。但琴纳的论文却被当时英国皇家学会拒绝,理由是无充分证据。1798 年,他自费出版的论文受到圣乔治医院著名医生 George Pearson 的重视,并证实了琴纳的发现。

(三) 免疫接种在全世界展开

琴纳的论文发表两年之后,美国哈佛大学医生 Benjamin Waterhouse 在推行免疫接种方面做出了积极贡献,曾被称为“新世界的琴纳”。他坚持免疫接种的改革事业,并保持着与从未相见的琴纳的友谊关系,后来 Jefferson 总统任命他为美国国家疫苗学研究所的联邦疫苗代理人。19 世纪初,法国、丹麦、瑞典、俄国和德国等国家开始免疫接种牛痘苗预防天花。

二、疫苗学发展实验时期

(一) 巴斯德减毒活疫苗给免疫学带来了黄金时代

琴纳的工作全凭经验,但他并不知种牛痘能预防天花的机制。法国的化学家巴斯德(Louis Pasteur, 1822—1895)对疾病产生和恢复的机制很有兴趣,他的研究工作使他成为现代免疫学的创始者,也使后来的郭霍和德国学派有可能进一步发展观察技术,发现致病微生物。巴斯德在创建细菌发酵和疾病的理论后,用减毒的微生物制成鸡霍乱菌疫苗。起初从病鸡分离到的标本接种到健康鸡,健康鸡很快死亡;当他休假回到实验室后,用已存放两周的培养物给鸡接种时,发现并不产生典型的疾病,大量的鸡恢复了健康。一次偶然的机会巴斯德发现强毒细菌给接种过减毒细菌存活下来的鸡再次接种,这些鸡只发生轻微的症状而全部存活。巴斯德将鸡霍乱病原培养物在室温长期放置而减毒,这种疫苗曾用于很多农场的动物,使鸡霍乱疫苗被广泛应用。

1881 年巴斯德借鉴了兽医学家加热或以碳酸处理炭疽感染动物的血制造羊用粗制疫苗方法,采用了减毒纯培养物,进行了温度、氧及其他物理因素对细菌影响的试验,并与医学界和兽医界合作,将炭疽杆菌培养于 42~43℃,制成人工减毒活菌苗。巴斯德并未忘记伟大的先驱者琴纳,将用于免疫的炭疽培养物称为“vaccine(疫苗)”,活的减毒炭疽疫苗在法国使用几年后,羊的发病率从 10%降至 1%,牛的发病率从 5%降至 0.35%。

1885 年巴斯德研制了狂犬减毒活疫苗,在刚要开始研究复杂的疫苗时不幸残疾,但他并未放弃对狂犬减毒活疫苗的研究。他首次将这种很小的在病犬的脑、脊髓生长的病原体命名为“病毒(virus)”,意思是简单的毒物,当时尚不知病原体是狂犬病病毒。巴斯德将病原体经兔脑传代,亦能获减毒株,制成减毒活疫苗,进行预防接种,不仅预防了牲畜间的严重传染病,使畜牧业得到发展,且预防了人的多种传染病。被巴斯德减毒活疫苗接种过的疯狗咬伤的人,狂犬病发病率约为 1%,而未接种过减毒活疫苗的疯狗咬伤的人,发病率高达 15%~20%。为纪念他

的成绩,1888年创立了巴斯德研究所。

(二) 微生物学奠基人之一:郭霍

德国医生郭霍(Robert Koch,1843—1910)和巴斯德被公认为是微生物学奠基人。郭霍在确认传染病的病原体方面做了杰出贡献。他发明了将细菌固定于玻片并干燥和用染色的方法,能更精确地在显微镜下对细菌进行观察。他还发明了培养基,可从病人排泄物或其他标本中分离出单个的菌落。经过一系列实验,他提出了确定病原菌的标准,即著名的郭霍法则(Koch' postulate),即特殊的病原菌应在同一疾病中查见而不存在于健康个体中;该特殊病原菌能被分离培养得到纯种;该纯培养物接种到一个易感动物,能产生同样病症;自人工感染的实验动物体内能重新分离得到该病原菌纯培养。郭霍法则在当时对鉴定病原菌起到了重要的指导作用,奠定了研究微生物致病性的基础。由郭霍和他带领的一大批学者相继发现了许多对动物和人体致病的病原菌,如结核杆菌、霍乱弧菌、脑膜炎奈瑟菌、痢疾志贺菌、白喉棒状杆菌、炭疽杆菌等。郭霍和他的助手们将结核杆菌及代谢产物给动物注射,实验动物出现炎症,甚至溃疡,郭霍认为可能是机体清除细菌的防卫和免疫反应,而未感染过结核杆菌的动物无反应。郭霍等曾试图以此作为疫苗,虽然他们未成功,但旧结核菌素至今仍用于诊断结核病。当时他已注意到迟发性过敏现象,这一发现对基础免疫的研究有重要的启示。

(三) 死疫苗

对死疫苗的研究始于1892年,英国细菌学家AE Wright的兴趣主要集中在马耳他热和伤寒。在那个年代对疟疾、结核和伤寒等引起发热的疾病不易区别,更不可能区别伤寒和副伤寒。Wright以活的和死的伤寒菌苗在猴和自己身上进行试验,导致他发烧数周。后来他集中于死菌苗研究,53℃杀死伤寒菌培养物,再加0.4%来苏水。虽然这种疫苗局部和全身反应仍很重,但对机体有保护作用。

(四) 毒素和抗毒素免疫

法国著名临床医生Pierre Bretonneau于1825年成功进行了第一个咽喉手术治疗,他亲眼目睹了朋友的4个病儿中3个死亡,在得到病人父母的允许后,他对第4个孩子进行了手术,被该手术救活的儿童一直活到71岁。19世纪末,白喉是死亡率极高的疾病,美国首任总统华盛顿曾被误认为患白喉而死(实际上为葡萄球菌引起的咽炎和喉炎)。当时,郭霍的助手首次将白喉病人咽喉的白喉菌培养于含浓缩血清的固体培养基上,在动物试验的基础上,发现白喉细菌可产生剧毒的毒素,使动物死亡。后来巴斯德的学生证实肉汤培养细菌几天后,这种无菌的滤液与白喉菌一样可杀死实验动物,这种可溶性的物质被称为毒素(toxin)。郭霍的助手们将白喉菌培养物的提取物注射给动物,发现一旦存活下的动物对再次注射毒菌有耐受力。德国Emile Behring和日本研究者几乎在同时发现,亚致死量的活的或杀死的白喉或破伤风培养物均能使动物产生抗数倍致死量的活菌或毒素的攻击。不久他们又发现,甚至极微量的白喉肉汤培养物滤液,即可使动物产生抗体。当这些有抗体的动物血清转移给未免疫动物,可使后者有抗病能力。如动物已有症状,则转移的抗血清有治疗作用。

20世纪开始,抗毒素成为全球用来预防和治疗白喉的手段。为获取抗毒素,研究者开始用毒素免疫马,产生的抗毒素混合物来制造抗毒素。1904年Alexander Glenny在伦敦以甲醛处理毒素得到白喉类毒素。E. Loewever在维也纳用甲醛处理过的破伤风毒素免疫马和其他动物。用甲醛杀菌的瓶子装的毒素,其毒性大降,而免疫原性保留,这是偶然的发现,甲醛可解毒

变成类毒素。1901 年获得诺贝尔生理学或医学奖的 Behring, 用毒素与抗毒素 (antitoxin) 的混合剂给动物免疫。直到 1913 年 Behring 制造了近于中性的相对安全的混合物开始用于人的免疫。维也纳大学的小儿科医生 Bela Schick 发现了一种皮内试验: 对人皮内注射一定量的白喉毒素, 局部反应取决于血清中抗毒素的水平, 此即著名的锡克式试验。

人体使用马抗血清时, 发现有过敏现象, 后来知道是机体对异种蛋白的免疫反应。1910 年, 有学者以硫酸铵或硫酸钠沉淀法部分纯化了马抗血清, 大大减轻了过敏反应。1914—1918 年第一次世界大战期间, 破伤风抗毒素的使用, 使破伤风的发病率和死亡率大大降低。

(五) 早期细菌疫苗的研制

1. 伤寒、副伤寒、霍乱、痢疾疫苗 英国军队从 1904 年开始应用伤寒疫苗, 1916 年开始使用伤寒副伤寒甲乙联合疫苗, 使第一次世界大战期间伤寒病发病率大大下降。

早期霍乱从症状上容易与痢疾等其他肠道感染疾病混淆。1883 年, 郭霍获得证据, 霍乱病由像“逗点”样的霍乱弧菌引起。1884 年, 西班牙细菌学家 Jaime Ferran 第一个制造了霍乱减毒活疫苗, 但不良反应太大。以后 Waldemar Haffkine (1892 年)、Wilhelm Kolle (1896 年) 先后进行了多年研究, 制成了霍乱疫苗, 但免疫效期只有 6 个月, 第一次世界大战期间霍乱死菌苗用于军队却起了作用, 当时曾出现霍乱、伤寒、副伤寒甲乙四联疫苗。

1896 年, 日本痢疾大流行, 发生 90 000 病例, 有 20 000 死亡。Kiyoshi Shiga 从病人的粪便中分离了痢疾菌, 并发现能与病人血清凝集。1900 年, Shiga 制造了抗血清, 随后美国研究者 Simon Flexner 分离出另外的痢疾菌。尽管痢疾疫苗自 1903 年开始应用, 但至今对预防和治疗的价值仍无定论。

2. 鼠疫疫苗 鼠疫 (Plague) 又称黑死病, 由于鼠类为重要传染媒介, 故中文称它为鼠疫。此病早年在欧洲流行猖獗, 14 世纪欧洲有 330 万人死于此病, 占总人口的 33%。1664—1665 年, 伦敦发生历史上最大的鼠疫流行, 死亡 80 000 人。中国民间曾有“东死鼠西死鼠, 人见死鼠如见虎, 鼠死不几日, 人死如墙垛”传说, 可见中国鼠疫流行曾经也很严重。Kitasato 和 Yersin 于 1893—1894 年在香港流行鼠疫时分离到鼠疫的病原体, 即鼠疫杆菌, 他们将鼠疫杆菌感染大白鼠, 可使其致死。1895 年 Yersin 等首次研制出加热灭活全菌体死疫苗, 1902 年 Weldemar 等研制的鼠疫疫苗在人群中接种, 显示了较好的预防效果, 未免疫人群的发病率为 7.7%, 而免疫人群的发病率仅为 1.8%, 死亡率从 60.1% 降至 23.9%。

3. 结核杆菌疫苗 郭霍是结核杆菌疫苗研究的三位奠基人之一。虽然他未成功, 但他的基础免疫研究为后来的卡介苗 (Bacillus of Calmette-Guérin, BCG) 研究成功奠定了基础。卡介 (Albert Calmette, 1863—1933 和 Camille Guérin, 1872—1961) 二氏将有毒的牛型结核分枝杆菌在含胆汁、甘油和马铃薯的培养基上, 经过 13 年 230 次传代, 获得毒力减弱但保留该菌免疫原性的变异株即 BCG, 于 1921 年用于结核病的预防。

4. 布氏杆菌疫苗、流行性脑膜炎疫苗和嗜血流感杆菌疫苗 从 1887—1893 年先后分离出这些病原体, 并进行了疫苗研制。

(六) 早期病毒疫苗的研制

人类与病毒斗争最早的疾病即天花, 自使用牛痘苗以后, 在世界的流行逐渐减少。疫苗在防病方面的作用已受到充分肯定, 直至世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 宣布天花已在全球消灭。除了这一典型范例外, 人类早期研制的病毒疫苗还有:

1. 流感疫苗 在第一次世界大战期间,流感在欧洲流行造成大量人员死亡。1932年英国流感再度流行,Laidlaw等将病人鼻腔冲洗液经过除菌过滤再给白鼬鼻腔感染,引起发病,这是首次证明病原为非细菌,随后在美国、澳大利亚发现病人血中有中和抗体。1934年,流感病毒经白鼬传代后再传给实验动物小白鼠,发现只有经鼻腔滴入病毒,才能引起白鼬、小白鼠和猪感染,而皮下、肌肉和静脉注射可引起抗体的产生,但不发病。1937年美国 and 英国研制出首批活疫苗,但考虑安全原因没正式使用。后来在流行中发现了不同型的病毒,即流感甲、乙型,而且互相不保护。1943年和1946年美国使用流感疫苗,显示出很好的预防效果,但奇怪的是在1947年效果不好,后来发现是因为甲型流感在流行中已变异为甲1型,最后总结出流感病毒约每10年发生变异。1949年在纽约发现丙型流感病毒,1957年中国西南流感大流行时确定了甲2型或称亚洲型。

2. 黄热病疫苗 黄热病是由特殊蚊子传播的疾病。最早的大流行是1900年在美国驻古巴的军队当中,以Walter Reed少校为首的一组人员在古巴研究了黄热病。该研究组人员Carlos让咬过病人的黄热蚊(后来归类于埃及蚊)咬了自己,结果发病,从而证明此蚊为该病的传播者。1901年该组另一成员Carroll将一患者的血滤液给3个志愿者注射,其中2个人有典型的发病症状,从而确认黄热病的病原体为病毒。1927—1930年先后有5位科学工作者因研究黄热病而被感染致死。英国的Marshall Findlay和Edward Hindle于1929年将病死的猴肝和脾以酚和甲醛处理后再感染猴,可以使猴子得到免疫,血清中有保护抗体。1930年Max Theiler将黄热病毒于小白鼠脑内注射,引起脑组织炎症,预先注射免疫血清,则可保护小鼠。后来Theiler和其他科学家用经过多次小鼠传代后和组织培养传代的病毒制成减毒疫苗,1935年第一种减毒疫苗与抗血清在智利使用,1937年减毒株17D鸡组织培养成功制备的疫苗开始使用。1939—1945年战争时期,17D疫苗起了很大作用。1951年Theiler因对黄热病研究有功而获得诺贝尔生理学或医学奖。

3. 脊髓灰质炎疫苗 脊髓灰质炎是由脊髓灰质炎病毒引起患者麻痹,肢体萎缩,主要感染对象为儿童,故称小儿麻痹症(infantile paralysis)。1909年奥地利报道将此病传染给猴子。同时美国纽约洛克菲勒研究所的Simon Flexner和Paul Lewis,将病人的鼻腔和咽喉的冲洗液过滤涂菌后接种猴引起感染,从而证实病原为病毒。同时发现猴子病后的血清传给其他猴,可以使猴抗病;猴病愈后也获得对再感染的抵抗力。1916年,美国曾发生大流行,引起27000人患病,6000人死亡,后来成为美国总统的罗斯福也是受害者之一。1930—1941年期间的报道表明,注射抗血清有一定好处。1951—1953年期间,曾用血清中丙型球蛋白来治疗小儿麻痹病人,对某些病例有效,但总的结果表明一旦确诊为脊髓灰质炎,给予抗血清已为时过晚,用免疫球蛋白来治疗小儿麻痹病也不是有效方法。

1949年以前曾试图制造疫苗,但都未成功。美国哈佛大学和波士顿儿童医院的John Enders, Frederick Robbins和Thomas Weller在1949年用人胚胎或成人的非神经组织细胞培养脊髓灰质炎病毒获得成功。他们还发现了这类细胞的一些细胞病理学变化,以判断病毒是否生长,以后用猴肾细胞培养该病毒又获成功。1954年他们因此得到诺贝尔生理学或医学奖。

1949年,另一重要成果是约翰霍普金斯大学的David Bodian及其同事发现脊髓灰质炎病毒有三个型,各产生其对应的抗血清。1952年约翰霍普金斯大学的Howard Howe接种三个型的甲醛解毒的疫苗给猩猩和6个人,均产生抗体并持续数月。