專　欄

DOI: 10.6526/ICJ.202012_30(6).0005

疫苗佐劑：調節身體免疫力的防疫利器

黃明熙

國家衛生研究院　感染症與疫苗研究所

前　言

「毋恃其 (疫情) 不來，恃吾有 (疫苗) 以待之」。

「2019 冠狀病毒疾病 (coronavirus disease 2019, COVID-19)」疫情來勢洶洶，世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 已在 2020 年 3 月 11 日將防疫等級提升到「全球大流行」[1]。此波大流行重創全球經濟與醫療體系，全球疫苗研發正與病毒肆虐競速，各國都將加速生產的疫苗列為戰備物資。針對新型冠狀病毒 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2) 所引起的嚴重特殊傳染性肺炎，政府除了持續與國際藥廠廣泛建立合作夥伴關係與供應鏈，由國內生技產學研推動的「抗疫國家隊」於取得病毒基因序列後，亦旋即啟動新冠肺炎疫苗研發計畫。

為了提昇候選疫苗的免疫效價，添加佐劑是疫苗研發首選，可以藉由調節身體的免疫力來增進疫苗保護之廣度與時效，進而達到節省抗原使用的防疫利器[2]。佐劑配方是疫苗產品的內容物，執行疫苗療效臨床試驗，必須考量整體的疫苗安全與疫苗效果，甚至是施打疫苗後，所產生的疫苗抗體與臨床保護力的關聯評估。從產品開發的角度，除了瞭解候選佐劑的基本物理與化學性質、免疫誘導能力之外，尚須時間與經驗去累積該佐劑的免疫作用機制以及其對於生物體的安全問題。此外，候選佐劑配方隨著時間，於人體分佈情形的藥物動力模式，亦為申請新藥臨床試驗 (investigational new drug, IND) 的必備文件。長久以來，由美國藥物與食品管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 所核可的人用佐劑只有鋁鹽。然而，自從 2009 年爆發 H1N1 流感大流行疫情開始，美國 FDA 態度轉趨接受含新型佐劑疫苗。近十年來已

陸續核准數項產品，提供人用疫苗佐劑新選擇 (表一)。在新興傳染病威脅之下，研究新方法調配品質得宜的基礎鋁鹽佐劑、或是盤點新上市人用疫苗佐劑，甚至是新型佐劑的研製與開發，都刻不容緩。

鋁鹽仍是人用疫苗佐劑的第一選擇

鋁鹽是氫氧化鋁與磷酸鋁等無機鹽類的通稱，為常用的制酸劑，也是美國 FDA 核可使用疫苗產品當中最多使用之佐劑。鋁鹽做為人用佐劑已經有將近一百年的歷史，其免疫誘導之作用機制也知之甚詳。過去最廣為研究學者所接受的主要作用機制，為抗原的吸附與逐步釋放[2]。近二十年來許多研究指出，鋁鹽能夠藉由發炎體 (inflammasome) 的概念與機制來刺激免疫系統，達到免疫調節功效[3]。鋁鹽主要引起 Th2 的免疫反應，對於類毒素疫苗 (例如白喉與破傷風) 有不錯的免疫增強效果[2,3]。然而，從大流行流感疫苗的動物實驗與人體臨床測試的結果顯示，添加鋁鹽佐劑的流感候選疫苗，仍需接種高劑量或兩劑以上，才能誘導產生有效的保護抗體。此外，根據過去冠狀病毒的研究經驗，所設計之候選疫苗如果在體內產生過多無法中和該病毒之抗體，將來在病毒入侵之後，雖然可以喚起身體免疫系統記憶而鑑別出該病毒抗原，並與之結合成抗原-抗體複合體，卻因為無法有效阻斷或清除病毒，反而促進細胞膜上的接受體 (receptor) 結合而進入細胞內進行感染與複製，從而引發「抗體依賴性增強現象 (antibody dependent enhancement, ADE)」，產生呼吸道疾病的不良反應[4]。未來 COVID-19 候選疫苗若搭配以鋁鹽這類主要功效為促使免疫系統加速產生抗體的佐劑，必須審慎評估上述事項。

人用疫苗佐劑新選擇

根據作用機制，疫苗佐劑可以概略地被歸類成為兩大類：免疫調節劑

表一　盤點新上市人用疫苗佐劑

佐劑	開發單位	組成成份
CpG 1018[a]	Dynavax	寡核苷酸 5' TGA CTG TGA ACG TTC GAG ATG A 3'
AS01B[b]	葛蘭素史克	皂苷 QS-21, MPL, 微脂體
AS04[c]	葛蘭素史克	MPL, 氫氧化鋁
ISA51[d]	賽比克	Drakeol 6VR 礦物油/甘露醣酐單油酸酯
MF59[e]	Seqirus	角鯊烯/Tween®80/Span®85
AS03[f]	葛蘭素史克	角鯊烯/Tween®80/維生素 E

[a] 根據 HEPLISAV-B 仿單；[b] 根據 SHINGRIX 仿單；[c] 根據 Cervarix®仿單；
[d] 根據 CimaVax-EGF 仿單；[e] 根據 Fluad® 仿單；[f] 根據 Pandemrix®仿單

(immunomodulator) 與疫苗遞送系統 (vaccine delivery system) [5]。複方佐劑 (combination adjuvant) 則可以調和免疫調節劑的免疫誘導能力與疫苗遞送系統的控制釋放效果。

免疫調節劑的主要作用，在於經由刺激免疫細胞之受體 (receptor) 進而調節疫苗的免疫效果，例如 CpG 寡脫氧核苷酸 (CpG oligodeoxynucleotides，含有胞嘧啶 C-鳥嘌呤 G 雙核苷酸之寡核苷酸序列，p 係指 C-G 兩核苷酸之間以磷酸二酯鍵連結)、皂苷 QS-21 (源自於 Quillaja Saponaria 樹皮之植物萃取物)、以及單磷酸脂質 A (monophosphoryl lipid A, MPL，細菌脂多醣修飾物)。B 型肝炎疫苗 HEPLISAV-B，添加專利佐劑 CpG 1018，一個月內接種兩次取代傳統六個月內接種三次[6]。帶狀皰疹疫苗 SHINGRIX®，使用病毒表面醣蛋白作為抗原，取代傳統減毒水痘病毒，相對而言較為安全，添加了專利佐劑 AS01B (QS-21、MPL、微脂體之複方佐劑) [7]，強化注射疫苗後所產生的效果，可以有效防止 50 歲以上各年齡層的帶狀皰疹與皰疹後神經痛的發生，而且注射疫苗後效益預估可達 20 年。保蓓 (Cervarix®) 人類乳突病毒第 16/18 型疫苗，因添加了可以啟動先天免疫反應的專利佐劑 AS04 (MPL 與氫氧化鋁之複方佐劑) [8]，對於第 31、45 型亦有交叉保護效果，除了獲得美國 FDA 核可使用，也是新型佐劑當中已經獲得台灣 FDA 核可使用的產品。

疫苗遞送系統的主要作用，在於能控制適量的疫苗進入體內適當的位置而維持所需要的時間，例如乳液 (emulsions) 以及微脂體 (liposome)。幾乎與鋁鹽發展的同一時期，人們發現有些油脂能夠促進免疫反應。為了使得免疫細胞能夠有效吞噬這些油脂，必須添加乳化劑或界面活性劑來降低油-水之間的表面能量，使之形成均勻的乳液。賽比克 (SEPPIC) 公司研發的油劑 ISA51，包含礦物油與疏水性乳化劑甘露醣酐單油酸酯，能與候選疫苗調配出油包水型式的乳液。藉由油層的包覆而達到保護抗原的效果，目前核准於治療型肺癌疫苗 CimaVax-EGF [9]。然而，調配此類型乳液疫苗必須使用大量的油脂，副作用太大，不宜使用於全面性施打的預防型疫苗。對此，Seqirus 公司的 MF59 佐劑與葛蘭素史克公司 (GSK) 所開發的 AS03 佐劑，即為水包油型式的乳液[5]；其中，MF59 使用微流體程序 (microfluidized process)，將疫苗與少量的角鯊烯 (squalene)，於高壓環境下均質成為乳液懸滴，使用濾膜無菌處裡之後，製備出高流動性之乳液劑型疫苗[5,10]。在 2009 年，為了因應 H1N1 新型流感大流行，美國政府購買數億美金之 MF59 佐劑，作為疫苗研發與緊急儲備使用[11]。此外，國內在 H1N1 新型流感大流行期間，已有數百萬國人接種含有 MF59

佐劑之緊急疫苗，而後續觀察也安全。目前，有一項季節型流感疫苗產品 Fluad® 添加 MF59 佐劑，特別針對 65 歲以上老年族群提升其疫苗之免疫效果[10]；另一方面，AS03 則先將生理緩衝溶液、角鯊烯與維生素 E 混合油劑，均質成為黏稠狀乳液，於接種時再將乳液原液稀釋分散於候選疫苗當中，使之成為高流動性的含乳液疫苗[5]。美國核准添加 AS03 佐劑的 H5N1 流感疫苗，於高風險接觸族群使用[12]。其中，非離子型界面活性劑 Span® (山梨糖醇酐脂肪酸酯) 與 Tween® (聚氧乙烯化山梨糖醇酐脂肪酸酯)，係國際藥廠開發乳化劑型疫苗常選用的乳化劑[13]。Span® 係先將山梨糖醇除去一分子水成為山梨糖醇酐，之後再與脂肪酸進行酯化反應而得；Tween® 係先將山梨糖醇酐聚氧乙烯化使其親水基團增加，之後再與脂肪酸進行酯化反應而得。這些國際藥廠所開發的疫苗乳液佐劑，選用的乳化劑與製劑調配比例，皆有專利保護，使用傳統 Tween® 乳化劑所調配的乳液，若於針劑使用，常會有產生類過敏性反應等副作用顧慮[14]。

面對新冠肺炎威脅，兩大國際疫苗廠賽諾菲 (Sanofi) 與葛蘭素史克已經簽署意向書，由賽諾菲提供抗原，葛蘭素史克提供佐劑，共同開發新冠肺炎的含佐劑疫苗[15]。在國內，只有昱厚生技開發由大腸桿菌製備的去毒腸毒素蛋白 LTh (αK) 佐劑技術，配製鼻噴劑型流感疫苗完成第二期臨床試驗，可以進一步提供新冠肺炎疫苗之佐劑評估，然而後續仍需監控其安全和有效性[16]。國光生物科技利用桿狀病毒/昆蟲細胞表達系統，重組棘蛋白 (S protein) 構造上受體結合區域 (receptor-binding domain, RBD) 的次單元候選疫苗「AdimrSC-2f」，是台灣第一家進入第一期人體臨床試驗之新冠肺炎疫苗研發產品 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04522089)；規劃低、中、高三種等級抗原劑量，並且在低劑量組別搭配鋁鹽佐劑進行對照。首支台美合作研發的新冠肺炎疫苗，由高端疫苗技轉自美國國家衛生研究院 (National Institutes of Health, NIH) 之細胞表現棘蛋白抗原技術，投入次單位疫苗之量產及優化，由 Dynavax 公司提供疫苗佐劑 CpG 1018，並且搭配鋁鹽佐劑調配使用，陸續也獲准進入人體臨床試驗 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04487210)。

國衛院之佐劑研發策略

發展疫苗產業政策以及強化疫苗研發基礎，涉及整個經濟面、社會面與防疫面的國家安全性問題。台灣目前人用疫苗產業尚未雛形，整體的研發能量，在全球排序屬於後段班。國衛院責任站在學術的高度，提升國內疫苗自製能力，強化疫苗研發基礎，提供廠商及相關機構諮詢。為了

配合國衛院感疫所的重點疫苗製劑研發，特別是流感模擬疫苗之生產演練以及因應新興感染症 (如腸病毒、登革熱、新冠病毒) 之突發疫情，感疫所建立佐劑配方/遞送技術以及各項完善的評估方法，提出研發策略並針對不同的防疫需求，利用劑型設計有效增強其應用效價，同時研發安全有效的新型佐劑。由於疫苗添加佐劑有可能導致免疫風暴之顧慮[2-4]，以及產生注射部位之紅、腫、熱、痛等類過敏性反應之副作用；此外，採用市售佐劑限制較多且價格易被壟斷，對於研發階段中的新型疫苗，其製程的各項參數必須逐一確定，唯有取得專利，方能安心從事製程最優化。

我們研究團隊提出一項嶄新「可吸收高分子體 (polysorbasome)」的概念，由兩性生物吸收高分子材料所構築的乳液載體，作為疫苗佐劑之用[13]。具有下列多種優點，包括：1. 可針對不同的防疫需求，選擇包覆或吸附型的疫苗來引發不同的免疫反應，達到經由一次疫苗接種，即能產生免疫-追加的效果；2. 軟性控制釋放系統，不會有阻塞針頭的顧慮；3. 載體粒徑可調整介於微/奈米等級，方便免疫細胞辨識，評估最佳化疫苗接種途徑；4. 載體進入生物體/細胞體內之後，高分子將會開始進行水解而逐步失去乳化劑性質，使得原本穩定的乳液開始崩解。屆時，所包覆的抗原或活性成份，可以經由擴散作用以及乳液崩解而得以釋放；5. 所產生的副產物都可以透過體內循環，轉化成對人體無傷害性的代謝產物而排出體外，安全性質高；6. 無論是體外模擬或小鼠免疫模式，我們也驗證其控制釋放效果，有效提升疫苗的免疫生成性。相關標的技術已獲得多項專利 (親水性乳化劑 US 8,444,993、TW I383806；親油性乳化劑 US 10,172,945、TW I598114、AU 2016215757)。其中，一項優化之乳液佐劑 PELC，其油劑的組成比例與 MF59 類似，含有少量角鯊烯之高流動性乳液。主要的差異，在於使用高生物相容性的兩性生物可吸收式高分子作為親水性乳化劑，由此取代毒性相對較強的 Tween®80。親水端部份為水溶性聚乙二醇 PEG；至於疏水端部份，則選用生物降解性材料聚乳酸己內酯共聚物。乳化劑的親疏水性質，可以藉由所組成親水與疏水團聯之分子量加以控制。乳化劑於進入生物體內之後將開始進行水解[13,17]，所產生的副產物乳酸和己醇酸預期都可以透過體內的科氏循環 (Kreb's cycle) 轉化成對人體無傷害性的二氧化碳和水，再與聚乙二醇一同排出體外。如此以來，佐劑的組成安全性較高，植入人體之後能由體內所分解代謝，使用時較不會有疑慮。在製造程序方面，添加 PELC 乳液劑型疫苗之使用方法與 AS03 相同，是經由乳化-分散兩階段程序所製成而得[18]。兩階段程序的優點，在於使用時的活動度較大，對於研發階段中的新型佐劑

於其製程的各項參數能逐一確定。評估具有同樣成分的 PELC 乳化製劑疫苗，若將抗原於第一階段乳化程序時加入，則可視為抗原包覆方法負載；若將抗原於第二階段分散程序時加入，則成為表面吸附抗原疫苗。前者的優點，在於能達到有效包覆疫苗抗原之目的。後者的優點，在於能避免疫苗抗原於乳化過程當中直接受到均質機剪向力的衝擊。

可吸收高分子體配方技術，可應用於多價疫苗 (專利獲證：TW I522469、CN 102988977 B)、強化癌症免疫治療 (專利獲證：TW I675843) 與鼻腔噴霧劑型疫苗 (專利申請：US 16/172,207、TW 106137133、CN 201711132357.5)，業經臨床試驗委辦服務公司 (Contract Research Organization, CRO) 確認於動物體內不會有急毒性與安全性問題。搭配由感疫所研發團隊所提供之 COVID-19 疫苗，期能提高候選疫苗之保護效果與舒適性，藉以鼓勵民眾對於疫苗之接種意願。近期進一步建立以連續式高壓射流方法之小量生產製備程序，進行製程優化，乳液粒徑的均一性與再現性皆能有效掌握。目前每批 (次) 達到 1 公升乳化疫苗佐劑的試量產規模，可供調配 2 公升含佐劑之候選疫苗；若以每劑疫苗 0.5 毫升計算，相當於供應 4,000 (劑) 單劑量疫苗調配使用，大幅降低疫苗原料成本。調合而成的含乳液佐劑疫苗配方，將完成基本的鑑定分析與相關的物理化學性質檢測，包括乳液粒徑分佈、安定性、可注射性與流變性、疫苗釋放動力曲線；藉由樹突細胞活化機轉研究，可了解配方與細胞之相互關係；搭配小鼠免疫實驗，同時監控此新型調合配方對於免疫小鼠之組織病理觀察與血液生化指標評估等生物相容性質，篩選出最優化配方。研究團隊願意提供新型乳液產品，讓更多研究單位評估使用，協助確認產品的安全性與效力，持續推動新劑型疫苗之臨床試驗。

面對瞬息萬變的病毒侵襲，學者專家對於冠狀病毒流感化都提出擔憂，必須研擬對策針對可能流行的病毒株製成疫苗。然而，單純使用鋁鹽或角鯊烯乳液等疫苗遞送系統作為佐劑，雖然可以增強所針對候選病毒株設計之疫苗抗原，誘導出適應性免疫反應 (adaptive immune response)，達到對抗該病毒之效果。然而，新舊病毒株沒有交叉免疫力，無法產生交互保護作用，從而根本解決新興感染症之威脅。未來的研究方向，必須以產生交叉保護效果為目標，所研擬的方法有二：其一、安排於可能流行的病毒株候選疫苗當中，添加組成結構相對穩定且相類似的次單元蛋白，用以增加抗原的廣度。其二、於候選疫苗當中加入能啟動先天免疫反應 (innate immune response) 的免疫調節劑，從免疫反應的源頭開始做起，進而達到交叉保護效果。鋁鹽與角鯊烯乳液等疫苗遞送系統，若能夠搭配免疫調節

劑如 CpG 或短鏈胜肽，將能夠調合佐劑的抗原保護效果與免疫調節能力，開發新一代疫苗佐劑。期許將來候選佐劑於初步完成細胞篩選與動物免疫評估之後，能積極整合相關實驗室，共同完成其相關毒性與安全性測試、免疫作用機制與動力學研究。下一步緊密與臨床結合，逐步累積各項人體實驗數據。最後可尋求政府或國際藥廠的協助，完成後續研究。佐劑製造技術的發展，除了能提供最快的方式準備疫苗，並能以最少的抗原需求而得到最完善的免疫效果，有效安定民心。另外，亦可以改良肌肉注射或皮下接種等傳統針劑接種途徑，相信在可以預測的未來，採用高效率且較為舒適的鼻腔給予方法接種疫苗，都將指日可待。

未來展望

佐劑研發是條漫長的路。探討候選佐劑之成份與製備程序對於載體粒徑及粒徑分佈、疫苗穩定性與免疫效價影響，將可作為未來疫苗設計的基礎以及最優化劑型之評估參數。分析疫苗配方之製程參數，有助於銜接實驗室等級與試量產規模之研發基礎，能提供疫苗與生物產業經濟發展之研究諮詢，創造生物製劑的最大經濟效益。研發團隊將持續向國人分享研究成果，並介紹含佐劑疫苗之基本知識，詳細說明新產品的設計理念是為了改善舊產品當中的壞成分，增加國人對於新佐劑產品的接受度。

參考文獻

1. World Health Organization: Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report-51, Available https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/.
2. Gupta T, Gupta SK: Potential adjuvants for the development of a SARS-CoV-2 vaccine based on experimental results from similar coronaviruses. Int Immunopharmacol 2020;86:106717.
3. Marrack P, McKee AS, Munks MW: Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium. Nat Rev Immunol 2009;9:287-93.
4. Lee WS, Wheatley AK, SJ Kent, et al: Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. Nat Microbiol 2020;5:1185-91.
5. O'Hagan DT, Gregorio ED: The path to a successful vaccine adjuvant-'The long and winding road'. Drug Discov Today 2009;14:541-51.
6. Leaflet of HEPLISAV-B (Hepatitis B Vaccine (Recombinant), Adjuvanted).
7. Leaflet of SHINGRIX® (Zoster Vaccine Recombinant), suspension for intramuscular injection.
8. Leaflet of Cervarix® human papillomavirus vaccine type 16/18 (Recombinant, AS04 adjuvanted).
9. Mancebo A, Casacó A, González B, et al: Repeated dose intramuscular injection of the CIMAvax-EGF vaccine in Sprague Dawley rats induces local and systemic toxicity. Vaccine 2012;30:3329-38.
10. Leaflet of FLUAD® (Influenza Vaccine, Adjuvanted), suspension for intramuscular injection.
11. Schubert C: Boosting our best shot. Nat Med 2009;15:984-8.
12. Leaflet of Pandemrix®. Influenza A (H5N1) virus monovalent vaccine, emulsion adjuvanted for intramuscular injection.
13. Huang CY, Huang CH, Liu SJ, et al: Polysorbasome: a colloidal vesicle contoured

by polymeric bioresorbable amphiphiles as an immunogenic depot for vaccine delivery. ACS Appl Mater Interfaces. 2018;10:12553-61.

14. Sun H, Yang R, Wang J, et al: Component-based biocompatibility and safety evaluation of polysorbate 80. RSC Adv. 2017;7:15127-38.
15. Sanofi Press release: Sanofi and GSK to join forces in unprecedented vaccine collaboration to fight COVID-19, Available https://www.sanofi.com/en/media-room/press-releases/2020/2020-04-14-13-00-00.
16. Pan SC, Hsu WT, Lee WS, et al: A double-blind, randomized controlled trial to evaluate the safety and immunogenicity of an intranasally administered trivalent inactivated influenza vaccine with the adjuvant LTh (aK): A phase II study. Vaccine 2020;38:1048-56.
17. Huang CH, Huang CY, Cheng CP, et al: Degradable emulsion as vaccine adjuvant reshapes antigen-specific immunity and thereby ameliorates vaccine efficacy. Sci Rep 2016;6:36732.
18. Huang CH, Huang CY, Huang MH: Impact of antigen-adjuvant associations on antigen uptake and antigen-specific humoral immunity in mice following intramuscular injection. Biomed Pharmacother 2019;118:109373.