

# 老年高剂量四价流感病毒裂解疫苗的研究

余军 杨文彬 杨宪普 帅旗 赵越 张赞 朱实惠 蒋正东 吴建华 赵静  
付建林

225300 泰州, 江苏金迪克生物技术有限公司

通信作者: 杨文彬, Email: bam7565@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2018.04.002

**【摘要】** 目的 评估老年高剂量四价流感病毒裂解疫苗(A+B套苗)的免疫原性。方法 采用江苏金迪克生物技术有限公司研发的四价流感病毒裂解疫苗,以小鼠为动物模型进行免疫原性试验,测定各组抗血凝素抗体滴度,比较高剂量A+B套苗与其他组疫苗的免疫原性差别。结果 血凝抑制试验结果表明,高剂量单次免疫组对四型抗原的血凝抑制滴度均高于标准剂量单次免疫组;高剂量A+B套苗的研究中,除高剂量先B苗后A苗组中抗A3的血凝素抗体滴度未显著增加外,其他各组高剂量两次免疫组血凝素抗体滴度均显著高于标准剂量两次免疫组( $P < 0.001$ )。同时发现,不论高剂量还是标准剂量的A+B套苗组中,先B苗后A苗组中抗A型的血凝素抗体滴度明显高于先A苗后B苗组;先A苗后B苗组中,抗B型的血凝素抗体滴度明显高于先B苗后A苗组。在高剂量A+B套苗两次免疫时间的间隔对抗血凝素抗体产生的影响试验中,7d与10d免疫间隔的免疫效果优于3d。结论 高剂量四价老年流感疫苗(A+B套苗)分两次注射、免疫间隔7~10d的方式免疫效果最好,在流感季节可根据A型和B型流感病毒流行监测结果,选择或改变先A苗后B苗或先B苗后A苗使用程序,以增加对人群的保护,是预防老年流感的新方法。

**【关键词】** 老年人;流感疫苗;四价;高剂量;A+B套苗

**Research and development of high-dose inactivated quadrivalent influenza serial vaccines (split virion) proposed to be used for elderly adults** Yu Jun, Yang Wenbin, Yang Xianpu, Shuai Qi, Zhao Yue, Zhang Yun, Zhu Shihui, Jiang Zhengdong, Wu Jianhua, Zhao Jing, Fu Jianlin  
Jiangsu GDK Biological Technology Co., Ltd, Taizhou 225300, China  
Corresponding author: Yang Wenbin, Email: bam7565@163.com

**【Abstract】 Objective** To evaluate the immunogenicity of high-dose inactivated quadrivalent influenza serial vaccines (split virion) for elderly people. **Methods** Immunogenicity assays on mouse as research animal model with inactivated quadrivalent influenza serial vaccines (split virion) were carried out. Then rates of seroconversion and geometric mean hemagglutination inhibition titers (GMTs) at day 21 after the last vaccination among those who received high-dose (HD) A+B influenza vaccine, were compared with those who received other vaccines by hemagglutination inhibition (HAI) test. **Results** The result of HAI test showed in HD serial vaccine groups, GMTs for all kinds of HA in the two HD serial vaccine groups were significantly different from that of the two SD serial vaccine groups, respectively ( $P < 0.0001$ ), but not the titers for A3 in one B dose first group. Further- more, GMTs for strain A in one B dose first groups were significantly higher than that of one B dose first groups in both HD and SD groups, and vice versa in the GMTs for strain B. The result of the assay of the impact of different immunization intervals of HD serial influenza vaccine on immunogenicity indicated that the immunity responses in 7 or 10 d groups were higher than that in 3 d group. **Conclusions** It is a new method to prevent the flu for elderly by HD A+B serial influenza vaccine, whose HA dose per immunization was reduced into two injections, worked best when the immunization interval was 7-10 d. The protective immunity can be improved by selecting immune procedure of the serial vaccine according to the epidemic type surveillance of influenza virus A and B strains.

**【Key words】** Elderly adults; Inactivated Influenza vaccine; Quadrivalent; High-dose; A+B serial

中国是流感高发地区<sup>[1-2]</sup>,自1957年以来中国大陆和香港发生了几次流感大流行,其病毒株也源

于两地<sup>[3-6]</sup>。流感和并发性肺炎在成人( $\geq 40$ 岁)死亡的主要原因中排名第四<sup>[7]</sup>。流感在老年人群中

可引起高致病率和高病死率,随着年龄增长,尤其 70 岁以上,除了由急性流感和继发性细菌性肺炎造成的死亡外,流感还可增加缺血性心脏病、脑血管疾病、糖尿病人群的住院率和死亡率<sup>[8]</sup>。由于老年人免疫力低下,现有的流感疫苗对老年人的保护不力,疫苗效力低于青壮年(分别为 68.6% 和 74%)<sup>[9]</sup>。疫苗免疫效力可能只有健康成人的 60% 并且效力随着年龄增加及免疫力衰退的加剧而下降<sup>[8]</sup>。由于目前中国拥有世界上最大的老年人口(>8 000 万),今后随老年人口继续增加,流感流行将造成更大的健康危害和社会经济负担<sup>[10]</sup>。

目前世界上只有高剂量的三价疫苗和加佐剂标准剂量疫苗应用于 ≥65 岁老年人群<sup>[11]</sup>,它们缺乏对另一谱系的 B 型流感病毒的预防,需要提供新型高剂量流感疫苗和新的接种方式以增加免疫原性并提供更多保护。国外迄今还没有四价老年流感疫苗,国内尚无任何老年流感疫苗。本研究的目的是在本公司研发的四价流感病毒裂解疫苗的基础上研制适用于老年高危群体的安全有效的流感疫苗。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 流感疫苗:采用 2016—2017 年流感季 WHO 推荐疫苗株:A1(A/California/7/2009,H1N1)、A3(A/Hong Kong/4801/2014)、B1(B/Brisbane/60/2008,B/Victoria)和 B2(B/Phuket/3073/2013,B/Yamagata),从英国国家生物标准与控制研究所(NIBSC)引进。采用本公司研制并经检定合格的流感病毒疫苗单价原液分别配制成标准剂量和高剂量试验动物用疫苗(具体免疫剂量的计算参见 2.2)。第一、二批试验所用四型单价原液批号分别为:YA<sub>1</sub>20161001(HA 含量 190 μg/ml)、YA<sub>3</sub>20161001(HA 含量 286 μg/ml)、YB<sub>1</sub>20161001(HA 含量 129 μg/ml)和 YB<sub>2</sub>20161001(HA 含量 112 μg/ml);第三批试验所用四型单价原液批号分别为:YA<sub>1</sub>20161003(HA 含量 231 μg/ml)、YA<sub>3</sub>20161003(HA 含量 445 μg/ml)、YB<sub>1</sub>20161003(HA 含量 251 μg/ml)和 YB<sub>2</sub>20161003(HA 含量 286 μg/ml);标准剂量两针试验所用四型单价原液批号分别为:YA<sub>1</sub>20170601(HA 含量 199 μg/ml)、YA<sub>3</sub>20170601(HA 含量 273 μg/ml)、YB<sub>1</sub>20170601(HA 含量 106 μg/ml)、YB<sub>2</sub>20170601(HA 含量 277 μg/ml)。

1.1.2 主要试剂及仪器:A1(H1N1)、A3(H3N2)、

B1(B/Victoria)和 B2(B/Yamagata)流感病毒标准抗原参考品、标准抗体参考品均来源于 NIBSC;霍乱滤液购自美国 SIGMA 公司;氯化钠等常规试剂均为国产或进口分析纯产品;三用电热恒温水箱购自天津市泰斯特仪器有限公司,型号为 SHHW21-420;纯水仪 Milli-Q 低热原型购自法国 Millipore 公司,型号为 A10;漩涡震荡仪购自 IKA 公司,型号为 V2S025;台式低速离心机购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号为 L500;数控超声波清洗器购自昆山市超声仪器有限公司,型号为 KQ5200DE。

### 1.2 免疫原性试验

1.2.1 实验动物:SPF 级 KM 小鼠,18~22 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。随机分组,每笼 5~6 只。

1.2.2 免疫剂量:近年来新药药效研究中多以以下公式计算实验动物给药剂量:

$$D_2 = D_1 \times K_2 / K_1 \times \sqrt[3]{W_1 / W_2}$$

其中  $D$  为药物剂量, $K$  为常数, $W$  为动物体重(Kg),人及不同种类动物的  $K$  值不同,如人 10.6、小鼠 9.1<sup>[12]</sup>。根据以上给药公式及现在市场上常规注射流感疫苗的血凝素含量 15 μg/株/剂。计算小鼠标准剂量肌肉注射流感疫苗血凝素含量应为 4.5 μg/株/剂<sup>[13]</sup>。

本试验使用的高剂量流感疫苗每株血凝素的浓度为 18 μg/株/剂是标准剂量的 4 倍<sup>[14]</sup>。将单价原液分别配制为高剂量、标准剂量四价流感病毒裂解疫苗和高剂量、标准剂量 A+B 套苗,其中 A 苗含 A1 和 A3 型血凝素高剂量为各 18 μg/株/剂,标准剂量为各 4.5 μg/株/剂,B 苗含 B1 和 B2 型血凝素高剂量为各 18 μg/株/剂,标准剂量为各 4.5 μg/株/剂,并分两次接种小鼠,下文中均根据 A+B 套苗接种先后顺序称为先 A 苗后 B 苗或先 B 苗后 A 苗。

### 1.2.3 试验设计

1.2.3.1 免疫剂量及次数试验分组:将小鼠随机分为 7 组,试验组每组 12 只以上,分别为:高剂量单次免疫组、高剂量先 A 苗后 B 苗组、高剂量先 B 苗后 A 苗组、标准剂量单次免疫组、标准剂量先 A 苗后 B 苗组、标准剂量先 B 苗后 A 苗组及 PBS 对照组。重复 3 次。

1.2.3.2 高剂量二针间隔时间选择试验分组:将小鼠随机分为 9 组,分别为:先 A 苗后 B 苗间隔 3 d 组、7 d 组和 10 d 组;先 B 苗后 A 苗间隔 3 d 组、7 d

组和 10 d 组。其中试验组每组 15 只,对照组每组 5 只。

1.2.3.3 免疫方法和采血时间:每只小鼠经后腿肌肉注射,注射量控制在 0.25 ml 以内。两次免疫的小鼠,免疫间隔均为 7 d。单次免疫和第二次免疫后 21 d,小鼠眼眶采血,分离血清,置-20℃保存待测。

1.2.4 血凝抑制试验:每份血清经霍乱滤液处理,进行血凝抑制试验,测定其抗体滴度。血凝抑制试验使用来自 NIBSC 的标准抗原及标准血清以确定和配制血凝抑制试验中所使用的四个血凝单位的抗原浓度。采用微量半加敏法测定每份小鼠血清的抗血凝素抗体滴度。

1.2.5 免疫原性的判定:抗体滴度为采用血凝抑制法(HI)测定血清中对所有的原型病毒株的抗血凝素抗体,以达到完全抑制凝集最高稀释度的倒数表示。同时设有阳性和阴性血清的参考标准。血凝抑制效价  $\geq 40$ , 判为阳性血清;效价  $< 40$ , 为阴性血清<sup>[13]</sup>。

1.3 统计学方法 统计各组小鼠血清阳转率及血凝抑制抗体几何平均滴度(HI GMT)<sup>[3]</sup>。血凝抑制试验实验结果以平均几何滴度  $\pm$  标准差表示。为便于计算,任何 HI  $< 10$  表示为 5<sup>[13]</sup>。运用 SPSS16.0 统计软件对各组试验数据进行 Mann-Whitney test 检验对抗体水平进行显著性检验分析,以  $P < 0.05$  为显著性差异。“\*”表示  $P < 0.05$ ,”\*\*”表示  $P < 0.01$ ,”\*\*\*”表示  $P < 0.001$ 。

## 2 结果

本实验测定动物免疫后血清中抗血凝素抗体滴度,并计算血清阳转率和抗血凝素抗体几何平均滴度。

### 2.1 比较动物接种不同剂量次数、阳转率和抗血凝

素抗体 测定 7 组共 261 份小鼠血清的抗血凝素抗体滴度。

2.1.1 计算各组阳转率:除高剂量组、标准剂量组和 PBS 组的单次注射组外,其余先 A 苗后 B 苗组、先 B 苗后 A 苗组均为两针注射,间隔 7 d,重复 3 次。

表 1 结果显示,高剂量单次免疫组和高剂量 A+B 套苗组免疫动物血清中抗各种血凝素抗体均呈现高的阳转率。高剂量单次免疫组血清中抗各种血凝素抗体的阳转率远高于标准剂量的单次免疫组,A3 型除外。高剂量 A+B 套苗组血清中抗各种血凝素抗体的阳转率与标准剂量 A+B 套苗组阳转率相近似,高剂量 A+B 套苗组血清中抗 B1 型血凝素抗体阳转率远高于标准剂量 A+B 套苗组。无论是高剂量还是标准剂量,两次免疫组阳转率均高于单次免疫组。整体表明,高剂量组血清阳转率优于标准剂量组,两次免疫组优于单次免疫组。

2.1.2 高剂量和标准剂量单次免疫动物后抗血凝素抗体反应:对单次免疫时高剂量与标准剂量组抗血凝素抗体滴度比较显示(表 2),高剂量单次免疫组抗各种血凝素抗体滴度均高于标准剂量单次免疫组,特别是 A1、B1 和 B2( $P < 0.001$ ),PBS 组无抗血凝素抗体产生。

2.1.3 比较 A+B 套苗免疫后动物抗体反应

2.1.3.1 比较标准剂量 A+B 套苗免疫后动物抗体反应:先 A 苗后 B 苗组或先 B 苗 A 苗组,进行两次免疫,间隔 7 d。

表 3 结果显示标准剂量 A+B 套苗无论是先 A 苗后 B 苗组,还是先 B 苗后 A 苗组,各中抗血凝素抗体滴度均高于表 2 中标准剂量单次免疫组。

2.1.3.2 比较高剂量 A+B 套苗免疫动物后抗体反应:无论是高剂量组中(表 2 和表 4)还是在标准

表 1 不同免疫剂量及次数试验阳转率

Tab. 1 Seroconversion rate of the assay of immunization dose and frequency

分组	免疫次数	每针 HA 含量( $\mu\text{g}/\text{鼠}/\text{株}$ )	总 HA 含量	血清阳转率(%)				
				A1	A3	B1	B2	
高剂量	单次(39) <sup>1</sup>	1	18	72	97.44	71.79	69.23	97.44
	先 A 苗后 B 苗(39)	2	18	72	94.87	97.44	94.87	100
	先 B 苗后 A 苗(39)	2	18	72	100	97.44	84.62	100
标准剂量	单次(36)	1	4.5	18	77.78	88.89	8.33	83.33
	先 A 苗后 B 苗(36)	2	4.5	18	94.44	100	72.22	100
	先 B 苗后 A 苗(36)	2	4.5	18	97.22	100	27.78	94.44
对照	PBS(36)	1	0	—	—	±	—	—

注:1: 括号中为动物数

Note: 1. The numbers in the parentheses are the quantity of the animals

剂量组中(表 2 和表 3),在免疫总剂量相同时,A + B 套苗两次免疫的效果优于单次免疫。

**表 2** 单次免疫高剂量组与标准剂量组免疫后抗血凝素抗体滴度比较

**Tab.2** Comparison of the HI titers of one high and standard dose groups

型别	高剂量组	标准剂量组
A1	120.40 ± 149.72(39) <sup>1***</sup>	51.38 ± 58.16(36)
A3	64.63 ± 78.23(39)	47.57 ± 27.88(36)
B1	48.64 ± 65.34(39) <sup>1***</sup>	9.81 ± 10.31(36)
B2	191.12 ± 296.71(39) <sup>1***</sup>	78.47 ± 143.76(36)

注:1:与标准剂量相应组别比较

Note: 1: compared with groups corresponding to standard doses

**表 3** 标准剂量 A + B 套苗两次免疫组抗血凝素抗体滴度比较

**Tab.3** Comparison of the HI titers of standard dose A + B serial vaccine groups

型别	先 A 苗后 B 苗组	先 B 苗后 A 苗组
A1	91.54 ± 118.64(36) <sup>2***</sup>	221.96 ± 268.41(36) <sup>1***.2***</sup>
A3	72.66 ± 74.68(36) <sup>2*</sup>	213.57 ± 200.80(36) <sup>1***.2***</sup>
B1	41.57 ± 54.54(36) <sup>1***.2***</sup>	17.48 ± 28.04(36) <sup>2**</sup>
B2	461.35 ± 559.78(36) <sup>1***.2***</sup>	117.58 ± 495.81(36)

注:1:免疫总剂量相同时,先 A 苗后 B 苗与先 B 苗后 A 苗的比较,2:免疫总剂量相同时,两次免疫组与单次免疫组间的比较

Notes:1. Comparison of HI titers of one A dose first group and one B dose first ones, when the total dose of immunization was same; 2. When the total dose of immunization was the same, the results of immunizing twice were compared with those of immunizing once

表 3 和表 4 中有更令人注意的一致性结果:高剂量 A + B 套苗和标准剂量 A + B 套苗如采取先 A 苗后 B 苗的免疫方式,其抗 B1 和 B2 的血凝素抗体滴度高于先 B 苗后 A 苗组中的抗 B1 和 B2 的血凝素抗体滴度;反之,如采取先 B 苗后 A 苗的免疫方式,其抗 A1 和 A3 型血凝素抗体滴度高于先 A 苗后 B 苗组的抗 A1 和 A3 型血凝素抗体滴度。除高剂量先 A 苗后 B 苗组抗 B1 型血凝素抗体滴度与先 B 苗后 A 苗组抗 B1 型血凝素抗体滴度差异无统计学意义外,其余各组相应型别的抗血凝素抗体滴度差异均有统计学意义( $P < 0.001$ )。

**2.2 高剂量 A + B 套苗免疫两次的时间选择** 为了进一步探究 A + B 套苗两次免疫的间隔时间对抗体产生的影响,设高剂量单次免疫组、先 A 苗后 B 苗组、先 B 苗 A 苗组为实验组,PBS 对照组,试验组动物总数为 15 只,对照组为 5 只,测其单次免疫和间隔 3 d、7 d 和 10 d 两次免疫的小鼠血清中的抗血

凝素抗体滴度和阳转率。

**表 4** 高剂量 A + B 套苗两次免疫组抗血凝素抗体滴度比较

**Tab.4** Comparison of the HI titers of HD A + B serial vaccine groups

型别	高剂量先 A 苗后 B 苗组	高剂量先 B 苗后 A 苗组
A1	100.79 ± 84.07(39) <sup>2***</sup>	507.97 ± 555.73(39) <sup>1***.3***</sup>
A3	87.43 ± 86.69(39) <sup>2***</sup>	184.45 ± 283.60(39) <sup>3***</sup>
B1	129.27 ± 252.75(39) <sup>1***3***</sup>	78.59 ± 159.65(39) <sup>1***</sup>
B2	724.79 ± 949.36(39) <sup>1*.2***3***</sup>	272.70 ± 535.68(39)

注:1:与标准剂量相应组别比较,2:免疫总剂量相同时,先 A 苗后 B 苗与先 B 苗后 A 苗的比较,3:免疫总剂量相同时,两次免疫组与单次免疫组间的比较

Notes: 1. Compared with groups corresponding to standard dose; 2. When the total dose of immunization was the same, the results of vaccine A (VA) given first, and vaccine B (VB) given the second were compared with those of VB first VA second; 3. When the total dose of immunization was the same, the results of immunization twice were compared with those of immunization once

本次试验高剂量单次免疫组和先 A 苗后 B 苗组、先 B 苗后 A 苗组免疫最终血凝素总含量都为 72 μg。

从表 5 可见,当先接种 B 苗,隔 7 d 再接种 A 苗时,除对 A3 和 B1 型抗原的血清阳转率为 93.33% 外,其他各组对四型抗原的血清阳转率均为 100%。该结果表明,两次免疫的间隔时间及免疫先后顺序对 A + B 套苗血清阳转率的影响没有显著差异。

**表 5** 高剂量 A + B 套苗两次免疫间隔时间和阳转率

**Tab.5** Seroconversion rate of the immunization intervals of HD A + B serial vaccine

免疫方式	免疫间隔(d)	血清阳转率(%)			
		A1	A3	B1	B2
高剂量单次	—	93.33	26.67	93.33	93.33
先 A 苗后 B 苗	3	93.33	53.33	100	100
	7	93.33	93.33	100	100
	10	93.33	93.33	100	100
	—	—	—	—	—
先 B 苗后 A 苗	3	100	93.33	93.33	93.33
	7	100	93.33	100	100
	10	100	93.33	100	100
PBS	3	—	±	—	—
	7	—	±	—	—
	10	—	±	—	—

两次免疫时间间隔的选择是以抗血凝素抗体滴度的高低来确定最优免疫时间间隔。测定一次高剂量和两次高剂量 A + B 套苗分别间隔 3、7、10 d 的抗血凝素抗体滴度,见表 6。

从表 6 可见,高剂量 A + B 套苗组和高剂量的单次免疫组所使用的血凝素总剂量相同,在高剂量

表 6 高剂量 A + B 套苗免疫间隔时间对动物产生抗血凝素抗体滴度的比较

Tab. 6 The effect of immunization intervals on the immunogenicity of different antigens

免疫方式	免疫间隔 (d)	抗血凝素抗体滴度 (GMT ± SD)			
		A1	A3	B1	B2
高剂量	—	66.50 ± 40.14(15)	25.20 ± 21.71(15)	83.78 ± 73.63(15)	91.90 ± 92.11(15)
先 A 苗后 B 苗	3	60.63 ± 75.01(15)	31.75 ± 37.12(15)	367.58 ± 301.87(15)	531.99 ± 642.47(15) <sup>3***</sup>
	7	100.79 ± 75.67(15) <sup>1*</sup>	60.63 ± 78.73(15) <sup>1*,3***</sup>	335.13 ± 306.08(15) <sup>3***</sup>	442.21 ± 289.89(15) <sup>3***</sup>
	10	139.29 ± 195.79(15) <sup>2*,3*</sup>	57.89 ± 34.20(15) <sup>2**,3***</sup>	367.58 ± 281.49(15) <sup>3***</sup>	531.99 ± 615.73(15) <sup>3***</sup>
先 B 苗后 A 苗	3	367.58 ± 429.40(15) <sup>3***</sup>	115.78 ± 88.31(15) <sup>3***</sup>	133.00 ± 159.61(15) <sup>3***</sup>	133.00 ± 159.73(15)
	7	769.94 ± 566.22(15) <sup>2*,3***</sup>	145.62 ± 318.88(15) <sup>3***</sup>	253.98 ± 164.69(15)	175.49 ± 297.21(15) <sup>3*</sup>
	10	640.00 ± 412.23(15) <sup>2***</sup>	192.48 ± 180.39(15) <sup>2*,3***</sup>	278.58 ± 225.872 <sup>*,3***</sup>	201.59 ± 181.09(15) <sup>3**</sup>
PBS	3	— (15)	± (15)	— (15)	— (15)
	7	— (15)	± (15)	— (15)	— (15)
	10	— (15)	± (15)	— (15)	— (15)

注:1:间隔 3 d 与 7d 对比差异显著性分析,2:间隔 3 d 与 10 d 对比差异显著性分析,3:各间隔组与单次免疫组间差异显著性分析

Notes: 1. Significance analysis of the difference between the 3-day interval and 7-day interval; 2. Significance analysis of the difference between the 3-day interval and 10-day interval; 3. Significance analysis of the difference between regimens with intervals and the single immunization

A + B 套苗组,两次免疫间隔 3、7、10 d 的动物血清抗血凝素抗体滴度高于高剂量单次免疫。高剂量 A + B 套苗 7 d 和 10 d 组的各项抗血凝素抗体滴度均高于 3 d 组。同时再次证实,与表 2 和表 3 中的结果一致。先 A 苗后 B 苗组中,抗 B 型血凝素抗体滴度增加显著;先 B 苗后 A 苗组中,抗 A 型血凝素抗体滴度明显增加,  $P < 0.001$ 。

### 3 讨论

每年都有 A 型和 B 型流感病毒引起的季节性流感,特别是老年人群易受流感病毒感染,造成高发病率和病死率。流感疫苗是预防季节性流感的最佳手段,但是我国老年人群接种疫苗的比例不足仅 5%。因为老年人免疫力低下、免疫反应较差<sup>[15]</sup>,传统的标准流感疫苗对老年人群的保护力不够,并随着年龄增加而下降。因此需要研制更有效的疫苗。有临床研究证明,提高疫苗中流感血凝素含量的高剂量疫苗可在老年人群中诱导比标准剂量疫苗更高的免疫反应<sup>[8]</sup>。目前国外没有四价高剂量老年流感疫苗,国内尚无任何老年流感疫苗。

赛诺菲公司进行的高剂量三价流感疫苗 Fluzone 的研究表明<sup>[11,16]</sup>,高剂量 Fluzone 在 65 岁以上老年群体中预防流感时,比标准剂量 Fluzone 更有效,产生的血清抗体滴度显著高于标准剂量 Fluzone,是安全性的。高剂量的三价 Fluzone 疫苗每针剂中每株血凝素含量为 60 μg,总血凝素含量为 180 μg;标准剂量的三价 Fluzone 疫苗每针剂中每株血凝素含量为 15 μg,总血凝素含量为 45 μg。

赛诺菲高剂量三价 Fluzone 疫苗是 2009 年 12 月获得 FDA 批准上市,由 Glaxo Smith Kline 公司生产四价流感疫苗 Fluarix 于 2012 年 7 月 20 日经 FDA 批准上市<sup>[17]</sup>。历经多年,并无高剂量四价流感疫苗出现,其原因可能是,若按高剂量三价流感疫苗的配方,每剂四价高剂量的流感疫苗,每株病毒血凝素含量为 60 μg,其总血凝素含量高达 240 μg。随着血凝素含量的增加可以推测其注射后副反应相应增加。因此,本研究设计老年高剂量四价流感疫苗 A + B 套苗,将疫苗分为 A 苗和 B 苗,分两次免疫,如用于人群免疫,每次总血凝素含量不超过 120 μg,低于高剂量三价疫苗血凝素总量,其注射后免疫反应应随之减少而更安全。当然,对于已有高剂量三价流感疫苗,是否可以通过增加注射一次高剂量另一 B 型血凝素达到加强免疫反应还有待验证,也不失为一种研制老年流感疫苗的新途径。

本试验将四价流感病毒裂解疫苗设计为 A + B 套苗,将 A1 和 A3 型单价原液按要求配制成高剂量和标准剂量的 A 苗,B1 和 B2 型单价原液按要求配制成高剂量和标准剂量的 B 苗。试验结果证明,无论是高剂量 A + B 套苗还是标准剂量 A + B 套苗,先 A 苗后 B 苗或者先 B 苗后 A 苗,两次免疫接种效果显著优于单次免疫。

高剂量 A + B 套苗中高血凝素含量可增加疫苗免疫原性,诱生更高水平的抗血凝素抗体。高剂量的 A + B 套苗如果采用先 A 苗后 B 苗的免疫方式,其抗 B1 和 B2 型的血凝素抗体滴度高于先 B 苗后 A 苗组;反之,如先 B 苗后 A 苗的免疫方式,其抗 A1

和 A3 型的血凝素抗体滴度高于先 A 苗后 B 苗组。同样的结果在标准剂量的 A + B 套苗组等试验中证实。因此,可根据当年对 A 型和 B 型流感病毒流行病学监测,选择或改变使用先 A 苗后 B 苗或者是先 B 苗后 A 苗的免疫顺序,增加疫苗的保护效果。

免疫间隔时间试验结果则再次证明了高剂量 A + B 套苗相对于高剂量单次免疫疫苗在免疫原性方面的显著优越性,间隔 7 d 和 10 d 的免疫反应优于间隔 3 d,原因是流感病毒 A 型和 B 型抗原间存在共同抗原<sup>[18]</sup>,在第 2 次免疫对共同抗原产生更高的免疫应答,提供第 2 次免疫时间可灵活选择 7 ~ 10 d。

本研究研发高剂量四价流感 A + B 套苗,为免疫力低下、对高剂量疫苗的副反应耐受性差的高危老年人群提供一种安全有效、新型老年流感疫苗和免疫模式。

利益冲突 无

#### 参考文献

- [ 1 ] Shortridge KF. Severe acute respiratory syndrome and influenza: virus incursions from southern China[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 168 ( 12 ): 1416-1420. DOI: 10. 1164/ajrccm. 2310005.
- [ 2 ] Viboud C, Alonso WJ, Simonsen L. Influenza in tropical regions [J]. *PLoS Med*, 2006, 3 ( 4 ): e89. DOI: 10. 1371/journal. pmed. 0030089.
- [ 3 ] 吴双胜,王全意,杨鹏,等.北京市居民流感样症状发生情况及相关的健康行为因素分析[J]. *中华预防医学杂志*, 2018, 52 ( 2 ): 145-150. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253. 9624. 2018. 02. 006.
- [ 4 ] Webster RG. Predictions for future human influenza pandemics [J]. *J Infect Dis*, 1997, 176 ( Supplement\_1 ): S14-S19. DOI: 10. 1086/514168.
- [ 5 ] Huang P, Ni H, Shen G, et al. Analysis of the 1991-2000 influenza epidemic in Guangdong Province, China [J]. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2001, 32 ( 4 ): 787-790.
- [ 6 ] Nicholson KG, Wood JM, Zambon M. Influenza [J]. *Lancet*, 2003, 362 ( 9397 ): 1733-1745. DOI: 10. 1016/S0140-6736 ( 03 ) 14854-4.
- [ 7 ] He J, Gu D, Wu X, et al. Major causes of death among men and women in China [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353 ( 11 ): 1124-1134. DOI: 10. 1056/NEJMsa050467.
- [ 8 ] Van Buynder PG, Konrad S, Van Buynder JL, et al. The comparative effectiveness of adjuvanted and unadjuvanted trivalent inactivated influenza vaccine (TIV) in the elderly [J]. *Vaccine*, 2013, 31 ( 51 ): 6122-6128.
- [ 9 ] Jianping H, Xin F, Changshun L, et al. Assessment of effectiveness of Vaxigrip [J]. *Vaccine*, 1999, 17 ( Supplement 1 ): S57-S58.
- [ 10 ] Podda A. The adjuvanted influenza vaccines with novel adjuvants: experience with the MF59-adjuvanted vaccine [J]. *Vaccine*, 2001, 19 ( 19 ): 2673-2680. DOI: 10. 1016/S0264-410X ( 00 ) 00499-0.
- [ 11 ] Grohskopf L A. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines [J]. *MMWR, Recommendations and Reports*, 2016, 65 ( 5 ): 1-52.
- [ 12 ] 施新猷. 医用实验动物学 [M]. 西安:陕西科学技术出版社, 1989: 417-421.
- [ 13 ] 吴建华,路福平,赵越,等.四价流感病毒裂解灭活疫苗的研制 [J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2015, 29 ( 5 ): 391-395. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1003-9279. 2015. 05. 002.
- [ 14 ] Dunning AJ, DiazGranados CA, Voloshin T, et al. Correlates of protection against influenza in the elderly: results from an influenza vaccine efficacy trial [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2016, 23 ( 3 ): 228-235. DOI: 10. 1128/CVI. 00604-15.
- [ 15 ] Tsai TF. Flud® -MF59® -adjuvanted influenza vaccine in older adults [J]. *Infect Chemother*, 2013, 45 ( 2 ): 159-174. DOI: 10. 3947/ic. 2013. 45. 2. 159.
- [ 16 ] Falsey AR, Treanor JJ, Tornieporth N, et al. Randomized, double-blind controlled phase 3 trial comparing the immunogenicity of high-dose and standard-dose influenza vaccine in adults 65 years of age and older [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200 ( 2 ): 172-180. DOI: 10. 1086/599790.
- [ 17 ] 吴建华,赵越.四价流感疫苗预防季节性流感的研究 [J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2013, 27 ( 4 ): 319-320. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1003-9279. 2013. 04. 026.
- [ 18 ] Terajima M, Babon JA, Co MD, et al. Cross-reactive human B cell and T cell epitopes between influenza A and B viruses [J]. *Virol J*, 2013, 10 ( 1 ): 1-10. DOI: 10. 1186/1743-422X-10-244.

(收稿日期:2018-05-30)

(本文编辑:唐浏英)



知网查重限时 **7折** 最高可优惠 **120元**

本科定稿，硕博定稿，查重结果与学校一致

立即检测

免费论文查重: <http://www.paperyy.com>

3亿免费文献下载: <http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重: [http://www.paperyy.com/reduce\\_repetition](http://www.paperyy.com/reduce_repetition)

PPT免费模版下载: <http://ppt.ixueshu.com>

---