

麻疹疫苗的研究进展

(文献综述)

传染病学教研组 何南祥

麻疹是因病毒所致并以侵犯儿童为主的急性呼吸道传染病，它的传染性很强，传染指数高达0.95%以上，且常因并发细菌性或病毒性肺炎而造成较高的病死率⁽¹⁾。此外，据Katz⁽²⁾报告麻疹并发脑炎者达1:1000~4000，其中10~30%可致死亡，40%有精神神经后遗症，因而对儿童的健康威胁很大，可是至今尚无特异疗法。以成人的全血或血清（因其含有麻疹抗体）的被动免疫方法早在1916年由Nicolau提出⁽³⁾，并进一步发展为以人胎盘球蛋白或丙种球蛋白预防，但其有效时间一般只能维持5~6周左右，且胎盘球蛋白来源有一定限制，故不能作为全面推广及根本预防麻疹之方法，而其人工自动免疫方法的探索首先需要解决其病原分离与繁殖的问题。

1911年Anderson及Goldberger首先将麻疹病人的鼻咽过滤液及血液注射猴子得病而证实其为病毒性疾病⁽³⁾，其后很多学者利用各种病毒学方法来分离与培养麻疹病毒：（一）动物接种：除猴子属敏感者外（但最近发现实验室饲养过的猴子，可能有过麻疹隐性感染⁽⁴⁾），其它如小白鼠、小猫、小猪及小犬等虽有一些阳性症状，但均缺乏恒定可靠的感染症状^(5,6)，故均欠理想。（二）鸡胚接种：1935年Torris，1939年Rake及Shaffer等试图培养于鸡胚羊腔、尿膜、尿腔。1940年O'neil曾报告以适应于鸡胚的“麻疹病毒”接种于36名儿童，其中有4例得轻型麻疹，但当时对鸡胚中有无麻疹病毒繁殖缺乏明确指标，其结果不够可靠，因而难以进一步研究⁽⁶⁾。（三）组织培养接种：1938年Plotz⁽⁶⁾曾以鸡胚细胞分离麻疹病毒而未获肯定结果。综上所述，由于麻疹病毒在实验室内感染缺乏明确指标，故分离工作迟迟不前，更谈不上疫苗的研究了。

1954年Enders及Peebles^(6,7)首先应用人胚肾细胞培养麻疹病毒获得成功，他们在这种感染的细胞上发现多核融合巨细胞并有浆内及核内嗜伊红包涵体的形成，这种特异性的细胞病变可被麻疹病人恢复期血清所抑制。我国于1958年首先由汤飞凡分离得麻疹病毒⁽⁸⁾。该病毒的分离对配合临床诊断来说虽不如其它疾病那样起着多大的作用，但对于麻疹的发病机制，免疫情况则有了进一步的了解，尤其自1959~1960年以后在麻疹疫苗方面能取得如此迅速的进展则起着决定性的作用。本文就麻疹疫苗研究的进展情况作一综述。

就现有麻疹疫苗的性质而言，则有减毒活疫苗与灭活（死）疫苗二种，前者免疫效果是可靠的，但尚存在一定的致病性，尤其在发热反应方面，为了减低活疫苗的致病性，国内外作者曾经提出三条不同的研究途径⁽⁹⁾：（一）寻求进一步减毒而仍然有足够免疫力的疫苗株。（二）先注射灭活疫苗作为基础免疫，再接种活疫苗。（三）被动自动免疫法。在接种麻疹活疫苗（自动免疫）的同时，注射适量的丙种球蛋白或胎盘球蛋白（被动免疫），或选择母体的被动抗体尚未完全消失的婴儿作为接种对象。现分述如下：

一、减毒活疫苗的研究：从麻疹的发病机制（病毒自呼吸道→内脏→皮肤及粘膜）、流行病学特点（呼吸道传播，传染力很强）及病后有持久免疫力等方面来说，它和天花很类似，在琴纳1871年以牛痘预防天花获得成功的实践及理论指导下，认为单独应用灭活疫苗是不能使机体获得稳固的抗麻疹病毒的免疫力的⁽¹⁰⁾，所以多从事于减毒活疫苗的研究，即企图通过实验室研究与临床上试用寻找出致病力很轻或甚至消失而仍然有足够免疫力的麻疹疫苗株。

至今国内外研究较多的疫苗株是Enders于1954年分离的Edmonston（简称Ed）株^(9,11)和1958年Smorodintsev分离的列宁格勒₄（简称列₄）株^(9,11)，这二株的分离及传代情况大致相似，即先由人胚肾细胞分离并传24~26代，再经过人羊膜细胞传28~35代，最后适应于鸡胚细胞，主要的区别是Ed株在人羊膜与鸡胚细胞之间，还会通过鸡胚6代⁽⁹⁾。1960年Enders⁽¹²⁾，Katz⁽²⁾及Smorodintsev⁽¹³⁾分别报告上述二株经鸡胚细胞传9~15代左右制成的活疫苗，证明它们可使接种儿的抗体阳转率达81.2~96.5%，免疫效果是可靠的，临床反应如卡他症、费科氏斑、皮疹及中毒症状等致病力方面均较自然麻疹显著减轻，但仍有77~83%的接种儿有发热反应，且其中21~31.8%有高热，因而尚不理想而限制了疫苗的推广，故继续再通过下述的鸡胚或组织培养传代以期获得进一步的减毒株：（1）通过鸡胚传代，如Enders将上述Ed株（称疫苗A）再传鸡胚制成的疫苗B，但反应未见减轻⁽¹²⁾，而朱旣明报告将列₄株自人羊膜细胞传鸡胚20~24代后，高热反应降低至3.7~8.3%，抗体阳转率仍为100%，但抗体产生水平亦平行地下降⁽⁹⁾。由于鸡胚中非特异性蛋白含量较高，考虑到以

此来制备疫苗有其缺点。(2)通过組織培养传代,如 Mc Crumb⁽¹⁴⁾以 Ed 株在鸡胚中传22代再在犬腎細胞传3~15代, Smorodintsev⁽¹⁵⁾将列₄株再在豚鼠腎細胞上传代,国内首由黃禎祥(1961年)⁽¹⁶⁾,继由余鼎新、张菁⁽¹⁷⁾、顾又芬及朱既明等⁽¹⁸⁾将列₄株經人羊膜細胞传37~69代制成疫苗,均未获得进一步明显减毒的效果,且由这些細胞制成的活疫苗,不能完全排除細胞本身携带病毒的可能⁽¹⁹⁾,故目前在研究减毒活疫苗中比較集中的方向是将麻疹毒株在鸡胚細胞上适应并繼續传代,或并改变其培养时的温度、接种浓度和传代速度等^(9,20),但各家就此法所得的减毒結果亦不很一致,如 Goffe⁽²¹⁾将 Ed 株再在鸡胚細胞上传至53代,仍有較强的发热反应,而 Schwarz⁽²²⁾等将 Ed 株传至90代,则高热率減至5.7%,抗体阳轉率达97.1%,示其通过鸡胚細胞經如此长期的传代,才有获得进一步减毒的可能。顾又芬及朱既明⁽¹⁸⁾报告列₁株由人羊膜細胞传入鸡胚細胞8~11代制成疫苗,高热率仅15.1%,抗体阳轉率97%。上海生物制品所⁽²⁰⁾在上海分离之沪191麻疹毒株,經人胚腎細胞传33代,人羊膜細胞39代并适应于鸡胚細胞后制成疫苗,当其在鸡胚細胞传至7代时高热反应达60.9%,而当在鸡胚細胞传至13代时,致病性大为減低,但免疫原性也相应地大大丧失,因其接种后抗体阳轉率仅及其传7代疫苗的1/6~1/10。以上情况說明上述毒株通过鸡胚細胞传代虽有进一步减毒的作用,但各毒株甚至是同一毒株經各作者試用結果,在致病性及免疫性反应上亦不很一致,其原因可能是由于各作者所用的毒株、传代历史及传代方法等有所不同,更重要的是沒有真正掌握其减毒的規律,所以即使某疫苗株在鸡胚細胞传一定代数时尚能符合要求,但以后制成的疫苗是否能一直稳定不变,看来尙有待进行更多的工作。此外,在实际工作中亦存在一些困难,如目前对測定麻疹强毒株与弱毒株在毒力与免疫效果方面,除只有通过小儿接种以外,实验室内尙无可靠标志,又如缺乏更多不同毒力的毒株系来进行比較观察⁽⁹⁾,以上这些問題的闡明与解决对获得理想的活疫苗株是有着重大意义的。我組将麻疹毒株杭M13經人胚腎細胞分离并传18~20代后适应于鸡胚細胞⁽²³⁾,拟在临床应用中作一系列的观察研究。

从已有活疫苗的接种途径来看,經口服者証明无效,滴鼻、滴眼或皮肤划痕者成功率很低^(17,24),而以皮內及皮下注射效果最好⁽²⁵⁾,由于皮下注射对小儿較为容易而可靠,故多采用此一途径。

活疫苗的免疫剂量,一般以采用10~100 TCID₅₀/0.1毫升較为合适,在有效免疫剂量范围内,不論接种剂量大小,其临床反应、抗体水平和預防效果都无明显差別^(16,18)。最小有效剂量似因所用毒株的毒力强弱不同而有差異,如黃禎祥用列₄株人羊膜疫苗,认为0.6 TCID₅₀仍可引起感染⁽¹⁶⁾,而顾又芬等以列₄株經人羊膜細胞传鸡胚16代后,接种0.58TCID₅₀可引起有效免疫,而当人羊膜細胞传

入鸡胚細胞11代的疫苗,接种3.6 TCID₅₀后多数免疫失敗,仅少数表现为隱性感染,因而推測不同毒力水平的毒种的剂量效应可能是不同的,疫苗株的毒力愈弱,則发生隱性感染机会愈多,有效的感染剂量需要也愈大,因此在应用高度减毒的毒种时,应特別注意研究其有效免疫剂量⁽¹⁸⁾。

减毒活疫苗的免疫效果,从接种后的血清抗体反应及流行病学观察結果証明是可靠的,上面已有所提及,茲补充如下:(一)血清抗体反应:測定的方法有中和、补結及血抑試驗三种,其中以血抑試驗較为敏感而簡便^(18,20,26),故多采用之。接种疫苗后有临床反应者均屬抗体阳轉,接种后无临床反应者,可无抗体产生而示免疫失敗,但高度减毒株則可引致34.4%或更高的隱性感染率⁽¹⁸⁾。免疫后的抗体动态变化,据Katz⁽²⁷⁾与余鼎新⁽¹⁷⁾、顾又芬⁽¹⁸⁾等报告結果基本一致,即抗体滴度以接种后1月最高,2~3月后略下降,6月后显著下降,以后直至12~14个月基本上維持平稳。Katz报告中抗体在6~12月后較最高时下降4倍,如此可稳定3年,与自然麻疹感染同。据Stokes⁽²⁸⁾估計凡能測出抗体者,示其已有过感染,即可保护其不得病。再据余鼎新等报告,第一次免疫成功者,于1~2年后沒有再次接种或加强免疫的必要,抗体亦并不因此而上升,此与自然麻疹后再种疫苗并不刺激抗体上升的情况相同。根据以上情况,多数学者推論接种后即使产生的是低滴度的抗体,仍可能长期存在而获永久免疫^(18,28)。(二)流行病学观察:免疫成功者在2~21月內再与自然麻疹者相接触并不发病,示其效果可靠^(13,18)。此外,麻疹活疫苗的另一特点是接种者在感染期并不傳染給周围易感儿而发病,或发生隱性感染,认为系麻疹病毒經过实验室传代减毒后对呼吸道嗜性显著減低或甚至消失⁽¹³⁾,这与口服脊髓灰質炎减毒活疫苗后可自腸道大量排出病毒而傳染給周围儿童者有別。

疫苗有效保存期及保存方法的研究亦具实用价值,尤当一旦可以大量推广时更感需要,有关这方面的系統資料較少,朱既明⁽⁹⁾报告保存于4℃較-35℃为佳,而上海生物制品所及我組发现不加人白蛋白保护的鸡胚細胞疫苗保存期間很难超过一月。Goldner⁽²⁹⁾等将其冰冻干燥并貯于4℃至少可保存11月而滴度不变,这当是研究的方向。

二、灭活疫苗的研究:Kempe于1960年曾应用麻疹灭活疫苗,但认为其滴度不高,不易产生抗体而无免疫价值。1962年Feldmann及Warren等⁽³⁰⁾以Ed株用猴腎細胞培养,經离心沉淀濃縮使其滴度提高至10^{4.5~5.5},再以1:4,000福尔馬林經37℃6天灭活后,对易感儿皮下注射三次(于1、7及28天),每次0.1毫升,发现可使中和和抗体阳轉率随逐次注射而增高且无临床反应,于第三次注射后抗体阳轉率可达72%,由这种灭活疫苗产生的血清抗体于6月后在大多数接种者已轉为阴性,但在此基础上,再注射麻疹活疫苗則病毒仍可以繁殖而不发生症状,抗体又轉

阳性或有上升,因而达到完全保护,并认为这种免疫力可能是永久的。此外,作者认为灭活疫苗尚具有下列优点:(1)疫苗较稳定,可长期保持其滴度。(2)可与其它如白喉、百日咳、破伤风或脊髓灰质炎等灭活疫苗合用而不影响其抗体滴度。(3)可与活疫苗并用而代替丙种球蛋白。(4)有利于麻疹流行时接种。至于如何进一步提高其产生抗体的阳转率,则认为可通过病毒的提纯、浓缩或并加佐剂等方法而达到之^(30,31)。黃禎祥等⁽³¹⁾以麻疹M60—5株經人胚腎細胞制成的未經浓缩不加佐剂的灭活疫苗,一次皮下注射18,600~31,600 TCID₅₀,抗体阳转为100%,于2~20周抗体水平无大改变,35~39周才有明显下降。且对11例带有少量麻疹抗体(1:2~1:4)的儿童經此法接种后,抗体上升(1:8~1:16)。以上資料提示以灭活疫苗为基础免疫,来降低或消除现有活疫苗所残存的临床反应,在目前或今后可能仍是麻疹疫苗的重要研究途径之一。

三、被动自动免疫法的研究:

(一)活疫苗合并丙种球蛋白或胎盘球蛋白的应用:Mc Crumb⁽³²⁾以丙种球蛋白(含麻疹中和抗体1:1,280)按儿童体重每磅注射0.02毫升,黃禎祥⁽³³⁾、余鼎新⁽³⁴⁾等以胎盘球蛋白(含中和抗体1:40~1:48)1.5~3毫升与Ed或列4株活疫苗联合应用(疫苗注于一臂皮下,球蛋白注于另一臂或臀部肌内,二者不可混合注于一处,否则疫苗被抗体立即中和而无效),可使高热反应率由单独应用活疫苗的61.5~70%显著减低至6~15.4%,而并不抑制抗体反应,免疫效果可靠。以此法对体弱儿童进行接种亦获良好效果⁽³⁵⁾。苏联Сморденцеб⁽³⁶⁾报告自1961年以来,以列4株减毒活疫苗合并0.5毫升丙种球蛋白接种于1~8岁儿童已达50万名,証明其效果可靠,发热反应较单独接种疫苗組的85%减低至40~60%,其中高热率则可减低2½~3倍。我校儿科学教研組与我組于1962年以列4株合并4.5毫升胎盘球蛋白接种47名儿童,仅2名有短期发热,免疫效果与国内外报导相似⁽³⁷⁾。在疫苗致病性还没有彻底解决以前,与胎盘球蛋白合并应用的免疫方法,可暂时作为預防麻疹的过渡办法。

(二)活疫苗接种于带有母体抗体的嬰兒:Stokes⁽³⁸⁾以Ed株疫苗B对8例6月以下而带有母体抗体的嬰兒进行皮下接种,均无抗体上升,认为系疫苗病毒被少量母体抗体所中和或抑制,因而免疫失败。Reilly⁽³⁹⁾对5月以下嬰兒加大免疫剂量仍未获成功。余鼎新等⁽⁴⁰⁾以列4株人羊膜細胞疫苗对2~3月嬰兒行皮下接种,当剂量加大至1,500TCID₅₀时则8例中有3例成功,接种剂量小于1,000TCID₅₀时,8例均告失败,而对60例4~5月嬰兒以316~1,500 TCID₅₀接种时则有2/3获得成功。黃禎祥等⁽⁴¹⁾将M60—5株的人胚腎細胞疫苗选择3½~6½月嬰兒并有低滴度血抑抗体(1:1~1:2)者行皮内接种1,000~3,000 TCID₅₀,则于1~2月内抗体上

升至1:8~1:16,并认为皮内接种可能减少被动抗体对病毒的影响。此外,又对24例抗体滴度在1:8的嬰兒将接种剂量加大至10,000TCID₅₀,免疫后抗体增至1:8~1:16,且均无临床反应。文献中这些不很一致的结果究系由于这个时期的嬰兒中枢神经系统发育未臻完善,对抗原刺激反应机能较差,抑或由于接种剂量不够大或接种途径不合适,致不能战胜母体抗体之阻抑,則有待更多資料闡明之。

綜上所述,麻疹疫苗研究工作的迅速开展已为此病的彻底預防开辟了光明的前景。国内很多病毒工作者在党的领导下,在这方面亦作出了很大的贡献。然而就获得一种安全有效的麻疹疫苗来说,目前尚需要进行大量细致的工作,可能将不是为期太远了。

本文承王季午副校长指正,謹致謝忱。

参 考 文 献

- (1) 王季午主編: 传染病学, 第102頁, 人民卫生出版社, 北京, 1964.
- (2) Katz, S. F. et al.: General summary and evaluation of the results of vaccination, New Engl. J. Med. 263:180, 1960.
- (3) Rivers, T. M. et al.: Viral and Rickettsial infections of man, 3rd. ed., pp. 471~476, Lippincott, Philadelphia, 1959.
- (4) Gisella Ruckle-Enders: Comparative studies of monkey and human measles virus strains, Amer. J. Dis. Child. 103:297, 1962.
- (5) 余鼎主編: 医学微生物学, 第486頁, 人民卫生出版社, 北京, 1963.
- (6) Enders, J. F.: Measles virus, Historical review, Isolation and behavior in various Systems, Amer. J. Dis. Child. 103:112, 1962.
- (7) Enders, J. F. et al: Propagation in tissue culture of cytopathogenic agents from patients with measles, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86:277, 1954.
- (8) 湯飞凡等: 麻疹病原学的研究, I. 病毒分离, 中华医学杂志 44:729, 1958.
- (9) 朱既明等: 进一步减毒的麻疹活疫苗的研究, 一. 在人羊膜細胞, 鸡胚和鸡胚細胞中传代的麻疹病毒的某些性状和减毒过程的观察, 中华医学杂志 50:7, 1964.
- (10) Smorodintsev, A. A.: New data on live vaccines against poliomyelitis, mumps and measles, Progress in Medical Virology 3:245, 1961.
- (11) Enders, J. F., et al: Development of attenuated measles-virus vaccine, a summary of recent investigation, Amer. J. Dis. Child. 103:335, 1962.

- (12) Enders, J. F., et al., Studies on an attenuated measles virus vaccine, I. Development preparation of the vaccine; Technics for assay of effects of vaccination, New Engl. J. Med. 263: 153, 1960.
- (13) Smorodintsev, A. A. et al., Clinical and immunological response to live tissue culture vaccine against measles, Acta virologica, 4: 201, 1960.
- (14) Mc Crumb, F. R., et al.: Studies with live attenuated measles-virus vaccine: I. Clinical and immunologic responses in institutionalized Children, Amer. J. Dis. Child. 101: 689, 1961.
- (15) Smorodintsev, A. A., et al.: Further experiences with live measles vaccines in U. S. S. R. Amer. J. Dis. Child. 103: 384, 1962.
- (16) 黃禎祥等: 麻疹滅毒活疫苗的研究, I. 不同代数及不同剂量的人羊膜細胞滅毒活疫苗的致病性及免疫性, 中华医学杂志 47: 341, 1961.
- (17) 余鼎新等: 麻疹弱毒活疫苗 (組織細胞培养) 的研究, I. 临床、血清学和流行病学效果的初步观察, 中华医学杂志 48: 207, 1962.
- (18) 顧又芬等: 进一步滅毒的麻疹活疫苗的研究, 二, 各系毒种的临床和免疫学评价以及影响临床反应和免疫性的某些因素的探討, 中华医学杂志 50: 69, 1964.
- (19) 麻疹流感疫苗研究工作座談会 (1961 年), 医学科学参考資料, 1962 年第 3 期.
- (20) 麻疹疫苗及麻疹病毒研究經驗交流会 (1963 年), 医学科学参考資料, 1964 年第 6 期.
- (21) Goffe, A. P., et al.: Vaccination against measles, I. Preparation and testing for vaccine consisting of living attenuated virus, Brit. Med. g. 2: 1244, 1961.
- (22) Schwarz, A. J. P.: Preliminary tests of a highly attenuated measles virus, Amer. J. Dis. Child. 103: 386, 1962.
- (23) 浙江医科大学传染病学教研组: 麻疹病毒杭 M13 在鸡胚細胞上之适应过程, 待发表.
- (24) Black, F. L., et al., Studies on an attenuated measles virus vaccine. IV. Administration of vaccine by several routes, New Engl. J. Med. 263: 165, 1960.
- (25) Kempe, C. H., et al.: Studies on an attenuated measles virus vaccine, III. Clinical and antigenic effects of vaccine in institutionalized Children, New Engl. J. Med. 263: 162, 1960.
- (26) Cutchins, E. C.: A comparison of the hemagglutination-inhibition, neutralization and complement fixation tests in the assay of antibody to measles J. Immunol. 88: 788, 1962.
- (27) Katz, S. L., et al.: Studies on an attenuated measles virus vaccine, II. Clinical virologic and immunologic effects of vaccine in institutionized children, New Eng. J. Med. 263: 159, 1960.
- (28) Stokes, J., Jr., et al.: Efficacy of live, attenuated measles-virus vaccine given with human immune globulin: A preliminary report, New Engl. J. Med. 265: 507, 1961.
- (29) Goldner, H., et al.: Infectivity stability of live measles virus vaccine, Amer. J. Dis. Child. 103: 440, 1962.
- (30) Feldmenn, H. A., et al.: Inactivated measles virus vaccine, II. Prevention of natural and experimental measles, J. A. M. A. 179: 391, 1962.
- (31) 黃禎祥等: 麻疹灭活疫苗一次免疫后的效果观察, 微生物学报 10: 350, 1964.
- (32) Mc Crumb, F. R., et al.: Studies with live attenuated measles-virus vaccine, III. Development of a practical method for large-scale immunization, Amer. J. Dis. child. 101: 708, 1961.
- (33) 黃禎祥等: 麻疹滅毒活疫苗的研究, II. 胎盤球蛋白对人羊膜細胞滅毒活疫苗的致病性及免疫性的影响, 中华医学杂志 47: 346, 1961.
- (34) 余鼎新等: 麻疹弱毒活疫苗 (組織細胞培养) 的研究: II. 減低疫苗致病性 (发热反应) 方法的探索, 中华医学杂志 48: 213, 1962.
- (35) 余鼎新等: 麻疹弱毒活疫苗 (組織細胞培养) 的研究, IV. 体弱易感儿的免疫接种, 中华儿科杂志 5: 337, 1962.
- (36) Смороди́нцев, А. А., и др.: Живая вакцина против кори, вопросы охраны материнства и детства.
- (37) 历磊华等: 麻疹滅毒活疫苗合并胎盤球蛋白預防接种效果观察, 浙医学报 4: 11, 1964.
- (38) Stokes, J., et al.: Use of living attenuated measles virus vaccine in early infancy, New Engl. J. Med. 263: 230, 1960.
- (39) Reilly, C. M., et al: Living attenuated measles-virus vaccine in early infancy, studies of the role of passive antibody in immunization, New Engl. J. Med. 265: 165, 1961.
- (40) 余鼎新等: 麻疹弱毒活疫苗 (組織細胞培养) 的研究, III. 嬰兒期自动免疫的探索, 中华医学杂志 48: 218, 1962.
- (41) 黃禎祥等: 被动免疫对活病毒自动免疫的影响, 中华医学杂志 50: 449, 1964.