

MF59-佐剂流感亚单位疫苗在中国老年人中的免疫原性和安全性研究

李荣成 方捍华 李艳萍 刘幼平 农艺 黄贵彪

【摘要】 目的 比较 MF59-佐剂流感亚单位疫苗与传统的非佐剂流感亚单位疫苗在老年人中的安全性和免疫原性。方法 采用随机、研究者设盲的对照研究,按照2:1的比例分别给予 600 名 60 岁以上老年人接种 MF-59 佐剂流感亚单位疫苗(复立达™,简称佐剂流感疫苗)和传统的非佐剂流感亚单位疫苗(爱阁力保®,简称传统亚单位疫苗),观察接种日和接种后 7 天内的局部反应和全身反应;使用血凝抑制试验检测接种老年人免疫前后的血凝抑制抗体(HI)滴度,计算基线无免疫保护状态受试者的抗体 4 倍增长阳转率、免疫后 HI 抗体达到保护水平($\geq 1:40$)的保护率以及抗体 GMT 值和增长倍数。比较两者在安全性和免疫原性的差异。结果 两组疫苗的局部反应和全身反应相似,但传统亚单位疫苗组($n=200$)中注射部位的硬结相对常见($P<0.05$),而佐剂流感疫苗组($n=400$)中注射部位轻度疼痛和发热则相对较常见。对于基线无免疫保护状态的受试者,免疫后针对 A/H3N2 病毒株的抗体阳转率,佐剂流感疫苗组显著高于传统亚单位疫苗组($P<0.001$);除 A/H1N1 病毒株外,与基线相比,两组疫苗的保护率均有显著提高,但针对 A/H3N2 病毒株的保护率方面,佐剂流感疫苗显著高于传统亚单位疫苗($P<0.001$);两组疫苗接种后的 GMT 均比基线明显增加($P<0.001$),但佐剂流感疫苗组明显高于传统亚单位疫苗组。结论 中国老年人对佐剂流感疫苗耐受性良好,佐剂流感疫苗诱导的免疫原性水平比传统亚单位疫苗高,可使免疫力低下的老年人获益更大。

【关键词】 流感疫苗;免疫原性;安全性;老年人

Study on the safety and immunogenicity of MF59-adjuvanted influenza subunit vaccine in Chinese elderly
LI Rong-cheng*, FANG Han-hua, LI Yan-ping, LIU You-ping, NONG Yi, HUANG Gui-biao.
*Vaccine Clinical Trial Center, Guangxi Zhuang Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention, Nanning 530028, China

【Abstract】 **Objective** To compare the safety and immunogenicity between a MF59-adjuvanted influenza subunit vaccine and a conventional non-adjuvanted influenza subunit vaccine. **Methods** A randomized, blind-designed controlled study was carried out, with 600 subjects (≥ 60 years of age) received MF59-adjuvanted influenza subunit vaccine (FLUAD®, $n=400$) or conventional non-adjuvanted influenza subunit vaccine (Agrippal®, $n=200$) respectively. The local and systemic reactions were observed on 0-7 days after vaccination. Haemagglutination inhibition (HI) titers of pre- and post-vaccination were detected by the HI assay. Seroconversion (4-fold increase) rate of subjects was calculated using baseline data when it was under naive level, and the protection rate when HI titer achieving the level of protection ($\geq 1:40$) after vaccination. Geometric mean titer (GMT) and its increasing folds were calculated. Differences between safety and immunogenicity were also calculated. **Results** The local and systemic reaction rates were similar between both groups, but the duration in injection site was frequent for Agrippal® ($P<0.05$), while mild pain and fever in injection site were frequent for FLUAD®. On immunogenicity test, for those subjects whose baseline was under naive level while the seroconversion rate against A/H3N2 viral strain after vaccination — FLUAD® was significantly higher than Agrippal® ($P<0.001$). Aside from A/H1N1 viral strain, the rate of protection on both groups were significantly higher than those from baseline data, but for A/H3N2 viral strain, FLUAD® was significantly higher than Agrippal® ($P<0.001$). GMT was higher than baseline ($P<0.001$) after both groups being vaccinated but FLUAD® group was significantly higher than Agrippal® group. **Conclusion** FLUAD® was well tolerated by Chinese elderly and its immunogenicity level induced by FLUAD® was higher than that of Agrippal®, showing that it would benefit the elderly with hyp immunity.

【Key words】 Influenza vaccine; Immunogenicity; Safety; Elderly

流感的预防目前尚无特效药物,最有效的手段仍然是接种流感疫苗。我国已经步入老龄化社会,加强老龄人口的健康保障就成为公共卫生工作中的重要一环。由于老年人的免疫反应减弱,患流感及相关并发症的风险增加^[1]。在我国每年报告流感导致的老年人(≥ 65 岁)死亡率上升到227.4/10万,是年龄标准化死亡率(43.9/10万)的5倍^[2]。为了提供适合老年人使用的流感疫苗,诺华公司在灭活的流感亚单位疫苗中加入MF59C.1佐剂,提高了免疫应答,强化了对老年人的临床保护作用。老年人接种MF59-佐剂流感亚单位疫苗(佐剂流感疫苗)后,相对于接种传统非佐剂流感亚单位疫苗(传统亚单位疫苗)^[3,4],能够对流感病毒株产生更宽的保护屏障,并且降低老年人因肺炎、心脑血管疾病而入院治疗的发生率。在我国用于老年人群的佐剂流感疫苗目前正在进口注册审评过程中,在I期安全性评价获得肯定性结果后,于2005年12月开始进行为期1个月的III期临床比较试验,评价佐剂流感疫苗相对于传统亚单位疫苗的安全性和免疫原性。

对象与方法

1. 受试者:以知情同意自愿参加为原则,选择60岁及以上年龄的常住健康人群600名,要求受试者近期无流感病毒感染史、无流感疫苗接种史及接种禁忌证。受试者以2:1的比例随机分配接种佐剂流感疫苗($n=400$)和传统亚单位疫苗($n=200$)。因本试验的佐剂流感疫苗和传统亚单位疫苗在外包装、注射液颜色等方面存在明显差异,无法做到双盲,故采用盲观察者而不盲受试者和接种人员的盲法设计。

2. 疫苗:佐剂流感疫苗(复立达TM)诺华疫苗公司(原凯荣公司)生产,规格为0.5 ml/支,批号:056705A;传统亚单位疫苗(爱阁力保[®])诺华疫苗公司(原凯荣公司)生产,规格为0.5 ml/支,批号:056904。两种疫苗均为中国药品生物制品检定所检定合格的产品。

3. 疫苗接种:使用75%乙醇消毒符合入选条件的受试者的上臂外侧三角肌附近处皮肤,待皮肤微干后肌肉注射佐剂流感疫苗或传统亚单位疫苗0.5 ml,共接种1剂。

4. 不良反应观察和判断标准:在接种后30 min内由研究人员根据《预防接种后异常反应和事故的处理试行办法》和《预防接种手册》(连文远主编,

1997年版)对每位受试者进行系统的观察和检查,记录30 min内局部和全身接种反应的症状和体征。从接种疫苗后第6小时起至第7天止,受试者通过填写日记卡记录疫苗接种后的不良反应情况。参照国家食品药品监督管理局颁布的《预防用疫苗临床试验不良反应分级标准指导原则》进行评定。

5. 免疫原性观察:每名受试者在疫苗接种前、接种后第22天分别采集受试者静脉血3.0 ml,血样在室温下放置至少1 h,然后在2~8℃下放置至少30 min,以使血样完全凝结,再在1600 r/min下离心10 min,分离出血清,无菌分成2份于-20℃以下保存。采用微量血凝抑制(HI)试验,检测病毒株(A/H1N1、A/H3N2以及B)的HI抗体滴度。检测流感病毒用血凝素抗原和免疫血清,均从英国NIBSC索取。根据血清HI抗体滴度测定结果,以 $< 1:40$ 为无免疫保护水平,以 $\geq 1:40$ 为具有免疫保护水平的阳性界值,评价以下三项指标:①对于基线无免疫保护状态的受试者,统计免疫前后(即在试验第1天和第22天)血清HI抗体滴度 ≥ 4 倍增长的阳转人数,计算疫苗的阳转率;②统计疫苗免疫后HI抗体滴度达到保护水平阳性界值 $\geq 1:40$ 的人数,计算疫苗的保护率;③统计疫苗免疫前后血清HI抗体GMT的增长倍数。

6. 统计学分析:采用SAS V8.2软件进行数据分析,应用成对 t 检验计算疫苗组之间基线特征数据的统计学差异,以协方差分析(χ^2 检验或者Fisher's精确概率检验)进行安全性和免疫原性的数据分析, $P < 0.05$ 时被认为差异具有统计学意义。

结 果

600名受试者中完成安全性评价共计589名,其中佐剂流感疫苗组391名,传统亚单位疫苗组198名;完成免疫原性评价共计554名,其中佐剂流感疫苗组367名,传统亚单位疫苗组187名。中止/退出的受试者共计46名,其中佐剂流感疫苗组有33名,传统亚单位疫苗组有13名,退出的主要原因是拒绝继续参加研究(42名)、改变住所或由于太忙不能接受随访(4名)。

1. 疫苗的安全性:佐剂流感疫苗组和传统亚单位疫苗组全身反应的发生率分别为10.7%和9.6%,组间差异无统计学意义($P=0.666$);但佐剂流感疫苗组的局部反应发生率(24.0%)明显高于传统亚单位疫苗组(15.2%), $P=0.012$ 。其中,传统亚单位

疫苗组中注射部位的硬结发生率(2.5%)比佐剂流感疫苗组(0.5%)更高($P < 0.05$),但轻度疼痛和发热症状比佐剂流感疫苗组低(分别为10.2%对比3.0%和15.9%对比7.6%, $P \leq 0.005$)(表1)。两组在局部反应和全身反应的严重程度无差异,总体上为轻度或中度反应,且属于一过性。虽然佐剂流感疫苗组比传统亚单位疫苗组局部反应发生率稍高一些,但反应的严重程度类似,除发热、硬结和疼痛方面存在差异外,其他均无差异,且受试者均可耐受。表明其在提高免疫原性的基础上,仍有较好的安全性。

表1 佐剂流感疫苗组和传统亚单位疫苗组报告的局部和全身反应的发生率

疫苗接种反应	佐剂流感疫苗	传统亚单位疫苗
局部		
皮疹	0.0(0)	0.5(1)
红斑	1.5(6)	1.5(3)
硬结	0.5(2)	2.5(5) ^b
肿胀	2.8(11)	1.0(2)
疼痛	10.2(40) ^a	3.0(6)
瘙痒	1.3(5)	3.0(6)
全身		
头痛	3.6(14)	2.5(5)
发热	15.9(62) ^a	7.6(15)
疲劳	3.3(13)	1.0(2)
腹泻	0.8(3)	2.0(4)
呕吐	1.0(4)	1.0(2)
肌痛	1.8(7)	0.5(1)
咳嗽	2.0(8)	2.0(4)
咽痛	1.5(6)	1.0(2)
流涕	1.0(4)	1.0(2)
皮肤病(如湿疹)	0.0(0)	1.0(2)
过敏	0.0(0)	0.5(1)

注:括号外数据为发生率(%),括号内数据为发生事件数;^a $P < 0.005$,与佐剂流感疫苗组相比; ^b $P < 0.05$,与传统亚单位疫苗组相比

2. 疫苗的血清学效果:对于全部 3 个测试病毒株,两组疫苗接种前的 GMT 均相似;疫苗组之间的基线血清保护率也相似。在接种前,每个队列中有 >97% 的受试者报告了针对 A/H1N1 的血清保护,分别有 >20% 和 >2% 的受试者报告了针对 A/H3N2 和 B 的血清保护(表 2)。

(1)对于基线无免疫保护状态的受试者,疫苗接种后血清 HI 抗体滴度 ≥ 4 倍增长的阳转率:对于基线无免疫保护状态的受试者,免疫后针对 A/H3N2 病毒株的抗体阳转率,佐剂流感疫苗组显著高于传统亚单位疫苗组,针对其他 2 个病毒株的抗体阳转

率均为佐剂疫苗组稍高,但差异无统计学意义(表 3)。说明对于无免疫保护的受试者,佐剂流感疫苗的保护作用会更强。

表2 佐剂流感疫苗和传统亚单位疫苗对于老年人接种前后保护水平 HI 抗体($\geq 1:40$)保护率的比较

组别	HI 抗体($\geq 1:40$)阳性率(%)		保护率(%)
	接种前	接种后	
佐剂流感疫苗 (n = 367)			
A/H1N1	98.4	99.7	99.7
A/H3N2	21.5	88.0 ^a	88.0
B	2.2	35.7	35.7
传统亚单位疫苗 (n = 187)			
A/H1N1	97.3	99.5	99.5
A/H3N2	18.8	72.0	72.0
B	2.2	28.0	28.0

注:^a $P < 0.001$,与传统亚单位疫苗组的受试者相比

表3 基线无免疫保护状态的受试者疫苗接种后血清 HI 抗体滴度 ≥ 4 倍增长的阳转率

组别	检测人数	阳转率(%)	组别	检测人数	阳转率(%)
佐剂流感疫苗			传统亚单位疫苗		
A/H1N1	6	83.3	A/H1N1	5	80.0
A/H3N2	288	85.1 ^a	A/H3N2	151	66.2
B	359	33.4	B	182	25.8

注:^a $P < 0.001$,与传统亚单位疫苗组的受试者相比

(2)两组疫苗接种后 HI 抗体达到保护水平 $\geq 1:40$ 的保护率:佐剂流感疫苗接种后针对 A/H1N1、A/H3N2 以及 B 病毒株的保护率分别为 99.7%、88.0% 和 35.7%;传统亚单位疫苗接种后针对 A/H1N1、A/H3N2 以及 B 病毒株的保护率分别为 99.5%、72.0% 和 28.0%。除 A/H1N1 病毒株外,与基线相比,两组疫苗的保护率均有显著提高;其中,针对 A/H3N2 病毒株的保护率方面,佐剂流感疫苗显著高于传统亚单位疫苗($P < 0.001$)(表 3)。

(3)两组疫苗免疫前后 HI 抗体 GMT 增长倍数:两组疫苗接种后,均报告明显高于基线的 GMT ($P < 0.001$),说明两组疫苗使用后抗体数量都得到了增长;但是,佐剂流感疫苗组中针对 A/H1N1、A/H3N2 和 B 病毒株接种后的 GMT 明显高于传统亚单位疫苗组(A/H1N1: 1439.01 对比 1196.96, $P = 0.037$; A/H3N2: 274.61 对比 109.00, $P < 0.001$; B: 16.59 对比 11.83, $P = 0.004$),表明佐剂流感疫苗比传统亚单位疫苗显著提高受试者的免疫原性水平(表 4)。

表4 免疫接种后针对不同流感病毒类型两组 GMT(1:) 的比较

病毒株种类	A/H1N1				A/H3N2				B			
	HI 抗体		抗体增长 倍数	组内 P 值	HI 抗体		抗体增长 倍数	组内 P 值	HI 抗体		抗体增长 倍数	组内 P 值
	接种前	接种后			接种前	接种后			接种前	接种后		
佐剂流感疫苗 (n=367)	514.08	1439.01	2.80	<0.001	10.23	274.61	26.80	<0.001	3.63	16.59	4.57	<0.001
传统亚单位疫苗 (n=187)	533.18	1196.96	2.24	<0.001	9.49	109.00	11.50	<0.001	3.59	11.83	3.30	<0.001
组间 P 值	0.037				<0.001				0.004			

讨 论

本研究表明,佐剂流感疫苗在我国老年人中的耐受性与传统亚单位疫苗一样好。虽然在佐剂流感疫苗组中,诱发的某些局部反应数量和发生率大于传统亚单位疫苗组,但仍属于轻度或中度反应,且持续期短,没有受试者由于安全性原因而退出研究。本研究与欧洲的临床试验结果一致^[5],后者在欧洲老年白种人群中进行,试验结果支持该疫苗在欧洲获得成功注册,并且表明在流感亚单位疫苗中加入 MF59 佐剂后,未引起流感疫苗的安全模型出现明显的临床变化。迄今为止,已经销售了超过 2.5 亿剂的 MF59-佐剂流感亚单位疫苗,均表现出良好的安全性^[6]。

对于基线无免疫保护状态的受试者测定疫苗接种后血清 HI 抗体滴度 ≥ 4 倍增长的阳转率、两组疫苗接种后 HI 抗体达到保护水平 $\geq 1:40$ 的保护率以及两组疫苗免疫前后 HI 抗体 GMT 增长倍数的研究结果表明,佐剂流感疫苗和传统亚单位疫苗都能诱导中国老年人中的免疫应答,佐剂流感疫苗诱导的抗体水平显著高于传统亚单位疫苗。在安全性模型、免疫原性试验结果方面也与在欧洲进行的试验结果相一致^[5,7,8],研究证明 HI 抗体滴度的水平与流感保护有关^[9];因此,免疫原性的加强相应地会增强流感的临床保护作用。欧洲进行的临床试验已经证明, MF59-佐剂流感疫苗对流感样疾病的临床保护作用好于传统的非佐剂流感疫苗^[8,10]。因此,预计 MF59-佐剂流感疫苗将会为中国老年人群提供更好的临床保护。

综上所述,接种 MF59-佐剂流感疫苗的我国老年人 (≥ 60 岁),所产生的免疫反应高于传统亚单位流感疫苗,且耐受性良好,可使免疫力低下的老年人获益更大。本试验结果将为 MF59-佐剂流感疫苗

应用于中国老年人群提供更有力的支持。

参 考 文 献

- [1] Targonski PV, Jacobson RM, Poland GA. Immunosenescence: role and measurement in influenza vaccine response among the elderly. *Vaccine*, 2007, 25(16):3066-3069.
- [2] He J, Gu D, Wu X, et al. Major causes of death among men and women in China. *N Engl J Med*, 2005, 353:1124-1134.
- [3] De Donato S, Granoff D, Minutello M, et al. Safety and immunogenicity of MF59-adjuvanted influenza vaccine in the elderly. *Vaccine*, 1999, 17:3094-3101.
- [4] Del Giudice G, Hilbert AK, Bugarini R, et al. An MF59-adjuvanted inactivated influenza vaccine containing A/Panama/1999 (A/H3N2) induced broader serological protection against heterovariant influenza virus strain A/Fujian/2002 than a subunit and a split influenza vaccine. *Vaccine*, 2006, 24:3063-3065.
- [5] Podda A. The adjuvanted influenza vaccines with novel adjuvants: experience with the MF59-adjuvanted vaccine. *Vaccine*, 2001, 19:2673-2680.
- [6] D'Agosto V, Berardi S, Burrani D, et al. Tolerability and safety of an MF59-adjuvanted subunit influenza vaccine. Poster Presented at the 2nd International Conference on Influenza Vaccines for the World (IVW) Congress. Vienna, Austria, 2006.
- [7] Baldo V, Menegon T, Bonello C, et al. Comparison of three different influenza vaccines in institutionalised elderly. *Vaccine*, 2001, 19:3472-3475.
- [8] Iob A, Brianti G, Zamparo E, et al. Evidence of increased clinical protection of an MF59-adjuvant influenza vaccine compared to a non-adjuvant vaccine among elderly residents of long-term care facilities in Italy. *Epidemiol Infect*, 2005, 133:687-693.
- [9] Potter CW, Oxford JS. Determinants of immunity to influenza infection in man. *Br Med Bull*, 1979, 35:69-75.
- [10] Francia F, Todeschini R, Mezzetti F, et al. Preliminary evaluations on the incidence of influenza-like illness in 2005 among populations of Emilia-Romagna, Italy who received different flu vaccines. Poster Presented at the 12th International Congress on Infectious Diseases, Lisbon, Portugal, 2006.

(收稿日期:2008-03-07)

(本文编辑:张林东)