

季节性流感裂解疫苗安尔来福®的安全性、免疫原性及与H7N9禽流感病毒的交叉免疫研究

郭万申 徐瑾 吴俊燊 赵升 何红霞 师文俊 于丹 李晶 高虹 陈江婷

【摘要】目的 评价季节性流感裂解疫苗(安尔来福®)的免疫原性及安全性,分析与H7N9禽流感病毒的交叉免疫反应。**方法** 采用临床研究开放式设计,选择6~35月龄婴幼儿(免疫接种方式:2针,0、28 d)、18~60岁成年人及>60岁老年人(1针)接种安尔来福®。所有接种者免疫后均接受安全性观察,并采集成年人和老年人免疫前后21 d的血清标本,利用血凝抑制试验(HI)检测疫苗3种(甲型流感2种和乙型流感1种)病毒株以及H7N9禽流感病毒抗体。采用欧盟流感疫苗临床研究标准(欧盟标准)评价疫苗免疫效果。**结果** 共202(婴幼儿65、成年人69及老年人68)人完成接种和安全性观察。不良反应发生率为12.4%(25/202),以全身不良反应为主,未见严重不良反应。有124(成年人64、老年人60)人采集到免疫前后配对血清。接种疫苗后21 d,成年组3个型别HI抗体阳转率为78.1%~90.6%,抗体保护率为92.2%~100.0%,GMT增长7.9~41.0倍;老年组HI抗体阳转率为66.7%~83.3%,抗体保护率为86.7%~100.0%,GMT增长5.7~20.4倍。均达到欧盟标准。而接种疫苗后,成年组和老年组抗H7N9抗体阳性率和阳转率仍保持为零,GMT增长仅1.2~1.4倍。**结论** 季节性灭活流感裂解疫苗的安全性和免疫原性良好,但对H7N9禽流感病毒无交叉免疫反应。

【关键词】 季节性流感裂解疫苗;免疫原性;安全性;H7N9禽流感;交叉免疫反应

Safety and immunogenicity of seasonal inactivated influenza vaccine (split virion) and cross-reactive antibody responses to the H7N9 avian influenza virus Guo Wanshen¹, Xu Jin¹, Wu Junyu², Zhao Sheng¹, He Hongxia³, Shi Wenjun³, Yu Dan², Li Jing², Gao Hong², Chen Jiangting². 1 Henan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450016, China; 2 Sinovac Biotech Co., Ltd; 3 Yuanyang Country Center for Disease Control and Prevention, Henan

Corresponding author: Chen Jiangting, Email: chenjt@sinovac.com

【Abstract】Objective To evaluate the safety and immunogenicity of seasonal inactivated influenza vaccine (split virion) and to analyze its cross-reactive antibody responses to H7N9 avian influenza virus. **Methods** An open-labeled clinical trial was carried out in infants aged 6–35 months, adults aged 18–60 years and the elderly aged >60 years. After vaccinations (one dose for adults and the elderly and two doses for infants), adverse events were observed. Serum samples were obtained before vaccination and 21 days after vaccination from adults and elderly subjects. Three types of antibody against seasonal influenza virus and antibody against H7N9 avian influenza virus were tested using microhemagglutination inhibition (HI) assay. Immunogenicity of the vaccine was evaluated based on the immunogenicity criteria for adults and the elderly, set by the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) for the European Medicines Agency. **Results** A total of 202 subjects (65 infants, 69 adults and 68 elderly) were enrolled and injected for at least one dose. The overall rate of adverse events was 12.4%(25/202) and most of them were under systemic reaction. No serious adverse event was reported. Pre- and post-vaccination serum samples were collected from 124 subjects (64 adults, 60 elderly). After 21 days of vaccination, the sero-conversion rate, sero-protection rate, and geometric mean titer (GMT) ratio (post-/pre-vaccination) of antibody against seasonal influenza virus were 78.1%–90.6%, 92.2%–100.0% and 7.9–41.0 among adults while 66.7%–83.3%, 86.7%–100.0% and 5.7–20.4 among the elderly, respectively. However, after vaccination, both

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.08.016

作者单位:450016 郑州,河南省疾病预防控制中心(郭万申、徐瑾、赵升);北京科兴生物制品有限公司(吴俊燊、于丹、李晶、高虹、陈江婷);河南省原阳县疾病预防控制中心(何红霞、师文俊)

通信作者:陈江婷, Email: chenjt@sinovac.com

sero-conversion rate and sero-protection rate of antibody against H7N9 avian influenza virus among adults and the elderly became zero, with GMT ratio between 1.2 and 1.4. **Conclusion** This trial vaccine appeared to have good safety and immunogenicity but inducing no cross-reactive antibody response to H7N9 avian influenza virus.

【Key words】 Seasonal influenza vaccine (split virion); Immunogenicity; Safety; H7N9 avian influenza virus; Cross-reaction

流感是首个实行全球监测的传染病^[1]。流感病毒表面抗原易发生变异,且感染一种流感病毒后产生的免疫力不能够完全保护机体免遭同亚型或同型的其他病毒抗原或基因型变异株侵袭。因此全球每年均有流感暴发。接种流感疫苗是预防控制流感最有效方法。根据WHO建议,流感病毒疫苗应含有两种A型病毒(H3N2和H1N1)和一种B型病毒(B/Victoria或B/Yamagata),并按照全球流感监测工作网络提供的信息,每年两次分别对南北半球推荐季节性流感疫苗生产用病毒株。北京科兴生物制品有限公司根据WHO发布的2012/2013年北半球流行病毒株生产了相应的季节性流感疫苗——三价灭活流感病毒裂解疫苗(TIV)。为确证其免疫原性和安全性,于2012年11—12月在河南省原阳县健康人群中开展本研究。由于自2013年4月以来,一种新禽流感病毒(H7N9)在我国东南部沿海及中部地区肆虐并引起广泛关注。考虑到目前尚无针对性疫苗,为了探索性考察季节性流感裂解疫苗免疫后能否针对H7N9禽流感病毒产生交叉保护,本研究在人群中也进行了交叉免疫评价。

对象与方法

1. 研究对象:本研究采取开放性设计,经河南省疾病预防控制中心医学伦理委员会批准后,在原阳县招募健康受试者。选择6~35月龄健康婴幼儿、18~60岁成年人和>60岁老年人作为研究对象。入选标准为近3年内无季节性流感疫苗接种史,排除对鸡蛋或疫苗任何成分过敏及发热或患急性疾病、恶性肿瘤活动期或治疗后复发、免疫缺陷病、格林巴利综合征患者。所有受试者在参与本临床研究前由本人或监护人签署知情同意书。

按照欧盟流感疫苗临床研究标准(欧盟标准),在评价每年新上市季节性流感疫苗安全性和免疫原性的临床研究中,成年人和老年人受试者人数均不应低于50人。考虑到20%的受试者脱落率,故本研究规定入组的儿童、成年人和老年人的人数不应少于65人。为了体现年龄层的差异,老年组中>65岁受试者不得低于45人。婴幼儿组接种2针灭活流感裂解疫苗,仅用于安全性评价;成年组和老年组接种1针

灭活流感裂解疫苗,用于安全性和免疫原性评价。

2. 研究方法:

(1)疫苗与接种:采用WHO推荐的2012/2013年北半球流感流行株作为毒种由北京科兴生物制品有限公司生产的流感病毒裂解疫苗(安尔来福®)。甲型H1N1株为NYMC X-179A (A/California/7/2009),甲型H3N2株为IVR-165 (A/Victoria/361/2011),B型株为NYMC BX-39。成年人剂型为每支0.5 ml,含3种抗原各15 μg,1针次接种;儿童剂型为每支0.25 ml,含3种抗原各7.5 μg,2针次接种,间隔4周。疫苗接种部位均为上臂三角肌内注射。

(2)标本检测及判定标准:成年组和老年组在疫苗接种前后21 d各采集5 ml血样本,分离血清,-20℃保存。取上述两组受试者接种前后的配对血清,分别针对流感疫苗3个型别病毒株和H7N9禽流感病毒株(NIBRG-268,亲代病毒A/Anhui/1/2013)进行微量血凝抑制试验(HI)抗体检测^[2]。计算HI抗体阳转率(血清HI抗体免疫前<1:10,免疫后≥1:40;免疫前≥1:10,免疫后呈4倍增长者判定为抗体阳转)、抗体保护率(血清HI抗体≥1:40者在人群中的率)和抗体GMT增长倍数。在接种疫苗后第21天,该3项评价指标中任意一项达到此标准(HI抗体阳转率:成年组>40%,老年组>30%;抗体保护率:成年组>70%,老年组>60%;GMT增长倍数:成年组>2.5倍,老年组>2.0倍),即判定为符合欧盟标准。其中免疫前HI抗体滴度<1:40的受试者定义为易感人群;免疫前HI抗体滴度≥1:40定义为非易感人群。血清抗体滴度<1:10按1:5进行统计学分析。

(3)安全性观察与判定标准:依据国家食品药品监督管理局《预防用疫苗临床试验不良反应分级标准指导原则》(国食药监注[2005]493号)进行评价,临床观察指标包括生命体征(发热)、局部反应(红肿、疼痛、硬结、瘙痒等)和全身反应(皮疹、头痛、头晕、乏力、肌肉疼痛、关节痛、恶心、呕吐、腹泻、腹痛等)。接种疫苗后进行30 min即时反应观察,并在日志卡记录接种后0~72 h发生的局部和全身不良反应,以及用药情况。受试者在接种后第3天返回接种点,由研究者核对回收日志卡,并询问及核实不

不良反应或临床症状。如试验期间发生严重不良反应,应收集和记录药物治疗及医学处理信息,并跟踪至不良反应缓解或痊愈。

3. 统计学分析:采用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析。所有接种至少 1 针流感疫苗的受试者均被纳入安全性分析集。按照方案要求完成疫苗接种且采集配对血清样本的受试者,被纳入到符合方案分析集(PPS)用于免疫原性评价。血清 HI 抗体阳转率、抗体保护率的组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验,抗体 GMT 的组间比较采用 t 检验或方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基本特征:共 202(婴幼儿组 65、成年组 69、老年组 68)人入组且接种第 1 针疫苗。婴幼儿组为 6~35 月龄,平均(20.1±8.6)月龄,男女性比例为 1.32:1;成年组年龄 22~60 岁,平均(48.3±10.1)岁,性别比例为 0.5:1;老年组年龄 60~84 岁,平均(68.3±5.1)岁,性别比例为 0.7:1。在完成第 1 针接种后,所有受试者均接受了安全性观察。其中婴幼儿组共 60 人接种了第 2 针疫苗并完成安全性观察。成年组和老年组分别 64 人和 60 人完成接种前后 2 次血样采集。所有脱落的受试者均为自愿退出,且无人因与疫苗有关的不良反应而退出。

2. 血清抗体水平分析:

(1) 免疫原性:成年组免疫前 3 个型别(A/H1N1、A/H3N2 和 B)的抗体 GMT(1:)分别为 22.0、56.0、14.3,抗体保护率分别为 46.9%、68.8%、14.1%;老年组 3 个型别的抗体 GMT(1:)分别为 8.7、43.4、18.0,抗体保护率分别为 15.0%、56.7%、23.3%。成年组 H1N1 型抗体 GMT 和保护率均高于老年组,差异有统计学意义($t=4.083, P < 0.001$; $\chi^2=14.594, P < 0.001$)。接种疫苗后第 21 天,成年组 3 个型别抗体阳转率分别为 90.6%、78.1%、78.1%,GMT 增长分别为 41.0 倍、13.7 倍、7.9 倍,保护率分别为 100.0%、100.0%、92.2%;老年组 3 个型别抗体阳转率分别为 83.3%、83.3%、66.7%,GMT 增长分别为 20.4 倍、14.3 倍、5.7 倍,保护率分别为 86.7%、100.0%、86.7%。成年组 A/H1N1 型抗体的 GMT 和保护率均高于老年组,差异有统计学意义($t=6.206, P=0.023$; $\chi^2=$

7.046, $P=0.008$)。两年龄组 3 个型别 HI 抗体阳转率、GMT 增长倍数及保护率均超过欧盟标准(表 1~3)。

(2) 易感人群与非易感人群比较:成年组 3 个型别(A/H1N1、A/H3N2 和 B)易感人群比例分别为 53.1%、31.2%、85.9%;老年组 3 个型别易感人群比例分别为 85.0%、43.3%、76.7%。老年组免疫前 A/H1N1 型易感率高于成年组,差异有统计学意义(老年组免疫前保护率低于成年组, $P < 0.001$),其他 2 个型别免疫前易感率(保护率)老年组与成年组差异无统计学意义。流感疫苗免疫后,成年组易感人群和非易感人群 3 个型别抗体阳转率分别为 100.0%和 80.0%、100.0%和 68.2%、83.6%和 44.4%;老年组易感人群和非易感人群 3 个型别抗体阳转率分别为 84.3% 和 77.8%、96.2%和 73.5%、80.4%和 21.4%(表 3)。

3. 交叉免疫反应:成年组和老年组免疫前后 H7N9 禽流感病毒血清抗体检测结果显示,接种前保护性抗体阳性率均为 0%,GMT(1:)分别为 2.6 和 2.5;

表 1 安尔来福®免疫不同人群后 3 个型别流感病毒的 GMT(1:)变化

型别	人群	成年组(n=64)		老年组(n=60)		P 值
		GMT	95%CI	GMT	95%CI	
A/H1N1	免疫前	22.0	15.7~31.0	8.7	6.5~11.7	<0.001
	免疫后	905.1	655.7~1 249.4	177.5	117.1~269.1	<0.001
	增长倍数	41.0	27.5~61.1	20.4	13.6~30.5	0.015
A/H3N2	免疫前	56.0	41.4~75.7	43.4	30.8~61.0	0.264
	免疫后	769.4	587.0~1 008.4	618.2	451.1~847.2	0.294
	增长倍数	13.7	9.1~20.7	14.3	9.8~20.9	0.899
B	免疫前	14.3	11.5~17.7	18.0	15.1~21.5	0.100
	免疫后	113.1	87.3~146.5	102.0	77.1~134.9	0.584
	增长倍数	7.9	5.9~10.5	5.7	4.2~7.7	0.107

表 2 安尔来福®免疫不同人群后对 3 个型别流感病毒的保护率

型别	人群	成年组(n=64)		老年组(n=60)		P 值
		抗体阳性人数	保护率(%,95%CI)	抗体阳性人数	保护率(%,95%CI)	
A/H1N1	免疫前	30	46.9(34.5~59.8)	9	15.0(7.5~21.2)	<0.001
	免疫后	64	100.0(92.9~100.0)	52	86.7(74.9~94.1)	0.008
A/H3N2	免疫前	44	68.8(55.8~79.7)	34	56.7(43.3~69.4)	0.164
	免疫后	64	100.0(92.9~100.0)	60	100.0(92.5~100.0)	1.000
B	免疫前	9	14.1(7.0~25.6)	14	23.3(13.8~36.4)	0.184
	免疫后	59	92.2(82.0~97.7)	52	86.7(74.9~94.1)	0.316

表 3 安尔来福®免疫不同人群后 3 个型别流感病毒 HI 抗体阳转率

型别	人群	成年组(n=64)		老年组(n=60)		P 值
		抗体阳性人数 ^a	保护率(%,95%CI)	抗体阳性人数 ^a	保护率(%,95%CI)	
A/H1N1	易感	34/34	100.0(87.4~100.0)	43/51	84.3(70.9~93.1)	0.041
	非易感	24/30	80.0(60.9~92.6)	7/9	77.8(40.2~100.0)	1.000
	合计	58/64	90.6(80.1~96.7)	50/60	83.3(71.0~91.7)	0.226
A/H3N2	易感	20/20	100.0(80.0~100.0)	25/26	96.2(78.4~100.0)	1.000
	非易感	30/44	68.2(52.3~81.4)	25/34	73.5(55.3~87.2)	0.608
	合计	50/64	78.1(65.7~87.4)	50/60	83.3(71.0~91.7)	0.463
B	易感	46/55	83.6(70.7~92.3)	37/46	80.4(65.6~90.7)	0.675
	非易感	4/9	44.4(15.3~79.4)	3/14	21.4(5.7~51.9)	0.480
	合计	50/64	78.1(65.7~87.4)	40/60	66.7(53.2~78.3)	0.153

注:^a分子为阳转人数,分母为总人数

接种后,两组人群抗体阳性率和阳转率仍均为0%,且GMT也无明显改变,分别仅增长1.4倍和1.2倍。

4. 疫苗安全性:所有入组的137名成年及老年受试者均完成接种和安全性观察,共发生13例(9.5%)不良反应。其中局部不良反应发生率为1.5%(2/137),接种部位硬结和皮肤发红各1例;全身不良反应发生率为8.8%(12/137)均为发热。两组间不良反应发生率及各症状发生率的差异均无统计学意义。所有入组的65名婴幼儿受试者均完成2针接种及接种后安全性观察,共发生12例(18.5%)不良反应。其中局部不良反应发生率为1.5%(1/65),症状均为接种部位皮肤发红;全身不良反应发生率为20.0%(13/65),症状为发热、腹泻和哭闹不安。整个临床研究期间未见发生严重不良反应。

讨 论

接种流感疫苗是预防控制流感的有效方法之一。2009—2012年广东省疾病预防控制中心连续4年跟踪广州市数千名6~35月龄儿童流感样病例的发病情况,发现2针流感疫苗接种的保护率分别为51.8%、57.8%、74.4%和68.8%,1针流感疫苗接种的保护率分别为32.4%、32.5%、69.3%和28.1%^[3,4]。2010—2011年香港地区多家医院对1 859名≥65岁老年人全病因所致死亡率和肺炎所致死亡率监测,结果表明接种季节性流感疫苗能显著降低老年人全病因所致死亡率和肺炎所致死亡率。其中全病因所致死亡,疫苗组死亡率为14.6%,非疫苗接种组死亡率为20.2%(方差分析显示合并风险比为0.72,且差异有统计学意义);而肺炎所致死亡,疫苗组死亡率为9.4%,非疫苗组死亡率为12.7%(方差分析显示合并风险比为0.80,差异有统计学意义)^[5]。

本研究表明2012/2013年流行季安尔来福®在不同年龄组受试者中均表现出良好的安全性,且接种该疫苗后21 d,成年组及老年组3个型别HI抗体阳转率、GMT增长倍数以及保护性抗体阳性率均超过欧盟标准。这与既往临床研究结果一致^[2,6-8],表明安尔来福®流感病毒裂解疫苗多年来保持一致的且良好的安全性及免疫原性。虽然本研究未评价安尔来福®在婴幼儿人群中的免疫原性,但前期临床研究显示,婴幼儿接种该疫苗后3个型别HI抗体阳转率均超过40%,对H1N1和H3N2的抗体保护率超过80%,对B型抗原的抗体保护率超过50%^[9-11]。

研究显示成年组和老年组在疫苗接种前,对A/H1N1型和B型流感病毒的HI抗体阳性率分别为

46.9%和15.0%、14.1%和23.3%。表明受试人群对A/H1N1型和B型流感病毒仍普遍易感。这与当地的流感疫情监测数据基本一致^[12,13]。

2013年3月在我国暴发的人感染H7N9型禽流感引起全球关注。鉴于当前针对H7N9禽流感病毒疫苗尚在研制中,本研究评价了受试人群免疫前针对H7N9禽流感病毒的抗体水平及接种安尔来福®后对该病毒的交叉保护能力。结果表明,不论免疫前后,成年组和老年组受试者对H7N9禽流感病毒的抵抗力几乎为零,且季节性流感疫苗对H7N9禽流感病毒感染未表现出任何保护效果。因此有必要研发针对H7N9禽流感病毒的疫苗。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. WHO position paper on influenza vaccine, 2005 [R/OL]. <http://www.who.int/wer/2005/wer8033.pdf>.
- [2] Wang P, Zhang XW, Song YF, et al. Safety and immunogenicity on the formulation of trivalent split influenza vaccine among healthy people aged over 18 years [J]. Chin J Epidemiol, 2011, 32(2): 124-128. (in Chinese)
王萍, 张昕伟, 宋宇飞, 等. 流行性感病毒裂解疫苗在18岁以上健康人群中应用的安全性及免疫原性研究[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(2): 124-128.
- [3] Yang Z, Dong Z, Fu C. Seasonal influenza vaccine effectiveness among children aged 6 to 59 months in southern China [J]. PLoS One, 2012, 7(1): e30424.
- [4] Fu C, He Q, Li Z, et al. Seasonal influenza vaccine effectiveness among children, 2010-2012 [J]. Influenza Other Respir Viruses, 2013, 7(6): 1168-1174.
- [5] Chan TC, Fan-Ngai Hung I, Ka-Hay Luk J, et al. Efficacy of trivalent seasonal influenza vaccination in reducing mortality and hospitalization in Chinese nursing home older adults [J]. J Am Med Dir Assoc, 2013, 14(12): 889-894.
- [6] Liu Y, Wu JY, Wang X, et al. Review of 10 years of clinical experience with Chinese domestic trivalent influenza vaccine Anflu [J]. Hum Vaccin Immunother, 2014, 10(1): 73-82.
- [7] Jiang FC, Lyu SL, Jia XR, et al. Safety and immunogenicity of seasonal inactivated influenza vaccine (split virion) and cross-reactive antibody responses to the 2009 pandemic H1N1 influenza virus [J]. Chin J Vaccin Immun, 2011, 17(2): 143-146. (in Chinese)
姜法春, 吕思禄, 贾晓蓉, 等. 季节性灭活流行性感病毒裂解疫苗安全性和免疫原性及与甲型H1N1流行性感病毒交叉免疫反应研究[J]. 中国疫苗和免疫, 2011, 17(2): 143-146.
- [8] Zhang ZL, Wang X, Zhu XJ, et al. Safety and immunogenicity on three lots of influenza split vaccine among adults [J]. Chin J Epidemiol, 2009, 30(6): 583-587. (in Chinese)
张之伦, 王旭, 朱向军, 等. 成人连续三批次流感裂解疫苗接种的安全性、免疫原性观察[J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(6): 583-587.
- [9] Li YP, Li RC, Chen JT, et al. Research on safety and immunogenicity of trivalent split influenza vaccine [J]. Chin J Vaccin Immun, 2005, 11(5): 343-347. (in Chinese)
李艳萍, 李荣成, 陈江婷, 等. 流行性感病毒裂解疫苗安尔来福的安全性和免疫原性研究[J]. 中国计划免疫, 2005, 11(5): 343-347.
- [10] Li YP, Li W, Liang XF, et al. Immunogenicity and safety of a 2009 pandemic influenza A (H1N1) monovalent vaccine in Chinese infants aged 6-35 months: a randomized, double-blind, controlled phase I clinical trial [J]. Influenza Other Respir Viruses, 2013, 7(6): 1297-1307.
- [11] Luo F, Yang L, Ai X, et al. Immunogenicity and safety of three 2010-2011 seasonal trivalent influenza vaccines in Chinese toddlers, children and older adults: A double-blind and randomized trial [J]. Hum Vaccin Immunother, 2013, 9(8): 1725-1734.
- [12] Seng MH, Jiang HL, Feng XH, et al. Analysis and surveillance of influenza in Henan from 2009 to 2010 [J]. Henan J Prev Med, 2012, 23(1): 62-64. (in Chinese)
僧明华, 蒋红丽, 封秀红, 等. 2009—2010年河南省流感监测分析[J]. 河南预防医学杂志, 2012, 23(1): 62-64.
- [13] Yang Z, Ye ZH, Li X, et al. Analysis of the seasonality characteristics of influenza based on concentration degree and circular distribution methods in Henan [J]. Med Soc, 2013, 26(2): 6-9. (in Chinese)
杨召, 叶中辉, 李星, 等. 基于集中度和圆形分布法的河南省流感发病季节性特征分析[J]. 医学与社会, 2013, 26(2): 6-9. (收稿日期: 2014-03-05)
(本文编辑: 张林东)