



## 全球登革熱專家及團隊齊聚台灣 探討疫情控制及藥物開發最新進展與趨勢

整理 / 陳欣儀、吳靜芳 圖 / 吳靜芳

2015年，台灣南部的2萬餘人大規模登革熱疫情，迫使政府在疫情防治與管控上，必須以科學方法多管齊下，藉由移除孳生源及化學藥劑等方法防堵病媒蚊。

一直以來，登革熱(Dengue Fever, DF)是熱帶及亞熱帶地區亟待解決的公衛問題之一，從1960年代起，全球每年約有3億人感染登革熱，每年登革熱感染風險人口約35億人，其中18億人集中在東南亞及西太平洋，隨著全球暖化及人口密度增長，疫情愈發嚴重。

迄今，登革熱疫苗及療法仍是未被滿足之強烈醫療需求，但其病毒及感染特性使得醫藥研發困難重重。由於登革熱病毒共有4個血清

型，感染其中一型痊癒後雖會獲得該型病毒的免疫力，但若重複感染其他型病毒，造成出血性登革熱的機率極高。

因此，疫苗必須能同時抵抗4型登革熱病毒，否則也會助長出血性登革熱的風險。

但市面上尚未出現任何登革熱的有效療法及新藥，目前治療程序仍多為依症狀給予支持療法，經由水分、養分補充，幫助病患的免疫系統消滅病毒。

2015年12月中，Sanofi研發的Dengvaxia獲墨西哥核准，成為全球首支獲批上市的登革熱疫苗。臨床試驗結果顯示，Dengvaxia施用於9到16歲兒童，可減少登革熱全部4

型病毒的感染機率60.8%，並且避免88.5%出血性登革熱風險。

作為橫跨亞熱帶及亞熱帶的國家，台灣產業也在登革熱研發光譜中佔上一席之地。

全福生技去年年中宣布與J&J旗下Janssen藥廠合作，雙方將一同開發及商化Janssen選定之治療登革熱的新藥候選化合物。

為聚焦登革熱相關醫藥研發趨勢，全福生技與生物技術開發中心(DCB)在去年12月18日於中央研究院舉行登革熱研討會「Dengue Diseases: from Epidemiology to Treatment」，首度聚集國、內外登革熱醫藥領域研究專家及團隊，共同進行交流討論。



## Steven R. Tannenbaum 美國麻省理工學院生物工程學 教授

### 從 DF 到 DHF 找出登革熱關鍵生物細胞因子

大多數感染登革熱病毒 (dengue virus, DV 或 DENV) 的患者在初期並無症狀，隨著病毒的能力增強，症狀開始惡化，從較輕微的登革熱到嚴重的登革出血熱 (dengue hemorrhage fever, DHF) 或登革休克症候群 (dengue shock syndrome, DSS) 等。

從 DF 惡化成 DHF 的關鍵因子至今尚未釐清，加上病患的個體臨床表現差異，以及缺乏精確的血液學生化標誌的限制，阻礙了早期登革熱的有效診斷。

因此，能在早期對病患進行明確的病情分級 / 分流，對醫院管理的品質及資源的有效利用很重要，也能減少病人耽誤就醫的情形，甚至改善預後。

目前研究團隊已經建立了一套具有高敏感度的分析方法和最新的統計平台，分別在感染登革熱的 3 個不同階段：早期發熱、退熱和恢復期，偵測登革熱患者血清中的蛋白質組、代謝組、細胞激素和其他炎症標誌物等系統的表徵。藉由不同分析與統計方式，已經觀察到 15 個極具潛力的生物標誌。

團隊進一步將針對這些參與登革熱病程中的因子進行綜合分析，希望有助於登革熱疾病進展機制的釐清。也期望這些標誌物，能在 DHF 的早期發熱階段達到有效的鑑定及預測。

全福生技與 DCB 合辦登革熱研討會聚集國內外專家進行交流座談。(左起：全福總經理簡海珊、海外 BRIM 董事長李文機與 DCB 執行長甘良生)





## 林宜玲 中央研究院 生物醫學科學研究所研究員兼副所長

### 藥物再利用 斷抗登革熱病毒再複製

由於 DENV 能高效率進行複製，因此強化了登革熱的嚴重程度。目前，在登革熱以及日本腦炎病人的治療上，尚未有任何可以抑制病毒複製的藥物，有鑒於此，主要的研究方向便是透過「藥物再利用」的策略，透過直接阻斷或減少 DENV 的複製和感染，來加快抗登革熱病毒藥物的研發。

目前主要從兩種藥物著手進行：

1. Prochlorperazine(PCZ)，是一種多巴胺 D2 受體 (Dopamine D2 receptor, D2R) 拮抗劑。PCZ 已通過美國 FDA 批准用於治療噁心、嘔吐及頭痛。PCZ 可以阻止病毒結合和進入細胞的過程。根據體內及體外試驗證明，PCZ 能大幅減緩 DENV 的複製，減輕體內感染的抗病毒活性。

2. 在與許多學者共同研究下，抗癌候選藥物 OSU-03012 的幾種衍生化合物可有效阻斷 DENV 感染，這些化合物還能阻止其他幾種病毒感染，顯示此化合物具廣效性的抗病毒活性潛力。

除了希望能釐清這些目標化合物的抗病毒機制，另外，幾種已經確定或合成的抗登革熱病毒化合物，將持續探討他們在防治登革熱病毒的作用。



## 黃品諺 J&J 亞太區 區域治療領域專家 (Regional Therapeutic Area Expert)

### 東南亞缺乏登革熱檢測試劑 成公衛漏洞

J&J 在東南亞觀察到，移除孳生源並不是疫情防治的靈藥。以印尼為例，因無法負擔檢測試劑，醫師多半必須藉由臨床經驗判斷病患是否感染登革熱。由於缺少檢測套組，這些東南亞國家（新加坡除外）通報案例遠少於實際感染案例，是嚴重的公衛漏洞，二次感染者眾多，造成登革熱患者住院及死亡率飆升，幼童占大多數。

當務之急為發展可對登革熱以及出血性登革熱的疫苗及新藥。另外，有效的登革熱疫苗也必須在三期臨床試驗囊括孩童、青少年以及成人三階層。

發展小分子藥物也是考量之一。已有使用小分子作為瘧疾化學干預手段的成功先例，小分子的製備更為簡單，成本也有望降低。以單株抗體作為療法，則對於東南亞普遍社經能力較低的感染病患或感染風險高的群眾來說太過昂貴，較不切實際。但若聚焦於出血性登革熱及登革休克症患者，則需在開發先期就做好成本控管策略。

J&J 旗下的 Janssen 藥廠目前正在開發登革熱防疫的醫藥全系統產品，從抗病毒藥物、可負擔的診斷試劑套組、生理預防解法以及疫苗來達成全方位服務。



## 蘇益仁 南台科技大學 講座教授

### 台南今年歷史新高 成疫情控制典範

去年登革熱疫情造成全台灣死亡案例多達 174 例，9 成為 60 歲以上老人，免疫系統疲弱並患有其他慢性病，其中約 8 成案例患有糖尿病，死因普遍為繼發性細菌感染以及敗血症。台南截至去年 11 月底通報登革熱案例有 2.2 萬，150 人死亡，經過大數據分析後，發現此次台南登革熱爆發肇因於 8 月初颱風帶來連續 10 天的大雨，加以建築老舊、人口密集等原因助長病媒蚊孳生。

去年 9 月中，台南市政府與學研單位攜手，以科學實證擬定控制策略。分別進行個案調查、即時個案監控及快篩、化學藥劑干預，並以誘蚊產卵捕捉器 (ovitrap) 調查蚊群密度、移除孳生源，再將這些研究結果進行大數據以及 GIS 分析，最後有效控制疫情。

由於二次感染不同型登革熱病毒的併發症將加劇，此次台南疫情的數字不僅為歷史新高，也很可能使得 2016 年之後的本土疫情將更為嚴重，不過有了這次的經驗，未來若再爆發大規模疫情，也應屬可控制範圍。



## 謝世良 中央研究院基因體研究中心 特聘研究員

### 標靶分子要角 CLEC5A 減緩 DENV 引起的炎性激素風暴

登革病毒及日本腦炎病毒 (Japanese encephalitis virus, JEV) 皆屬於黃病毒屬的一員，而登革熱的臨床表現有突發高熱、皮疹及頭、肌肉、和肌肉關節痛，但其詳細的致病分子機制仍未知。

細胞表面的 C-type lectin domain family 5 member A (CLEC5A) 能直接與 DV 及 JEV 的外套膜蛋白結合，幫助病毒入侵宿主。除能誘使宿主體內的 IL-1 $\beta$  及 IL-18 產生，也刺激巨噬細胞分泌大量發炎細胞激素，引起體內細胞激素風暴。這些發炎因子對 NALP3 發炎體 (inflammasome) 的激活有關鍵作用。

血清中的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 表現量與 DV 感染後的病情嚴重程度有關，也與 DV 引起的熱休克或 JEV 引起的神經組織發炎相關。先前的小鼠實驗結果顯示，CLEC5A 單株抗體能有效抑制發炎因子的大量產生和出血，有效減少死亡率。研究也發現，阻斷 CLEC5A 對 JEV 也具療效。在體外試驗中，DV 感染蝕骨細胞後，會透過 CELC5A 活化蝕骨作用，並增強發炎反應加速骨侵蝕，這或許可解釋登革熱患者為何產生劇烈骨痛的感覺。

根據以上結果推斷，在黃病毒感染引起的全身性神經炎症反應的機制中，CLEC5A 扮演著至關重要的角色，同時也參與了蝕骨細胞活性的調節。未來可以 CLEC5A 作為標靶分子，透過抑制發炎體的活化和細胞炎性因子的產生，來緩解嚴重的臨床症狀，降低 DV 感染的殺傷力，進一步防止 DSS 發生。

#### 生技小辭典

#### NALP3 發炎體 (inflammasome)

NALP3 (也稱為 Cryopyrin 或 NLRP3) 是 NLR (nucleotide binding and oligomerization, leucine-rich repeat) 的成員，主要表達於巨噬細胞，是發炎體的組成之一。發炎體是一種能夠造成發炎反應的蛋白複合物，參與先天免疫系統的激活。外來物的入侵會活化發炎體並誘導發炎性細胞激素分泌，進而啟動一連串免疫反應。



## Zach Shriver 美國 Visterra Therapeutics 研究副總裁

### 新免疫治療標靶 四價抗體 VIS513

封套蛋白 E(envelope protein, E) 是成熟 DENV 的外套蛋白主要結構，在病毒顆粒與宿主細胞膜的融合中有著關鍵性的作用。目前，已對蟲媒病毒及腦炎病毒的 E 蛋白進行了結構分析，E 蛋白含有 3 個結構區：ED I、ED II 與 ED III，許多研究指出 ED III 帶有非常重要的抗原決定位，這也使 ED III 成為製備保護性單株抗體的重要標靶位置。研究團隊利用 ED III 的結構差異性，鎖定了 ED III 中一個非免疫優勢 (non-immunodominant)、功能相關且具高度保守的抗原決定位，並利用 Visterra 創新及專有的技術運算胺基酸相互作用的網絡，最後針對此抗原決定位設計出人源化的單株抗體 VIS513。

另外，研究也藉由找出 ED III 可能逃避 VIS513 作用的點突變進行篩選與設計，希望能增進 VIS513 的有效抗病毒作用。

VIS513 能中和所有 4 種血清型登革熱病毒，避免交叉反應發生，且根據臨床前的動物實驗結果，證明 VIS513 在給藥後能迅速降低病毒效價，也能明顯舒緩登革熱的嚴重感染症狀。

使用 VIS513 來治療或預防登革熱感染的潛力已被看好，Visterra 也計劃提前 VIS513 進入臨床開發的時程，希望能早日發展出針對登革熱的免疫治療標靶抗體。



## 岳嶽 國家衛生研究院生技與藥物研究所 副研究員

### 高通量篩選平台 抗登革熱病毒藥物候選推手

DENV 抑制劑的研發是控制登革熱病毒流行的一種方式，目前已有幾種新型技術能輔助對 DENV 抑制劑的高通量篩選，例如感染性 cDNA 克隆 (infectious cDNA clone)、攜帶報導 (螢光酶或螢光蛋白) 基因之複製子細胞 (reporter replicon cells) 及以酵素為基礎的 NS2B/3 蛋白酶試驗。

團隊利用新開發的技術平台分析抗藥性帶有的突變，進而探討抑制劑之作用模式與機轉。並利用高通量篩選平台，找到 2 種小分子抑制劑 BP13944 和 BP13944，發現 2 種化合物皆能抑制 4 種血清型的 DENV，並分別以 DENV 的 NS3 蛋白酶結構及其輔因子 NS2B 為標的。

另外，也在無細胞毒性的濃度下，選定了能抑制 4 種血清型 DENV 和 JEV 複製的「DVI-1 蛋白」。又進一步定序幾個對 DVI-1 具抗藥性的獨立植株時，發現在外殼蛋白中有幾個胺基酸被置換，顯示外殼蛋白應該是 DIV-1 的標的。

研究還發現到有一種 DVI-1 衍生物的側鏈會影響 DVI-1 的抗病毒效用，所以未來需要建立更好的方法來合成 DVI-1 類似物。此研究是全球首次發現作用於 NS2B 輔因子之黃病毒抑制劑，也是第一個利用高通量藥物篩選平台，篩選出登革熱蛋白酶抑制劑，並藉由分析抗藥性突變，來探討此抑制劑之作用模式與機轉。



## 陳信偉 國家衛生研究院 副研究員

### 國衛院研發脂蛋白疫苗 通過概念驗證

台灣國衛院團隊針對登革熱，已研發出結合抗原及免疫增強劑 (immunopotentiator) 的次單位疫苗，該疫苗能夠誘發中和抗體反應，對抗多種血清型之登革熱病毒。

利用大腸桿菌系統與基因重組技術，結合脂質蛋白 (lipoprotein) 與登革熱病毒封套蛋白 ED III 基因，做出重組脂質 ED III 蛋白 (LED III)，可誘發有效免疫反應。

LED III 加強了共激分子 (costimulatory molecules) 如 CD40、CD80、CD86、MHC II 以及在抗原呈現細胞中分泌的細胞因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12、IL-23 以及 IL-27)。

團隊發現，和登革病毒相較，候選的脂化疫苗激發中和抗體 (neutralizing antibody) 的活化速度及數量表現更優。另外，LED III 也可以降低登革熱感染引發的抗體依託性增強作用 (antibody-dependent enhancement, ADE) 之潛在風險，避免二次感染不同血清型病毒，而引發的出血性登革熱或登革休克症。

目前，該脂化次單位登革熱疫苗已通過概念驗證階段，正在製程發展。未來該疫苗的發展重點將著重於檢視 LED III 的臨床使用適用性。



## 林以行 成功大學微生物免疫研究所 特聘教授

### NS1 C 端胺基酸序列 影響治療性登革熱抗體作用

登革熱的臨床表徵包含嚴重的小板低下、血管通透性增加和離子滲漏等症狀，登革熱出血的致病機制尚未完整了解，這也是在抗病毒治療或疫苗發展的主要障礙之一。DENV 的非結構蛋白 NS1 (nonstructural protein 1) 抗體與血小板和血管內皮細胞有交叉反應，會引起血小板功能障礙、內皮細胞損傷並抑制凝血功能。團隊過去的實驗結果顯示，NS1 的 C 端部分序列是與宿主細胞產生交互作用的抗原決定位所在。將 NS1 的 C 端胺基酸序列 (a.a.1-270) 剔除後，發現此修飾後的 NS1 抗體與血小板結合的能力較低，且抑制血小板凝集的能力也比 NS1 全長抗體差，顯示避開 NS1 的 C 端設計特異性的單株抗體，可能是登革熱治療的潛在候選者。

考量以 NS1 為疫苗發展的安全性，團隊進一步將具有交互作用的 C 端抗原決定位去除，將 DENV NS1 的 C 端置換成 JEV 的 NS1 C 端序列，設計出 DJ NS1 嵌合蛋白，並使用高分子奈米複合物為佐劑包覆 DJ NS1，相較於以鋁鹽為佐劑，其在小鼠的體內或體外試驗中皆可引起較好、也較持久的 Th1 及 Th2 免疫反應，並能引起 NS1-specific CD8<sup>+</sup> 毒殺 T 細胞作用，但此效果的詳細機制仍有待進一步探討。

研究已經證明 DJ NS1 抗體對於被 DEVN 感染的細胞提供了保護力，也為登革熱的治療抗體和高功效疫苗的發展提供了一個新的策略。G&I