

狂犬病被动免疫制剂历史及现状

王传林¹, 魏敬双²

1. 北京大学人民医院急诊科、创伤救治中心, 北京 100044; 2. 华北制药集团新药研究开发有限责任公司抗体药物研制国家重点实验室

摘要: 发生狂犬病暴露后, 应当及时进行伤口清洗处理、接种人用狂犬病疫苗, III 级暴露者还需要同时使用狂犬病被动免疫制剂。狂犬病被动免疫制剂在全球数十年的大规模应用已经证实了其对狂犬病暴露后预防处置(post-exposure prophylaxis, PEP)是安全有效的。马源狂犬病免疫球蛋白(equine rabies immune globulin, ERIG)、人源狂犬病免疫球蛋白(human rabies immune globulin, HRIG)是国际上应用最广泛的狂犬病被动免疫制剂。近年来, 重组狂犬病病毒中和性单克隆抗体(monoclonal rabies virus neutralizing antibody, mRVNA)已经在印度通过临床 III 期试验。mRVNA 可以持续规模化生产并且无血源污染风险, 理论上具备更高的安全性和有效性, 成为首个最有可能在全球广泛应用的病毒性疾病预防的重组单克隆抗体产品。

关键词: 狂犬病; 抗体; 免疫球蛋白; 暴露后预防处置

中图分类号: R186 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6966(2018)11-1094-07

狂犬病是一种动物传染给人的致死性疾病, 是由弹状病毒科 lyssavirus 病毒属的狂犬病病毒引起的脑脊髓炎, 一旦出现临床症状则几乎 100% 死亡。在亚洲、非洲和拉丁美洲广大发展中和不发达国家, 人类面临的主要是犬传人引起的狂犬病威胁。在发达国家, 犬传人的狂犬病已消除, 人类面临的是由野生动物引起的狂犬病威胁。

按照世界卫生组织(World Health Organization, WHO)推荐的狂犬病预防程序, 针对狂犬病 III 级暴露的推荐治疗方法包括接种狂犬病疫苗和注射狂犬病免疫球蛋白(rabies immunoglobulin, RIG)。疫苗提供的是长效保护, 而 RIG 则弥补了内源性抗体生成之前的空缺。在暴露后预防处置(post-exposure prophylaxis, PEP)中加入特异性 RIG 对于拯救生命的有益作用已经被明确认识到, 尤其对于严重的暴露来说更是如此。

使用 RIG 预防狂犬病的历史可以追溯到 1889 年, Babes 在实验动物体内证明了其有效性。从此到 1945 年之间, 有许多试验和野外调查研究试图评估抗狂犬病病毒抗体预防狂犬病的有效性, 这些研究报道的保护率从低至完全没有至高达 100%, 但这些实验并未设立足够的对照, 并且实验动物的数目也很少, 因此结论相互冲突^[1]。

RIG 有效性的结论性证据来源于 1945 年 Habel 等完成的一系列严格控制下的动物试验。他们的研究是在给动物注射狂犬病病毒后马上在攻毒部位使用抗狂犬病血清(anti rabies serum, ARS), 并联合使用狂犬病疫苗免疫, 发现联合使用 ARS 和疫苗保护效果优于单用疫苗。1950-1954 年, Koprowski 和其他研究

者在一系列动物试验中确证了相似的结果^[1]。

1 推动 WHO 建立狂犬病暴露后预防疗法的事件和过程

证明暴露后立即使用 RIG 可以有效地防止人患狂犬病的重大事件发生于上世纪 50 年代的伊朗。1954 年 8 月, 一头携带狂犬病病毒的狼在几小时内咬伤了 29 个人。有 18 人被严重咬伤头部, 这 18 人中有 5 人(A 组)在治疗第 0 天和第 5 天分别接受了 2 剂 ARS (兔血清), 并接受酚灭活神经组织疫苗(绵羊脑组织疫苗)免疫至第 21 天。另有 7 人(B 组)接受了 1 剂 ARS 和直至第 21 天的疫苗免疫。有 5 人(C 组)单纯接受了疫苗免疫。另有 1 个特殊病例, 1 个 6 岁男孩被咬致颅顶骨破碎和硬脑膜撕裂, 他在受伤后的 12 d 内被注射了 6 剂 ARS, 并用疫苗免疫直至第 21 天。其他大腿和躯干被咬伤的病例被分为两组, 其一合用 ARS 和疫苗, 余下的只用疫苗免疫。结果为: A 组, 没有死亡; B 组死亡 1 人; C 组死亡 3 人。被咬伤大腿和躯干的病例均存活。值得一提的是上述特殊病例, 那个被严重咬伤的 6 岁男孩, 经上述治疗后存活^[2,3]。这一结果明确地表明在严重暴露后预防初期, 通过合用 ARS 和疫苗的方法比单纯应用疫苗有效。

在上述紧急救治事件中, 研究者对所有头颈部受伤的 18 名伤者定时采血, 对其血液样本进行了抗狂犬病病毒中和抗体(rabies virus neutralizing antibody, RVNA)分析, 以期发现血液中抗体水平与临床结果的对应关系^[3]。结果显示, 接受 2 剂 ARS 注射和全程疫苗免疫的 A 组 5 人, 在处置后最初的 5 d 内均可检测到一定水平的抗体, 这种一定水平的抗体一直维持到第

通信作者: 王传林, Email: wangchuanlinvip@163.com

21 天,其中有 1 人(A3)上升到一个高水平。然后直至检测终点(第 53 天),除 A3 外的所有人抗体水平下降到较低的水平,A3 直至后期仍保持了较高的抗体水平。A 组的所有伤者全部存活。

那个被严重咬伤、接受了 6 剂 ARS 的男孩,在整个观察过程中维持了较高的抗体水平,此男孩也成功存活。

接受 1 剂 ARS 和全程疫苗免疫的 B 组 6 人,在最初 5 d 均可检测到一定水平的抗体。不过,到第 21 天时,6 人中的 4 人抗体水平已变得较低,而且此后也一直维持较低的水平;该组中唯一死亡的 1 位伤者(B2),自第 7 天起仅有极微量的抗体水平。该组中仅 1 人(B6)在后期表现出了高水平的抗体应答。

仅接受疫苗免疫的 C 组 5 人,在第 19 天以前均未检测到抗体。3 人在第 21~25 天检测到一定滴度的抗体,这 3 人中有 2 人随后死亡。另外 2 名伤者在整个观察期内均未能检测到抗体,其中 1 人死于狂犬病,1 人存活。C 组中 2 例最高水平的抗体均出现于死亡病例临死之前的血液样本。

从上述事例可以看出,对暴露后伤者及时给予 ARS 处理,使患者在暴露后伤口内病毒含量大大降低,并使患者在暴露后早期血液中维持较低到中等水平的中和抗体,对于挽救患者生命具有重要意义。

在这一事件后,WHO 同来自巴黎巴斯德研究所的 Atanasiu 教授协调进行了一系列试验来确定 RIG 的最优使用方法,以免其抑制由疫苗产生的主动免疫反应。1966 年,联合使用疫苗和 ARS 成为 WHO 推荐的暴露后处理标准程序。

2 被动免疫制剂使用剂量的确定

RIG 可以由多种动物来生产,但是由于可以较大量地制备,马 ARS 最终应用最多。到 1960 年,由于马 ARS 未经纯化,导致使用过程中出现了严重的不良反应事件,如过敏反应和血清病。1960 年末,人们制造出了高纯度和酶消化的马源狂犬病免疫球蛋白(equine rabies immunoglobulin, ERIG),成功地减少了不良反应的发生。

用人血清生产 RIG 最早是 1959 年由 Hosty 进行的。到 1971 年 Cabasso 将制造人源狂犬病免疫球蛋白(human rabies immunoglobulin, HRIG)的过程标准化并确定了最佳剂量。为考察 HRIG 联合狂犬病疫苗对主动免疫的影响,对健康受试者分 5 组进行了临床试验,分别给予 A:40 IU/kg HRIG;B:疫苗;C:40 IU/kg HRIG + 疫苗;D:20 IU/kg HRIG + 疫苗;E:10 IU/kg

HRIG + 疫苗。根据不同时间点受试者血清中和抗体水平考察 HRIG 对主动免疫的影响,结果显示 20 IU/kg HRIG + 疫苗组对疫苗主动免疫的抑制作用最小,使用效果最佳^[1]。1972 年,第 6 次 WHO 狂犬病专家委员会上推荐使用 HRIG。HRIG 的工业化生产始于 1974 年,由美国 CUTTER 研究室研制并获准上市。

3 被动免疫制剂保护效果的大型回顾性或前瞻性研究

由于狂犬病病毒的特殊性,关于被动免疫制剂的药效学研究不能严格按照随机对照的原则设计临床试验;尤其是对于严重暴露患者,很难做到盲法,这是抗狂犬病病毒的临床试验存在的一个普遍问题。选取几项较大型或影响较大的研究内容予以介绍。

3.1 在菲律宾进行的 pERIG 使用效果的回顾性研究 赛诺菲巴斯德公司在菲律宾的热带医学研究中心(Research Institute for Tropical Medicine, RITM)开展了一项追踪在 2003 年 7 月-2004 年 8 月间使用纯化的马抗狂犬病血清 F(ab')₂ 片段(pERIG)FavirabTM 进行 PEP 的回顾性研究^[4]。该研究共有 7 660 例患者在发生 II/III 级暴露后接受 pERIG 注射,患者年龄跨度从 4 个月~98 岁,从 PEP 到跟踪随访的时间跨度从 35 d~29 个月。在跟踪随访中可联系到 7 604 例伤者,有 6 468 例伤者的健康状况被记录下来。整个研究人群中 16 例死亡,这其中 14 例与狂犬病感染或处置无关,2 例为 PEP 失败。

在此期间共有 137 只伤人动物通过实验室检测被确证感染有狂犬病病毒,这些带毒动物共造成 151 人受伤,这些人都接受了 pERIG 浸润和/或肌肉注射,147 人接受了第一针疫苗接种。在 151 例被确诊感染狂犬病病毒的动物咬伤的伤者中,143 例健康存活,7 例无法联系,1 例死亡^[4]。这一结果说明,应用被动免疫制剂、狂犬病疫苗和伤口清洗的联合处置方案对于保护伤者对抗狂犬病病毒感染是高度有效的。

3.2 在菲律宾进行的 pERIG 使用效果的前瞻性处方事件监测研究 赛诺菲巴斯德公司于 2004 年 8 月-2006 年 9 月,在菲律宾热带医学研究中心开展了一项前瞻性处方事件监测(prospective prescription event monitoring, PPEM)研究,监测因为暴露于经实验室检测确证带毒的动物且暴露程度达到 III 级、并且接受 PEP 时使用了 pERIG(FavirabTM)的伤者,试验目的是评估 pERIG 在伤者使用后 6 个月和 12 个月的有效性,并监测接受 pERIG 注射后 28 d 内的不良事件^[5]。

该研究中发生 III 级暴露患者的人选条件为:①造成暴露的动物经实验室检验(直接荧光抗体试验,

dFAT)为狂犬病病毒携带,而不论造成的伤口的数量和数量;②由疑似患狂犬病的动物造成头部、颈部、面部及手指处的伤口,不论伤口数量;③由疑似患狂犬病的动物造成多处伤口而不论伤口位置;④患者接受正确的pERIG注射,剂量40 IU/kg,包括在伤口周围浸润注射及在远离疫苗注射部位肌注;⑤正确接受了狂犬病疫苗第1次接种;⑥提供了书面知情同意书。按照上述入选条件已入组的Ⅲ级暴露伤者,如果随后伤人动物用dFAT法检测为狂犬病阴性,或者动物没有被抓住所以不能做检测,则该伤者被排除出组。

2004年8月-2006年9月间,共1370人在RITM就医,193名被确诊携带狂犬病病毒的动物咬伤的患者被纳入这项监测期1年的研究,其中189人完成了健康状况调查。这193人中,91人为单一伤口,102人为多处伤口,其中23人身体多个部位受伤。狂犬病疫苗免疫方面,所有人接受了至少2剂疫苗注射,其中147人完成全部5剂注射,35人完成4剂,8人完成3剂,有3人仅接受了2剂疫苗注射。接受pERIG注射的方式方面,192人接受了pERIG在伤口处的浸润注射,仅1例被dFAT阳性的犬舔舐了嘴唇的患者因操作不便未接受pERIG浸润注射处理;75人(39.1%)将推荐剂量的pERIG全部用于伤口及周围的浸润注射,117人(61.9%)除浸润注射外将剩余剂量的pERIG在远离疫苗注射部位进行了肌肉注射。

参与研究的193人中,191人(99%)在1年后仍健康存活。在1年监测期间有2人死亡,1名73岁老人的死亡(心肌梗塞)与狂犬病无关,1名6岁男童被家养宠物犬咬伤上唇,在PEP处置后第28天死于狂犬病。该病例死亡原因仍需仔细分析,尽管在咬伤后用肥皂和水清洗了伤口,但由于清洗是在当地医疗中心,因此伤口清洗不够及时,而且伤口清洗后未使用酒精和碘消毒。此外,因伤口在嘴唇处,使得在伤口处浸润注射pERIG操作起来非常困难。除了上述在给予pERIG后第28天死于狂犬病的6岁男童外,在研究中,没有观察到与PEP处置注射pERIG或其它产品相关的严重不良事件。

综合3.1、3.2这两项研究结果,在RITM进行治疗的Ⅲ级暴露后人群数据中,经实验室确证为狂犬病暴露后使用pERIG治疗的伤者中,存活人数为143人(95%)和191人(99%),证明狂犬病暴露后使用PEP疗法是十分有效的。

3.3 在坦桑尼亚进行的回顾性调查研究 在坦桑尼亚西北2个狂犬病流行的农村地区,塞伦盖蒂(Serengeti)和恩戈罗(Ngorongoro),研究者对狂犬病暴

露后预防的可及性和受害人死亡情况进行调查^[6]。研究者调查了1080名在2002年1月-2006年12月被动物咬伤的受害人,其中Serengeti 776人,Ngorongoro 304人。648人被疑似狂犬病动物咬伤,406人被看似正常的动物咬伤,26人对动物状态记忆不详。约75%疑似狂犬病动物的样本经检测结果呈阳性。被疑似狂犬病动物咬伤人群中超过1/4未寻求医疗救治。同期医院1322例被动物咬伤的记录中,760例受害人被成功追踪,至少50例暴露由疑似狂犬病动物造成。

调查显示,总体上仅有65%暴露于被确诊狂犬病阳性动物的受害人接受PEP。2002-2006年,2个地区共发生28例狂犬病造成的死亡。这些死亡病例中,有3例接受了部分PEP治疗,1名14岁的少年在暴露发生几天后才接受了第1剂PEP处置,在狂犬病症状显现之前已完成4剂疫苗接种;2名儿童头部、颈部和脊柱被严重咬伤,分别在接受第2、第3剂疫苗接种后发病。他们均未接受RIG注射,PEP程序亦不符合WHO标准。其余25名死亡病例未接受任何PEP处置。研究者通过统计分析指出,受害人暴露于狂犬病阳性动物后,不接受PEP而发病死亡的几率远高于接受PEP的发病几率,机会比(odds ratio, OR)值为17.33(95% CI 6.39~60.83, $P < 0.0001$)。正确的PEP是预防狂犬病的有效手段。

4 HRIG 临床试验研究

前述对于RIG的有效性描述主要是基于一些回顾性的统计或分析,很多并不是按照临床试验的要求开展的对照研究。在HRIG多年的使用过程中,在世界各地陆续有关于HRIG临床试验的文献发表。为全面、系统的评价HRIG的研究和应用现状,对全球范围内所有HRIG抗狂犬病病毒作用的临床试验研究文献进行了系统评价。

在这些进行分析的临床试验文献中,HRIG的注射方式为肌肉注射(IM),HRIG作为对照药或试验药使用,狂犬病疫苗联合使用HRIG或单独研究HRIG。对于文献内容为会议摘要、Meta分析、描述性综述、pooled试验、非临床试验、书信或勘误等则不予纳入。根据上述筛选标准,最终将20篇文献纳入分析,见表1。20篇纳入文献发表年份为1980-2018年。20篇文献总样本量为2568,样本量范围为20~679,中位数为89,见表2。

本研究以下所有分析基于5种给药方案进行,分别是:疫苗+HRIG 20 IU/kg、单用疫苗、疫苗+HRIG 40 IU/kg、单用HRIG 20 IU/kg、单用HRIG 40 IU/kg,样本

量共 2 146,在 5 种给药方案中,疫苗+HRIG 联用治疗方案样本量为 54%。其中 76%试验为健康人群,24%试验为暴露人群。在这些临床试验研究中,HRIG 的给药方式均为肌肉注射,使用剂量为 20、40 IU/kg,其中一篇为 44 IU/kg,在本研究中按 40 IU/kg 处理。从试验地区来看,亚洲地区试验人数为 1014 人,欧洲和美洲试验人数为 1 132 人。

20 篇临床试验文献的主要终点指标均为“中和抗体活性”;14 篇文献的次要终点指标为“> 0.5 IU/mL 的人数”,1 篇为“365 d 内安全性”,1 篇为“HRIG 对疫苗的影响”,1 篇为“第 14 天实验组与对照组中和抗体几何平均浓度(geometric mean concentration, GMC)的比值”,见表 3。

这些临床试验文献的中和抗体活性分析结果显示,第 7 天,疫苗+HRIG (20 IU/kg)显著高于单用疫

苗组($P < 0.05$),第 14 天差异无统计学意义。不同人群亚组分析,亚洲与非亚洲、健康与暴露人群、不同种类的疫苗之间,中和抗体活性在第 7 天和第 14 天均无统计学差异。不论单用疫苗还是 HRIG 20 IU/kg、40 IU/kg 联合疫苗在第 14 天中和抗体活性均超过 0.5 IU/mL。安全性方面,纳入分析的 20 篇文献中,其中 13 篇有主要不良反应的描述,主要不良反应为红肿、注射部位疼痛、注射部位瘙痒等;共报道了 5 例严重不良反应(serious adverse reaction, SAE),无死亡情况。总体说来,HRIG 对受试者的安全性良好。见表 4。

5 重组抗狂犬病毒单抗研发进展

在 RIG 多年的应用实践中,由于其价格昂贵、来源受限造成的可及性问题,促使科学家着手研发不受血液来源限制、可实现工业规模标准化生产的基因工

表 1 系统性分析纳入的 20 篇人源狂犬病免疫球蛋白临床试验参考文献

ID	文献内容
1	Vodopija I, Sureau P, Smerdel S, et al. Comparative study of two human diploid rabies vaccines administered with antirabies globulin. <i>Vaccine</i> , 1988, 6 (6):489–490. PMID: 3245292
2	Wilde H, Glueck R, Khawplod P, et al. Efficacy study of a new albumin-free human diploid cell rabies vaccine (Lyssavac-HDC, Berna) in 100 severely rabies-exposed Thai patients. <i>Vaccine</i> , 1995, 13(6):593–596. PMID: 7483780
3	Lang J, Gravenstein S, Briggs D, et al. Evaluation of the safety and immunogenicity of a new, heat-treated human rabies immune globulin using a sham, post-exposure prophylaxis of rabies. <i>Biologicals</i> , 1998, 26(1):7–15. PMID: 9637744 (DOI: 10.1006/biol.1997.0117)
4	Benjavongkulchai M, Kositprapa C, Limsuwun K, et al. An immunogenicity and efficacy study of purified chick embryo cell culture rabies vaccine manufactured in Japan. <i>Vaccine</i> , 1997, 15(17–18):1816–1819. PMID: 9413087
5	Jones RL, Froeschle JE, Atmar RL, et al. Immunogenicity, safety and lot consistency in adults of a chromatographically purified Vero-cell rabies vaccine: a randomized, double-blind trial with human diploid cell rabies vaccine. <i>Vaccine</i> , 2001, 19(32): 4635– 4643. PMID: 11535311
6	Vodopija R, Lafont M, Baklaic Z, et al. Persistence of humoral immunity to rabies 1100 days after immunization and effect of a single booster dose of rabies vaccine. <i>Vaccine</i> 1997, 15(5): 571–574. PMID: 9160527
7	Beran J, Honegr K, Banzhoff A, et al. Potency requirements of rabies vaccines administered intradermally using the Thai Red Cross regimen: investigation of the immunogenicity of serially diluted purified chick embryo cell rabies vaccine. <i>Vaccine</i> , 2005, 23(30):3902–3907. PMID: 15917111 (DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.03.007)
8	Bose A, Munshi R, Tripathy RM, et al. A randomized non-inferiority clinical study to assess post-exposure prophylaxis by a new purified vero cell rabies vaccine (Rabivax-S) administered by intramuscular and intradermal routes. <i>Vaccine</i> , 2016, 34(40):4820–4826. PMID: 27554534 (DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.08.005)
9	Gogtay N, Thatte U, Kshirsagar N, et al. Safety and pharmacokinetics of a human monoclonal antibody to rabies virus: a randomized, dose-escalation phase 1 study in adults. <i>Vaccine</i> , 2012, 30(50):7315–7320. PMID: 23010601(DOI: 10.1016/j.vaccine.2012. 09.027)
10	Suntharasamai P, Chaiprasithikul P, Wasi C, et al. A simplified and economical intradermal regimen of purified chick embryo cell rabies vaccine for postexposure prophylaxis. <i>Vaccine</i> , 1994, 12(6):508–512. PMID: 8036824
11	Lang J, Simanjuntak GH, Soerjosembodo S, et al. Suppressant effect of human or equine rabies immunoglobulins on the immunogenicity of post-exposure rabies vaccination under the 2–1–1 regimen: a field trial in Indonesia. MAS054 Clinical Investigator Group. <i>Bull World Health Organ</i> , 1998, 76(5):491–495. PMID: 9868840 (PMCID: PMC2305784)
12	Warrell MJ, Warrell DA, Suntharasamai P, et al. An economical regimen of human diploid cell strain anti-rabies vaccine for post-exposure prophylaxis. <i>Lancet</i> , 1983, 2(8345): 301– 304. PMID: 6135830
13	Aoki FY, Rubin ME, Friesen AD, et al. Intravenous human rabies immunoglobulin for post-exposure prophylaxis: serum rabies neutralizing antibody concentrations and side-effects. <i>J Biol Stand</i> , 1989, 17:91–104. PMID: 2646301
14	Suntharasamai P, Warrell MJ, Viravan C, et al. Purified chick embryo cell rabies vaccine: economical multisite intradermal regimen for post-exposure prophylaxis. <i>Epidemiol Infect</i> , 1987, 99(3):755–765. PMID: 3428378 (PMCID: PMC2249234)
15	Gogtay NJ, Munshi R, Ashwathnarayan DH, et al. Comparison of a novel human rabies monoclonal antibody to human rabies immunoglobulin for post-exposure prophylaxis: A phase 2/3 randomized, single blind, non-inferiority, controlled study. <i>Clin Infect Dis</i> , 2018, 66(3):387–395. PMID: 29020321 (DOI: 10.1093/cid/cix791)
16	Suntharasamai P, Warrell MJ, Warrell DA, et al. New purified Vero-cell vaccine prevents rabies in patients bitten by rabid animals. <i>Lancet</i> , 1986, 2 (8499):129–131. PMID: 2873399
17	Suntharasamai P, Chanthavanich P, Warrell MJ, et al. Purified Vero cell rabies vaccine and human diploid cell strain vaccine: comparison of neutralizing antibody responses to post-exposure regimens. <i>J Hyg (Lond)</i> , 1986, 96(3):483–489. PMID: 3734433 (PMCID: PMC2129681)
18	Anderson LJ, Sikes RK, Langkop CW, et al. Postexposure trial of a human diploid cell strain rabies vaccine. <i>J Infect Dis</i> , 1980, 142(2):133–138. PMID: 7410895
19	Mertz GJ, Nelson KE, Vithayasai V, et al. Antibody responses to human diploid cell vaccine for rabies with and without human rabies immune globulin. <i>J Infect Dis</i> , 1982, 145(5):720–727. PMID: 7077095
20	Helmick CG, Johnstone C, Sumner J, et al. A clinical study of Merieux human rabies immune globulin. <i>J Biol Stand</i> , 1982,10(4):357–367. PMID: 7153223

表2 20 篇人源狂犬病免疫球蛋白临床试验文献样本量分布

ID	发表年份(年)	试验地点	HRIG 剂量(IU/kg)	试验随访期(d)	样本量(例)
1	2012	印度	20	42	20
2	1997	泰国	40	360	99
3	1994	泰国	20	90	133
4	1989	加拿大	20	90	30
5	1998	克罗地亚	20	21	30
6	1987	泰国	20	91	184
7	2016	印度	20	42	181
8	2005	捷克	20	104	155
9	2001	美国	20	365	679
10	1998	印尼	20	90	176
11	1998	美国	20	42	64
12	1997	克罗地亚	20	35	44
13	1995	泰国	20	360	40
14	1983	泰国	40	182	88
15	2018	印度	20	84	200
16	1986	泰国	20	365	106
17	2009	泰国	20	91	58
18	1980	美国	20	365	90
19	1982	泰国	20	60	101
20	1982	美国	20、44	365	90

表3 人源狂犬病免疫球蛋白临床试验终点指标

作者	发表年份(年)	主要终点指标	次要终点指标
Gogtay	2012	中和抗体活性	365 d 内安全性
Benjavongkulchai	1997	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Suntharasamai	1994	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Aoki	1989	中和抗体活性	-
Vodopija	1998	中和抗体活性	-
Suntharasamai	1987	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Anuradha	2016	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Beran	2005	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Jones	2001	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Lang.S	1998	中和抗体活性	HRIG 对疫苗的影响
Lang.G	1998	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Vodopija	1997	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Wilde	1995	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Warrell	1983	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Gogtay	2018	中和抗体活性	第 14 天实验组与对照组中和抗体 GMC 的比值
Suntharasamai	1986	中和抗体活性	-
Suntharasamai	2009	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Bose	1980	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Mertz	1982	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数
Helmick	1982	中和抗体活性	>0.5 IU/mL 人数

程重组狂犬病病毒中和性单克隆抗体(monoclonal rabies virus neutralizing antibody, mRVNA)制剂。

与 HRIG 相比,mRVNA 的抗体分子种类单一,因此对于 mRVNA 的抗病毒效果,研究者除关注其对狂犬病病毒的中和活性、亲和力外,同样关注其对不同来源的狂犬病病毒毒株的中和能力。

在重组 mRVNA 的中和谱研究方面,几种处于开发阶段的 mRVNA 表现优异,这通常是由于这些 mRVNA 所选择的中和表位在狂犬病病毒糖蛋白不同毒株间高度保守^[7]。国内开发的重组 mRVNA NM57 在中和谱方面进行了深入研究。根据我国狂犬病病

毒流行呈地域特异性这一特点,选择不同年代、不同地点、不同宿主分离的狂犬病病毒毒株进行了中和试验研究,试验结果表明,NM57 可以中和中国各地域的流行狂犬病病毒代表毒株。

研究者使用小鼠、仓鼠、比格犬等动物暴露后模型对重组 mRVNA 的体内抗病毒保护效果进行了评价。在这些评价模型中,动物首先被给予致死剂量的狂犬病病毒街毒攻击,数小时后模拟 PEP 处置程序在攻毒部位给予重组 mRVNA 或作为阳性对照的 HRIG,并按 PEP 程序给予全程疫苗免疫,逐日观察动物的存活情况。对于死亡动物取脑组织制备涂片,进行

表 4 人源狂犬病免疫球蛋白临床试验安全性信息汇总

ID	受试者	地区	HRIG(IU/kg)	疗程(d)	例数	主要不良反应	严重不良反应
1	低暴露风险	克罗地亚	20	21	30	—	无严重不良反应事件
2	Ⅲ级暴露	泰国	20	360	40	注射部位不适	无严重不良反应事件
3	健康受试者	美国	20	42	32	注射部位过敏、疼痛	都为轻度,无严重不良反应事件
4	Ⅲ级暴露	泰国	40	360	56	注射部位疼痛	都为轻中度,无严重不良反应事件
5	健康受试者	美国	20	365	679	注射部位不适,头痛	都为轻度,无严重不良反应事件
6	健康人群	克罗地亚	20	35	44	—	无严重不良反应事件
7	健康人群	捷克	20	104	155	—	都为轻度,无严重不良反应事件
8	Ⅱ级暴露、Ⅲ级暴露	印度	20	42	120	注射部位疼痛、痒、头痛、无力	大部分为轻中度,有 1 例严重不良反应事件
9	健康人群	印度	20	42	20	注射部位疼痛	81%有不良反应,77%为轻度,无严重不良反应事件
10	健康人群	泰国	20	90	133	注射部位结痂、痒、红肿	都为轻中度,无严重不良反应事件
11	健康人群	印尼	20	90	134	—	无严重不良反应事件
12	健康或轻度暴露	泰国	40	182	88	注射部位疼痛、红肿	无严重不良反应事件
13	健康人群	加拿大	20	90	12	注射部位疼痛、红肿	无严重不良反应事件
14	健康人群	泰国	20	91	60	注射部位疼痛、痒、红肿	无严重不良反应事件
15	Ⅲ级暴露	印度	20	84	98	—	3 次严重不良反应事件,红肿、高烧、疼痛
16	Ⅱ级暴露、Ⅲ级暴露	泰国	20	365	106	—	都是轻度或短暂的,无严重不良反应事件
17	健康人群	泰国	20	91	58	—	只有一个异常,其余都是轻度
18	部分严重暴露	美国	20	365	90	最主要的是红肿、疼痛	无严重不良反应事件
19	健康人群	泰国	20	60	101	肌肉疼痛、肿胀	无严重不良反应事件
20	健康人群	美国	20、44 [*]	365	90	主要是疼痛和淋巴结肿大	无严重不良反应事件

注: *文献中出现一篇 44 IU/kg,本文中均作为 40 IU/kg 来处理

dFAT 检测,以确定动物是否死于狂犬病。重组 mRVNA NM57 以及 NM57S/NC08 组合制剂在多种动物模型的评价试验中,均表现出相当于或优于 HRIG 的保护效果。

已有几种重组 mRVNA 进入人体临床试验阶段,鉴于狂犬病病毒的特殊性,重组 mRVNA 的抗狂犬病病毒保护作用在人体临床试验中采用了与 HRIG 临床试验相同的评价方式,仍是通过受试者血清 RVNA 活性来体现^[8-10]。

印度血清学研究所开发的 mRVNA SII RMAb 已在印度获批上市。该单抗在印度开展的 2/3 期随机、单盲、非劣效、阳性对照临床试验研究,受试者为发生 III 级疑似狂犬病暴露后的受伤人群。受试者按照 1 : 1 的比例随机分组,接受 SII RMAb 加疫苗或 HRIG 加疫苗的暴露后处置程序^[8]。试验的主要终点为 PEP 后第 14 天 SII RMAb 给药组与 HRIG 给药组 RVNA 的 GMC 的比值,次要终点包括受试者在第 3、7、14、28、42、84 天 RVNA 的 GMC 值、抗狂犬病病毒糖蛋白抗体浓度、以及受试者中和抗体活性 ≥ 0.5 IU/mL (血清阳转) 的百分比。试验结果显示,SII RMAb 给药组在第 14 天的 GMC 值显著高于 HRIG 给药组;在此之前(第 3、7 天)及之后(第 28、42、84 天)的其它监测时间点,两组的 GMC 值无统计学差异。研究者认为,重组 mRVNA 对前期给予的疫苗的中和抗体活性干扰作用较小,而在第 4、第 5 剂疫苗接种后可提供与 HRIG 相似的中和活性。试验方案中并未对伤人动物的带毒

情况进行实验室确证。整个临床试验过程中无受试者死亡或发生狂犬病的情况,无严重不良事件发生。

国内在 mRVNA 开发方面,华北制药已完成其重组人源狂犬病免疫球蛋白(recombinant human rabies immunoglobulin, rhRIG)NM57 的 2 期临床试验研究。1 期临床试验是首次人体试验,在健康成人受试者中考察产品单用或与狂犬病疫苗联用的剂量耐受性和安全性,考察产品的药代动力学和抗体中和活性,试验结果显示,rhRIG 注射液安全性良好,未显示明显与产品有关的不良反应^[9]。相比单用疫苗,rhRIG 与疫苗联用在受试者中抗体中和活性出现更早,提示更好的保护作用。

2 期临床试验为随机、盲法、平行对照临床试验,在健康成年受试者中比较 rhRIG 联合狂犬病疫苗与 HRIG 联合狂犬病疫苗模拟 PEP 的安全性和中和抗体活性。试验的主要终点为 7 d 内 RVNA 的检出率,以及 14 d 内 RVNA 活性 ≥ 0.5 IU/ml 的受试者比例;次要终点包括第 3、7、14、28、42 天的 RVNA 活性、RVNA 活性曲线下面积(第 0~14 天、第 0~42 天)等。试验结果显示,单独使用同等剂量的 NM57 与 HRIG 临床保护效力相当;在以 20 IU/kg 或 40 IU/kg 剂量给予 rhRIG 并联合疫苗免疫后第 3 天和第 7 天,受试者血清中和抗体水平高于给予 HRIG 并联合疫苗免疫的受试者,且均高于单独使用疫苗免疫的受试者。在给药第 14 天以后,重组抗体对疫苗主动免疫的影响比 HRIG 的影响更小,且 20 IU/kg 和 40 IU/kg 剂量组间没有差

异。受试者总体耐受性良好,无因不良反应而退出试验的受试者。

6 展 望

采用基因工程技术制备的 rhRIG,由于抗体分子与人体免疫球蛋白结构相同,因此对人体来说不会被认作异源成分,人体耐受性好;同时,基因工程抗体采用工业化规模制备,种子细胞经过严格的内外源因子污染检测,从理论上彻底避免了血源产品可能携带人类病原体污染的潜在风险;由于制备抗体的种子细胞来源于同一个单克隆,生产效率稳定,产品批间一致性好,易于进行质控;目前研发阶段的重组抗体大多采用基因工程细胞经无血清培养基规模化培养,然后再经超滤、层析等步骤精细纯化,产品纯度高,而且由于通常所选择的 rhRIG 的效力(比活性)比 RIG 高得多,因此需要注射给予患者的蛋白总量大为减少,降低了不良反应事件的风险,患者使用更加安全。

此外,rhRIG 由于不受血液来源限制,可以实现规模化生产,因此在生产成本上更具优势,可以大大降低暴露后人群的用药成本。rhRIG 有望在不远的将来在狂犬病 PEP 程序中发挥重要作用。

参考文献

[1] Cabasso VJ, Loofbourow JC, Roby RE, et al. Rabies immune globulin of human origin: preparation and dosage determination in non-exposed volunteer subjects[J].Bull WHO,1971(45):303- 315.
[2] Baltazard M, Bahmanyar M, Ghodssi M, et al. Essai pratique du

6nrag antirabique chez les mordus par loups nrages[J]. Bull WHO, 1955(13):747-772.
[3] Habel K, Koprowski H. Laboratory data supporting the clinical trial of antirabies serum in persons bitten by a rabid wolf[J]. Bull WHO, 1955(13):773-779.
[4] Quiambao BP, Dytioco HZ, Dizon RM, et al. Rabies Post-exposure prophylaxis in the Philippines: Health status of patients having received purified equine F(ab)2 fragment rabies immunoglobulin (Favir-ab)[J].PLoS Negl Trop Dis,2008,2(5):243.
[5] Quiambao BP, Tioco HZ, Dizon RM, et al. Rabies post-exposure prophylaxis with purified equine rabies immunoglobulin: One-year follow-up of patients with laboratory-confirmed category III rabies exposure in the Philippines[J].Vaccine,2009,27(51):7162-7166.
[6] Hampson K, Dobson A, Kaare M, et al. Rabies exposures, post-exposure prophylaxis and deaths in a region of endemic canine rabies [J].PLoS Negl Trop Dis,2008,2(11):339.
[7] Natalia AK, Ivan VK, James AE, et al. Conservation of binding epitopes for monoclonal antibodies on the rabies virus glycoprotein[J].J Antivir Antiretrovir,2013,5(2):37-43.
[8] Gogtay NJ, Munshi R, Ashwathnarayan DH, et al. Comparison of a novel human rabies monoclonal antibody to human rabies immunoglobulin for post-exposure prophylaxis: A phase 2/3 randomized, single blind, non-inferiority, controlled study[J]. Clinical Infectious Diseases,2018,66(3):387-395.
[9] 王美霞,贾敏,金铭,等.不同剂量重组人源抗狂犬病病毒单克隆抗体注射液人体单次给药的安全性[J].中国生物制品学杂志,2013, 26(7):986-990.
[10] Bakker AB, Python C, Kissling CJ, et al. First administration to humans of a monoclonal antibody cocktail against rabies virus: safety, tolerability, and neutralizing activity[J].Vaccine,2008,26(47):5922-5927.

收稿日期:2018-10-22