

霍亂免疫學

藥學系校友 ■ 蔡廣涼 譯

I. 霍亂及腸內感染的免疫學新觀念

過去幾年在三個國家所做霍亂疫苗之實施調查以及由地方性霍亂所得的流行病學的資料可以說自然感染與預防注射均可對霍亂產生抗體而對疾病有相當的抵抗力。但二十年來的發現均強調對於霍亂的免疫在於小腸局部的因素是有其重要性的。除了尚不能完全明白霍亂對組織明顯地傷害及滲入組織的情形，我們已大略證實抗體是產生於小腸腸道的組織內，尤其在確實地將抗原帶到這些組織的有利情況下更是產生。這種發現之抗體各種表皮分泌中的主要抗體球蛋白即所謂分泌 Ig-A (Secretory Ig-A) 有關。

有關霍亂免疫學的有效控制，必須著重於對於局部的血清免疫學的知識。

免疫反應必須考慮兩種相異類型的免疫機構作用的相互關係。第一類型免疫由血行循環的抗體而來 (Circulating antibodies)，第二類型 (Specific cell-mediated Immune response) 由感應之淋巴細胞而來。關於第二類型所知尚少，現在較注重於抗體性與循環抗體間的關係。

近年來已明白血清抗體是相關蛋白質的複合體，如我們所知的免疫球蛋白。同時對於腸胃的及其他的分泌的抗體的研究重新受重視，尤其從最近確定 Ig A 是存於腮腺、初乳、眼淚、鼻及氣管的分泌以及小腸液的重要免疫球蛋白。此分泌的 Ig A (Secretory Ig A) 與血清中之 Ig A 有很多不同。血清中的 Ig A 是一種單體，而初乳與唾液中的 Ig A 則至少 60% 是 22 體而多含一個一分子量為 50000 的 peptide 鏈。多的這一個 peptide 鏈可於表皮細胞的細胞質中發現，並定名為 Transport piece 這是假定由 Submucosal Lymphoid 細胞所合成之 Ig A 當過細胞時這 peptide chain 被附加上去的，然後分泌出。不過尚無直接的事實來證實

這一假說。

“分泌的” Ig A (Secretory Ig A) 免疫球蛋白已證實它的抗體效力，在實驗人體內能對抗一些病毒感染，而與 Naso pharyngeal 分泌的 Ig A 抗體的程度有關。

流行性感胃疫苗以噴氣的方式要比注射更能在呼吸道分泌，產生特異的抗流行性感胃抗體。並且當流行性感胃發生時使用噴氣式疫苗的人群其染患情形要比注射疫苗的人群低。事實證明陰道局部免疫之抗體反應亦較注射免疫為佳，對於 Ig M 之形成的免疫記憶 (Immunological memory)。

抗原抗體的結合 Ig G 要比 Ig M 強，其活性亦依免疫球蛋白的不同而有異，同時時間與重複的抗原刺激可增強其活性。

打預防疫苗而于能腸管壁產生有效抗體的機構作用 (尚須求更進一步的知識)。而外分泌的免疫系統亦須評定其在局部腸免疫所佔的地位。

霍亂的成為病原至少須有兩個步驟。(1)有效的在腸管內感染。(2)由感染微生物產生毒素而有腹瀉的病徵。這兩種步驟各有其不同的免疫機構作用，一種與抗菌免疫有關；另一種與抗毒素免疫有關。可各別的以各種動物作相當的研究。

1. 抗菌免疫：

由於感染局部限于小腸管壁抗菌免疫的機構作用很可能在於腸壁，而非在於小腸組織內。雖然有一些學說論及免疫機構作用的性質，例如阻撓細菌吸附，噬菌及溶菌等作用，但尚無有力的證據。要了解人類小腸管壁內的宿主—細菌之關係尚有基本的困難，諸如不知道細菌是否能自由的在管壁繁殖，必須藉著與絨毛的尖或小窩的特殊關係。關於這點的研究必須在疾病的潛伏期間或恢復期進行，而不能在關係已中斷的急性腹瀉症 (狀) 時。

注射含殺死的全細胞或類脂多醣類的疫苗可達到抗菌免疫 而於免疫的程度已在幾次的實驗中確

綠杏16期

認。同時免疫程度也可用血清 *Vibriocidal* 抗體力價得知。*Vibriocidal* 力價的計算法是依據 Ig M 及 Ig G 的依賴補體反應而尚不知這些免疫球蛋白是否在腸免疫中佔有何種角色。

2. 抗毒素免疫：類毒素

霍亂毒素的作用部位尚未確定，以家兔及狗所作的研究推定作用在小腸的上皮表面。以狗作實驗，一再的用毒素作用於小腸似乎不能產生有效的免疫來對抗稍後的毒素攻擊。但是注射含有毒素疫苗的結果能保護腸曲部不受毒素的攻擊，含毒素的疫苗尚未用人試過。人類於臨床霍亂後產生血清中和之抗體，就是 Ig G 有關此抗體與人的免疫之關係尚無研究，所以人的抗毒素疫苗及抗菌免疫的相對重要性尚不能確定。

霍亂感染後的免疫性：

目前尚無完善的測定霍亂感染後的免疫程度的方法，尚無霍亂二次感染的正式報告，但比等感染的可能性也很渺茫，這問題可做為口服較注射有價值的說明。上述以狗做實驗如上面提出的報告，說明口服並不能有效的起抗毒素免疫。而抗菌免疫則注射比口服為佳，不過這兩種觀察未必為真。第一注射疫苗臨床的比較霍亂病例能產生持久的 *Vibriocidal* 抗體。第二最近流行病學研究指出地方病地區的小孩子可能每年均會再感染，假如這情況不假那麼一次的口服免疫並不能保證能充分的抵抗另一次的攻擊，口服較注射免疫為佳的評價尚須更多的資料。

決定疫苗及徑路的一個最起碼的因素是了解腸管內免疫的機構作用，要是分泌 Ig A 在此佔著主要的地位，那麼口服免疫就更形重要了。所以必須獲致有關腸內的免疫機構作用，抗原得以進入形成抗體的組織區之徑路，局部（口服）疫苗而引起之免疫反應的形式，說明這些研究，當然的至少對這些抗原要有精確的定義與特性說明以及他們在霍亂病原性及對疾病產生免疫所據的地位。對某流行地區的研究顯出幼兒對於注射霍亂疫苗的初反應，漸漸變為有如再免疫的反應顯而易見的在此時期中發生了自然感染，並且 *Vibriocidal* 抗體顯然的上昇，每年約增 5% 這類型的自然刺激而成霍亂免疫似乎並不一定，唯有由霍亂弧菌感染而來，因為在非流行地區（如美國、捷克、匈牙利）顯出一種低的但是確實存在的 *Vibriocidal* 抗體，而當只打一次的霍亂疫苗就有再免疫的反應。雖然這種抗體是在沒有霍亂地區的人群中發現而往往當它是自然抗體，

但是並非自然的發生而是由於與抗原性跟亂有關的細菌接觸而來，例如魯氏菌屬及假單胞菌屬。

於霍亂免疫的了解尚有很多困難，有些人雖然血清中含有足以抗霍亂的抗體程度但是仍會發生霍亂病。霍亂弧菌引起疾病的最可能的機構作用是產生毒素，一些或全部的毒素已經確認或則尚未確認。但是，經實際實驗證實較為有效的疫苗並不含毒素抗原。

霍亂弧菌的再感染在流行地區常常發生，但再發病則很少，居於流行地區的小孩其抗毒抗體程度先達於頂峯再降下的情形引起抗原刺激性質及霍亂重複感染所導致的反應等問題。

對於這些因素，略有價值的資料很少，且傾向於對臨床霍亂的加強或減弱抗力方面。由所得資料指出慢性營養不良及懷孕是增加危險性的因素，但這些因素及其它比較性因素的資料，尚不充實，而對於此問題的精確研究還是須要的。同樣的用被動免疫法打入抗體的（預防）霍亂的價值尚不能確定，嬰兒很少有霍亂的情形，可知母親抗體的效用，但以現在的知識來說這種輸送在任何情況下大概是無效的。最後，霍亂免疫或由基因決定的可能性尚需小心的求證。

細胞免疫的觀念，就霍亂來說似無關係，不過由於此問題的無知，這種論斷或不能太重視而對於這問題研究還是應予鼓勵。

II. 抗原及其分離

細菌抗原：

霍亂弧菌的體抗原是對熱安定，很多他種弧菌是易受熱破壞的抗原。這個時異抗原包括有群抗原及兩個 Serotypes 抗原，另外可能的抗原也能分辨出。就是這個抗原的複合物（包括內毒素）誘導小白鼠預防抗體的生成。

抗原組織、抗原性、弧菌抗原的特異性。

優異的熱安定抗原以字母表示，A 代表群特異性的，O 抗原乃是小川 Serotype 抗原，C 是稻葉 Serotype 抗原。Hikojima Serotype 包括兩種 Serotype 抗原及群特異性抗原，Serotype 的轉變，由小川型變稻葉型經觀察結果在試管內及在活體內均會發生。最近已發現產生對疾病有效的免疫的其它重要抗原，易受熱破壞的 *Cholorigenic* 毒素是其中之一；另一個是一個蛋白質含有一主要抗原，它與高純度的類脂多 類有相似的反應。

霍亂抗原的免疫化學：

Serotype 抗原的抗原特異性顯然可以高分子量 (約一百萬) 的類脂多醣類 moieties 來決定, 這些類脂多醣類 moieties 可分別由兩種 Serotypes 分離得高純度的物質而且顯出能誘導產生保護小白鼠及 Vibriocidal 的抗體。它們是內毒素, 只有在液體培養的弧菌發生自溶的上清液可發現。

以 Choleric 毒素為代表的抗原以及連在一起的無毒性蛋白質是存在於弧菌的細菌內質中, 而不是在細胞壁, 這複合物自由的擴散進入液體培養基內, 毒性的 moiety 可當這是一種外毒素。這兩種抗原不能以 Sephadexes 做的分子篩來分離, 但可用離子交換層析法加以分離, 因為毒性抗原帶有強正電荷, 它先被排出以部份 I 代表。部份 II, 由 DEAE Sephadex 在 0.5M 氯化鈉溶液中排出, 是無性的。兩種均是 Lipoproteins, 部份 I 含有 25~30% 的甘油化的脂類, 而部份 II 含有 6~8% 的 Serine-based 脂類。各含約 3% 的碳水化合物, 其餘是由通常的氨基酸或多或少的維成蛋白質。毒性部份可再予精製, 例如在低溫下以酒精, 乙醚沉澱的方法判定的抗原, 主要的一條與高純度的 Lipooligosaccharide 有類似的作用, 並誘導 Vibriocidal 抗體的產生。

"Whole-cell" Antigens (全細胞抗原)

在細菌細胞內發現的抗原並不是全部均與誘導產生有效的預防免疫有關。大部分的弧菌菌株不具有高的毒性, 目前使用的疫苗產生抗菌免疫, 在活體內小白鼠試驗來證實, 在玻璃管內可以 Vibriocidal 抗體說明, 即使毒性較高的弧菌菌株由凍瓊脂育成弧菌然後做成食鹽水濁液, 其所含的毒素抗原還是很小, 經多次觀察, 以活的弧菌來免疫實驗動物所得到的抗實驗用腸內霍亂的防禦抗體力價要比使用死菌疫苗的免疫為高, 至少對某些種動物是如此的。

毒素:

由於各種檢定方法, 及毒性物質的種類太多, "霍亂毒素" 已變得不只不確定, 而且令人困惑。霍亂毒素可分三種類型的群。第 I 型包括可使白鼠致死的因素, 可能是一段的內毒素, 對熱安定, 無透過性, 只有在自溶時才可於液體培養的上液中發現。第 II 型的毒素是易受熱破壞, 無透過性, 可擴散入液體培養基中, 這群包括可導致組織內的水分及離子移入小腸管壁的因素, 這群尚包括 "滲透性因素" 的毒素。有一些尚未能肯定的事說明滲透性因素並不就是 Choleric 毒素。細胞毒作用的性

質還不能確定。第 III 型毒素包括熱安定易透過因素能阻止 Aunran 上表皮中活性鈉之輸送, 在試管內的試驗, 可阻止腎組織對 P-amino-hipparde 的吸取。有一些事實說明前者的作用可能是因為鈉的存在, 將鈉完全除去也能使阻止 PAH 吸取降低三分之一。這些毒素中, 第 I 型毒素最值得注意, 它的高純度的類脂多醣類, 能刺激產生抗菌抗體, 而可能與抗菌免疫有關。部份 II 亦可能有關係。純的 II 型毒素也許是這些抗原中最重要, 因為它的作曾于多種動物的腸內經實驗而得證明。但目前使用的疫苗只含很少量。

其他必須強調的事是用試管內血清試驗判定中和毒素的抗體價的發展。血清學的方法有血球凝集反應, 定量補體結合反應 Bentauite 及 latex 凝集試驗不適用。要發展出一種特異的血清學方法得靠更進一步對毒素物質的化學與物理的分劃而得到抗原均一的物質。所以繼續這種化學的研究應列為優先。

類毒素:

有幾位研究者認為免疫力會被甲醛大量破壞, 還有幾位用甲醛予以非化, 所得的免疫反應很差, 相反的, 滲透性因素毒素用甲醛處理過的要比不用的抗原性高。"無毒化" 是否需要亦有人表示懷疑, 因為純的成品用注射的方法是無毒的。

III. 抗體及其測定

測定凝集 Vibriocidal 及毒素中和抗體 (包括 Choleric 毒素及滲透性因素) 的方法, 是可靠的, 所以本小組著重於抗體性質的討論。據報告 Vibriocidal 作用至少含有兩種免疫球蛋白 (Ig G 及 Ig M), Ig M 尤為重要。毒性抗原似與其他蛋白質抗原作用類似, 霍亂的病理生理學, 著重於糞便抗體的重要性, 雖然在感染的猴子小腸分泌物及霍亂患者大便內發現 Ig A 及 Ig G (或者是 Ig M) 對於這些抗體的性質所知還是很少, 不過這些抗體對小腸的免疫性所佔的地位還不知道。目前, 所有的毒素中和試驗都用動物作, 這樣要做很多樣品就很困難, 尤其是血清學的調查。所以應強調用試驗做抗毒力價測定的方法。

IV. 抗體與免疫的關係

抗體殺死並排出活菌, 這是很難估定其價值的。溶菌現象 (Pfeiffer 現象) 曾以在血清內及腹腔內操作來說明與血清抗體的作用的關係, 而在腸管

綠杏16期

壁內的作用如何則值得懷疑。在以任何特殊的技術測定抗體力價的意義得到可靠的結論以前，各個抗原Moieties所具有的病原性應予確定。

身體表面的局部感染如白喉疾病的發生偏重於外毒素，免疫與用中和試驗測定的血清抗毒素力價有關係。但是甚至較單純的白喉病例，抗體與免疫間的關係也不是直接的，因為再免疫的機構作用，而加速產生抗毒素的情形，允許一個人起初只有低的抗體血清力價而能及時產生追加抗體。

如霍亂等的腸感染以抗體霍亂弧菌主要是在腸管壁。任何血清抗體力價與腸內Vibriocidal系統只有間接的關連，在此過程中Vibriocidal抗體產生的程度到目前還不能提出一個清晰的觀念，因為Vibriocidal作用是以血清試驗決定的，該血清含有特異性抗體，所有的 $C_1 \sim C_4$ 補體的組成份，溶血素及其他因素（可為Bentonaire吸收）雖然腸管的滲透性增加的反應（例如基於抗原—抗體的過敏性及互作用的反應）可使相當量的所有這些成份由血清進入腸管壁，IgG，IgM當有這些成份存在時是否在腸內有作用還是值得懷疑。另一種情形，免疫要是完全靠着IgA的部分，那麼當有適當的溶血素，而全無補體因素時會具有Vibriocidal的作用，這抗體部分在腸內的高低程度不能只以血清中IgA特異性抗體來衡量，因為多少不定但有相當量的IgA是在局部性的腸壁的血漿細胞原製造的。

因為Vibriocidal作用可能是霍亂免疫最主要的因素，那麼也許應著重估計血清抗毒素中和Cholorigenic毒素的情形，假如用兔子小腸的腸彎或皮膚來做試驗，理論上若有高程度的Cholorigenic抗毒素就能表示，對臨床的霍亂有免疫性，但對腸管內有毒弧菌的增殖則不能表示。現在是以Vibriocidal為準，也就是說若有適當的Vibriocidal抗體則既使抗毒素力價很低，亦算是有免疫性。具有適當的Vibriocidal機構作用，能使另一有效的霍亂弧菌劑量的免疫力減少至無效的程度。

用中和試驗來決定Vibriocidal凝集抗體，皮膚滲透性因素（PF）現在也可應用Microtechniques手做，使用這種方法就能做大規模的調查工作。在霍亂流行地區群眾的Vibriocidal抗體的力價已證實與預防霍亂有密切關係。所以血清學試驗法可說有下列幾個用處：(1)疫苗力價的初試驗(2)說明疫苗實地試驗的結果(3)評定疫苗使用計劃的成效及各不同人群對霍亂的免疫程度。

Vibriocidal及PF和試驗也可應用於判定V

cholerae的不明顯感染的流行性病學研究。只是PF中和力價與免疫力並無關係。

研究測定抗“下痢毒素”（cholorigen）抗體的方法是非常需要的。該方法應可適用於大規模的實地調查，以便決定這些抗體在霍亂免疫上所佔的重要性。

因為由血清學研究中得到很多的資料，所以將來霍亂疫苗的實地試驗必須以血清學調查為一個基本的資料。為了明瞭這些血清學試驗的重要性，小腸管道的免疫機構作用要加以確定以及用這血清學試驗測定的血清抗體的關係到底與在小腸內的抗體有何相互關係也應知道。

V. 疫苗Vaccine

本小組審視在東巴基斯坦（1963, 1964 和 1966）菲律賓（1964 和 1966）及印度加爾各答（1964 及 1965）的幾個實地試驗結果。所有的試驗似乎均有相同的趨向，只有一個例外就是1964年於菲律賓使用油質佐劑的疫苗大多數的情形是有最高禦防力且具有免疫意義者佔30~80%有效期間為3~6個月。油質佐劑疫苗預防時效拉長，但往往有非預期的幾種局部反應。

小於10歲的年輕人群防禦力很差，特別是嚴重流行的東巴基斯坦地區到目前所收集的事實指出目前使用的液體疫苗對在危險時，地中的人群既不能產生高度的免疫力，也沒有長時間的防禦力。

實地試驗的結果與實驗室檢定的疫苗力價的關係還不能完全確定。WHO曾安排國際合作測定在1964~65應用於加爾各答實地試驗的疫苗。不過由於缺乏這些疫苗應用於實地的統計上有意義的差異，所以不能確是實驗室的檢定結果（根據小白鼠防禦力及其他試驗）可用以說明疫苗用於實地試驗的效果。使用液體ELTor疫苗菲律賓1964的試驗，在人與小白鼠均較液體“classic”的疫苗力價要稍微高，但不重要。比較應用於東巴基斯坦的疫苗的實地試驗情形以乎表示對小白鼠有較高力價的在實地試驗中有較好的防禦力。測定小白鼠的防禦力。測定小白鼠的防禦力而將各疫苗依序排列，其排列次序約與東巴基斯坦小孩子做Vibriocidal抗體反應的抗原性的順序相同。

當討論全細胞死菌霍亂疫苗時本小組強調使用安定抗原性的菌株的重要性。並注意到製造疫苗，用已知其性質在適當保存下的貯存菌株要比新分離的好。就疫苗的製造而言，“ELTor”屬於“C

lassic" 屬並無特別區分，因為它們的抗原性相同 " classic " 有菌株顯然完全適合，而對 " EL Tor " 感染有防禦力。關於培地的選擇，生長條件以後殺菌用藥劑或防腐劑。本小組依實地試驗及實驗室的資料，目前使用的各製造法難分優劣。

本小組也討論使用活的無毒素弧菌疫苗的可能性，口服接種在印度已在進行一些研究。利用有效的活的弱毒口服疫苗的理論是很清楚的，但實際問題却很多。最先考慮的就是安全問題，做口服疫苗的候選菌株必須能在人類腸內繁殖而不引起疾病，要有高的安定性而沒有再變成毒性的做口服疫苗的傾向，要有幾個適當的基因標識以便做確實的定性。除了選擇適當的菌株，使用法以及管理也是問題。活的弱毒口服疫苗的研究假如認為是可行的，還得相當長的時間才能獲得可用於廣泛的人類試用的優良的疫苗。因此，必須立刻努力以赴，同時對較易達到目標的其他研究亦應推進，例如製造菌體與毒素，類毒素混合疫苗或研究含佐劑的疫苗。研究活的口服疫苗。

活的注射用疫苗的使用可能性亦應考慮，因為相當數目的動物試驗顯示活的弧菌細胞具有很好的抗原性。

使用高純度的抗原如小川型類脂多類及稻葉型 Polysaccharide-Proteolipid 複合物。提供了只含很少其他反應物質的有效抗原的大劑量應用的理論上的可能性。在東巴基斯坦的實地試驗，小川型類脂多醣類，只在成人能誘起防禦力，不過，所用的抗原是小川 Serotype 具有高度特異性的，而在此試驗中大部分的感染是由稻葉 Serotype 而來的。純的稻葉型部分將於 1968 年秋天在該地區做實地試驗。雖然這些製品對小白鼠有很好的防禦作用，但是對小川型抗原的抗體反應，就動物與人來說都比全細胞疫苗差。本小組也注意到 cholorigenic 毒素抗原當作免疫可能是免疫機構作用的一個重要部分。目前所使用的疫苗只有很少或不可能產生抗毒素。一般認為當毒素抗原（或如果可能的話，類毒素）與其他抗原混合而引起抗菌免疫，如此最有用，製造純毒素尚有很多問題。純的迴腸腸曲的毒素是不安定的，很快就失去毒性及免疫性，由迴腸腸曲毒素製造滿意的類毒素目前還不能達到，人類對目前製品產生反應的報告並不受重視，相反的，滲透性因素毒素的實驗性類毒素對動物顯出較厚毒素抗原性高。要是高純度毒素免疫物當做研究免疫的機構作用的專門性材料，那麼製造這些成品似乎不經濟

。加強霍亂疫苗效力的最佳且最迅速的方法是在已經能刺激產生相當程度的免疫的霍亂疫苗已有的抗原外加入毒素（或類毒素）。

熱衷於使用抗毒素的免疫藥劑必須顧慮到以狗及家兔實驗所得的事證，這些事證顯示這些藥劑在達到作用部位前多在腸管壁內與毒素中和。這些事實明白的指出高度的有效免疫反應的必要條件是在分泌中有適量而繼續不斷的抗毒素抗體。這情形與其他的抗毒素免疫系統（如破傷風）相同，要有短時間的 Anamnestic 反應發展期。

目前已知霍亂疫苗可成功的數種其他抗原混合（如傷寒、破傷風）廣泛使用霍亂疫苗與破傷風（或者白喉）類毒素的混合疫苗對發展中國家具有很大的公共衛生價值應無問題。因霍亂流行地區其破傷風與白喉也都是流行時疫。

目前使用的疫苗它所引起的免疫力有效期不長，所以使用佐劑以增強免疫反應及拉長有效期間的可能性很受重視。鋁化合物是最安定的佐劑，而且在其他的疫苗已有很多的應用試驗，所以鋁化合物應用於霍亂疫苗是可能的。鋁化合物能加強霍亂疫苗反應已有事證。雖然油質佐劑要比鋁化合物有效，但油質的使用尚有許多問題未解決，特別是安全問題，當油質加入破傷風類毒素霍亂疫苗及傷寒疫苗時有幾種不良的反應。另一方面，應用於流行性感感冒疫苗安全問題的記錄卻不錯。已知油質乳化劑具有很好的佐劑效果，應鼓勵繼續研究，包括除了 "Arlacel A" 外的可代謝的油質及乳化劑的研究。

要是對抗原含量的適當控制及保證不含由培養基而來的反應物質都能小心做的，那麼霍亂疫苗的一些不良反應並不一定是主要的問題，在靠律賓所觀察到的使用油質佐劑產生反應的理由還不太瞭解，鋁化合物當佐劑毒性小。

霍亂疫苗的過敏反應往往成爲問題，由重複的接種的良好經驗及研究出更有效的抗原及佐劑的可能性來看本小組認為不良的免疫學現象的可能出現應時時注意。

VI. 研究方向的提示

本小組推薦有關霍亂的進一步研究的一些題目：

A、一般性的免疫學及病理學：

1. 有關感染及免疫的一般知識的拓展，尤其是關於小腸道。
2. 小腸局部免疫的機構作用的性質及動力學。
3. 霍亂感染的確認部位及動力學的說明。

綠杏16期

4. 細胞免疫在霍亂中所占的重要性的說明
5. 確定附帶或非特異性因素如營養，基因及其他因素對霍亂的抗力或敏感性的影響情形。
6. 霍亂的抗原抗體動力學的瞭解。
7. 提高對在腸內血清抗體所具的重要性。
8. 決定說明血清 IgA 與小腸 IgA 的關係。
9. 研究尚未試驗過的佐劑例如植物油及維他命 A 的使用可能——包括用此方法以加強口服免疫的可能性。
10. 說明“滲透性因素”與“下痢因素”的相互關係。

基於霍亂的可靠治療法已能應用且所有需要預防的均注意到，利用自願者或能預期解決一些不能利用動物或實地試驗來解決的問題，題目 2、3、4 及 7 都是可能只有從直接研究自願者才能得到有效答案的問題。

B、特殊的免疫機構作用：

1. 尋求 Vibriocidal 力價，抗毒素力價以及其他血清學上可能發展出的事物與對霍亂免疫或敏感性的關係。
2. 判定霍亂免疫性的更進一步的研究，特別是可應用於血清流行病學的試驗。
3. 增進對霍亂免疫反應的瞭解，利用所有可資利用的現代技術以進行研究，包括對人及動物。
4. choleric 毒素的分割、精製、推定其性質研究應著重於：
 - (a) 探知毒性的 Moiety 的性質。
 - (b) 研究一特殊的血清學反應以便在試管內做中和抗體的測定。
 - (c) 研究一個安定具免疫性的抗原。
5. 確認因霍亂感染成免疫而引起的可能的免疫病理的機構作用。尤其注意誘起腎臟疾病或“類澱粉蛋白”變更，細菌所可能佔的重要性，過度免疫物也許特別適於這種研究。

C、疫苗的試驗及發展：

1. 活的減毒疫苗，以基因標識來認定其性質，安定性及免疫學的判定標準等的研究，使用這些疫苗的初步研究可以小群人來做以得到它們的反應，接受性及免疫力價等基本的資料。
2. 用活的減毒疫苗注射免疫的可能用處的評價。
3. 活的或死的疫苗用口服接種的效果的評價。
4. 混合使用口服及注射接種計劃的用處的評價。
5. 用實地實驗的方法來評定含礦物質霍亂疫苗的價值。

6. 收集下列物質的作用及免疫力價的基本資料。

(a) choleric 毒素。

(b) II 部分的蛋白質一種產生 Vibriocidal 抗體的誘導物。

為此目的，用特別的純物質做初步研究可於小群人中進行。

7. 改進注射疫苗的研究特別是有有效長免疫力的疫苗。

8. 霍亂毒素及類毒素的有效安定機構作用的研究。

9. 製備毒素抗原與菌體疫苗的混合物，假如初步研究（如 6 所述）認是此步驟的價值就做實地試驗。

10. 推展血清學試驗的用途，並檢驗不明顯感染及實地試驗中的臨床霍亂。

11. 建立良好的疫苗計劃、劑量、注射徑路，特別注量 Boosters 或再免疫的間隔時間延長的可能性。

12. 就本報告所提出的其他候選疫苗若合乎安全，力價及接受性的要求做實地試驗的評價。

13. 研究霍亂與破傷風類毒素的混合疫苗用於基礎免疫的可能性。

14. 研究改進檢定霍亂疫苗的實驗方法，配合實地試驗以決定以對人的防禦力的關係。

本小組認為國際合作研究抗體力價測定法抗原試驗等工作應作安排。所需要的對照血清，弧菌菌株等應準備好。霍亂的免疫學基本知識的更進一步研究應由 WHO 推進。