

基于大肠杆菌表达体系的第二代国产HPV疫苗可诱导高滴度中和抗体

朱孔鑫^{1,2}, 毕兆峰^{1,2}, 陈祺^{1,2}, 钟国华^{1,2}, 吴婷^{1,2*}, 张军^{1,2}, 夏宁邵^{1,2}

1. 厦门大学公共卫生学院, 翔安创新实验室, 传染病疫苗研发全国重点实验室, 厦门 361102;

2. 厦门大学公共卫生学院, 国家药监局传染性疾病预防检测技术与评价重点实验室, 分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 国家医学攻关产教融合创新平台(疫苗研发), 分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心, 厦门 361102

* 联系人, E-mail: wuting@xmu.edu.cn

The second generation of domestic HPV vaccine based on *Escherichia coli* expression system can induce high titer neutralizing antibodies

Kongxin Zhu^{1,2}, Zhaofeng Bi^{1,2}, Qi Chen^{1,2}, Guohua Zhong^{1,2}, Ting Wu^{1,2*}, Jun Zhang^{1,2} & Ningshao Xia^{1,2}

¹ State Key Laboratory of Vaccines for Infectious Diseases, Xiang'an Biomedicine Laboratory, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China;

² National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in Infectious Diseases, State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, National Innovation Platform for Industry-Education Integration in Vaccine Research, NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Infectious Disease Diagnostic Technology, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China

* Corresponding author, E-mail: wuting@xmu.edu.cn

doi: [10.1360/TB-2024-0880](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0880)

宫颈癌是全球女性癌症和癌症死亡的第四大病因, 每年约有604127例新发病例和341831例死亡病例, 其中超88%的新发宫颈癌病例发生于医疗资源较为缺乏的中低收入国家, 中国也是疾病负担最重的国家之一, 几乎所有病例都是由高危型人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)的持续感染所导致^[1]。

HPV是一种具有高度上皮组织嗜性的双链环状DNA病毒, 基因组长度约8000 bp仅编码8个蛋白基因, 其中E6和E7是主要的HPV癌蛋白。其主要作用于p53和视网膜母细胞瘤肿瘤抑制蛋白(pRB)等重要靶点, 通过抑制p53、pRB等靶点, 阻断细胞凋亡、消除细胞周期阻滞、积累遗传错误, 随着时间的推移细胞逐渐癌变^[1,2]。除高危型HPV感染所导致的宫颈、阴道等部位的癌变外, 低危型HPV还可导致尖锐湿疣、复发性呼吸道乳头瘤等病变。

HPV感染及相关病变为世界各国造成了巨大的疾病负担, 接种HPV疫苗是预防宫颈癌和其他相关疾病最有效的干预措施之一^[3]。目前已获批上市的6种预防性HPV疫苗均由纯化的L1结构蛋白自组装形成的病毒样颗粒(virus-like particles, VLPs)制备, 通过高度模拟病毒衣壳蛋白的VLP诱导产生高水平HPV型别特异性的中和抗体, 并可透过血管壁在局

部上皮组织中达到较高浓度。当病毒通过受损的黏膜上皮接触基底细胞时, 组织中的抗体可与其表面抗原位点发生特异性结合, 保护机体免受病毒侵害^[4]。已上市的疫苗中, 5种为第一代HPV疫苗, 可预防危害最大的两种高危型别(HPV 16/18)感染及约77%的宫颈癌, 第6种为第二代九价HPV疫苗, 可额外覆盖5种高危HPV型别, 即HPV 31/33/45/52/58, 可预防约94.7%的宫颈癌^[5]。真实世界监测结果显示, 推广HPV疫苗接种后人群中疫苗型别HPV感染及其导致的宫颈癌前病变、肛门生殖器疣等疾病发病率显著降低且具有明显的群体保护效应^[6]。但受限于技术壁垒、供应能力、价格等因素, 诸多疾病负担重、急需HPV疫苗的发展中国家(如中国)难以获得充足的疫苗供应。

厦门大学和万泰生物的研究团队基于大肠杆菌系统开发了新的VLP制备方法, 研发了国产双价HPV疫苗馨可宁, 通过基因工程技术改造HPV L1蛋白, 引入融合蛋白和分子伴侣的共表达, 使其在大肠杆菌中高效的可溶表达并进行VLP自组装^[7], 可在提高培养速度、生产简便性的同时降低生产成本, 进而降低疫苗应用成本。确证性临床试验评估结果显示, 疫苗对高级别上皮内瘤变的有效性为100%、对持续性感染的有效性为97.3%^[8-12], 第三方机构的免疫原性评价结果也显

示, 馨可宁的免疫原性与进口四价疫苗相当^[13]. 自2019年获批上市后, 已在国内356个地市得到应用, 并参与9个省(直辖市)的政府免费HPV疫苗接种项目, 有效缓解国内疫苗短缺、供应受限的困境. 截至2024年11月, 除供应中国外, 馨可宁在19个海外国家获批上市, 并被泰国、尼加拉瓜等5个国家纳入国家免疫规划.

基于相同的大肠杆菌表达系统, 研究团队开发了第二代九价HPV疫苗(馨可宁9), 并在小规模I期临床试验中初步证明了其安全性和免疫原性^[14]. 为在更大范围人群中进一步评估其免疫原性和安全性, 研究团队在江苏东台开展了一项随机、双盲、安慰剂对照的II期试验. 符合试验方案要求的女性志愿者被随机分配至试验组或对照组(1:1), 按照0、1、6月程序完成三剂次对应疫苗的接种. 在疫苗接种前、三剂接种后1个月(7月)采集所有志愿者的血样, 进入免疫原性亚组的志愿者将额外采集第二剂接种后1个月(2月)的血样进行抗体检测, 评价疫苗的免疫原性, 并评价疫苗的安全性^[15].

在九价疫苗组基线血清阴性的志愿者中, 几乎所有志愿

者在第7个月时都发生了9种HPV型别特异性抗体的血清阳转, 仅2名志愿者的HPV 11型未阳转, 各型别中和抗体的几何平均滴度(geometrical mean titers, GMT)虽略有差异, 但均处于高水平, GMT从HPV 11型的1553.9(95% CI: 1410.6, 1711.7)到HPV 33型的18370.8(95% CI: 16563.5, 20375.4)不等, 且在18~26、27~36和37~45岁3个年龄组间抗体水平具有可比性(图1)^[15]. 在免疫原性亚组志愿者中评估了0月、1月接种两剂试验疫苗后的免疫反应, 结果显示两剂疫苗接种后可诱导较高滴度的中和抗体, 预期两剂次程序也可以提供较好的保护. 该结果支持后续在更大人群中针对HPV感染和相关病变进行疫苗的有效性评估.

世界卫生组织(WHO)于2020年发布《加速消除宫颈癌全球战略》, 提出在2030年实现“90%的女孩在15岁之前完成HPV疫苗接种”的战略目标, 中国在《加速消除宫颈癌行动计划(2023—2030年)》中也对促进HPV疫苗接种提出要求. 但受限于疫苗供应短缺、应用成本较高等诸多因素, 全球HPV疫苗覆盖率仍难以有效提升, WHO及诸多国际机构日益重视对于接种方案的优化探索. 相关研究结果显示, 在9~14岁

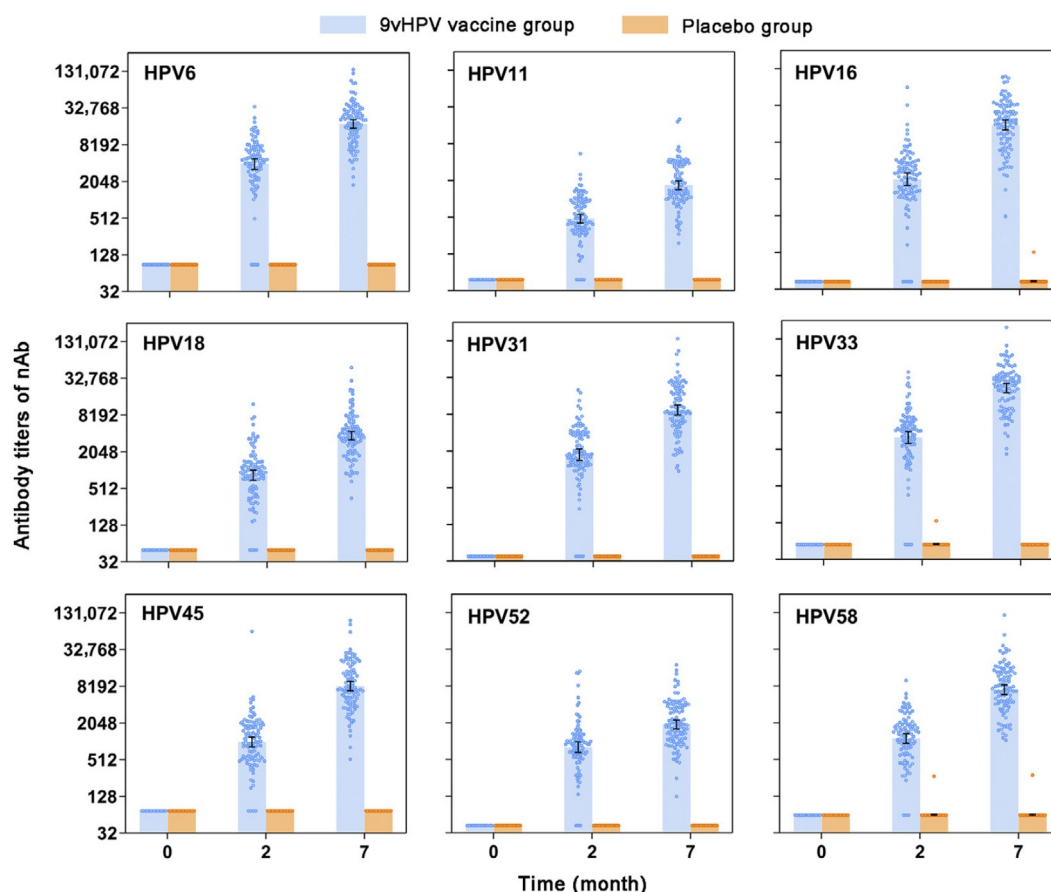


图1 免疫原性亚组(per-protocol subset for immunogenicity, PPS-I-sub) 0/2/7月时各HPV型别中和抗体滴度
Figure 1 Neutralizing antibodies titers at months 0, 2, 7 for HPV types 6/11/16/18/31/33/45/52/58 in PPS-I-sub

女性中接种两剂次后可激发较强的免疫反应, 抗体水平非劣效于15~26岁女性三剂次程序^[16-18], 而单剂次研究结果也显示接种后免疫反应良好^[19,20], 且减少剂次后仍可对疫苗型别HPV感染、宫颈癌前病变等提供有效保护^[21,22]。基于上述证据, WHO于2022年12月的立场文件中开始推荐一剂或两剂接种方案。但目前全球关于九价疫苗一剂或两剂接种程序的研究仍较少, 本研究报告了第二代国产HPV疫苗两剂接种后的免疫反应情况, 将为后续抗体动力学研究、免疫程序优化及疫苗推广应用等提供理论依据。

此外, 安全性观察结果显示, 九价疫苗组中约80.8%的志愿者在接种后报告了不良事件, 报告率略高于安慰剂对照组(72.9%, $P=0.0190$), 差异主要源于九价疫苗组局部不良反应

的发生率高于安慰剂组, 分别为60.1%、28.7%($P<0.0001$), 两组间全身不良反应发生率无显著差异。大多数不良反应的程度较轻、持续时间短且能够自行恢复, 未发生与疫苗相关的严重不良事件, 提示疫苗的安全性良好。

自HPV疫苗问世以来, 供应不足和高成本便是限制其广泛应用的两大难题, 尤其是在疾病负担较高、急需推广预防接种的中低收入国家。基于大肠杆菌表达体系生产的国产双价HPV疫苗馨可宁已在国内得到广泛应用, 并逐步在诸多海外中低收入国家获批上市, 累计为全球千万女性提供有效保护。覆盖更多高危型别的第二代九价HPV疫苗, 将进一步提高对宫颈癌的总体预防效果, 为消除宫颈癌的全球战略提供高效、可及的疫苗解决方案。

致谢 感谢国家自然科学基金(823B2086, 82273640)、国家重点研发计划(2023YFC2307602)、中央高校基本科研业务费专项资金(20720220005, 20720220006)、厦门大学研究生田野调查基金(2023FG007)和厦门大学公共卫生学院研究生田野调查基金(TYJJ202402)资助。

推荐阅读文献

- 1 Schiffman M, Castle P E, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*, 2007, 370: 890–907
- 2 Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci*, 2006, 110: 525–541
- 3 Schiffman M, Doorbar J, Wentzensen N, et al. Carcinogenic human papillomavirus infection. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16086
- 4 Nardelli-Haeffliger D, Wirthner D, Schiller J T, et al. Specific antibody levels at the cervix during the menstrual cycle of women vaccinated with human papillomavirus 16 virus-like particles. *JNCI J Natl Cancer Institute*, 2003, 95: 1128–1137
- 5 Wei F, Georges D, Man I, et al. Causal attribution of human papillomavirus genotypes to invasive cervical cancer worldwide: A systematic analysis of the global literature. *Lancet*, 2024, 404: 435–444
- 6 Drolet M, Bénard É, Pérez N, et al. Population-level impact and herd effects following the introduction of human papillomavirus vaccination programmes: Updated systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 2019, 394: 497–509
- 7 Gu Y, Wei M, Wang D, et al. Characterization of an *Escherichia coli*-derived human papillomavirus type 16 and 18 bivalent vaccine. *Vaccine*, 2017, 35: 4637–4645
- 8 Zhao F H, Wu T, Hu Y M, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an *Escherichia coli*-produced human papillomavirus (16 and 18) L1 virus-like-particle vaccine: End-of-study analysis of a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Infect Dis*, 2022, 22: 1756–1768
- 9 Qiao Y L, Wu T, Li R C, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an *Escherichia coli*-produced bivalent human papillomavirus vaccine: An interim analysis of a randomized clinical trial. *JNCI-J Natl Cancer Institute*, 2020, 112: 145–153
- 10 Hu Y M, Huang S J, Chu K, et al. Safety of an *Escherichia coli*-expressed bivalent human papillomavirus (types 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine: An open-label phase I clinical trial. *Hum Vaccines Immunother*, 2014, 10: 469–475
- 11 Wu T, Hu Y M, Li J, et al. Immunogenicity and safety of an *E. coli*-produced bivalent human papillomavirus (type 16 and 18) vaccine: A randomized controlled phase 2 clinical trial. *Vaccine*, 2015, 33: 3940–3946
- 12 Hu Y M, Guo M, Li C G, et al. Immunogenicity noninferiority study of 2 doses and 3 doses of an *Escherichia coli*-produced HPV bivalent vaccine in girls vs. 3 doses in young women. *Sci China Life Sci*, 2020, 63: 582–591
- 13 Zaman K, Schuind A E, Adjei S, et al. Safety and immunogenicity of Inovax bivalent human papillomavirus vaccine in girls 9–14 years of age: Interim analysis from a phase 3 clinical trial. *Vaccine*, 2024, 42: 2290–2298
- 14 Chu K, Bi Z F, Huang W J, et al. Safety and immunogenicity of an *Escherichia coli*-produced 9-valent human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine (types 6/11/16/18/31/33/45/52/58) in healthy adults: An open-label, dose-escalation phase 1 clinical trial. *Lancet Regional Health-Western Pac*, 2023, 34: 100731
- 15 Hu Y M, Bi Z F, Zheng Y, et al. Immunogenicity and safety of an *Escherichia coli*-produced human papillomavirus (types 6/11/16/18/31/33/45/52/58) L1 virus-like-particle vaccine: A phase 2 double-blind, randomized, controlled trial. *Sci Bull*, 2023, 68: 2448–2455
- 16 Dobson S R M, McNeil S, Dionne M, et al. Immunogenicity of 2 doses of HPV vaccine in younger adolescents vs. 3 doses in young women.

- [JAMA](#), 2013, 309: 1793
- 17 Iversen O E, Miranda M J, Ulied A, et al. Immunogenicity of the 9-valent HPV vaccine using 2-dose regimens in girls and boys vs. a 3-dose regimen in women. [JAMA](#), 2016, 316: 2411
 - 18 Romanowski B, Schwarz T F, Ferguson L, et al. Sustained immunogenicity of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine administered as a two-dose schedule in adolescent girls: Five-year clinical data and modeling predictions from a randomized study. [Hum Vaccines Immunother](#), 2016, 12: 20–29
 - 19 Watson-Jones D, Chagalucha J, Whitworth H, et al. Immunogenicity and safety of one-dose human papillomavirus vaccine compared with two or three doses in Tanzanian girls (DoRIS): An open-label, randomised, non-inferiority trial. [Lancet Glob Health](#), 2022, 10: e1473–e1484
 - 20 Whitworth H S, Gallagher K E, Howard N, et al. Efficacy and immunogenicity of a single dose of human papillomavirus vaccine compared to no vaccination or standard three and two-dose vaccination regimens: A systematic review of evidence from clinical trials. [Vaccine](#), 2020, 38: 1302–1314
 - 21 Barnabas R V, Brown E R, Onono M A, et al. Efficacy of single-dose human papillomavirus vaccination among young african women. [NEJM Evid](#), 2022, 1: EVIDoa2100056
 - 22 Arbyn M, Bryant A, Beutels P, et al. Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors. [Cochrane Database Syst Rev](#), 2018, 5: CD009069