

· 双清论坛:重大疾病疫苗研究的关键科学问题 ·

## 有关 HPV 预防性疫苗临床试验 有效性评估的策略思考

赵宇倩<sup>1</sup> 张韶凯<sup>2</sup> 乔友林<sup>3\*</sup>

1. 四川省肿瘤医院研究所/四川省癌症防治中心/电子科技大学医学院附属肿瘤医院,成都 610041
2. 郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院,郑州 450008
3. 国家癌症中心/国家肿瘤临床研究中心/中国医学科学院肿瘤医院,北京 100021

**[摘要]** 人乳头瘤病毒(Human Papillomavirus, HPV)预防性疫苗自上市后,逐渐成为宫颈癌预防的重要手段。根据宫颈癌病因、持续感染和癌前病变的关系、临床替代终点的意义、HPV持续感染和宫颈癌前病变作为终点评价疫苗有效性的结果一致性等充分的科学依据,世界卫生组织认可以 HPV 持续感染作为 HPV 预防性疫苗有效性评价的终点指标。基于我国宫颈癌流行病学现状以及宫颈癌防控工作的迫切需求,尽快将 HPV 持续感染作为评价疫苗有效性的替代临床终点具有重要的现实意义。

**[关键词]** 人乳头瘤病毒;预防性疫苗;宫颈癌;高度癌前病变;临床试验;持续感染

宫颈癌严重危害女性健康,是全世界女性中第四大常见恶性肿瘤。2018年,全世界有超过56万宫颈癌新发病例,中国女性的宫颈癌新发病例数超过10万<sup>[1]</sup>。研究已证实,高危型人乳头瘤病毒(High-Risk Human Papillomavirus, hrHPV)持续感染是导致宫颈癌的必要条件,约80%的女性一生中会发生 HPV 感染<sup>[2]</sup>,从 HPV 感染发展到宫颈癌的进程长达10~20年。宫颈癌的预防手段包括接种 HPV 预防性疫苗(一级预防)和早期筛查(二级预防)。2018年,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)总干事在《加速消除宫颈癌》的报告中明确提出,接种 HPV 疫苗、筛查和治疗癌前病变、及早发现和及时治疗早期浸润癌以及姑息治疗是宫颈癌防治系统工程的有效策略<sup>[3]</sup>。我国政府将农村妇女宫颈癌筛查项目纳入国家医改重大公共卫生专项,经过十年的努力,显著提高了农村妇女宫颈癌的早诊早治率。然而,受当前应用筛查技术及卫生资源的限制,筛查覆盖率仍有待提升。因此,在重视宫颈癌早诊早治工作的同时,我国应加强 HPV 疫苗的研发和使用。



**乔友林** 研究员,博士生导师。WHO总干事癌症防治专家组成员、WHO全球消除宫颈癌专家组成员、国际抗癌联盟全球癌症控制智囊团成员、中国癌症基金会副秘书长、亚太肿瘤预防组织(APOCP)前主席与现秘书长、亚太生殖道感染与肿瘤组织(AOGIN)前主席、非洲癌症研究所学会成员。获国家科学技术进步一等奖及多项省部级奖。发表文章500余篇,连续6年医学领域中国高被引学者。主要从事宫颈癌、食管癌、乳腺癌、肺癌的流行病学和人群防治研究。



**赵宇倩** 四川省肿瘤医院研究所/电子科技大学医学院附属肿瘤医院、肿瘤预防研究中心助理研究员。北京协和医学院流行病学与卫生统计学博士,美国国立卫生研究院 Fogarty 全球公共卫生交流学者。参与国家重点研发计划“重大慢性非传染性疾病防控研究”重点专项、国家高新技术研究发展计划(863)课题、国家公益性行业科研专项、全国多中心临床试验、国际合作项目等多个重大项目。主要从事肿瘤流行病学和防控研究。

自2006年全球首个 HPV 预防性疫苗问世以来,宫颈癌的预防进入一个新的时代,许多国家将

HPV 预防性疫苗列入国家免疫计划。目前我国大陆地区有三家企业的四种 HPV 疫苗被批准使用,另有几家企业的 HPV 预防性疫苗正在临床试验阶段。《中国防治慢性病中长期规划(2017—2025 年)》和《“健康中国 2030”规划纲要》均明确指出要加强疫苗的研发及应用。可以预见,随着我国医药卫生事业的蓬勃发展、人民健康意识的提升以及对防癌抗癌产品需求的增长,我国新一代 HPV 预防性疫苗的研发将迎来快速增长。

出于伦理学的考虑,HPV 预防性疫苗在临床注册研究中不可能以宫颈癌作为临床评价的有效性终点。因此,目前已上市的疫苗在临床注册研究中均使用高级别宫颈上皮内瘤样病变(Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)作为临床有效性的评估终点(尽管 WHO 在 2014 年出版的女性生殖器官肿瘤分类中将 CIN 三级分类法更新为二级分类法,但前期疫苗临床研究中均采用 CIN 分类,为保持一致,本文仍按照 CIN 分类进行阐述)。大样本、前瞻性的随机双盲对照研究充分证明了疫苗在不同国家和地区预防宫颈癌前病变的安全性和有效性。近年来,随着对疾病发病机理和疫苗作用机理研究的深入,大量数据证明了以 HPV 持续感染(间隔至少 6 个月连续两次检测同一 HPV 亚型阳性)作为 HPV 疫苗有效性评估终点的科学性和合理性。基于充分的科学证据,世界卫生组织/国际癌症研究署(WHO/IARC)认为可以将 HPV 持续感染作为有效性评价的终点指标<sup>[4]</sup>。全球一些国家和地区,如欧盟和日本等,也已接受以 HPV 持续感染作为评估终点的研究结果。在保障高质量临床研究和评价的条件下,为加速我国 HPV 预防性疫苗的研发,相关部门应在目前的科学证据基础上,积极地考虑以 HPV 持续感染作为临床评价替代终点观察指标的可行性。

## 1 高危型 HPV 感染是宫颈癌的病因,持续感染的发生是导致宫颈癌及癌前病变的关键环节

HPV 是一种小型无包膜的二十面体衣壳病毒,含有双链 DNA,包括 6 个早期基因(E1、E2、E4~E7)和 2 个晚期编码基因(L1、L2)<sup>[5]</sup>。癌症的发生源于细胞异常增殖。DNA 损伤的累积使基因发生

突变,导致细胞生长失控、异常增殖,侵犯正常组织和器官<sup>[6]</sup>。正常情况下,DNA 损伤虽不断发生,但机体细胞具有肿瘤抑制蛋白(如 RB、p53),可对细胞周期进行严格调控,参与 DNA 损伤修复,若无法修复则诱导受损细胞凋亡,同时机体免疫系统清除异常细胞。HPV 基因片段整合到宿主细胞中后,对 E6 和 E7 有抑制作用的 E2 基因表达下调,E6 和 E7 表达影响细胞的复制及转录<sup>[7]</sup>。E6 和 E7 蛋白通过抑制 p53 和 pRB 发挥致癌作用,并促进免疫逃逸。E6 蛋白激活端粒酶,E7 蛋白增强基因不稳定性,促进染色体突变的累积。细胞周期失调、端粒酶的激活和基因组不稳定为上皮细胞的转化创造了条件。HPV 感染机体细胞后的一系列分子生物学变化,破坏细胞周期正常调控,加上各种促癌因素协同作用,最终导致宫颈癌<sup>[8,9]</sup>。

99.7% 的宫颈癌都是由高危型 HPV 感染引起<sup>[10]</sup>。HPV16 和 18 型是最主要的致癌亚型,导致了全世界大约 70% 的宫颈癌<sup>[11]</sup>,中国女性中这一比例约为 85%<sup>[12,13]</sup>。90% 以上的 HPV 感染会在 2 年内自发清除<sup>[14]</sup>。宫颈癌前病变分为 CIN1、CIN2 和 CIN3,HPV 持续感染和 CIN1 病变表现相似,CIN2 和 CIN3 为高度癌前病变。一般而言,从 HPV 感染发展为癌前病变的时间短可达 3~5 年,远远短于从癌前病变发展为癌症的时间(可达 20 年)。宫颈癌的发病是一个缓慢、多步骤的过程,反映了人体自身免疫系统与 HPV 感染之间的斗争。

HPV 持续感染是宫颈癌发生的必要步骤。流行病学研究充分证实,HPV 持续感染与高度宫颈前病变密切相关,几乎所有的 CIN2 及以上病变均由既往 HPV 持续感染引起<sup>[15]</sup>。HPV 持续感染能够准确地预测宫颈癌及其癌前病变的风险,其导致的宫颈高度病变的风险为一过性感染的 9~40 倍,是 HPV 阴性的百倍以上,且感染持续时间越长,癌变风险越高<sup>[16,17]</sup>。可以肯定地说,HPV 感染是宫颈癌发生的必要条件,持续感染是发生宫颈癌的关键,杜绝及根除 HPV 感染可以从源头上预防宫颈癌的发生。

## 2 HPV 疫苗的保护作用通过预防感染而实现

Zhou 等发现了 HPV 病毒样颗粒(Virus-Like

Particles, VLP), 奠定了 HPV 预防性疫苗研发的理论基础<sup>[18]</sup>。HPV 晚期编码基因 L1 和 L2 可在真核细胞表达, 在体外自行组装成 VLP, 其结构与天然病毒颗粒相似, 不含病毒 DNA。动物模型实验中, 接种 L1 VLP 可刺激机体产生滴度较高且持续时间较长的中和抗体, 显示 VLP 具有良好的免疫原性<sup>[19]</sup>, 主要与 L1 VLP 高度有序、致密排列的三维结构有关<sup>[20]</sup>。此外, L1 VLP 能够激活未成熟的树突细胞, 诱导与抗原细胞提呈有关的关键趋化因子、细胞因子和协同刺激因子等, 也是其具备良好免疫原性的原因<sup>[21, 22]</sup>。当接种人群发生疫苗相关型别的 HPV 暴露时, 体内的中和抗体可与病毒颗粒结合, 阻断病毒 L1 蛋白与宿主上皮细胞基底膜上的肝素蛋白聚糖的结合, 阻断 HPV 感染<sup>[23]</sup>。

尽管有研究观察到部分未接种疫苗的女性发生 HPV 感染后可通过人体自然免疫产生血清中和抗体<sup>[24]</sup>, 达到一定抗体浓度的女性发生相同型别 HPV 再次感染的风险低于血清阴性的女性<sup>[25-27]</sup>, 但自然免疫产生的抗体滴度远远低于疫苗接种, 持续时间短, 且许多女性不能产生抗体<sup>[24, 28]</sup>, 无法形成有效的人群保护作用。

### 3 以预防 HPV 持续感染作为有效性终点和以预防宫颈癌前病变作为终点的临床结果一致

迄今为止, 已有四种 HPV 预防性疫苗获得上市批准。多个严格的随机双盲对照临床试验均证实, 在未感染过疫苗相关 HPV 型别的女性中接种 3 剂 HPV 疫苗, 对预防由 HPV16/18 型引起的 6 个月或 12 个月持续感染、CIN2 及更严重病变均具有高度一致的有效性。四价疫苗的临床研究中, 观察到对预防 HPV16/18 型相关的 6 个月持续感染有效性为 96.2%, 对 CIN2 及更严重病变的有效性为 96.6%<sup>[29, 30]</sup>; 二价疫苗对预防 HPV16/18 型相关的 6 个月持续感染有效性为 94.3%~97.8%, 而对 CIN2 及更严重病变的有效性为 94.9%~100%<sup>[31, 32]</sup>。无论是在四价疫苗还是在二价疫苗的临床试验中, HPV 持续感染、CIN2 及更严重病变的两个主要终点均反映了极为一致的疫苗有效性。

因此, 根据目前我国宫颈癌发病的上升趋势及

年轻化的特点, 为应对宫颈癌防治工作的迫切需求, 将 HPV 持续感染作为评价 HPV 预防性疫苗有效性的替代临床评价终点以支持 HPV 疫苗的有条件审批具备科学性和可行性<sup>[33]</sup>, 这一策略在节约医疗资源的同时, 可大大加速 HPV 预防性疫苗的上市进程, 支持新疫苗的有条件上市, 使更多的适龄女性尽早享受这一科学成果。

### 参 考 文 献

- [1] Ferlay JEM, Lam F, Colombet M, et al. Global cancer observatory: cancer today Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. (2018)/[2020-05-21]. <https://gco.iarc.fr/today>.
- [2] Chesson HW, Dunne EF, Hariri S, et al. The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. *Sexually Transmitted Diseases*, 2014, 41(11): 660—664.
- [3] Adhanom T. Cervical Cancer: An NCD we can overcome. (2018)/[2020-05-21]. <http://www.who.int/reproductivehealth/call-to-action-elimination-cervical-cancer/en/>.
- [4] WHO International Agency for Research on Cancer. Primary endpoints for prophylactic HPV vaccine trials: IARC 2014. (2018)/[2020-05-21]. [http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wrk/wrk7/Prophylactic\\_HPV\\_VaccineTrials.pdf](http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wrk/wrk7/Prophylactic_HPV_VaccineTrials.pdf).
- [5] Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*, 2007, 370(9590): 890—907.
- [6] Doorbar J, Quint W, Banks L, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, 2012, 30 Supplement 5: F55—F70.
- [7] de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA. The natural history of human papillomavirus infection. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 2018, 47: 2—13.
- [8] zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Review Cancer*, 2002, 2(5): 342—350.
- [9] Roden RBS, Stern PL. Opportunities and challenges for human papillomavirus vaccination in cancer. *Nature Review Cancer*, 2018, 18(4): 240—254.
- [10] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *Journal of Pathology*, 1999, 189(1): 12—19.

- [11] de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncology*, 2010, 11(11): 1048—1056.
- [12] Chen W, Zhang X, Molijn A, et al. Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: the importance of HPV 16 and 18. *Cancer Causes & Control*. 2009, 20(9): 1705—1713.
- [13] 赵宇倩, 赵方辉, 胡尚英, 等. 中国女性人群宫颈乳头瘤病毒感染及型别分布的多中心横断面研究. *中华流行病学杂志*, 2015, 36(12): 1351—1356.
- [14] Winer RL, Hughes JP, Feng Q, et al. Early natural history of incident, type-specific human papillomavirus infections in newly sexually active young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers & Prevention*, 2011, 20(4): 699—707.
- [15] Koshiol J, Lindsay L, Pimenta JM, et al. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*, 2008, 168(2): 123—137.
- [16] 张倩, 胡尚英, 冯瑞梅, 等. 高危型人乳头瘤病毒感染变化与宫颈癌及癌前病变发病风险的15年前瞻队列随访研究. *中华肿瘤杂志*, 2016, 38(10): 792—797.
- [17] Ronco G, Dillner J, Elfström KM, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet*, 2014, 383(9916): 524—532.
- [18] Zhou J, Sun XY, Stenzel DJ, et al. Expression of vaccinia recombinant HPV 16 L1 and L2 ORF proteins in epithelial cells is sufficient for assembly of HPV virion-like particles. *Virology*, 1991, 185(1): 251—257.
- [19] Suzich JA, Ghim SJ, Palmer-Hill FJ, et al. Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(25): 11553—11557.
- [20] Chackerian B, Lenz P, Lowy DR, et al. Determinants of autoantibody induction by conjugated papillomavirus virus-like particles. *Journal of Immunology*, 2002, 169(11): 6120—6126.
- [21] Lenz P, Day PM, Pang YY, et al. Papillomavirus-like particles induce acute activation of dendritic cells. *Journal of Immunology*, 2001, 166(9): 5346—5355.
- [22] Fausch SC, Silva DMD, Kast WM. Differential uptake and cross-presentation of human papillomavirus virus-like particles by dendritic cells and Langerhans cells. *Cancer Research*, 2003, 63(13): 3478—3482.
- [23] Day PM, Gambhira R, Roden RB, et al. Mechanisms of human papillomavirus type 16 neutralization by I2 cross-neutralizing and I1 type-specific antibodies. *Journal of Virology*, 2008, 82(9): 4638—4646.
- [24] Tong Y, Ermel A, Tu W, et al. Association of HPV types 6, 11, 16, and 18 DNA detection and serological response in unvaccinated adolescent women. *Journal of Medical Virology*, 2013, 85(10): 1786—1793.
- [25] Lin SW, Ghosh A, Porras C, et al. HPV16 seropositivity and subsequent HPV16 infection risk in a naturally infected population: comparison of serological assays. *PloS One*, 2013, 8(1): e53067.
- [26] Beachler DC, Jenkins G, Safaeian M, et al. Natural Acquired Immunity Against Subsequent Genital Human Papillomavirus Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Infectious Diseases*, 2016, 213(9): 1444—1454.
- [27] Rosillon D, Baril L, Del Rosario-Raymundo MR, et al. Risk of newly detected infections and cervical abnormalities in adult women seropositive or seronegative for naturally acquired HPV-16/18 antibodies. *Cancer Medicine*, 2019, 8(10): 4938—4953.
- [28] Carter JJ, Koutsky LA, Hughes JP, et al. Comparison of human papillomavirus types 16, 18, and 6 capsid antibody responses following incident infection. *Journal of Infectious Diseases*, 2000, 181(6): 1911—1919.
- [29] Wei L, Xie X, Liu J, et al. Efficacy of quadrivalent human papillomavirus vaccine against persistent infection and genital disease in Chinese women: A randomized, placebo-controlled trial with 78-month follow-up. *Vaccine*, 2019, 37(27): 3617—3624.
- [30] Castellsagué X, Munoz N, Pitisuttithum P, et al. End-of-study safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent HPV (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine in adult women 24—45 years of age. *British Journal of Cancer*, 2011, 105(1): 28—37.
- [31] Qiao YL, Wu T, Li RC, et al. Efficacy, Safety, and Immunogenicity of an Escherichia coli-Produced Bivalent Human Papillomavirus Vaccine: An interim analysis of a randomized clinical trial. *Journal of the National Cancer Institute*, 2020, 112(2): 145—153.



[32] Romanowski B, de Borja PC, Naud PS, et al. Sustained efficacy and immunogenicity of the human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine: analysis of a randomised placebo-controlled trial up to 6.4 years. *Lancet*,

2009, 374(9706): 1975—1985.

[33] 人乳头瘤病毒预防性疫苗临床试验有效性评估专家组. 有关人乳头瘤病毒预防性疫苗临床试验有效性评估的专家共识. *中华肿瘤杂志*, 2013, 35(7): 552—554.

## Perspectives on the Strategy of Efficacy Evaluation for Prophylactic HPV Vaccine in Clinical Trial

Zhao Yuqian<sup>1</sup>   Zhang Shaokai<sup>2</sup>   Qiao Youlin<sup>3\*</sup>

1. *Sichuan Cancer Hospital & Institute/Sichuan Cancer Centre/School of Medicine, University of Electronic Science & Technology of China, Chengdu 610041*

2. *Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University/Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008*

3. *National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021*

**Abstract** Prophylactic human papillomavirus (HPV) vaccination became the major approach for cervical cancer prevention since it was put into market. Based on sufficient scientific evidences from the etiology of cervical cancer, the correlation between persistent infection and the precancerous lesions, the significance of surrogate clinical endpoints, and the consistency between persistent HPV infection and high-grade cervical precancerous lesions, which was used as the clinical endpoint for the evaluation of vaccine efficacy previously, the World Health Organization (WHO) recommends to use persistent HPV infection as a surrogate clinical endpoint for the efficacy evaluation of prophylactic HPV vaccine. According to the current situation of cervical cancer epidemiology in China and the urgent need of cervical cancer prevention and control, it is of great clinical importance to use persistent HPV infection as the endpoint for the efficacy evaluation.

**Keywords** HPV; prophylactic vaccine; cervical cancer; high-grade precancerous lesions; clinical trial; persistent infection

(责任编辑 张强)

\* Corresponding Author, Email: qiaoy@cicams.ac.cn