

# 人類乳突病毒 (HPV) 疫苗發展新知

沈冠印 劉士任

國家衛生研究院 感染症與疫苗研究所

## 前 言

子宮頸癌的成因，以人類乳突病毒感染為主，性接觸為其主要傳染途徑。經過多年的研究發現，子宮頸癌的發生與感染高致癌性人類乳突病毒 (HPV16, 18, 31, 45, 52, 58 型…等等) 有將近 100% 的高度相關。因此，預防高致癌性人類乳突病毒的感染，就能降低子宮頸癌的發生率。根據衛生署統計資料，子宮頸癌是台灣婦女惡性腫瘤的重要死因，雖然近年來死亡率慢慢下降，但在全世界婦女惡性腫瘤中，仍占第 3 位。根據世界衛生組織的報告，在 2010 年全球約有 50 萬人罹患子宮頸癌，預計在 2025 年將增加到 70 萬人，表示其對全球女性的健康，仍是重大的威脅[1]。由於子宮頸癌癌前病變通常沒有身體上的不適，而且子宮頸癌發展過程，多在十年左右，使病人容易輕忽。而在診斷之後，也容易被發現已經是侵犯性的惡性腫瘤，因此死亡率居高不下。為

了要控制疾病發生率，並且降低疾病死亡率，政府大力宣導子宮頸抹片檢查，以及核准了人類乳突病毒疫苗上市。從近年衛生署統計資料顯示，近十年子宮頸癌的死亡率已下降 29%。不過，2011 年衛生署的統計資料顯示，每十萬人約有 4.1 人罹患子宮頸癌死亡，依然不可輕忽[2]。

## 子宮頸癌的發展進程

子宮頸癌的癌前病變 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 大多發生於子宮頸鱗狀上皮細胞和柱狀上皮細胞的交界，由於細胞層薄易受病毒感染。隨著病變的範圍和嚴重程度可分為輕度 (CIN 1)、中度 (CIN 2)、重度 (CIN 3)。輕度 (CIN 1) 定義為只有基底膜以上三分之一內厚度的子宮頸上皮出現病變細胞；中度 (CIN 2) 的定義為基底膜以上三分之二內厚度的子宮頸上皮出現病變細胞；而重度 (CIN 3) 則是在基底膜以上三分之二至整層

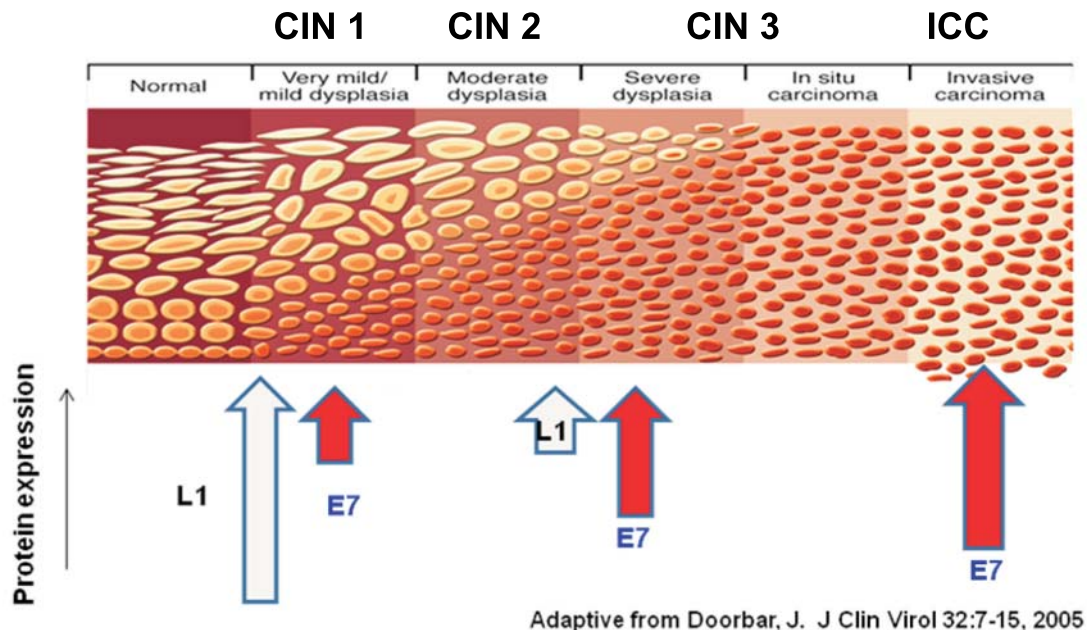
的子宮頸上皮都出現病變細胞。如圖一[3]，在輕度到中度病變，病毒會進行複製並且反覆感染子宮頸上皮細胞。也因為病毒的複製，細胞中會大量表現病毒外鞘蛋白 L1。而在中度到重度病變，病毒基因體會漸漸嵌入上皮細胞染色體中，則以 E7 蛋白表現為主，並且降低抑癌蛋白 Rb 促進細胞轉型為惡性腫瘤。

### 人類乳突疫苗應用現況

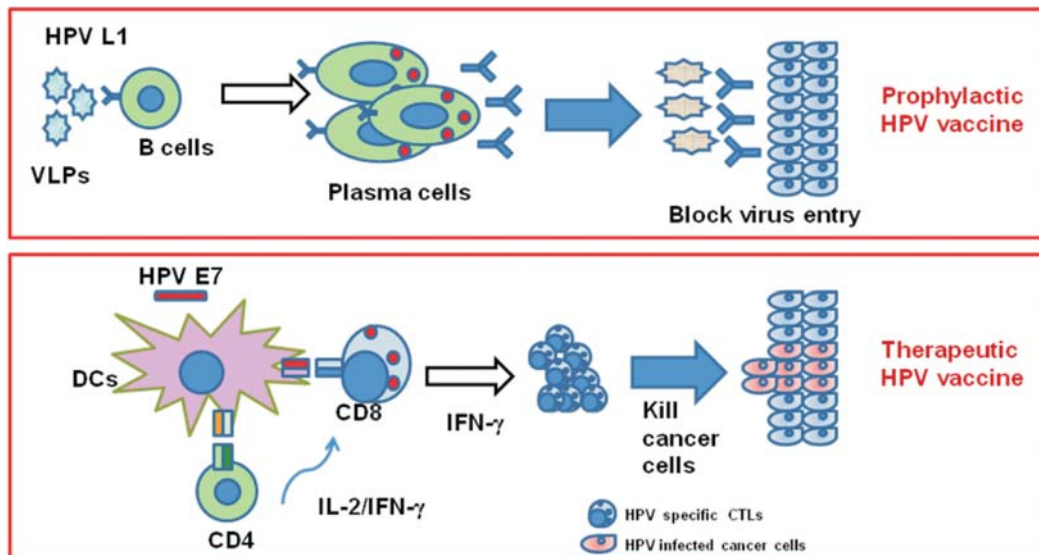
目前臨床使用的預防型疫苗中，四價疫苗能預防高致癌性 HPV16 型和 HPV18 型和低致癌性與引起生殖器溼疣的 HPV6 型和 HPV11 型等病毒的感染。另外，二價疫苗則是針對高致癌性 HPV16 型和 HPV18 型。此兩

疫苗的抗原皆為 HPV 外鞘蛋白質 L1，所引發的免疫保護效果，都來自於抗體的中和反應，如圖二所示。此類預防型疫苗，在被病毒感染之前接種，能獲得較大的抗體保護效益。

目前許可上市疫苗的保護效力，對 HPV16 型和 18 型約有近 100% 的保護效果。然而，因為 HPV16 型與 18 型約占有全部子宮頸癌發生的 70%，所以整體而言接種 HPV 預防型疫苗，能預防 70% 子宮頸癌的發生。由於目前預防型 HPV 疫苗並未證明可以使用在已經被 HPV 感染的族群，清除已感染 HPV 的細胞。因此，若已經發生癌前病變的族群，此兩種疫苗皆無治療效果[4]。所以衛生署建議施打的年齡是 9~26 歲女性病毒感染風險較低的族群，以達到良好



圖一 子宮頸癌發展進程與病毒蛋白表現關係示意圖



圖二 預防型 (prophylactic) 與治療型 (therapeutic) HPV 疫苗的作用原理

族群保護力。由於目前的預防型 HPV 疫苗只有 70% 的子宮頸癌保護力，所以常規的子宮頸抹片檢查，並不能因為施打疫苗而放棄。未來，如果能再配合 HPV DNA 的篩檢，以早期發現是否感染高致癌性 HPV 型別，將能在細胞病變的時期施以治療型 HPV 疫苗，作為預防子宮頸癌發生的第二道防線。所以，治療型 HPV 疫苗的開發，可以和目前的預防型 HPV 疫苗有互補的效用。治療型 HPV 疫苗除了在細胞病變時期預防子宮頸癌的發生，也能在子宮頸癌發生後，配合傳統治療方式以延長子宮頸癌患者的生命。

### 治療型 HPV 疫苗的開發策略

由於上述各項因素，還是有很大

的族群暴露在病毒所引起的子宮頸癌風險下。因此許多藥廠還是積極投入研發治療型 HPV 疫苗。造成子宮頸上皮細胞病變的主要原因是 HPV E6 和 E7 蛋白誘導細胞轉型，而且其表現量也與細胞病變的嚴重度成正相關，所以 E6 和 E7 蛋白被視為腫瘤抗原，也成為開發治療型 HPV 疫苗鎖定的標的。圖二以 E7 蛋白為例，治療型 HPV 疫苗最主要的目的是要引起毒殺性 T 細胞 (CD8+ cytotoxic T cells, Tc) 的活化，因為 Tc 細胞才能專一毒殺被病毒感染的細胞或癌細胞。因此，若能成功誘導辨識 E7 蛋白的 Tc 細胞活化，就能清除被病毒感染或癌細胞，而能應用在子宮頸癌癌前病變或子宮頸癌的治療。治療型 HPV 疫苗的開發策略，有下列幾種方法，包括：蛋白質疫苗、胜肽疫苗、DNA

疫苗、樹突細胞疫苗。

### (一) 蛋白質疫苗

蛋白質疫苗是利用遺傳工程表現 HPV 的重組 E7 蛋白而製成抗原。由於 E7 蛋白能與抑癌蛋白 Rb 結合而使其不活化，而促進細胞轉型。因此，重組 E7 蛋白是將與 Rb 蛋白結合的區域刪除，才製備成抗原。不過，蛋白質抗原不容易引起 Tc 細胞的活化，因此需要適當的佐劑才能提昇 Tc 細胞的增生。過去陸續有幾個產品被開發出來，包括：fibronectin-E7、Hsp-E7、CyaA-E7，並陸續進入臨床試驗，但是尚未有明確的療效。目前，我們的研究團隊建立了重組脂化蛋白的技術平台，能生產具有活化類鐸受體 2 (toll-like receptor 2, TLR2) 的脂化蛋白，利用此技術製備出重組脂化不活化 E7 蛋白 rliipo-E7m，能活化樹突狀細胞 (Dendritic cell, DC)，免疫小鼠後可以誘發 Th1 免疫反應、Tc 細胞活化。腫瘤細胞植入後 7 天，再用單一劑量的 rliipo-E7m 治療，結果可以完全清除腫瘤[5]。顯示 rliipo-E7m 具有很高的臨床應用價值，現在正著手規畫臨床試驗。

### (二) 胜肽疫苗

胜肽疫苗較其他方式有許多優點，包括有容易製備，生物安全性高，生產成本低。由於 E7 是致癌蛋白質，為了提高安全性，胜肽疫苗則是從 E7 蛋白分析出 Tc 細胞表位

(epitope)，也就是 T 細胞辨識抗原的位置。由於這些 Tc 細胞表位是被呈獻在細胞表面的第一型主要組織相容性複合體 (MHC class I；人類為人類白細胞抗原，HLA)，因此必須針對 HLA 型別進行分析。根據統計顯示，西方人種主要的 HLA 是 HLA-A2，但是亞洲區域則不同，特別是 HLA-A11 在華人的比例特別高。因此，我們的研究團隊開發出 Tc 細胞表位的篩選與鑑定技術平台，並陸續鑑定出 HPV18 型，HPV52 型和 HPV58 型的 HLA-A11 T 細胞表位，研究 HPV 感染者與子宮頸癌前病變患者的血液，發現在子宮頸癌前病變或癌症者的血液中存在有對 E6 或 E7 有專一性的 Tc 細胞 [6]。顯示這些 Tc 細胞表位，可以應用在未來的免疫治療。

不過，單純以 Tc 細胞表位製成的胜肽抗原的免疫原性低，所以需要針對其免疫特性而設計。由於 Tc 細胞的活化需要 T 輔細胞 (CD4+ helper T cells: Th) 的協助，因此，在胜肽疫苗的設計上，還需要加上 Th 細胞的表位。已有研究報導指出，延長 Tc 細胞表位胜肽的合成長度而能包含 Th 細胞表位，可以有效增加 Tc 細胞的數量以及其毒殺能力，進而控制腫瘤的生長[7]。如圖二所示，由於 Th 細胞也同時被胜肽疫苗所活化，提供 Tc 細胞活化所需要的細胞激素，因此增加了胜肽疫苗的免疫原性。將此延長的胜肽疫苗應用在子宮頸癌小鼠模型中，能抑制表現 E7 蛋白腫瘤的生

長。根據研究顯示，直接在胜肽上增加單棕櫚酸修飾，就能增強 Tc 細胞的反應[8]。在分子疫苗的概念之下，可以將許多佐劑效用設計在胜肽疫苗中，使得胜肽疫苗應用性更廣。

### (三) DNA 疫苗

DNA 疫苗則是利用 DNA 質體攜帶抗原的基因，施打之後讓細胞表現出抗原而引起免疫反應。DNA 疫苗具有穩定以及製備容易等優點，所以也常被列入疫苗開發的策略中。相較於蛋白質/胜肽疫苗，利用基因槍將 DNA 疫苗注射到肌肉細胞，能持續在細胞內表現抗原，並誘導 Tc 細胞反應。不過，DNA 疫苗不容易引起 Th 細胞的活化，而導致 Tc 細胞反應低弱。於是有國外的研究團隊將一段無變異鏈 Ii (invariant chain: Ii) 與 HPV E7 製作成融合蛋白，而 Ii 容易將抗原帶往溶小體進行分解。由於在溶小體分解抗原所產生的表位，主要是以第二型主要組織相容性複合體 (MHC class II) 呈獻給 Th 細胞的活化。因此，這一項 DNA 疫苗的設計能同時強化 Th 細胞反應而幫助 Tc 細胞的活化[9]。雖然 DNA 疫苗在小鼠動物模型也有很好的療效，但是其安全性還有待確認。

### (四) 樹突細胞疫苗

樹突細胞為一抗原呈獻細胞，是 Tc 細胞和 Th 細胞活化不可缺少的免

疫細胞。如圖二所示，樹突細胞能處理蛋白質抗原，將抗原分解成許多特定的胜肽而呈獻在主要組織相容性複合體上，T 細胞接受到樹突細胞抗原呈獻的訊號就會開始活化。另一方面，樹突細胞提供許多 T 細胞活化所需要的細胞激素，更能完整活化 T 細胞。因此以重組的 HPV E7 蛋白或胜肽處理樹突細胞，讓攜帶抗原的樹突細胞活化 Tc 細胞而清除表現 E7 腫瘤細胞[8]。不過，在臨床上的應用僅能從病人自己的血球細胞中培養出樹突細胞，再注射回體內以減少排斥反應。而且，體外培養樹突細胞的費用非常的昂貴，因此不容易普及化。

## 結 論

相較於預防型疫苗，治療型疫苗需要其他不同的設計策略，讓抗原具有刺激樹突細胞成熟的能力，並且能被分解成專一性的表位，以誘導 Th 細胞與 Tc 細胞的活化。若能在子宮頸癌前病變初期誘導 Tc 細胞的活化，則能有效清除被病毒感染的細胞，就能更有效控制子宮頸癌的發生。癌症治療佔有相當高的醫療成本支出，也容易帶給家庭成員不少心理負擔。所以，無論是預防型或是治療型的疫苗，都可以大大降低社會醫療成本的支出。因此，投入疫苗研發與改良除了能控制疾病的發生，更能提昇國民的健康水準。

## 參考文獻

1. WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre): Human Papillomavirus and Related Cancers in World. Summary Report 2010.
2. 行政院衛生署統計室之民國 100 年主要死因分析，行政院衛生署網站。http://www.doh.gov.tw/
3. Doorbar J: The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 2005;32S:S7-15.
4. Roden R, Wu TC: How will HPV vaccines affect cervical cancer? *Nat Rev Cancer* 2006;6:753-63.
5. Huang CY, Chen JJ, Shen KY, et al: Recombinant lipidated HPV E7 induces a Th-1-biased immune response and protective immunity against cervical cancer in a mouse model. *PLoS ONE* 2012;7:e40970.
6. Chen HW, Leng CH, Liu HY, et al: Identification of HLA-A11-restricted CTL epitopes derived from HPV type 18 using DNA immunization. *Cancer Biol Ther* 2009;8:2025-32.
7. Zwaveling S, Ferrerira Mota SC, Nouta J, et al: Established human papillomavirus type 16-expressing tumors are effectively eradicated following vaccination with long peptides. *J Immunol* 2002;169:350-8.
8. Song YC, Chou AH, Homhuan A, et al: Presentation of lipopeptide by dendritic cells induces anti-tumor responses via an endocytosis-independent pathway in vivo. *J Leuko Biol* 2011;90:323-32.
9. Wu TC: Therapeutic human papillomavirus DNA vaccination strategies to control cervical cancer. *Eur J Immunol* 2007;37:310-4.