Czy więcej znaczy lepiej? Rozważania immunologiczne o skuteczności szczepionek przeciwko HPV

Is more better? An immune-based approach to anti-HPV vaccine efficacy

Rafał Pawliczak

Zakład Immunopatologii, Wydział Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Rafał Pawliczak

Przegląd Menopauzalny 2010; 2: 109–112

Streszczenie

Rak szyjki macicy jest drugą co do częstości przyczyną zgonów u kobiet z powodu chorób onkologicznych. Współcześnie, obok znanej od dziesiątków lat profilaktyki, mamy do dyspozycji również immunoprofilaktykę – szczepionki przeciwko różnym typom wirusów HPV, odpowiedzialnych za powstawanie większości nowotworów szyjki macicy. Obie szczepionki wydają się wybitnie immunogenne i są prawdopodobnie skuteczne w zapobieganiu większości raków szyjki macicy u kobiet. Niniejsza praca jest porównaniem bezpieczeństwa i skuteczności dwóch dostępnych na rynku szczepionek – dwuważnej zawierającej cząsteczki wirusów HPV16 i 18 oraz szczepionki czteroważnej, zawierającej cząsteczki wirusów HPV6, 11, 16, 18.

Słowa kluczowe: rak szyjki macicy, immunoprofilaktyka, HPV.

Summary

Natural history studies conducted over the past 20 years have demonstrated that human papillomavirus (HPV) infection is a necessary prerequisite for the development of cervical cancer, the second most frequent cause of death in young women. Recently, two anti-HPV vaccines have been approved for immunoprophylaxis of cervical cancer: a quadrivalent vaccine containing L1 virus-like particles (VLPs) of HPV types 6, 11, 16 and 18, and a bivalent vaccine containing VLPs of types 16 and 18. In efficacy trials involving young women, both vaccines produced outstanding efficacy against primary and secondary endpoints associated with the vaccine type HPVs and were highly and consistently immunogenic. This review is focused on comparing safety and efficacy of both available vaccines.

Key words: cervical cancer, immunoprophylaxis, HPV.

Wprowadzenie

Rak szyjki macicy jest drugą co do częstości przyczyną zgonów u kobiet z przyczyn onkologicznych [1]. Mimo prostej i powszechnie dostępnej diagnostyki PAP i obecnie obowiązującej Bethesda (TBS) corocznie umiera z tego powodu ponad 300 000 kobiet na całym świecie [1]. Także w krajach wysoko rozwiniętych rak szyjki macicy nadal pozostaje drugim co do częstości nowotworem u kobiet poniżej 45. r.ż. Jest to jeden z nowotworów o etiologii wirusowej [2]. Za ponad 70% przypadków inwazyjnego raka szyjki macicy odpowiada infekcja wirusem HPV16 lub HPV18. Za odkrycie to w 2008 r. Harald zur Hausen otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny.

Obecnie zasadniczym elementem walki z nowotworami szyjki macicy jest profilaktyka i wczesna diagnostyka. Ponieważ większość przypadków raka szyjki macicy ma etiologię wirusową, w ostatnich latach szczepionki przeciw wirusom *human papilloma vaccine* (HPV) stały się standardem profilaktyki tego nowotworu. W chwili obecnej na świecie są dostępne dwie szczepionki przeciwko wirusom HPV. Jedna z nich zwiera fragmenty białek wirusów HPV16 i HPV18 (szczepionka dwuważna), druga zawiera fragmenty białkowe czterech wirusów HPV: 16, 18, 6 i 11. Druga ze szczepionek, oprócz odgrywania roli w profilaktyce raka szyjki macicy, pozwala na zapobieganie powstawaniu ponad 90% brodawek płciowych o etiologii wirusowej (częstej choroby narządów płciowych, występującej zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn).

Adres do korespondencji:
Rafał Pawliczak, Zakład Immunopatologii, Wydział Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, bud. C5 pok. 46, 94-234 Łódź, tel.: +42 675 73 63, e-mail: rafal.pawliczak@csk.umed.lodz.pl

Charakterystyka szczepionek

Obie szczepionki zawierają fragmenty białek L1 odpowiednio wirusów HPV16, 18 i HPV16, 18, 6, 11. Białka te w obu przypadkach zostały uzyskane metodami biologii molekularnej. Metody te, równie nowoczesne w przypadku obu szczepionek, pozwalają na uzyskanie immunogennych peptydów wirusowych i na prawie całkowite wyeliminowanie działań niepożądanych. Obie szczepionki różnią się adiuwantami. Mimo to w obu przypadkach zastosowano sole glinu. Szczepionka czteroważna zawiera siarczan wodorofosforanu glinu. Jest to typowy adjuwant promujący profilaktyczną odpowiedź humoralną zależną od limfocytów typu Th2. Szczepionka dwuważna zawiera system adjuwantu zawierający MPL oraz wodorotlenek glinu. Ten typ adjuwantu powoduje powstawanie mieszanej odpowiedzi Th1/Th2 cenionej w szczepionkach terapeutycznych. Nie opublikowano dotychczas żadnych danych wskazujących na wyższość któregoś z zastosowanych adjuwantów w powstawaniu ochronnej, poszczepiennej odpowiedzi immunologicznej. Nie dysponujemy obecnie żadnymi dowodami, że różnice między adjuwantami mogą wpływać na profilaktyczną skuteczność szczepionek.

Analiza poprawności metodologicznej badań klinicznych

Wszystkie opublikowane badania co do bezpieczeństwa i skuteczności obu omawianych szczepionek były prowadzone zgodnie z zasadami medycyny opartej na faktach (*evidence based medicine* – EBM) i dobrą praktyką kliniczną (*good clinical practice* – GCP). Badania były prowadzone w sposób ślepy, z randomizacją, z kontrolą z użyciem placebo; wszystkie dotyczą młodych kobiet – średnia wieku ok. 20 lat. Badania prowadzono w Europie, Azji, obu Amerykach i Australii. W większości badań brały udział także kobiety ze stwierdzoną ekspozycją na HPV zaistniałą przed badaniem. Stanowiły one różny odsetek w różnych badaniach. To również stanowi potencjalne ograniczenie metodologiczne (jak ocenić, czy kobiety eksponowane już na HPV nie wytworzyły naturalnego, ochronnego miana przeciwciał?). Wszystkie badania posługują się zastępczym punktem końcowym – ze względów etycznych (i zgodnie z wymogami FDA) stosują dysplazję śródnabłonkową szyjki macicy stopnia 2 (CIN2) lub wyższego bądź rak gruczołowy *in situ* (AIS). Autor co prawda doskonale rozumie powody powstania ww. wad badań klinicznych, ale należy mieć ich świadomość w interpretacji wyników. Publikowane badania różniły się nieco specyficznymi pierwszorzędowymi i drugorzędowymi punktami końcowymi.

Pacjentki były obserwowane przez 4 lata. W większości przypadków – jak w typowych badaniach tego typu – publikowano analizy i wyniki badań w czasie ich trwania. Uzyskane wyniki badań były analizowane w różnoraki sposób – klasyczną analizą ATP (*according-to-protocol*), najbardziej idealną, która bierze pod uwagę wyłącznie te uczestniczki badania, które postępowały ściśle zgodnie z protokołem (analiza ta została wykonana we wszystkich badaniach szczepionki czteroważnej i zaledwie jednym dwuważnej), oraz analizę – w grupach zgodnie z zaplanowanym leczeniem ITT (*intended-to-treat*) lub MITT (zmodyfikowaną). Analiza ATP jest najbardziej restrykcyjna, najbardziej wymagająca i nie była praktycznie wykonywana w badaniach szczepionki dwuważnej. Należy pamiętać, że rodzaj analizy danych ma zasadnicze znaczenie dla ich wartości, szczególnie predykcyjnej.

Bezpieczeństwo badanych szczepionek

Generalnie, niezależnie od typu szczepionki, oba preparaty były dobrze tolerowane. Typowe, dość częste działania niepożądane, takie jak obrzęk ramienia, ból w miejscu wstrzyknięcia czy rumień w miejscu iniekcji, były podobne w obu typach szczepionek. W niektórych badaniach niepożądane działania miejscowe były częstsze w szczepionce dwuważnej, co może wynikać ze stosowanego adjuwantu. Poważne działania niepożądane czy rezygnacja z udziału w badaniu były podobne w przypadku obu szczepionek i nie różniły się w grupie placebo.

Immunogenność

Szczepionki te mają być stosowane jako immunoprofilaktyka, tak więc istotne znaczenie ma powstawanie jako rezultat szczepienia przeciwciał neutralizujących (serokonwersja). Wysokość miana przeciwciał neutralizujących, tak długo jak długo przekracza miano powstające podczas naturalnego zakażenia, prawdopodobnie nie ma klinicznego znaczenia w skuteczności badanych szczepionek, gdy są one stosowane jako immunoprofilaktyka. Obie szczepionki charakteryzowały się bardzo wysoką immunogennością. Serokonwersja po szczepieniu występowała praktycznie u 100% pacjentek, niezależnie od zastosowanej szczepionki dwuważnej lub czteroważnej. Skuteczność kliniczna obu szczepionek była zbliżona (tab. I). Najwyższe miana przeciwciał przekraczały 10–100-krotnie miana powstające w wyniku naturalnego zakażenia. Warto pamiętać, że stężenia przeciwciał neutralizujących w badaniach klinicznych rejestracyjnych były mierzone za pomocą różnych technik, wobec czego nie można ich bezpośrednio porównywać.

Nie ulega żadnej wątpliwości, że większa liczba peptydów wirusowych zastosowana w szczepionce nie zmniejsza jej immunogenności i miana przeciwciał neutralizujących. Świadczy o tym wiele danych z badań klinicznych bardzo wielu szczepionek, a także dobra praktyka lekarska, zalecenia producentów szczepionek oraz

Tab. I. Skuteczność profilaktyczna szczepionek przeciwko HPV

Szczepionka	Badanie	Liczba pacjentek		Punkty końcowe	Skuteczność		
		szczepionka	placebo		ATP	MITT	ITT
czteroważna	Merck 007	235	233	obecność zakażenia HPV	96 (83–100)	94 (83–98)	bd.
	Merck 007	235	233	zmiany na narządach płciowych	100 (< 0–100)	100 (< 0–100)	bd.
	Merck 007	235	233	CIN1+, AIS	100 (< 0–100)	100 (31–100)	bd.
	FUTURE I	2 241	2 258	CIN1+, AIS	100 (94–100)	98 (92–100)	55 (40–66)
	FUTURE I	2 261	2 279	zmiany na narządach płciowych	100 (94–100)	95 (87–99)	73 (58–83)
	FUTURE II	6 087	6 080	CIN2+, AIS	98 (86–100)	95 (85–99)	44 (26–58)
	GSK001/007	414	385	obecność zakażenia HPV	96 (75–100)	94 (78–99)	bd.
dwuważna	GSK001/007	414	385	obecność zakażenia HPV	100 (52–100)	94 (61–100)	bd.
	GSK001/007	481	470	CIN1+	bd.	100 (42–100)	bd.
	GSK001/007	481	470	CIN2+	bd.	100 (–8–100)	bd.
	PATRICIA	6 344	6 402	obecność zakażenia HPV	bd.	80 (70–87)	bd.
	PATRICIA	3 386	3 437	obecność zakażenia HPV	bd.	76 (48–90)	bd.
	PATRICIA	7 788	7 838	CIN1+	bd.	89 (59–99)	bd.
	PATRICIA	7 788	7 838	CIN2+	bd.	90 (53–99)	bd.

*Skuteczność (95-proc. przedział ufności) – z wyjątkiem badania PATRICIA, gdzie zastosowano 97,9-proc. przedział ufności; bd. – brak danych. Analiza skuteczności została przeprowadzona odpowiednio: ATP (*according-to-protocol*), ITT (*intended-to-treat*) lub zmodyfikowaną* intended-to-treat *(MITT).*

doświadczenia kliniczne. W chwili obecnej są dostępne dane pochodzące z badań klinicznych, które wskazują jednoznacznie, że szczepienie szczepionką czteroważną powoduje istotny statystycznie wzrost stężenia przeciwciał ochronnych skierowanych przeciwko wszystkim znajdującym się w szczepionce antygenom wirusów HPV i że stężenia te utrzymują się co najmniej przez 5 lat [3]. Wykonane przez Garland i wsp. badania wskazują jednoznacznie, że szczepionka czteroważna jest co najmniej tak samo immunogenna (powoduje powstawanie co najmniej takiego samego miana przeciwciał) jak szczepionka monowaletna co najmniej w odniesieniu do HPV16 [4]. Badanie to zostało wykonane na ponad 2000 pacjentek. Przeciwciała poszczepienne obserwowano w podobnym odsetku u pacjentek przyjmujących każdą ze szczepionek (99,8% dla szczepionki czteroważnej i 100% monowalentnej) [4]. Podawanie szczepionki czterowalentnej jednocześnie z innymi szczepionkami nie zmniejsza istotnie powstawania przeciwciał poszczepiennych przeciwko HPV [5]. W przypadku obu szczepionek miano przeciwciał poszczepiennych osiąga maksimum ok. miesiąc po 3. dawce preparatu. Podczas następnego roku nieco się zmniejsza, po czym pozostaje stałe w czasie 4-letniej (dla szczepionki dwuważnej) i 4,5-letniej obserwacji (dla szczepionki czteroważnej). Należy przypuszczać, że miana te będą miały działanie ochronne przez okres co najmniej 12 lat, a być może dłużej [6]. Konieczne są dalsze badania, które odpowiedzą jednoznacznie na pytanie, czy pacjentki otrzymujące obie dostępne na rynku szczepionki będą wymagały doszczepienia (*booster*), czy nie.

Warto także zwrócić uwagę, że w odniesieniu do szczepionki czteroważnej przeprowadzono badania kliniczne u mężczyzn. Ta grupa nie tylko jest wektorem transmisji onkogennych dla kobiet typów HPV, ale także choruje na brodawki płciowe powodowane przez HPV11 i 6. Co ciekawe, młodzi chłopcy wytwarzają po szczepieniu szczepionką czteroważną większe miano przeciwciał poszczepiennych niż kobiety [7].

Mimo że istnieją dane, że szczepionka dwuważna może chronić przed rakiem szyjki macicy o innej etiologii niż HPV16 i 18, Amerykańska Agencja Żywności i Leków (*Food and Drug Administration* – FDA) nie zarejestrowała takiego wskazania dla tej szczepionki. Wydaje się więc, że znaczenie ewentualnej ochrony krzyżowej wymaga dalszych badań [8].

W ostatnim czasie ukazały się pojedyncze doniesienia sugerujące wyższe miano przeciwciał powstające po stosowaniu szczepionki dwuważnej w porównaniu z czteroważną. Z punktu widzenia lekarza praktyka, ale także immunologa, znaczenie różnic w wysokości miana przeciwciał poszczepiennych dla ochrony przeciwwiruso-

wej jest nieznane. Miano przeciwciał poszczepiennych powinno przekraczać typowe miano uzyskiwane podczas naturalnego zakażania. Co ważniejsze, nie można porównywać skuteczności szczepionek, opierając się na wysokości miana przeciwciał neutralizujących. Skuteczność szczepionek może zostać porównana tylko na skutek wieloletniej obserwacji pacjentek i określenia liczby chorych spełniających określone w założeniach punkty końcowe (np. CIN2 lub więcej, AIS; choć jednak najlepszym punktem końcowym, z punktu widzenia metodologicznego, byłoby porównanie liczby pacjentek, które zachorowały na raka szyjki macicy, w populacji szczepionej szczepionką dwuważną i czteroważną).

Warto zwrócić uwagę na fakt (trudno zauważalny dla lekarzy niezajmujących się na co dzień immunologią), że praca Einsteina i wsp. ma pewne zastrzeżenia metodologiczne [9]. Metody badawcze stosowane w pracy nie służą do rutynowego oznaczania przeciwciał poszczepiennych, a samo oznaczanie stężenia przeciwciał zarówno testem neutralizacji, jak i testem ELISA może być obarczone dużym błędem. W szczególności test ELISA ma swoistość ściśle zależną od wykorzystanych w procedurze przeciwciał. Podobnie zastosowanie techniki ELISPOT do ustalenia liczby limfocytów B pamięci, specyficznych dla odpowiednich typów wirusa (więcej limfocytów B powstaje w przypadku szczepionki dwuważnej niż w przypadku szczepionki czteroważnej), ma poważne wady metodologiczne, praktycznie uniemożliwiające interpretację wyników badania [9]. Po pierwsze, liczba komórek pamięci znajdujących się we krwi obwodowej ma niewielkie lub żadne znaczenie w odpowiedzi przeciwwirusowej. Zasadnicze znaczenie ma liczba limfocytów B pamięci znajdujących się w węzłach chłonnych szczególnie w okolicy wrót zakażenia. Poza tym zastosowana przez Einsteina technika ELISPOT charakteryzuje się niską czułością i nie może zostać wykorzystana do odpowiedzi na pytanie, która szczepionka jest bardziej immunogenna [9]. Wydaje się, że bardziej celowe byłoby zastosowanie klasycznego testu proliferacji limfocytów (czy testu transformacji blastycznej) lub nowoczesnego pomiaru liczby swoistych komórek pamięci cystometrią przepływową. Badanie HPV-010 porównujące *head-to--head* szczepionkę dwuważną i czteroważną wskazało na wyższe średnie miana przeciwciała anty-HPV16 i 18 u pacjentek szczepionych szczepionką dwuważną [9]. Analiza skuteczności klinicznej obu szczepionek wykazała 92,7-proc. skuteczność (95-proc. przedział ufności 79,9–98,3) szczepionki dwuważnej i 98,2-proc. (95-proc. przedział ufności 93,5–99,8) skuteczność szczepionki czteroważnej. Warto podkreślić, że liczba limfocytów B pamięci była zbliżona podczas stosowania obu szczepionek, co wskazuje na podobną przewidywaną skuteczność odległą (liczoną w dziesiątkach lat) obu preparatów [9].

W niektórych badaniach poświęca się wiele miejsca wytwarzaniu przeciwciał w śluzie szyjkowym jako elementu ochrony przed zakażeniem wirusem HPV. W przypadku wirusów HPV nie ma jak dotąd dobrych badań wskazujących na praktyczne znaczenie tego zjawiska w prewencji powstawania raka szyjki macicy. Istnieją natomiast bardzo dobrze udokumentowane dowody na fakt, że miano przeciwciał IgA w śluzie szyjkowym nie ma znaczenia w odpowiedzi przeciwwirusowej skierowanej przeciwko HPV [10].

Warto pamiętać, że znaczenie istnienia różnic w powyższych wynikach badań *in vitro* w przypadku szczepionek jest nieznane. Jedna prawdziwa odpowiedź, która ze szczepionek jest lepsza, pojawi się za kilka – kilkanaście lat, gdy będzie można porównać liczbę pacjentek z nowotworem szyjki macicy w obu badanych grupach, z których każda była szczepiona innym preparatem (dwuważnym lub czteroważnym). Ponieważ będzie ich bardzo mało, gdyż obie szczepionki są prawdopodobnie skuteczne, na takie dane będziemy prawdopodobnie czekać wiele lat i będzie to wymagało szeroko zakrojonych badań klinicznych. Czy warto takie badania prowadzić? Z punktu widzenia producentów – być może tak, z klinicznego punktu widzenia dla nas lekarzy będą ważne przede wszystkim dane dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności obu szczepionek spontanicznie uzyskane po ich wprowadzeniu na rynek.

Piśmiennictwo

1. National Cancer Institute http://www.cancer.gov/aboutnci/cancer-advances-infocus/, Cancer advances in focus: cervical cancer. 2007 [cited accessed 2 August 2009].
2. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999; 189: 12-9.
3. Olsson SE, Villa LL, Costa RL, et al. Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) vaccine. Vaccine 2007; 25: 4931-9.
4. Garland SM, Steben M, Hernandez-Avila M, et al. Noninferiority of antibody response to human papillomavirus type 16 in subjects vaccinated with monovalent and quadrivalent L1 virus-like particle vaccines. Clin Vaccine Immunol 2007; 14: 792-5.
5. Wheeler CM, Bautista OM, Tomassini JE, et al. Safety and immunogenicity of co-administered quadrivalent human papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) and hepatitis B (HBV) vaccines. Vaccine 2008; 26: 686-96.
6. Fraser C, Tomassini JE, Xi L, et al. Modeling the long-term antibody response of a human papillomavirus (HPV) virus-like particle (VLP) type 16 prophylactic vaccine. Vaccine 2007; 25: 4324-33.
7. Block SL, Nolan T, Sattler C, et al. Comparison of the immunogenicity and reactogenicity of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in male and female adolescents and young adult women. Pediatrics 2006; 118: 2135-45.
8. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. Int J Cancer 2007; 121: 621-32.
9. Einstein MH, Baron M, Levin MJ, et al. Comparison of the immunogenicity and safety of Cervarix() and Gardasil((R)) human papillomavirus (HPV) cervical cancer vaccines in healthy women aged 18-45 years. Hum Vaccin 2009; 5: 705-19.
10. Bontkes HJ, de Gruijl TD, Walboomers JM, et al. Immune responses against human papillomavirus (HPV) type 16 virus-like particles in a cohort study of women with cervical intraepithelial neoplasia. II. Systemic but not local IgA responses correlate with clearance of HPV-16. J Gen Virol 1999; 80: 409-17.