

【综述】

B 群脑膜炎球菌疫苗的研究现状及挑战

王珊珊, 叶 强*

中国食品药品检定研究院 卫生部生物技术产品检定方法及其标准化重点实验室, 北京 100050

摘要: 疫苗的免疫接种是预防传染病的最有效方法之一。近年以来随着生物技术迅猛发展, B 群脑膜炎球菌疫苗的研究也取得了突破性发展, 应用反向疫苗学技术开发的新型 B 群脑膜炎球菌疫苗已陆续被欧洲医药管理局和美国食品和药品管理局批准上市。尽管目前国内尚未批准相关产品上市, 但一些企业和研究院所已在加紧研发。为了进一步了解 B 群脑膜炎球菌疫苗, 推动国内 B 群脑膜炎球菌疫苗的研发, 综述不同类型 B 群脑膜炎球菌疫苗的研究现状及其面临的挑战。

关键词: 脑脊髓膜炎; B 群脑膜炎球菌疫苗; 外膜囊泡疫苗; 反向疫苗学; 重组疫苗

中图分类号: R978 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2017) 08- 1163 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.08.027

Advance and challenge in research on meningococcal group B vaccines

WANG Shan-shan, YE Qiang

National Institutes for Food and Drug Control, Key Laboratory of Method and Standardization for Quality Control of Biochemical Products, Ministry of Public Health, Beijing 100050, China

Abstract: It is generally accepted that vaccinations are one of the most effective tool for control of infectious diseases. In recent years, the research on meningococcal group B vaccines has made progress extensively. A new meningococcal group B vaccine, developed by the reverse vaccinology technology, has been approved by the European Medicines Agency and the Food and Drug Administration. Although no related products has been approve till now in China, some meningococcal group B vaccines are also developing in domestic companies and research institutes. Therefore, to further understand these vaccines and facilitate the development of meningococcal group B vaccines, this paper reviews advance and challenge in research on meningococcal group B vaccines.

Key words: meningococcal disease; meningococcal group B vaccines; OMV vaccines; reverse vaccinology; recombinant vaccines

流行性脑脊髓膜炎(简称流脑)是由脑膜炎奈瑟菌(或称脑膜炎球菌) *Neisseria meningitidis* 感染引起的一种全球性严重呼吸道传染病。在过去一百多年来, 常在世界范围内引起周期性流行或散在发生流脑疫情, 具有较高的发病率和病死率^[1]。脑膜炎奈瑟菌为一种革兰阴性双球菌, 人是唯一的自然宿主, 通常定植在人的鼻咽部^[1-2]。根据细菌表面荚膜多糖的结构和抗原性差异, 将其分为 13 个不同的血清群, 其中多数病例是由 A、B、C、W135 和 Y 群菌株引起的^[1]。

疫苗的免疫接种是预防流脑的最有效方法之一, 目前已上市用于预防流脑的疫苗主要包括两大类: 多糖疫苗和多糖-蛋白结合疫苗。大量研究结果证实在多个国家使用 A+C 群多糖疫苗、A+C+W135+Y 群多糖及蛋白疫苗后, 可有效地控制相应血清群引起的流脑^[3-4]。然而, 根据当前流行病学调查结果显示, B 群脑膜炎球菌已成为很多发达国家的侵袭性脑膜炎的主要致病菌群。在欧洲, 自 2000 年起 B 群菌株引起的病例占有脑膜炎病例的 60%~72%^[4]; 2000—2012 年, 澳大利亚卫生部门

收稿日期: 2017-04-02

基金项目: 国家重大新药创制项目 (2013ZX09304101)

作者简介: 王珊珊, 女, 研究方向为呼吸道相关细菌疫苗的检测。E-mail: wangshanshan@nifdc.org.cn

*通信作者 叶 强, 男, 硕士, 主任技师, 研究方向为疫苗质量控制和菌毒种鉴定。E-mail: qiangyee@nifdc.org.cn

统计显示 B 群菌株平均感染率为十万分之一,约占所有脑膜炎球菌感染病例的 70%^[5]。在中国,尽管仍主要以 A 群为流脑主要致病群,但由 B 群引起的流脑病例也呈逐渐增加趋势^[4, 6]。因此,如何预防和控制 B 群菌株引起的流脑已成为各国最为关注的公共卫生问题之一。

与 A、C、W135、Y 群菌株荚膜多糖结构不同, B 群菌株的表面荚膜多糖免疫原性较低,并且多糖所含的唾液酸结构与人体神经组织具有一定同源性,可能导致机体对这种多糖疫苗形成免疫耐受,所以 B 群脑膜炎球菌疫苗在开发前期存在很大的挑战^[7-9]。为了有效预防和控制 B 群菌株引起的流脑,近几十年来科研人员不断尝试各种方法和技术应用于疫苗研发,一些新类型的疫苗也进行临床试验,最为关注的是应用反向疫苗学技术开发的新型 B 群脑膜炎球菌疫苗已陆续被欧洲医药管理局和美国食品和药品管理局批准上市^[10-11]。尽管目前国内尚未批准该类相关产品上市,但一些企业和研究院所已在加紧研发^[12-13],以期在未来市场中抢占先机。为了进一步了解 B 群脑膜炎球菌疫苗,推动国内 B 群脑膜炎球菌疫苗的研发,笔者对不同类型 B 群脑膜炎球菌疫苗的研究现状及其面临的挑战进行综述。

1 多糖结合疫苗

B 群脑膜炎球菌表面的荚膜多糖免疫原性较其他血清群免疫原性弱,且与人体正常组织存在一定的免疫交叉反应^[7]。然而,研究人员通过回顾性分析发现先前提出“B 群荚膜多糖作为自身抗原会诱发机体产生自身免疫和病理损伤的观点”只是理论假设,并没有流行病学、血清学、免疫学和临床样本数据的支持,这也可能与来自不同种系(如细菌和哺乳动物细胞)的同源性抗原产生的抗体不尽相同^[14],推测 B 群菌株的荚膜多糖免疫原性差可能主要与其多糖本身特殊免疫学属性相关。

近年来,研究人员一方面尝试通过化学修饰 B 群荚膜多糖结构,并证实这种修饰后 B 群荚膜多糖抗原不再与人类组织发生交叉反应,可作为杀菌性抗体的候选靶位点^[15],同时通过将修饰后 B 群荚膜多糖与相应的载体蛋白结合,制备成 B 群多糖结合疫苗,免疫接种啮齿类和非人类灵长类动物试验结果显示这种候选疫苗能诱导产生高水平特异性抗荚膜抗体反应,且这种抗体具有良好的补体介导杀菌活性^[9]。尽管 B 群多糖结合疫苗离上市还有很长

的路要走,但这些研究结果无疑将促进 B 群荚膜多糖蛋白结合疫苗的发展。

2 减毒活疫苗

随着分子生物技术的发展,研究人员尝试通过改构 B 群菌株,并经研究证实改构细菌的致病力大大下降,制备成 B 群减毒活疫苗,动物试验结果显示这种减毒活疫苗能诱导产生杀菌力抗体,使接种疫苗的动物能抵御相同类型细菌的感染攻击^[16]。

然而,近年来这类疫苗的研发并没有太大进展,考虑到 B 群脑膜炎球菌感染的死亡病例,多由爆发性菌血症而引起的。因此作为 B 群减毒活疫苗,首先在临床试验前必须确定其安全性,应重点评价减毒菌株的毒力回复突变及其稳定性,包括在人体内既不会引起菌血症,也不会变异为野生毒力株。

3 外膜囊泡(OMV)疫苗

脑膜炎球菌细胞外膜是由外膜蛋白(OMP)、脂蛋白及脂寡糖(lipooligosaccharide, LOS)组成的高分子复合物,在自然状态下成囊泡状结构,又称为外膜囊泡(OMV),其中主要具有免疫原性为外膜蛋白^[17]。但应用 B 群菌株的 OMP 或 OMV 作为疫苗候选成分,应首先了解和掌握一个国家或地区 B 群流行血清群菌株的 OMP 表型特征,即所选择 OMP 的针对性^[18-19]。另外,还要研究和获得所选择 OMP 的免疫原性、诱导杀菌抗体的能力、蛋白的保守性以及蛋白的表达量等数据^[19-20]。早在 20 世纪 80 年代,古巴发生 B 群流脑爆发流行,研究人员应用当地流行菌株研制出 B 群 OMV 蛋白疫苗(VA-MENGOC-BC[®]),该疫苗含有 50 μg 的 OMP 和 50 μg 的 C 群荚膜多糖,并于 1991 年被纳入古巴国家免疫规划中,在 3 月龄~7 岁儿童中实施免疫接种,从而大大减少该国 B 群感染的流脑病例。除了古巴,VA-MENGOC-BC[®]疫苗还被引入其他拉丁美洲国家使用,如巴西、哥伦比亚,有效控制这些地区 B 群流脑的疫情^[20]。

1991 年,新西兰开始流行 B 群流脑,分子流行病学调查显示新西兰的 B 群流脑流行优势菌群表型为 B:4:P1.7-2,4,属于高致病性的 B 群菌株 III 遗传世系^[21]。研究人员应用新西兰流行的 B:4:P1.7-2,4(NZ 98/254)菌株为疫苗株,成功开发出 OMV 疫苗(MeNZB),每 1 剂次的疫苗含有 25 μg OMV,于 2004 年在新西兰获得上市批准,并在<20 岁人群中大规模接种,免疫接种 3 针后,在 6~8 和 16~24 月龄两组人群中 75%受试者的血清杀菌

力抗体呈现4倍增长,且疫苗安全性良好;随着该疫苗的使用,新西兰B群流脑的发病率和死亡率大大下降^[22]。

B群流脑菌株具有多样的表型和基因型特征,但往往引起爆发或流行的B群菌株可能属于某一个优势的克隆群。所以,单价OMV疫苗很难保护和抵抗所有不同B群流脑菌株导致的疾病^[7]。因此,为了研制具有更广泛保护作用的OMV疫苗,荷兰研究人员开发了覆盖6种外膜蛋白、包含荷兰和其他欧洲国家主要流行的血清亚型。临床研究结果显示这种疫苗安全,且一半以上受试者血清杀菌力抗体呈现4倍增长,具有良好的免疫原性^[23-24]。为了进一步拓宽疫苗的防御菌株的范围,他们又构建了3个能表达3种不同OMP的B群流脑菌株,配制成9价OMV疫苗,其安全性和临床效果正在评价中。

4 应用反向疫苗学技术研制的重组疫苗

随着全基因组测序技术的发展,应运而生一种新的疫苗发展策略——反向疫苗学,其通过从全基因组水平来筛选具有保护性免疫反应的候选抗原,对目标微生物的毒力因子、外膜抗原、侵袭及毒力相关抗原等蛋白基因进行高通量克隆、表达,纯化出重组蛋白,然后再对纯化后抗原进行体内、体外评价,筛选出保护性抗原^[7-8]。

目前反向疫苗学最成功的例子就是B群脑膜炎球菌疫苗,基于已完成全基因组测序的B群流脑菌株(MC58)为基础,研究人员将其中350个潜在抗原位点在大肠杆菌中进行表达,并将这些重组蛋白纯化,免疫小鼠,发现一系列候选抗原能诱导小鼠产生杀菌力抗体^[25]。其中有几种候选抗原最引人注意,如脑膜炎奈瑟菌肝素结合抗原(NHBA),其在奈瑟氏菌属细菌中均存在,被认为与协助细菌逃避补体介导的杀伤作用,其编码基因有12种亚型,在疫苗研制过程中,将所有脑膜炎奈瑟菌属中细菌共有的2型NHBA纳入。研究发现该蛋白抗体可结合在细菌表面,可活化沉积在细菌表面的补体因子,通过调理作用提高吞噬细菌的能力,并为杀菌力抗体,能在乳鼠攻击模型中预防流脑菌血症^[26]。此外,研究也发现因子H结合蛋白(fHbp)基因存在所有流脑菌株表面,为细菌在血液中存活必需因子之一。能特异性结合人类补体调节蛋白H因子,使H因子与细菌表面结合,减少经典和替代补体途径的激活,从而减少补体介导的杀菌作用。研究证实重组fHbp蛋白诱导产生的抗体滴度高,其结构和保

护性抗原表位可进行组合,已成为最有效的抗原及候选疫苗抗原之一^[27]。脑膜炎奈瑟菌黏附素A(NadA),在细菌定植于宿主和侵入细胞过程中发挥重要作用,是由362个氨基酸残基组成的蛋白质,该蛋白在B群流脑菌株中较为保守,氨基酸同源性>96%,大量研究结果证实该蛋白能诱导产生保护性和杀菌抗体^[28]。

在此基础上,研究人员最终将2种奈瑟肝素结合抗原重组融合蛋白(NHBA-GNA1030)、因子H结合蛋白(fHbp-GNA20911)、重组奈瑟黏附A(NadA)以及源自新西兰流行菌株NZ98/254株的OMV联合配制成一种疫苗(4CmenB)。2008—2010年在欧洲进行临床试验,结果显示1181例受试者在接受3针疫苗免疫接种1个月后,体内杀菌力抗体滴度均大于或等于1:5,12个月后加强免疫第4针,95%~100%受试者的血清杀菌力抗体滴度仍大于或等于1:5,此外,接种疫苗受试者的接种不良反应也呈现良好的耐受性^[29]。目前,该疫苗已在欧洲、加拿大和澳大利亚被批准上市,用于2月龄以上人群免疫接种^[7,11]。

此外,自2006年以来在美国开发的二价fHbp重组疫苗已被美国食品和药物管理局批准用于10~25岁人群免疫接种。在其III期临床试验中,10~25岁3219例受试者接种该疫苗,接种不良反应率较低,与其他疫苗或空白对照组的相当,证实其疫苗的安全性^[30]。目前该疫苗正在欧洲申报注册,预计在2017年能被欧洲医药管理局批准^[31-32]。

5 结语

B群脑膜炎球菌疫苗历经几十年的发展,并取得突破性进展。不可否认的是OMV疫苗在一些国家控制B群流脑疫情发挥重要的作用。但其不能广谱预防多数B群流脑菌株感染病例的固有缺陷将限制其广泛应用。令人鼓舞的是,近些年来通过反向疫苗学技术开发的多组分重组疫苗成功上市为人类控制B群流脑带来了新的希望。尽管现阶段应用血清杀菌性抗体作为“金标准”来衡量人群保护性水平本身并不完善,但随着新的重组疫苗广泛应用,势必将进一步完善和建立更科学的、人群保护性水平评价方法。另一方面,通过应用反向疫苗学技术,结合当前国内B群流脑菌株基因型特征,不断发现和制备的新抗原,优化现有重组疫苗,从而研制出覆盖率广、保护效率高的通用性B群脑膜炎球菌疫苗,从而更加有效预防和控制B群流脑疫情,保证公众健康。

参考文献

- [1] Vázquez J A, Taha M K, Findlow J, et al. Global Meningococcal Initiative: guidelines for diagnosis and confirmation of invasive meningococcal disease [J]. *Epidemiol Infect*, 2016, 1(30): 1-6.
- [2] Giancchetti E, Torelli A, Piccini G, et al. *Neisseria meningitidis* infection: who, when and where [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2015, 13(10): 1249-1263.
- [3] Crum-Cianflone N, Sullivan E. Meningococcal vaccinations [J]. *Infect Dis Ther*, 2016, 5(2): 89-112.
- [4] Sridhar S, Greenwood B, Head C, et al. Global incidence of serogroup B invasive meningococcal disease: a systematic review [J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15(11): 1334-1346.
- [5] Australian Government, Department of Health [EB/OL]. (2016-02-17)[2016-09-27]. <http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-pubs-annlrpt-menganrep.htm>.
- [6] Lu B, Chen X, Wang J, et al. Molecular characteristics and antimicrobial resistance in invasive and noninvasive group B streptococcus between 2008 and 2015 in China [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2016, 86(4): 351-357.
- [7] Toneatto D, Pizza M, Masignani V, et al. Emerging experience with meningococcal serogroup B protein vaccines [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2017, 16(5): 433-451.
- [8] MacDougall D M, Langley J M, Li L, et al. Knowledge, attitudes, beliefs, and behaviors of university students, faculty, and staff during ameningococcal serogroup B outbreak vaccination program [J]. *Vaccine*, 2017, 35(18): 2520-2530.
- [9] Fusco P C, Michon F, Tai J Y, et al. Preclinical evaluation of a novel group B meningococcal conjugate vaccine that elicits bactericidal activity in both mice and nonhuman primates [J]. *J Infect Dis*, 1997, 175(2): 364-372.
- [10] Soeters H M, Dinitz-Sklar J, Kulkarni P A, et al. Serogroup B meningococcal disease vaccine recommendations at a University, New Jersey, USA, 2016 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2017, 23(5): 867-869.
- [11] Parikh S R, Newbold L, Slater S, et al. Meningococcal serogroup B strain coverage of the multicomponent 4CMenB vaccine with corresponding regional distribution and clinical characteristics in England, Wales, and Northern Ireland, 2007-08 and 2014-15: a qualitative and quantitative assessment [J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, S1473-3099(17): 30170-30176.
- [12] 王建华. 多价 B 群脑膜炎球菌蛋白疫苗及其制备方法 [P]. 中国: CN104127869A, 2014-11-05.
- [13] 苏桂民, 杜琳, 朱卫华, 等. 一种 ABC 群脑膜炎球菌联合疫苗及其制备方法 [P]. 中国: CN106215183A, 2016-12-14.
- [14] Robbins J B, Schneerson R, Xie G, et al. Capsular polysaccharide vaccine for Group B *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli* K1, and *Pasteurella haemolytica* A2 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(44): 17871-17875.
- [15] Moe G R, Dave A, Granoff D M. Epitopes recognized by nonautoreactive murine anti-N-propionyl meningococcal group B polysaccharide monoclonal antibody [J]. *Infect Immun*, 2005, 73(4): 2123-2138.
- [16] Li Y, Sun Y H, Ison C, et al. Vaccination with attenuated *Neisseria meningitidis* strains protects against challenge with live Meningococci [J]. *Infect Immun*, 2004, 72(1): 345-351.
- [17] Tamargo B, Márquez Y, Ramírez W, et al. New proteoliposome vaccine formulation from *N. meningitidis* serogroup B, without aluminum hydroxide, retains its antimeningococcal protectogenic potential as well as Th-1 adjuvant capacity [J]. *BMC Immunol*, 2013, 14(Suppl 1): S12.
- [18] Tamargo B, Sierra V G. Group B Meningococcal vaccine based on proteoliposomes [J]. *New Eng J Med*, 2007, 357(17): 1779-1780.
- [19] Williams J N, Weynants V, Poolman J T, et al. Immuno-proteomic analysis of human immune responses to experimental *Neisseria meningitidis* outer membrane vesicle vaccines identifies potential cross-reactive antigens [J]. *Vaccine*, 2014, 32(11): 1280-1286.
- [20] Sotolongo F, Campa C, Casanueva V, et al. Cuban meningococcal B C vaccine: experiences & contributions from 20 years of application [J]. *Medic Rev*, 2008, 9(1): 16-22.
- [21] Martin D R, Walker S J, Baker M G, et al. New Zealand epidemic of meningococcal disease identified by a strain with phenotype B:4:P1.4 [J]. *J Infect Dis*, 1998, 177(2): 497-500.
- [22] Oster P, O'Hallahan J, Aaberge I, et al. Immunogenicity and safety of a strain-specific MenB OMV vaccine delivered to under 5-year olds in New Zealand [J]. *Vaccine*, 2007, 25(16): 3075-3079.
- [23] Peeters C C, Rümke H C, Sundermann L C, et al. Phase I clinical trial with a hexavalent PorA containing meningococcal outer membrane vesicle vaccine [J]. *Vaccine*, 1996, 14(10): 1009-1015.
- [24] Bos J M, Rümke H C, Welte R, et al. Health economics of a hexavalent meningococcal outer-membrane vesicle vaccine in children: potential impact of introduction in

- the Dutch vaccination program [J]. *Vaccine*, 2001, 20(1/2): 202-207.
- [25] Pizza M, Scarlato V, Masignani V, et al. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing [J]. *Science*, 2000, 287(5459): 1816-1820.
- [26] Serruto D, Spadafina T, Ciocchi L, et al. *Neisseria meningitidis* GNA2132, a heparin-binding protein that induces protective immunity in humans [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(8): 3770-3775.
- [27] Seib K L, Brunelli B, Brogioni B, et al. Characterization of diverse subvariants of the meningococcal factor H(fH) binding protein for their ability to bind fH, to mediate serum resistance, and to induce bactericidal antibodies [J]. *Infect Immun*, 2011, 79(2): 970-981.
- [28] Bertoldi I, Faleri A, Galli B, et al. Exploiting chimeric human antibodies to characterize a protective epitope of *Neisseria adhesin A*, one of the Bexsero vaccine components [J]. *FASEB J*, 2016, 30(1): 93-101.
- [29] Vesikari T, Esposito S, Prymula R, et al. Immunogenicity and safety of an investigational multicomponent, recombinant, meningococcal serogroup B vaccine (4CMenB) administered concomitantly with routine infant and child vaccinations: results of two randomised trials [J]. *Lancet*, 2013, 381(9869): 825-835.
- [30] Ostergaard L, Lucksinger G H, Absalon J, et al. A phase 3, randomized, active-controlled study to assess the safety and tolerability of meningococcal serogroup B vaccine bivalent rLP2086 in healthy adolescents and young adults [J]. *Vaccine*, 2016, 34(12): 1465-1471.
- [31] Taha M K, Hawkins J C, Liberator P, et al. Bactericidal activity of sera from adolescents vaccinated with bivalent rLP2086 against meningococcal serogroup B outbreak strains from France [J]. *Vaccine*, 2017, 35(11): 1530-1537.
- [32] Donald R G, Hawkins J C, Hao L, et al. Meningococcal serogroup B vaccines: Estimating breadth of coverage [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2017, 13(2): 255-265.