

Profilaktik HPV aşılıarı: güncel yaklaşımlar

Murat Dede (*)

ÖZET

Yüksek riskli human papilloma virus (HPV) ile servikal kanser arasında sıkı etiyolojik bağlantının olduğunun ortaya konulmasından sonra profilaktik ve tedavi amaçlı aşı bulunması yönünde araştırmalar başlamıştır. HPV 6-11-16-18'e ait L1 virüs benzeri partikül içeren bir kuadriyalan aşı (Gardasil®) 2006 yılının sonundan itibaren Avrupa ülkelerinde kullanılmaya başlanmıştır ve 2007 yılından itibaren HPV 16 ve 18'e karşı geliştirilen bivalan bir aşı (Cervarix®) piyasaya sürülmüştür. HPV 16 ve 18 her yıl yaklaşık 43000 servikal kanser vakasına sebep olmaktadır. Yayınlanan faz 2b ve faz 3 çalışmaları aşının güvenilir ve iyi tolere edilebilir olduğunu göstermektedir. Bu aşı HPV ile hiç karşılaşmamış bayanlarda, HPV ile persistan enfekte veya belirtilen tiplerde HPV içeren servikal intraepitelyal lezyonu olanlara göre daha iyi koruma sağlamaktadır. HPV aşılması kızlarda ilk cinsel aktiviteden önce uygulanmalıdır. Profilaktik HPV aşılması, ileride sağlıklı ve hastaliksız günler öngörse de, servikal tarama yine de yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Aşılama, HPV, servikal kanser

SUMMARY

Prophylactic HPV vaccines: current approaches

The recognition of a strong etiological relationship between infection with high-risk human papillomaviruses and cervical cancer has prompted research to develop and evaluate prophylactic and therapeutic vaccines. One prophylactic quadrivalent vaccine using L1 virus-like particles (VLP) of HPV6, 11, 16 and 18 (Gardasil®) is available on the European market since the end of 2006 and a second bivalent vaccine containing virus-like particles of HPV16 and HPV18 (Cervarix®) is available since 2007. HPV16 and HPV18 cause approximately 43000 cases of cervical cancer each year. Results of the phase-IIb and III trials published thus far demonstrate that the L1 VLP HPV vaccine is safe and well-tolerated. It offers HPV-naïve women a very high level of protection when compared to HPV persistent infection and cervical intra-epithelial lesions associated with the types included in the vaccine. HPV vaccination should be offered to girls before onset of sexual activity. Although prophylactic vaccination is likely to provide important future health gains, cervical screening should also be continued.

Key words: Vaccination, HPV, cervical cancer

Giriş

Genital human papilloma virus (HPV) enfeksiyonu A.B.D'de en yaygın cinsel yolla bulaşan hastalıktır. Her yıl yaklaşık 6.2 milyon kişinin yeni enfeksiyona yakalandığı tahmin edilmektedir. Enfeksiyonların çoğu klinik semptomlara yol açmaz ve kendi kendini sınırlar, ancak onkojenik tipler ile oluşan enfeksiyonlar kadınlarda servikal kansere neden olabilir. Onkojenik HPV tipleri ile oluşan persistan servikal epitel enfeksiyonları, servikal karsinogenez için gerekli, fakat yetersiz bir nedendir (1). Bu büyük nedensel bağlantı, profilaktik ve terapötik aşıların gelişmesine imkan sağlamıştır (2). Servikal kansere neden olabilecek 13 yüksek onkojenik tip HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ve 66) belirlenmiştir (3). Literatürdeki vaka kontrol çalışmaları bunlara ek olarak 5 tip HPV'nin de (26, 53, 68, 78 ve 82) servikal kanser gelişiminde etkin olabileceğini göstermiştir (4). Ayrıca HPV 16 ve HPV 18'in, kadınlarda vulva ve vajina, erkeklerde penis kanseri, hem kadın hem erkeklerde orofarenks, larenks ve anal kanserler ile daha nadir birlikteliği de görülmüştür (5).

HPV yapısı ve immünolojisi

HPV küçük, sirküler, çift sarmallı bir DNA virüsü olup, papovaviridae ailesine aittir. HPV'nin 200'den fazla tipi tanımlanmış ve bunlardan 40 tanesinin genital kanalı enfekte ettiği bilinmektedir (3) Mukozal HPV tipleri iki gruba ayrılmıştır: düşük riskli ve yüksek riskli gruplar. Düşük riskli gruplar: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 olup, yüksek riskli gruplar ise 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82'den oluşmaktadır (6). Düşük riskli gruplar benign anogenital kondiloma ve düşük grade skuamoz intraepitelyal lezyonlara yol açarken, yüksek riskli gruplar anogenital kanserleri oluşturmakta ve servikal kanserlerin %99.7'sinde saptanmaktadır. Onkojenik HPV tipleri içinde 16 ve 18 servikal intraepitelyal neoplazilerin (CIN) %52'sinden ve servikal kanserlerin ise

*GATF Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Aynı basım isteği: Dr. Murat Dede, GATF Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Etik-06018, Ankara
E-mail: mdede@gata.edu.tr

Makalenin geliş tarihi: 03.09.2008 • **Kabul tarihi:** 20.11.2008

%77'sinden sorumlu iken, HPV 6 ve 11 ise anogenital kondilomların %90'undan sorumludur (7).

Viral yapı

HPV viral yapısı zarfsız, protein kapsid ile içerdiği çift sirküler viral genomdan ibarettir. HPV 8 gene sahiptir ve bunlar "open reading frame" (ORF) olarak bilinir. Bunlar fonksiyonel viral proteinleri kodlar. Bu genom 3 bölgeye ayrılır: uzun kontrol noktası (long control region), erken (Early) ve geç (Late) bölge. Geç ORF bölgesi virusun hayat döngüsü içinde kapsid proteinlerini kodlar. Erken bölgesi ise virusun hayat döngüsü içinde DNA replikasyon ve reaktivasyonunda düzenleyici fonksiyon görür (8).

HPV genom ve fonksiyonları

Open reading frame	Fonksiyonu
E1	Viral replikasyon
E2	Viral transkripsiyon ve replikasyon regülasyonu
E4	Sitoskeletal proteinlerle etkileşim
E5	MHC-class 1 proteinlerinin "down" regülasyonu
E6	Onkoprotein; tümör supresör protein P53'e bağlanır
E7	Onkoprotein; tümör supresör protein retinoblastoma bağlanır
L1	Majör viral kapsid protein
L2	Minör viral kapsid protein

HPV: doğal seyir ve immün yanıt

HPV'ye karşı geliştirilen aşılarda HPV kontrolü üzerindeki etkilerini daha iyi anlayabilmek için, HPV'nin doğal seyrini, viral proteinlerin ekspresyonunu ve immünolojik yanıtları çok iyi anlamak gereklidir. HPV akut enfeksiyonun başlangıcında anatomik olarak uygun olan servikal kolumnar epiteldeki bazal epitelyal hücreleri enfekte eder. Enfeksiyon L1 ve L2 kapsid proteinlerin konakçı hücre reseptörlerine bağlanmasıyla başlar. Bundan sonra virus, konakçı hücrenin DNA replikasyon sistemlerini kendi replikasyonu için kullanmaya başlar. Viral genom nükleusta persiste olur ve hücrelerin mitozu ile diğer yeni hücrelere aktarılır. Replikasyonun erken dönemlerinde E6 ve E7 parabazal hücrelerce eksprese edilir. İki geç protein olan virionların toplanması ve DNA paketlemesinden sorumlu L1 ve L2'nin ekspresyonu ise oldukça geç ve matür skuamoz epitelyumda olur. Üretimin son basamağı olan enfekte virion oluşumu için enfekte epitelyal hücrelerin terminal farklılaşması gereklidir. Enfekte virüslerin salınımı ise epitelyal hücrelerin döngüsü içindeki son basamak olan deskuamasyon sırasında oluşur. Sonuçta HPV enfeksiyonunun devamı kesinlikle epitelyal hücrelerin farklılaşma

sürecine bağlıdır. Virus ilk olarak bazal keratinositleri enfekte eder, fakat yüksek orandaki viral proteinlerin ekspresyonu farklılaşmış epitelyal hücrelerde olur. Enfeksiyonun ilk aşamasında hücre başına 50-100 kopya replikasyonu olurken, enfekte hücrelerin farklılaşmaya başlaması ile hücre başına en az 1000 ile birlikte aşırı E6, E7 ve geç proteinler üretilmeye başlanır. E6 ve E7 proteinlerinin ekspresyonu yüksek "grade"li lezyonlara progresle artış gösterdiğinden, terapötik aşılarda için çok iyi bir hedefdir. Bu süreçler non-litik olduğundan bu sırada inflamatuvar süreçlerde çok az bir etkilenme olur. Sonuçta HPV konakçı immün sistemden pratik olarak gözükmez bir şekilde çok uzun bir süre kalır (9).

HPV'nin temizlenmesi için hem "innate", hem de adaptif immünite gereklidir. "Innate" immün sistem inflamasyon ve kemotaksis ile patojenin tanımlanması için kompleks bir cevap oluşturarak, adaptif immün sisteme bir köprü gibi işlev görür. "Innate" immün sistemdeki en önemli özellik ise özellikle dendritik hücre ve makrofajlarda bulunan patojen ve ilişkili moleküler paternleri tanıyan "Tool-like" reseptörlerin (TLRs) olmasıdır. TLR aktivasyonu ile sonuçlanan "innate" immün sistem mekanizması sitokinler (interferonlar; IFN alfa, beta), inflamasyon başlatıcılar (interlökinler) ve kemotaksis ile oluşur.

Hücrel immün sistemin HPV kontrolündeki yeri immünitesi baskılanmış kişilerdeki HPV enfeksiyonunun persistansının gözlemlenmesinden elde edilmiştir. HPV ve ilişkili hastalıklarda E6 ve E7'ye karşı CD4 ve CD8 T-hücre cevabının HPV kontrolündeki yeri açıktır. T-regulatuvar immün sistemin azalması lezyonun progresyonu ile sonuçlanır. E6 ve E7'nin entegrasyonu bu onkoproteinlerin ekspresyonunu başlattığından, E7 ve E7'ye karşı immün sistem etkisi entegrasyonu durdurarak, HPV kontrolünü sağlayacaktır. Son zamanlarda dikkatler çeşitli görevleri olan E2, E4, E5 ve L1/L2 proteinlerine karşı oluşan hücre-bağımlı cevaplar üzerine yoğunlaşmıştır (10).

HPV'ye karşı geliştirilen aşılarda HPV'nin doğal siklusundaki değişik dönemlerine karşı oluşturulmuştur. Profilaktik HPV aşılarda primer enfeksiyona ve daha sonrasında karşı korur. Terapötik aşılarda ise mevcut enfeksiyon veya neoplazi varlığında tedavi amaçlıdır. Profilaktik amaçlı antikör uyarıcı aşılarda mevcut persistan enfeksiyonu elimine edemez. L1 ve L2 kapsid proteinleri bazal hücrelerde eksprese edilemez (prekanseröz doku veya kanser dokusunda). Bu nedenle bunlar terapötik aşılarda için iyi bir hedef değildir (9). Tersine E6 ve E7 proteinleri terapötik aşılarda için önemli hedef proteinler olup, bunlar servikal kanser hücrelerinde sürekli olarak salgılanan tek viral proteinlerdir (1).

Papillomavirusun kapsidi iki parçadan oluşur: majör kapsid protein veya L₁ ve minör kapsid protein L₂ (11). Virus nötralize eden anti L₁ antikoları viral kapsidin yüzey epitoplarına karşı üretilir ve tipe spesifiktir (12). L₂ proteini ise daha içeridedir fakat küçük bir parçası yüzeydedir ve bu segment virüs nötralizan antikoları indükleyebilir. L₂ antijenleri, L₁ antijenlerine göre antikor üretimi açısından daha az potenttir (13). Fakat bunlar heterolog HPV tipleri ile çapraz reaksiyon gösterebilir (14).

Ökaryotik hücrelerde, L₁ kapsid proteininin eksprese edilebildiğinin ve bu proteinlerin bir araya gelerek "Virus Like Proteins" (VLP) oluşturabildiğinin gösterilmesi, HPV aşılarının geliştirilmesi için önemli bir basamaktır. HPV L₁ VLP'leri, enfeksiyöz virusta bulunan nötralizan epitopların aynısını içermektedir. Kapsid proteinin yapısal bütünlüğü, koruyucu antikorun oluşumu için gereklidir. L₁'in denatürasyonu veya uygunsuz katlanması epitopun sunumunu değiştirir ve koruyucu olmayan antikor sağlar. L₂ proteini de L₁ ile birlikte ökaryotik hücrelerde eksprese edilebilir ve bu sayede hem L₁, hem L₂ proteinlerini içeren aşılar üretilir.

HPV aşıları

HPV enfeksiyonlarına karşı geliştirilen aşılar profilaktik aşılar ve terapötik aşılardır. Profilaktik aşılar, sağlıklı kişilerde HPV enfeksiyonu ve bağlı lezyonların gelişimini önlemek için geliştirilmektedir. Terapötik aşılar ise prekanseröz lezyon ve serviks kanseri gelişmiş olgularda lezyonların regresyonunu ve remisyonunu sağlamayı amaçlamaktadır. Terapötik aşı tipleri de enfekte kişilerde virusun çoğalmasını önleyen ve servikte gelişmiş olan tümörün geriletilmesini sağlayan tip olmak üzere iki tiptir.

Profilaktik aşılar: Serviks sekresyonunda nötralizan antikor miktarını artırarak, virusun buradan içeri girmesini immünolojik olarak önlemektedirler. Majör kapsül proteini L1 veya L1+L2 proteinlerini içerir ve VLP şeklinde hazırlanmaktadır. VLP'ler baculovirusla enfekte böcek hücreleri ya da maya hücreleri ile üre-

tilmektedir. Bu virus benzeri parçacıklar, hem morfolojik olarak virusa benzemekte, hem de hücre yüzeyine yapışabilmektedir. Bunlarla elde edilen bağışıklık oldukça özgün ve uzun süreli olabilmektedir. FDA 8 Haziran 2006'da MSD tarafından geliştirilen, kuadriyalan aşı olan, HPV tip 6-11-16-18 için VLP L₁ içeren Gardasil®'in 9-26 yaşlarındaki bayanlarda kullanılabilmesi için ruhsat vermiştir. FDA aşıda yer alan HPV tipleri ile oluşan servikal kanser, servikal in situ adenokarsinom, servikal intraepitelyal neoplazi (CIN; (grade 1-2-3), Vulvar İntraepitelyal Neoplazi (VIN (grade 2-3), Vaginal İntraepitelyal Neoplazi (VAIN; grade 2-3), kondiloma karşı olan korumayı onaylamıştır.

İmmünizasyon pratiği için komite 11-12 yaşlarındaki kızların rutin aşılmasını tavsiye etmiştir, fakat ayrıca 9-10 yaşlarındaki kızların ve 13-26 yaşlarındaki genç kadınların da aşılmasına izin vermiştir. 27 Temmuz 2006'da Gardasil®'in yüksek derecede servikal displazi (CIN 2-3), servikal karsinom, yüksek derecede VIN (2-3) ve eksternal genital siğillere karşı koruma amaçlı satılması gibi pozitif bir fikir kabul edilmiştir. Ayrıca başka bir uygulamada, GSK tarafından üretilen VLP L₁ HPV 16-18 bivalan aşı da (Cervarix®) kabul edilmiştir. HPV aşıları ve farklılıkları Tablo I'de gösterilmiştir. HPV aşıları 9-26 yaşları arasında yapılabilir. İlk doz için 11-12 yaşları uygun görünmektedir. Günümüzde aşı öncesi HPV DNA testleri ve serolojik testler önerilmemektedir.

Terapötik HPV aşılması: Servikal prekürsörlerin gelişimi ve invaziv kansere dönüşümü için intraselüler viral onkoprotein olan E₆ ve E₇'nin üretiminin devam etmesine gerek duyulmaktadır (14). Bu yüzden terapötik aşılar, hücrel immüniteyi bu viral onkoproteinlere karşı uyarmayı hedeflemektedir. Şu an peptid antijenlerin veya rekombinan proteinlerin uygulanması, plazmid DNA aşılması, viral vektör aşılması ve E₇ verilmiş dendritik hücre uygulanması gibi birçok farklı metod uygulanmaktadır. Çalışmalar bu aşılardan güvenli olduğunu ve klinik sonuçlardan bağımsız olarak değişen immünojenite gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Tablo I. HPV aşılarının karşılaştırılması (13,14)

	Kuadriyalan aşı	Bivalan aşı
Aşı tipi	Kuadriyalan HPV 6/11/16/18 VLP, L1 kapsid proteini	Bivalan HPV 16/18 VLP, L1 kapsid proteini
Üretim	Fermente	Böcek hücreleri (Baculovirus)
Konsantrasyon	20 µg HPV 6 40 µg HPV 11 40 µg HPV 16 20 µg HPV 18	20 µg HPV 16 20 µg HPV 18
Adjuvan	225 µg alüminyum hidroksifosfat sülfat	500 µg alüminyum hidroksid ile 50 µg 3-deaçillenmiş monofosforil lipid A (ASo4)

HPV aşıları: prospektif çalışmalar

Günümüze değin, kuadrivalan aşı firması tarafından ilki monovalan (faz 2) ve devamında tetravalan (faz 3) ve bivalan aşı firması tarafından bivalan (faz 2) olmak üzere üç randomize VLP profilaktik aşı çalışması tamamlanmıştır.

Bu çalışmaların ortak sonuçlarına göre HPV VLP aşıları iyi tolere edilmektedir, aşılar yüksek oranda immünojeniktir ve sonuç olarak yüksek antikor titrlerini sağlamaktadır, persistan HPV enfeksiyonu ve HPV-ilişkili klinik hastalığın azaltılmasında etkilidir ve bivalan aşı ile antikor titrelerinin süresi daha uzundur (13-15).

Cervarix® bivalandır ve HPV 16 ve 18 VLP L1 içermektedir. Özellikle CIN ve servikal kanser gelişimini önlemek amaçlanmaktadır. Faz 2 çalışmasında bivalan aşı için plasebo ile kontrol edildiğinde, serokonversiyon oranı 1000 kat, doğal enfeksiyondan 80-100 kat daha yüksektir. Persistan enfeksiyonlar için etkinlik %100 ve sitolojik anormallikler için %93 olarak bildirilmiştir (14). Serokonversiyon, aşılanmayı izleyen 4.5 yılda %98 olarak devam etmektedir. HPV 16 ile 31 ve HPV 18 ile 45 arasında çapraz serokonversiyon olabileceği bildirilmiştir (14). Gardasil® kuadrivalandır ve HPV 16, 18, 6 ve 11'in VLP L1 içermektedir. CIN ve serviks kanserinin önlenmesinden başka, özellikle genç kadınlarda eksternal genitalerde sıklıkla izlenen kondiloma akuminatum lezyonlarının da önlenmesini amaçlamaktadır. Faz 3 çalışmasında kuadrivalan aşısının etkinliği persistan enfeksiyonlar için %90 olarak bulunmuştur. HPV 18, 6 ve 11 için serokonversiyon oranları 36 ay sonrasında anlamlı biçimde düşmüştür (13).

FUTURE I ("Female United To Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical disease"), çok merkezli, çok uluslu 16-24 yaşları arasında 5455 olguyu kapsayan bir faz III çalışmadır. Randomizasyon öncesi HPV taraması yapılmayan kişilere 0, 2, 6. aylarda aşı ve plasebo uygulanmış, HPV'ye karşı etkinlik %100 bulunmuştur (izlem süresi 1.7 yıl). FUTURE II, ABD'de devam etmekte olan çok merkezli 15-26 yaşları arasında 12167 olguyu kapsayan bir faz III çalışmadır. Aşılamayı izleyen 17. ayda 10.000'den fazla olguda HPV 16 ve 18

enfeksiyonu için etkinlik %100 olarak saptanmıştır. HPV aşılarının etkinliği Tablo II'de verilmiştir.

Aşıların içerdikleri virus tipi sayısı da önemli bir konudur. Pentavalan (beş HPV tipi içeren) aşı ile potansiyel olarak serviks kanseri olgularının %83'ünün, heptavalan (yedili) aşı ile olguların %87'sinin önlenileceği öngörülmüştür. Ancak maliyet-etkinlik çalışmalarında en fazla yararın kuadrivalan (dörtlü) aşı ile elde edilebileceği hesaplanmaktadır (16). HPV aşılmasının en önemli etkisi, gelişmekte olan ya da geri kalmış ülkelerde izlenecektir. Bu ülkelerde sitolojik tarama ya yoktur, ya da etkisiz kalmaktadır. HPV 16 ve 18'e karşı aşılama servikal kanser olgularının %70'ini önleyebilecektir. Ancak HPV enfeksiyonunun doğal gidişi göz önüne alındığında bu etki en erken 20 yıl sonra ölçülebilir hale gelecektir.

Gelişmiş ülkelerde, HPV aşılması ile birlikte sitolojik taramaların kombine edilmesinin en iyi maliyet-yarar oranları sonuçlarını vereceği hesaplanmaktadır (17). Yalnız HPV aşılmasına dayanan bir korunma stratejisi ile serviks kanseri olguları azaltılabilir, ancak elimine edilemez. En iyi stratejinin preadölesanların aşılanmasını izleyerek 30 yaşından başlayarak 5 yıllık aralarla 3 kez sitolojik tarama uygulanması olacağı öngörülmektedir. CIN olgularında aşının yararları sınırlıdır. Aşılama yapıldığında da izleme devam edilmelidir. Aşılama hastalarda 'yalancı' bir korunma hissi oluşturabilir. Aşılama, oluşmuş olan servikal sitolojik değişiklikler ve genital siğiller için tedavi değildir (ACOG, 2006).

HPV aşılması ile ilgili sorular

Sonlanma: Çalışmalarda her ne kadar servikal kanser en önemli klinik sonlanma noktası olsa da, bunun yerine geçebilecek başka sonlanma noktalarının gerektiği konusunda araştırmacılar hemfikirdir. Çünkü ilk olarak maligniteler yavaş gelişir ve sonlanma noktası olabilmeleri için çalışma süresinin çok uzun olması gerekmektedir. İkinci olarak klinik yönetim, premalign lezyonların hemen tedavi edilmesini gerektirmektedir (18). Diğer taraftan tipe spesifik aşı ile HPV enfeksiyonunun var olduğunun kanıtı, enfeksiyöz hastalığa karşı klinik çalışma için mümkün

Tablo II. HPV aşılarının etkinliği (13,14)

ITT ("Intention-to-treat") grup	Kuadrivalan aşı	Bivalan aşı
Sitolojik anormallikleri önlemede etkinlik	Rapor edilmemiş	%94 (%95 CI: 70-98)
İlişkili lezyonları önlemede etkinlik	%100 (%95 CI: 56-100) 10 plasebo vaka	%100 (%95 CI: 16-100) 6 plasebo vaka
CIN Lezyonlar	%100 (%95 CI: 32-100) (7 vaka)	%100 (6 vaka)
Eksternal genital siğiller	%100 (CI yok) (4 vaka)	Çalışma amaçlarından değildir

bir seçenek olarak görülen bir sonlanma noktasıdır. Fakat seksüel aktif kadınların yüksek bir yüzdesi, bir veya birden fazla HPV tipi ile enfektedir. Çünkü HPV ile ilgili klinik hastalık enfekte bireylerin küçük bir kısmında görülmektedir.

Son zamanlarda WHO'ya bağlı bir grup uzman tarafından bir konsensüse varılmış ve histolojik olarak aşıda bulunan HPV tipi ile ilişkili yüksek derecede CIN veya daha kötü bir hastalığı faz 3 aşılama çalışması için sonlanma noktası olarak kabul etmişlerdir (19). Tipe spesifik mevcudiyet, aynı HPV tipinin 6-12 ay ara ile olan iki veya daha fazla vizitte tespit edilmesi şeklinde tanımlanmıştır. Servikal ve diğer HPV ilişkili kanserlerin, aşı ve aşısız bireylerde karşılaştırılmalı tespiti kansere karşı korumanın en değerli kanıtı olacaktır (20).

VLP'ye karşı oluşan antikor cevabının oluşması ve süresi: Aşılama ile sağlanan HPV enfeksiyonuna karşı korumanın uzun süreli etkisi hala bilinmemektedir. Tipe spesifik L₁ VLP antikorları maksimum titrasyona 7 ayda, üçüncü dozun uygulanmasından bir ay sonra ulaşır. Titrasyon 24 aya kadar azalır ve sonra stabil hale gelir (13). Fakat her nasılsa antikor titreleri üçüncü yılda plasebo grubuna göre 2-20 kat daha fazladır.

HPV 16 ilişkili CIN lezyonlarına karşı tam koruma faz 2b çalışmasının tamamı boyunca gözlenmiştir, bu süre monovalan HPV 16 aşısı için 48 ay, bivalan HPV 16-18 aşısı için 53 aydır (21). ASO₄ adjuvanının kullanılması, sadece alüminyum tuzlarının adjuvan olarak kullanılmasına göre daha fazla virus nötralizan antikor titresine ve hafıza B hücrelerinin üretilmesine sebep olmuştur. Bunun servikal lezyonlarda uzamış koruma ile sonuçlanıp sonuçlanmayacağı bilinmemektedir. Bu adjuvan maddenin kullanıldığı bivalan aşının (Cervarix®) daha uzun koruyuculuk süresine sahip olduğu iddia edilmekle birlikte, bu konuda yapılmış ayrıntılı çalışmalar yeterli değildir. Her durumda, aşıların koruyuculuk süresinin en az 5 yıl civarında olduğu düşünülmektedir.

Tüm güvenilirlik çalışmalarındaki ciddi istenmeyen olaylar: Aşıya bağlı ciddi istenmeyen olaylar bireylerin %0.1'inden azında görülür. Ciddi istenmeyen olay bildirilen kişilerin oranları ve bildirilen ciddi istenmeyen olay tipleri aşı ve plasebo gruplarında benzerdir. Yedi kişide aşı veya plaseboya olasılıkla, büyük olasılıkla veya kesinlikle bağlı olduğu belirlenen olaylar gelişmiştir. Beş olay kuadriyalan HPV aşısı alanlarda ve 2 olay plasebo alanlarda gözlenmiştir. Kuadriyalan HPV aşı grubundaki 5 olay bronkospazm, gastroenterit, baş ağrısı, hipertansiyon, vajinal kanama ve enjeksiyon bölgesinde ağrıdır. Benzer sonuçlar bivalan aşı kullanımı sonrasında da rapor edilmiştir.

Genel güvenilirlik değerlendirilmesinde kuadriyalan veya bivalan HPV aşısı alan 10 kişi ve plasebo grubundan 7 kişi çalışmalar esnasında ölmüştür. Bu ölümlerin hiçbirisinin aşıya bağlı olduğu kabul edilmemiştir. Aşı grubundaki 2 ölüm ve plasebo grubundaki 1 ölüm aşılamadan sonraki 15 gün içinde görülmüştür. Yedi ölüm motorlu araç kazasına, üç ölüm yanlışlıkla doz aşımı veya intihara, iki ölüm pulmoner emboli veya derin ven trombozuna, iki ölüm sepsise, birer olgu kanser ve aritmiye ve 1 olgu asfiksiye bağlıdır.

Gebelik döneminde aşılama: Klinik çalışma protokolleri gebe kadınları çalışma dışı bırakmıştır. B-HCG testi her bir aşı dozu uygulamadan önce yapılmış ve kadınlarda gebelik saptandığında aşılama gebelik sonrasına ertelenmiştir. Bununla birlikte, klinik çalışma katılımcılarında aşı grubunda 1244 gebelik ve plasebo grubunda 1272 gebelik ortaya çıkmıştır. FDA'ya göre HPV aşısının gebelikte kullanımı kategori B'ye uymaktadır. İnsanlarda yeterli çalışma bulunmamaktadır. HPV aşısı laktasyonda güvenle kullanılabilir (ACOG, 2006).

Sonuçları bilinen gebeliklerde spontan düşük yüzdesi her iki grupta benzerdir. Aşı ve plasebo gruplarında toplam 15 ve 16 konjenital anomali ortaya çıkmıştır ve bunlara gebeliğin tahminen başladığı tarihten sonraki 30 gün içinde aşı veya plasebo alan kadınlardan doğan infantlarda görülenler dahildir. Beş konjenital anomali uzman paneli tarafından birbiriyle ilişkisiz bulunmuş ve çalışmadaki konjenital anormalliklerin oranları izlem kayıtlarındakiler ile uyumludur. Kuadriyalan HPV aşısı sıçan çalışmalarında doğurganlık veya fetal etkilenme kanıtlarının gösterilmemiş olmasına dayanarak kategori B olarak sınıflandırılmıştır.

Aşılama için optimal uygun yaş: Epidemiyolojik çalışmalar birçok kadının ilk seksüel aktiviteden aylar sonra enfekte olduğunu göstermektedir (22). Bu yüzden çocukluk yaşında veya 12-14 yaşlarında ilk seksüel aktivite başlamadan hemen önce aşılamının uygun bir strateji olacağı düşünülmektedir. Faz 2b çalışma protokolünde aşı tipine uygun HPV DNA'sı veya kayıt esnasında serolojisi pozitif olan kadınlar veya çalışma esnasında HPV DNA'sı pozitif olarak tespit edilenler çalışmadan çıkarılmıştır. Kuadriyalan aşının geniş faz 3 çalışmasının ilk analizleri HPV 16 veya 18 ile ilişkili CIN 2+ veya AIS'e karşı korumanın bazal HPV DNA pozitif ve seropozitif HPV 16-18 olanlara karşı olmadığını göstermektedir. HPV DNA pozitif fakat aşılama esnasında seronegatif olan kadınlarda da koruma ciddi anlamda düşüktür.

Erkeklerin aşılanması: HPV cinsel yolla geçen bir hastalıktır. Bu yüzden erkeklerin immünizasyonu ka-

dınların enfekte olmasının ve geçişin engellenmesine yardım edebilir. Toplum immünesitesi üzerine yapılan çalışma modellerinde, aşılama kadında sadece spesifik aşı tipine ait enfeksiyon prevalansı azalmaktadır (23), aşılama grubunda %30 ve hem kadının hem de erkeğin aşılama bu oranı %44 yapabilir. Şu anda, erkeklerdeki immün sistemin HPV VLP'e karşı cevabı hakkında çalışmalar başlamış olsa da, bilgiler çok azdır. Erkeklerin de VLP ile immünizasyonunun kadınlarda olduğu gibi serum immün cevabını artıracığı düşünülmektedir.

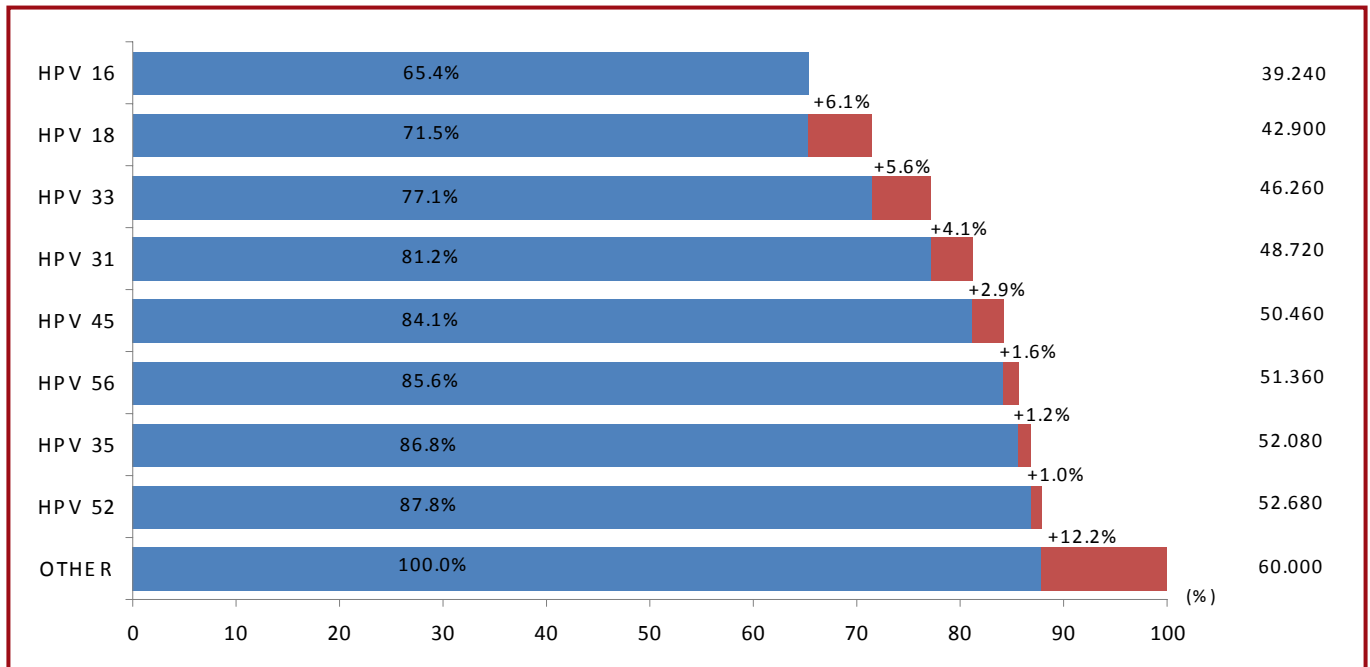
Diğer HPV tiplerinin dahil edilmesi: VLP immünizasyonu ile elde edilen antikor cevabı genellikle tek bir HPV tipine spesifiktir. Yakın HPV tipleri için bile düşük bir çapraz reaksiyon ihtimali mevcuttur. On üç veya daha fazla tip, servikal kanser açısından yüksek riskli olarak tanımlanmıştır (3). Bu durum önemli bir soruyu ortaya çıkarmaktadır: kaç farklı HPV tipi aşı içine katılabilir ve her tip preparatta belirli bir antijen dozu içermeli midir? (18).

Şekil 1 servikal kanserdeki ana HPV tiplerinin, Avrupa için yapılan araştırmalardan tahmin edilen kümülatif miktarını göstermektedir. Ayrıca HPV tiplerinin aynı oranda kombinasyonuna dayandırılabilen servikal kanser vakalarının tahmin edilen sayısını da göstermektedir. GLOBOCAN tarafından 2002'de yayınlanan en son tahminlere göre, Avrupa da yaklaşık olarak 60000 yeni kanser vakası görülmektedir (24). Eğer risk grubundaki bütün kadınlar %100 etkili HPV 16 aşısı ile aşılanacak olursa 39000 yeni servikal kanser vakası önlenir. Aşıya HPV 18 de eklenir-

se, bu sayı 43000 olur (yıllık olarak %71.5 azalma). Oktavalan bir aşı, insidansı %88'e düşürebilir. Bu basit hesaplama insidansın daha da düşürülmesine yol açabilecek çapraz koruma veya replasmanın olmaması farz edilerek yapılmıştır. Replasmandan kastedilen aşı kokteylinin içinde bulunmayan tiplerin elimine edilen tiplerin yerine karsinojenik rol almasıdır. Beş yıllık faz 2b çalışması bu tezi desteklememiştir. Dahası, GSK'nın ASO4 adjuvan kullanarak yaptığı HPV 16-18 aşı (Cervarix®) çalışmasında HPV 16 ve 18 ile ilişkili diğer tipler için kısmi çapraz koruma gösterilmiştir. Koruma anlamlı olarak %94.2 (%95 CI: %63.3-99.9), yeni HPV 45 ve HPV 31 enfeksiyonları için %54.5'dir (%95 CI: %11.5-77.7).

Tarama ve HPV aşısının kombinasyonu: Mevcut L₁ VLP aşıları bütün onkojenik tipleri içermemektedir ve bu aşılar HPV ile etkilenmemiş kızları ve çok az etkilenmiş veya etkilenmemiş kadınları korumayı amaçladığı sürece tarama gerekli olacaktır. Onlu yaşlardaki kızlar için hazırlanan aşılama programı kanser insidansında 2-3 dekattan sonra gözle görülür bir azalma sağlayacaktır.

Aşılama, aşılanmış bireylerin daha ileri yaşlarda taramaya başlamasına, artan intervallerle taramaya ve prekürsör lezyonların takip ve tedavi yükünün azalmasına sebep olacaktır. Verimlilik stratejisinin araştırıldığı bir çalışmada, 30 yaşında başlayan ve her 5 yılda bir yapılan konvansiyonel sitolojik taramanın yaşam boyu kanser riskinde %67 azalma ile sonuçlandığı hesaplanmıştır. HPV 16 ve 18'e karşı aşılama da eklendiği zaman %80 etkinlikle %89 azalmaya sebep olacaktır.



Şekil 1. Servikal kanser için HPV tiplerine göre kümülatif oranlar (4)

Sağlık otoriteleri ve bakım sağlayanlar, taramanın ve aşılamanın birbirini tamamlayan unsurlar olduğunu unutmamalıdır (25). Taramanın aşılama programının başlaması nedeniyle göz ardı edilmesi paradoksal olarak servikal kanser riskinde bir artışa neden olabilir.

HPV için laboratuvar testleri: HPV kültürde çoğaltılamaz. HPV'nin saptanması, HPV genetik bilgisinin tayinini gerektirir (test formatlarının çoğunda DNA). Testler duyarlılık ve tip spesifikliğı bakımından büyük değışkenlik gösterir. Örneğın alındığı anatomik bölge ve alınma yöntemi tayini etkiler. Sadece Digene Hybrid Capture 2 (HC2) yüksek riskli HPV DNA testi A.B.D. Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından klinik kullanım için onaylanmıştır. HC2 yüksek risk testi nükleik asid hibridizasyonunu kullanır ve 13 yüksek riskli tipi (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ve 68) saptar. Sonuçlar pozitif veya negatif şeklinde bildirilir ve tipe spesifik değıldir. HC2 yüksek risk testi kuşku Papanicolaou (Pap) test sonuçlarına (anamlılığı bilinmeyen atipik skuamoz hücreler (ASC-US)) sahip kadınlarda triyaj olarak ve 30 yaşın üzerindeki kadınlarda servikal kanser taramasında Pap testiyle kombine şeklinde onaylanmıştır. Bu test erkeklerde klinik yönden endike değıldir ve kullanım için onaylanmamıştır.

HPV epidemiyolojisi ve temel araştırma çalışmaları tipik olarak HPV tipine spesifik ve belirli formatlarda kantitatif sonuçlar veren nükleik asid amplifikasyon yöntemlerini kullanılır. Epidemiyolojik çalışmalarda en sık kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testleri L₁ geninin genetik olarak korunmuş bölgelelerini hedefler. Bu konsensus testleri HPV'yi çoğaltmak için tasarlanmıştır ve daha sonra tipler spesifik hibridizasyon, restriksiyon enzim kesimi veya dizi analiziyle belirlenir. Kuadrivalan HPV aşısıyla ilgili çalışmalarda, her HPV aşısıyla ilgili çalışmalarda, her HPV tipinin L₁, E₆ ve E₇ genini spesifik olarak tayin etmek için çoklu testler kullanılmıştır. En sık kullanılan HPV seroloji testleri L₁ viral proteine karşı antikörleri saptamak üzere tasarlanmış, VBP'ye dayalı enzim immünoanalizleridir.

Non-onkojenik HPV'lere karşı aşılama: HPV tip 6 ve 11, genital siğillerin %90'ından fazlasına sebep olmaktadır (26). Serviksin düşük "grade"li ve non-progresif yüksek "grade"li displastik lezyonları, bu tiplerden veya varsa, diğeri non onkojenik tiplerden dolayı olabilir. Dahası HPV tip 6 ve 11 nadir durumlarda ciddi hastalıklara sebep olmaktadır. HPV 6 ve 11 fatal olabilen çok ağır bir hastalık olan rekürren respiratuvar papillomatozun en sık nedenidir. Buschke-Lowenstein veya dev kondilom olarak adlandırılan vulva, penis ve anüsün tümörleri de bu HPV tipleri ile

ilişkilidir. Bu tümörler malignite için düşük potense sahiptir, fakat fatal olabilir. MSD tarafından üretilen aşı HPV 6 ve 11 için L₁ VLP içermektedir. Faz 2 çalışmaları dış genital lezyonlara karşı tam koruma göstermiş olsa da, istatistiksel olarak anlamlı sonuç sergileyebilmesi için gücü yetersiz bulunmuştur. Yüksek klinik ve istatistiksel anlamlı koruma, faz 3 çalışmalarında gösterilmiştir.

HPV enfeksiyonlarının tedavisi: HPV enfeksiyonları tedavi edilmez; tedavi HPV ile ilişkili lezyonlara yöneliktir. Genital siğiller ve servikal, vajinal ve vulvar kanser öncüllerinde tedavi seçenekleri lezyonu uzaklaştırmak için çeşitli lokal yaklaşımları içerir (örneğin kriyoterapi, elektrokoter, lazer tedavisi ve cerrahi ekizasyon). Genital siğiller topikal farmakolojik ajanlar ile de tedavi edilir. Sınırlı verilere dayanarak, HPV'ye bağılı lezyonların mevcut tedavileri enfeksiyona yakınlığı azaltabilir, ancak tamamen ortadan kaldırmaz.

Aşılarda L1'e ek olarak HPV proteinlerinin dahil edilmesi: L₁ VLP'ye ek olarak diğeri HPV proteinlerinin de aşıya eklenmesi yüksek teknoloji ve maliyet gerektirmektedir. L₁ ve L₂ kombinasyonu anti-L₂'nin heterolog HPV tiplerine karşı koruma sağlamasından beri umut verici görünmektedir. Erken antijenlerin (E₆-E₇) de eklenmesi L₁ VLP komponentine karşı antikor cevabı ile hücrel immün cevabın meydana çıkarılıp çıkarılmayacağını belirlemek için araştırmalar devam etmektedir (20). Eğer böyleyse terapötik ve profilaktik aktivitesi olan hayali aşının geliştirilmesi için yeni bir yol açılacaktır (27).

Sonuç ve tavsiyeler

Şimdiye kadar yayınlanan faz 2b ve faz 3 çalışmalarının sonuçları L₁ VLP HPV aşılarının güvenilir ve iyi tolere edilebilir olduğunu göstermiştir. HPV ile karşılaşmamış bayanlarda çok yüksek oranda HPV persistan enfeksiyon ve aşıda mevcut HPV tipleri ile oluşan CIN'ler için koruma sağlamaktadır.

Şu an sadece profilaktik aşılar umut vericidir. Profilaktik aşılar gelecekte önemli sağlık yararları sağlarken, servikal taramanın da enfekte olan kadınlarda mutlaka devam ettirilmesi gerekmektedir.

HPV tiplerinin çok çeşitli olması ve gelecek aşıların tipe spesifik olması sebebiyle profilaktik aşıların servikal kanserleri eradike edeceği söylenemez. En önemli HPV tiplerinin elimine edilerek riskte azalma sağlanması, maliyet ve tarama programının zamanını ve aralığını etkileyecek fakat önüne geçemeyecektir.

Hangi HPV tipinin popülasyonda yaygınlaştığının belirlenmesinin devamlı gözlemlenmesi, erken görüntüleme veya doldurma fenomeni, uygun olmayan aşılama fenomeni veya diğeri aşılama başarısızlık nedenleri için gerekli olacaktır.

Kuadrivalan veya bivalan HPV aşısı önerileri için gerekçe özeti: Kuadrivalan veya bivalan HPV aşısının varlığı A.B.D.'de HPV enfeksiyonu ve onun kanser prekürsörleri, servikal kanser, diğer anogenital kanserler ve genital siğilleri içeren sekellerinin yükünün azaltılması için bir fırsat sunmaktadır. HPV aşısı 9-26 yaş arası kızlarda/kadınlarda kullanılmak üzere ruhsatlandırılmıştır. Klinik çalışmalar aşının bu yaş grubunda güvenilir ve immünojenik olduğunu göstermektedir. 16-26 yaş arası kadınlardaki çalışmalar aşının HPV tip 6-11-16 ve 18'e bağlı servikal, vajinal ve vulvar kanser prekürsörleri, displastik lezyonlar ve genital siğillere karşı etkin olduğunu göstermiştir. HPV 16 ve 18 servikal kanserlerin yaklaşık %70'inin nedenidir. HPV 6 ve 11 genital siğillerin yaklaşık %90'unun nedenidir.

11-12 yaşındaki kızların rutin aşılması için öneriler: HPV aşısının güvenli ve etkili olduğunu gösteren çalışmalar; 11-12 yaş aşılamanın ardından sağlanan yüksek antikor titreleri, A.B.D.'de HPV epidemiyolojisi ve ilk cinsel ilişkiye ilişkin veriler ve cinsel etkinliğin ilk birkaç yılında HPV'ya yakalanmanın yüksek olduğunu göstermektedir. Aşının en az beş yıl boyunca, korumada azalmaya ilişkin kanıt olmaksızın koruma sağladığı gösterilmiştir. Koruma süresini belirleyecek uzun süreli çalışmalar devam etmektedir. Öneride maliyet avantajı değerlendirmeleri dikkate alınmış ve birçok profesyonel organizasyon tarafından 11-12 yaşta önerilen, yerleşmiş genç adölesan sağlık-bakım viziti de tavsiye edilmiştir. 11-12 yaşında rutin aşılama önerilse de, 13-26 yaşındaki kadınların çoğu aşılamadan yararlanabilir. Henüz cinsel yönden aktif olmamış kızların aşılamadan tam yarar sağlaması beklenebilir. Bu yaş grubundaki cinsel yönden aktif kadınlar aşısındaki bir veya daha fazla HPV tipi ile enfekte olmuş olabilir de, A.B.D.'deki tipe spesifik prevalans çalışmaları cinsel yönden aktif kadınların küçük bir yüzdesinin aşısındaki dört HPV tipinin tümüyle enfekte olduğunu ortaya koymaktadır. Kuadrivalan aşı çalışmalarına katılan 16-24 yaş arası Kuzey Amerikalı kadınlardan elde edilen bu veriler genel A.B.D. popülasyonundan aynı yaşta kadınlarla göre cinsel ilişki kurmuş olma olasılığı daha yüksek kadınlara aittir. Cinsel yönden aktif bu kadınlarda yaşam boyu seks partnerlerinin ortalama sayısı çalışmaya katılanlar ve genel A.B.D. popülasyonu ile benzerdir. Cinsel açıdan aktif bir kadın popülasyonuna uygulandığında genel aşı etkinliği daha düşük olabilecek ve ilerleyen yaş ve artan seks partnerleri sayısı ile birlikte HPV ile karşılaşma olasılığı ile azalacaksa da, bu yaş grubundaki kadınların çoğu aşılamadan en azından kısmi yarar sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Bosch FX, Lorincz AT, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The casual relation between human papilloma virus and cervical cancer. J Clin Pathol 2002; 55: 244-265.
2. Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papilloma virus vaccination. Nat Rev Immunol 2004; 4: 46-55.
3. Cogliano V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F. Carcinogenicity of human papillomaviruses. Lancet Oncol 2005; 6: 204.
4. Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003; 348: 518-527.
5. Pakin DM, Bray F. Chapter 2: the burden of HPV related cancer. Vaccine 2006; 24 (Suppl 3): S11-25.
6. Woodman CBJ, Collins SI, Young LS. The nature history of cervical HPV infection: unresolved issues. Nat Rev Canad 2007; 7: 11-22.
7. 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; 3: 621-632.
8. Amanda T, Alison F. Human papillomavirus (including vaccines). Obstetr Gynecol Reprod Med 2007; 17: 324-329.
9. Stanley M. Immunobiology of HPV and HPV vaccines. Gynecol Oncol 2008; 109: 15-21.
10. Kabayashi A, Greenblatt RM, Anastas K, et al. Functional attributes of mucosal immunity in cervical intra epithelial neoplasia and effect of HIV infection. Cancer 2004; 64: 6766-6774.
11. Greenstone HL, Nieland JD, de Visser KE, et al. Chimeric papillomavirus virus-like particles elicit antitumor immunity against the E7 oncoprotein in an HPV 16 tumor model. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 1800-1805.
12. Carter JJ, Koutsky LA, Wipf H, et al. The natural history of human papilloma virus type 16 capsid antibodies among a cohort of university women. J Infect Dis 1996; 174: 927-936.
13. Villa LL, Costa RLR, Petta CA, et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. Lancet Oncol 2005; 6: 271-278.
14. Harper DM, Franco EL, Wheeler C, et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus type 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. Lancet 2004; 364: 1757-1765.
15. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, et al; Proof of Principle Study Investigators. Controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. N Engl J Med 2002; 347: 1645-1651.
16. Franco EL, Harper DM. Vaccination against human papillomavirus infection: a new paradigm in cervical cancer control. Vaccine 2005; 23: 2388-2394.
17. Kulasingam SL, Myers ER. Potential health and economic impact of adding a human papillomavirus vaccine to screening programs. JAMA 2003; 290: 781-789.

18. Steenbergen RD, de Wilde J, Wilting SM, et al. HPV-mediated transformation of the anogenital tract. *J Clin Virol* 2005; 32 (Suppl 1): S25-S33.
19. Pagluisi SR, Teresa AM. Efficacy and other milestones for human papillomavirus vaccine introduction. *Vaccine* 2004; 23: 569-578.
20. Lehtinen M. Vaccination against human papillomaviruses shows great promise. *Lancet* 2004; 364: 1731-1732.
21. Mao C, Koutsky LA, Ault KA, et al. Efficacy of human papillomavirus-16 vaccine to prevent cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Obstet Gynecol* 2006; 107: 18-27.
22. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *J Epidemiol* 2003; 157: 218-226.
23. Garnett GP. Role of herd immunity in determining the effect of vaccines against sexually transmitted disease. *J Infect Dis* 2005; 191 (Suppl 1): S97-106.
24. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM, GLOBOCAN 2004. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC CancerBase No. 5, Version 2.0; IARC Press, Lyon, 2004.
25. Schiller JT, Nardelli-Haeffliger D. Chapter 17: Second generation HPV vaccines to prevent cervical cancer. *Vaccine* 2006; 24: 147-153.
26. Lacey CJ, Lowndes CM, Shah KV. Chapter 4: burden and management of non-cancerous HPV-related conditions: HPV-6/11 disease. *Vaccine* 2006; 24: 35-41.
27. Stanley MA. Progress in prophylactic and therapeutic vaccines for human papillomavirus infection. *Exp Rev Vaccines* 2003; 2: 381-389.