



TRAVAIL ORIGINAL

# Vaccination prophylactique et thérapeutique contre le papillomavirus humain

## Prophylactic and therapeutic vaccination against human papillomavirus

J.-L. Brun<sup>a,\*</sup>, D. Riethmuller<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Service de gynécologie-obstétrique, CHU Pellegrin, 33076 Bordeaux, France

<sup>b</sup> Service de gynécologie-obstétrique, CHU Saint-Jacques, 25000 Besançon, France

Reçu le 27 octobre 2006 ; avis du comité de lecture le 14 février 2007 ; définitivement accepté le 6 juin 2007  
Disponible sur internet le 05 septembre 2007

### MOTS CLÉS

Papillomavirus humain ;  
Vaccination ;  
Cancer du col

**Résumé** Les papillomavirus humains (HPV) sont nécessaires au développement du cancer du col utérin. Parmi les 120 génotypes décrits chez l'homme, une quinzaine d'HPV oncogènes à haut risque sont impliqués dans la cancérisation. L'infection concerne environ trois femmes sur quatre et est souvent transitoire par la mise en place d'effecteurs immunitaires aboutissant à la clairance virale. Ce phénomène a permis la mise au point d'un vaccin. Les vaccins prophylactiques sont élaborés à partir de pseudoparticules virales L1 non infectantes, bien tolérées et très immunogènes. Elles empêchent l'infection virale par la production d'anticorps secondairement transsudés au niveau génital (immunité humorale). Les génotypes à haut risque retenus dans les vaccins Gardasil® et Cervarix® sont les HPV-16 et 18, responsables de 70 % des cancers. Ils préviennent l'infection à HPV et les lésions cervicales et périméales viro-induites dans plus de 90 % des cas. Les vaccins thérapeutiques, formés à partir de peptides libres, de protéines ou de bactéries recombinantes, de plasmides ADN ou de cellules dendritiques, sensibilisent les cellules immunocompétentes (immunité cellulaire). Inefficaces dans les cancers du col, ils permettent une régression des dysplasies cervicales dans environ 50 % des cas. Ils restent du domaine de la recherche, contrairement aux vaccins prophylactiques disponibles.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

### KEYWORDS

Human papillomavirus;  
Vaccination;  
Cervical cancer

**Abstract** Human papillomavirus is a necessary cause for the development of cervical cancer. Cervical cancer is attributed to 15 high-risk oncogenic HPV among the 120 genotypes present in human. The infection affects about 3 out of 4 women and is often transient thanks to immunological modulators leading to viral clearance. This characteristic made it possible to develop vaccines. Prophylactic vaccines are made of virus-like particles L1, non infectious, well tolerated and highly immunogenic. They prevent from viral infection by producing anti-

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : jean-luc.brun@chu-bordeaux.fr (J.-L. Brun).

bodies, which are secreted throughout the genital mucosa (humoral immunity). High-risk oncogenic HPV-16 and 18, responsible for 70% of cervical cancer, are included in Gardasil® and Cervarix®. Both vaccines prevent from HPV infection and related cervical and perineal lesions in more than 90% of the cases. Therapeutic vaccines are made of epitope peptides, recombinant proteins and bacteria, plasmid DNA or dendritic cells. All sensitize immunocompetent cells (cellular immunity). Ineffective in cervical cancers, they induce the regression of cervical dysplasia in about 50% of the cases. They are still under research and development, in opposition to prophylactic vaccines, which are available.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

De nombreuses approches vaccinales ont récemment été développées pour lutter contre les infections génitales à papillomavirus humain (HPV), dont certaines sont impliquées dans la carcinogenèse du col utérin. L'objectif de cette revue est de reporter les différents essais cliniques publiés à ce jour ayant conduit au développement des vaccins prophylactiques et thérapeutiques et de discuter la place qu'ils pourraient avoir dans l'avenir.

## Cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus, second cancer de la femme dans le monde, est responsable d'environ 250 000 décès par an au niveau mondial [1].

En France, le cancer du col est au huitième rang des cancers de la femme, mais reste le deuxième cancer de la femme jeune. En 2000, 3400 nouveaux cas étaient déclarés et environ 1000 décès annuels sont rapportés à ce cancer [2].

Le cancer du col est quasi inexistant avant 20 ans et atteint son incidence maximale de 20 pour 100 000 chez les femmes de 40 ans. L'incidence se stabilise ensuite autour de 17 pour 100 000 jusqu'aux âges les plus avancés [2].

Le dépistage des anomalies cytologiques par le frottis cervical a permis, au cours des 20 dernières années, une réduction de l'incidence de ce cancer de près de 3 % par an [2].

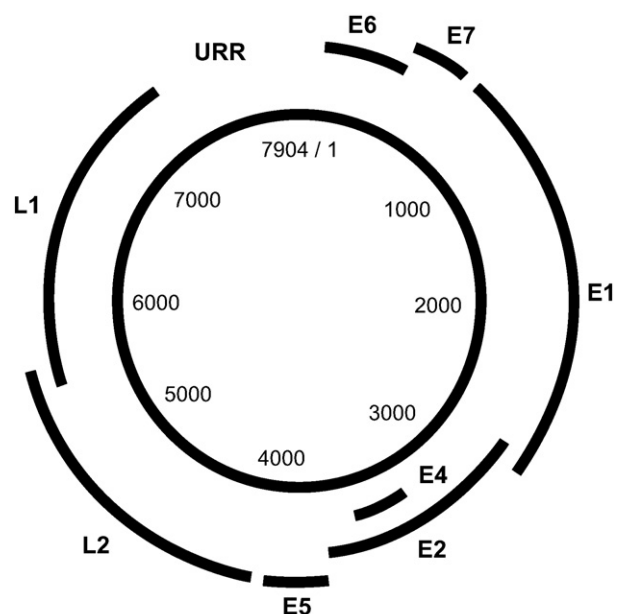
Les HPV dits à « haut risque » sont rencontrés dans plus de 99 % des cancers du col utérin [3]. Ce cancer est la première démonstration dans l'espèce humaine du caractère viro-induit obligatoire d'une tumeur solide. Les deux génotypes les plus fréquemment rencontrés sont les HPV-16 et 18, associés respectivement à environ 50 et 20 % des cancers du col [3-5]. Des cofacteurs existent, tels que les déficits immunitaires, le tabagisme, la contraception orale, la multiparité, etc. [6,7]. Mais l'agent nécessaire, bien que non suffisant, est l'HPV à haut risque.

## Infections à HPV

Les HPV appartiennent à la famille des papillomaviridae. Ces petits virus sont constitués d'une capsidie icosahédrique de 45 à 55 nm de diamètre formée de 72 capsomères. Le génome viral d'environ 8000 paires de bases se présente sous la forme d'ADN circulaire bicaténaire, dont seul un brin est codant et comporte trois régions : la région précoce E (*early*) codant des protéines non structurales (E1 à E7)

dont les oncoprotéines, la région tardive L (*late*) codant des protéines structurales dont les protéines de capsidie (L1 et L2) et enfin une région non codante de régulation URR (*upstream regulation region*) (Fig. 1).

Les HPV possèdent une spécificité d'hôte très étroite. Plus de 120 génotypes ont été retrouvés chez l'être humain. Ils sont répartis en différents types phylogéniques en fonction de leur pourcentage de concordance nucléotidique et de leur tropisme cutané ou muqueux (général, anal, oral). Quarante ont un tropisme génital et 15 sont oncogènes (à haut risque), responsables des dysplasies et cancers du col utérin, de l'anus et de la vulve. Ces 15 virus, détectables par les techniques de biologie moléculaire (Capture d'hybrides, PCR), sont classiquement répartis en type  $\alpha 9$  (16,31,33,35,52,58),  $\alpha 7$  (18,39,45,59) ou non  $\alpha 7$ - $\alpha 9$  (51,56,66,68,73).



**Figure 1** Structure du génome viral de l'HPV et rôle des protéines virales. E1 : réplication ; E2 : réplication et régulation de la transcription ; E4 : maturation et relargage des virions ; E5 : prolifération cellulaire ; E6 : dégradation de p53 (Immortalisation et transformation de la cellule hôte) ; E7 : dégradation de pRb (Immortalisation et transformation de la cellule hôte) ; L1 : protéine majeure de capsidie ; L2 : protéine mineure de capsidie ; URR : région de régulation non codante.

**Figure 1** Structure of HPV genome and role of viral proteins.

Les infections à HPV sont les infections sexuellement transmissibles les plus fréquentes, car leur contagiosité est élevée. Dans la population finlandaise, le risque pour une femme de contracter un HPV au cours de sa vie sexuelle est de 79 % [8]. Dans un groupe de jeunes étudiantes américaines, 60 % ont eu au moins un épisode d'infection à HPV avant ou pendant un suivi de trois ans [9].

Ces infections sont le plus souvent asymptomatiques et transitoires. Dans une minorité de cas, le portage viral persiste au-delà d'une année qui est le délai moyen de la clairance virale. Cela favorise l'intégration virale au sein des cellules épithéliales, à l'origine d'une possible transformation tumorale. En effet, toutes ces anomalies du tissu épithélial ne progressent pas. L'évolution potentielle vers le cancer demande de nombreuses années et passe par différents stades d'anomalies histologiques intraépithéliales préinvasives. Seules les lésions intraépithéliales de haut grade ou néoplasies intracervicales (CIN) 2 et 3 sont à risque de cancer invasif [10].

Les HPV dits « à bas risque » sont responsables de pathologies génitales non malignes et non dégénératives. Les génotypes 6 et 11 sont à l'origine de 90 % des condylomes acuminés anogénitaux [11]. Ils sont aussi impliqués dans la papillomatose orale et laryngée. En France, 300 000 à 600 000 individus sont atteints de condylomes acuminés et le nombre annuel d'épisodes traités varie entre 180 000 et 200 000 [12]. Ces lésions affectent surtout les gens jeunes et leur diagnostic clinique est le plus souvent aisé. Le traitement est, en revanche difficile avec un taux de récurrences élevé. Le retentissement psychologique est important et il n'existe pas de moyen de prévention efficace comme par exemple, le préservatif [13].

Par leur fréquence et le risque de lésions précancéreuses, voire de cancer du col qu'elles induisent, les infections à HPV représentent un important problème de santé publique.

## Approches vaccinales

Pour lutter contre l'infection HPV et/ou ses conséquences, deux approches vaccinales différentes ont été développées : la vaccination prophylactique cherche à éviter l'infection virale en protégeant l'individu par la production d'anticorps (immunité humorale), alors que la vaccination thérapeutique a pour objectif d'entraîner la guérison des lésions histologiques viro-induites par sensibilisation de cellules immunocompétentes (immunité cellulaire). Le développement avancé de la vaccination prophylactique permet une mise à disposition en 2007, alors que la vaccination thérapeutique en est encore aux stades d'essais cliniques.

## Vaccination prophylactique

Les vaccins prophylactiques ont pour objectif d'induire la production d'anticorps neutralisants dirigés contre la capsid virale. Ces anticorps doivent être présents au niveau de la muqueuse et des sécrétions cervicovaginales avant la première exposition au virus. Les vaccins antiviraux sont classiquement basés sur une atténuation ou une inactivation virale, voire des antigènes purifiés. Cette stratégie

n'est pas applicable pour l'HPV, car ce dernier n'est pas cultivable et le génome viral contient des oncogènes (E6 et E7). L'approche choisie a été de cibler les protéines de la capsid virale. Cette démarche n'a été rendue possible que grâce à la découverte de la propriété d'autoassemblage en grande quantité de la protéine majeure de capsid L1 dans différents systèmes eucaryotes [14]. Cela permet la formation de pseudoparticules virales VLP (*virus-like-particles*). Les VLP ne contiennent pas de génome viral, ont la même morphologie que celle des virions, sans caractère pathogène, et sont capables d'induire la production de titres élevés d'anticorps neutralisants dirigés contre la protéine L1 [15]. Les VLP sont produites par l'insertion du gène L1 (gène indemne de séquence oncogène) dans des cellules d'insectes (infectées par des baculovirus) ou dans des levures (*saccharomyces cerevisiae*). L'adjonction de la protéine mineure de capsid L2 augmente la quantité de VLP assemblées, mais pas le caractère immunogène de la particule [16].

Ces vaccins VLP concernent un ou plusieurs types d'HPV et leur efficacité a été évaluée dans des essais rapportés dans le [Tableau 1](#).

## Vaccin monovalent HPV-16

Les vaccins, basés sur la technologie des VLP L1, ont montré dès 2001 des résultats encourageants sur la protection des infections HPV et des lésions cytohistologiques induites [17]. Mais, le véritable espoir vaccinal a vu le jour en 2002 après la publication d'une étude randomisée en double insu sur un vaccin monovalent HPV-16 [18]. Elle concerne 2392 femmes de 16 à 23 ans ayant reçu, par voie intramusculaire, trois doses de vaccin VLP L1 HPV-16 ou un placebo. Le schéma d'administration était zéro, deux et six mois. Les effets indésirables étaient identiques dans les groupes vaccinés et placebo. Le suivi moyen était de 17,4 mois. Aucune infection, ni dysplasie n'était observée dans le groupe vaccin, alors qu'une infection persistante à HPV-16 survenait chaque année chez 3,8 % des femmes du groupe placebo (dont neuf cas de CIN). Ce travail a jeté les bases de la vaccination monovalente contre HPV-16, efficace à 100 % et bien tolérée.

Le suivi à plus long terme de cette cohorte a permis de confirmer l'efficacité de VLP L1 HPV-16, puisque la fréquence des infections à HPV-16 était significativement réduite chez les femmes vaccinées par rapport au groupe placebo [19]. En effet, 40 mois après la réalisation du programme complet de vaccination, 111 cas d'infections à HPV-16 et 12 CIN 2/3 ont été détectés dans le groupe placebo ( $n = 750$ ), contre sept et zéro cas respectivement dans le groupe vaccination ( $p < 0,01$ ). L'efficacité vaccinale était donc de 94 %, IC 95 % : 88-98 % sur la prévention des infections persistantes à HPV-16 et de 100 %, IC 95 % : 65-100 % sur la prévention des lésions intraépithéliales de haut grade. En termes d'immunogénicité, le titre moyen des anticorps anti-HPV-16 était bas ( $< 5$  mMU/ml) et stable dans le groupe placebo, alors qu'il était significativement augmenté dans le groupe vacciné avec un pic à la fin du programme vaccinal au septième mois ( $> 1000$  mMU/ml), puis une phase en plateau ( $> 100$  mMU/ml) stable sur 48 mois.

**Tableau 1** Caractéristiques et résultats des essais randomisés de vaccination prophylactique**Table 1** Characteristics and results of randomized trials on prophylactic vaccination

Étude	Koutsky [18]	Mao [19]	Harper [20]	Harper [21]	Villa [22]
Types de VLP L1 HPV	16	16	16, 18	16, 18	6, 11, 16, 18
Adjuvant	Aluminium	Aluminium	ASO4	ASO4	Aluminium
Laboratoire	MSD	MSD	GSK	GSK	MSD
Sites d'étude	USA	USA	USA, CA, BR	USA, CA, BR	USA, EU, BR
Âge des patientes (ans)	16-23	16-23	15-25	15-25	16-23
Calendrier vaccinal (mois)	0-2-6	0-2-6	0-1-6	0-1-6	0-2-6
Patientes randomisées (n)	2392	2391	1113	776	552
Protocole respecté (n)	1533	1505	721	694	468
Durée du suivi (ans)	1,5	3,5	1,5	4,5	2,5
Infections persistantes					
Vaccin/placebo (n)	0/41	7/111	0/7	0/7	4/36
Efficacité [% (IC 95 %)]	100 (90-100)	94 (88-98)	100 (47-100)	100 (34-100)	90 (71-97)
Lésions intraépithéliales					
Vaccin/placebo (n)	0/9	0/12	2/27	0/8	0/3
Efficacité [% (IC 95 %)]	100 (90-100)	100 (65-100)	93 (70-98)	100 (42-100)	100 (16-100)

VLP-HPV : particules pseudovirales du papillomavirus ; MSD : Merck/Sanofi Pasteur ; GSK : GlaxoSmithKline ; USA : États-Unis ; CA : Canada ; BR : Brésil ; EU : Europe ; IC 95 % : intervalle de confiance à 95 %.

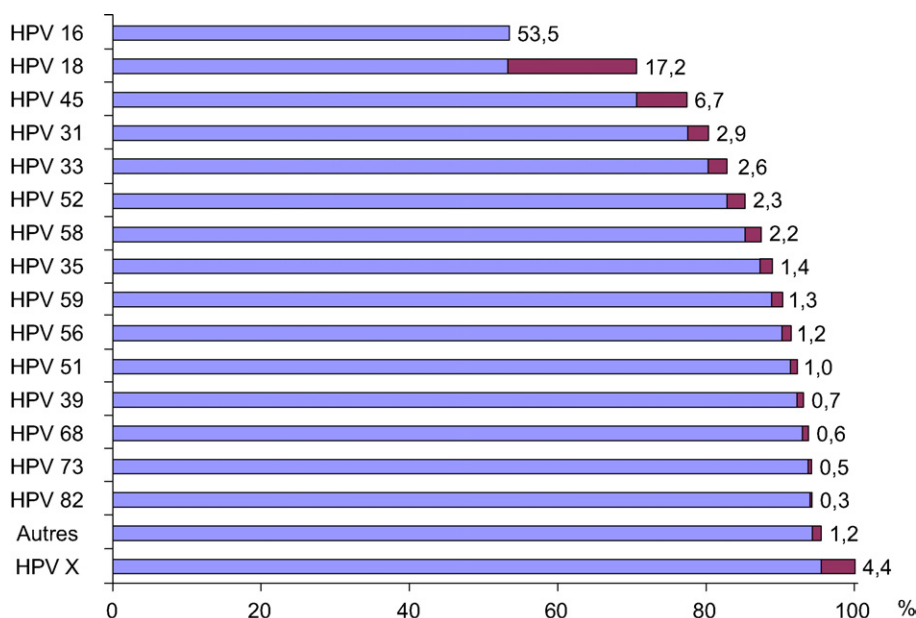
Les travaux actuels n'ont pas encore mis en évidence un épitope conformationnel immunogène commun à la quinzaine de génotypes à haut risque impliqués dans la carcinogenèse. L'objectif vaccinal est de permettre la meilleure prévention de l'infection par les génotypes les plus fréquemment retrouvés dans les cancers du col de l'utérus. Or, il n'est pas possible à ce jour de mettre plus de quatre valences différentes dans un vaccin du fait de la complexité de mise en œuvre et des contrôles drastiques de qualité. La protection sera donc forcément incomplète et cela ne remet pas en cause le dépistage. Toutefois, du fait de la répartition génotypique, la protection contre les HPV de génotype 16 et 18 devrait amener une diminution d'au moins 70 % du risque de cancer cervical [5] (Fig. 2).

Deux vaccins utilisant la technologie des VLP L1 sont actuellement parvenus à un stade de développement

clinique avancé (phase III) dont les derniers résultats sont très concluants : un vaccin bivalent Cervarix® (GlaxoSmithKline, Rixensart, Belgique ; MedImmune, Gaithersburg, Maryland) dirigé contre les HPV-16 et 18 ; un vaccin quadri-valent Gardasil® (Merck/Sanofi Pasteur MSD, West Point, Pennsylvanie) dirigé contre les HPV-16 et 18, ainsi que les HPV à bas risque 6 et 11.

### Vaccin bivalent HPV-16 et 18

Dans une étude randomisée en double insu, 1113 femmes de 15 à 25 ans ont reçu trois doses de vaccin VLP L1 HPV-16 et 18 Cervarix® ou un placebo [20]. Le schéma d'administration était zéro, un et six mois. Les effets indésirables n'étaient pas différents dans les deux groupes. Une évalua-

**Figure 2** Répartition (%) des cancers du col attribués aux génotypes HPV les plus fréquents [5].**Figure 2** Percentages of cervical cancer cases attributed to the most frequent HPV genotypes [5].

tion était faite à 18 et 27 mois. L'efficacité vaccinale était de 100 %, IC 95 % : 47-100 % sur la prévention des infections persistantes à HPV-16 et 18 lorsque le protocole était respecté ( $p = 0,007$ ) et de 95 %, IC 95 % : 64-99 % en intention de traiter ( $p < 0,001$ ). L'efficacité était de 93 %, IC 95 % : 70-98 % sur les anomalies cytologiques induites par les HPV-16 et 18 ( $p < 0,001$ ).

Le suivi de cette cohorte jusqu'à 4,5 ans confirme l'excellente protection vis-à-vis des infections à HPV-16 et 18 et la bonne tolérance du vaccin [21]. Elle rend aussi plausible l'hypothèse d'une réaction protectrice croisée entre les différents génotypes oncogéniques. Plus de 98 % des femmes ont développé des anticorps anti-HPV-16 et 18 dès le septième mois, avec un maintien de cette immunité humorale au-delà de quatre ans. L'efficacité vaccinale était de 94 %, IC 95 % : 63-100 % sur la prévention des infections à HPV-16 et 18 persistant pendant six mois ( $p < 0,001$ ) et de 100 %, IC 95 % : 34-100 % sur celles persistant pendant 12 mois ( $p = 0,006$ ). L'efficacité était de 100 %, IC 95 % : 42-100 % sur les anomalies cytologiques supérieures à CIN 1 induites par HPV-16 et 18 ( $p = 0,003$ ) et de 59 %, IC 95 % : 1-84 % pour les lésions induites par les 15 types d'HPV à haut risque détectés par capture d'hybrides ( $p = 0,032$ ). En effet, l'HPV-45, phylogénétiquement proche de l'HPV-18, semble être aussi couvert par ce vaccin bivalent avec une efficacité de 94 %, IC 95 % : 63-100 %. L'infection par HPV-31, phylogénétiquement proche de l'HPV-16, est diminuée de 55 %, IC 95 % : 12-78 %. Les HPV-31 et 45 étant responsables à l'échelle mondiale de près de 10 % des cancers du col de l'utérus, le taux de réduction de cancer par la vaccination serait plus proche des 80 % que des 70 % espérés initialement, si ces réactions de protections croisées se confirmaient.

### Vaccin quadrivalent HPV-6, 11, 16, 18

L'efficacité et la tolérance du vaccin quadrivalent ont été démontrées dans une étude de phase II randomisée en double insu incluant 552 femmes âgées de 16 à 23 ans [22].

Elles ont reçu trois doses de vaccin VLP L1 HPV-6, 11, 16, 18 Gardasil® ou un placebo par voie intramusculaire. Le schéma d'administration était zéro, deux et six mois. Les effets indésirables n'étaient pas différents dans les deux groupes. Une évaluation était faite à 36 mois. Lorsque le protocole était respecté, l'efficacité vaccinale était de 90 %, IC 95 % : 71-97 % sur la prévention des infections persistantes à HPV-6, 11, 16, 18 et de leurs conséquences ( $p < 0,001$ ). Elle était respectivement de 89 %, IC 95 % : 70-97 % pour les infections persistantes ( $p < 0,001$ ) et de 100 %, IC 95 % : 16-100 % pour les lésions cliniques ( $p = 0,015$ ), qu'ils s'agissent des CIN ou des verrues génitales. L'efficacité dépendait peu du type viral : elle était de 100 % pour les HPV-6 et 11, de 86 % pour l'HPV-16 et de 89 % pour l'HPV-18.

En termes d'immunogénicité, les taux des anticorps anti-HPV-6, 11, 16 et 18 au bout de deux mois étaient 12 à 26 fois plus élevés qu'avant vaccination, puis diminuaient sensiblement pour atteindre une phase en plateau (de l'ordre de 100 mMU/ml) stable sur 36 mois [23]. En revanche, le titre moyen des anticorps anti-HPV restait bas ( $< 5$  mMU/ml) dans le groupe placebo. Par ailleurs, les titres

obtenus après vaccination étaient significativement plus élevés chez les adolescentes que chez les femmes adultes, ce qui laisse présager une prévention efficace dès le plus jeune âge.

### Particularités des différents vaccins

Le vaccin quadrivalent permet une excellente protection contre les condylomes acuminés puisque les génotypes 6 et 11 inclus dans le vaccin sont responsables de 90 % des verrues génitales [11]. Les condylomes acuminés ne représentent pas une pathologie grave au sens vital, mais restent un véritable problème de santé publique par ses implications psychologiques non négligeables, ses traitements souvent multiples et ses récurrences fréquentes. Par ailleurs, certaines lésions intraépithéliales de bas grade sont induites par ces génotypes à bas risque. Ainsi, ce vaccin pourrait diminuer plus largement le nombre de frottis de bas grade lors du dépistage postvaccinal. Enfin, la promotion du vaccin HPV implique une information des parents sur la prévention des infections sexuellement transmises, en plus de celle sur la prévention du cancer du col.

Le vaccin bivalent utilise un adjuvant original le ASO<sub>4</sub> qui aurait la particularité de stabiliser les pseudoparticules virales au cours du stockage et d'induire un pic de titre d'anticorps avec de plus faibles doses d'antigènes, ce qui a déjà été démontré avec le vaccin hépatite B [24]. Enfin, le taux intéressant de protection croisée serait lié à l'adjuvant [21]. Il faudra, toutefois, attendre le résultat des larges études en cours avec le vaccin quadrivalent qui utilise comme adjuvant un classique sel d'aluminium, avant de conclure à l'avantage du vaccin bivalent en termes de réactions croisées.

### Vaccination thérapeutique

Le but de la vaccination thérapeutique est de sensibiliser les cellules immunocompétentes pour neutraliser l'infection HPV déjà installée et faire régresser les lésions précancéreuses, voire les cancers du col utérin.

Les vaccins thérapeutiques peuvent être formés à partir de peptides libres, de protéines recombinantes, de virus ou de bactéries recombinants associés à des gènes codant pour certains types d'HPV, à partir de fragments de plasmide ADN ou de cellules dendritiques sensibilisées par des antigènes viraux. Tous stimulent l'immunité T cellulaire en présentant les antigènes vaccinaux à la surface des cellules qui les ont intégrés en association avec les molécules HLA de classe I ou II afin de stimuler respectivement les lymphocytes T CD8+ et CD4+.

Les principales études évaluant l'efficacité vaccinale chez les femmes ayant une lésion intraépithéliale de haut grade sont rapportées dans le Tableau 2.

### Vaccins peptidiques

Les vaccins peptidiques ont été testés chez des femmes ayant une lésion cervicale intraépithéliale de haut grade ou un cancer invasif dans des études de phase I-II [25,26]. Ces peptides codés par le gène E7 de l'HPV-16 sont immu-



**Tableau 2** Caractéristiques et résultats des essais de vaccination thérapeutique sur les lésions intraépithéliales de haut grade  
**Table 2** Characteristics and results of trials of therapeutic vaccination on high-grade squamous intraepithelial lesions

Étude	Muderspach [25]	Stressgen	Frazer [32]	Brun [37]	Garcia [40]	Garcia [42]
Type de vaccin	Peptidique	CoVal Hsp E7	Protéine de fusion	MVA-E6E7-IL2	MVA-E2	ZYC 101a
Virus impliqué	E7 HPV-16	E7 HPV-16	E6 E7 HPV-16	E6 E7 HPV-16	E2 HPV-16	E6 E7 HPV-16/18
Laboratoire	-	Stressgen	CSL	Transgene	Lemery	ZYCOS
Voie d'administration	Sous-cutanée	Sous-cutanée	Sous-cutanée	Sous-cutanée	Intra-utérine	Intramusculaire
Calendrier (semaines)	0-3-6-9	0-3-6	0-3-6	0-1-2	0-1-2-3-4-5	0-3-6
Patientes (n)	18	31	23	21	34	86
Durée du suivi (mois)	1	2	0,5	6	3	6
Méthode d'évaluation	Conisation	Conisation	Biopsie	Colpo et frottis	Conisation	Conisation
Réponse clinique [n, (%)]	Totale 3 (17 %) Partielle 6 (33 %)	Totale 10 (32 %) Partielle 12 (39 %)	1 (4 %)	10 (48 %)	Totale 20 (59 %) Partielle 3 (9 %)	37 (43 %)
Réponse virologique [n (%)]	12 (67 %)	-	23 (100 %)	10 (48 %)	16 (47 %)	-

E2, E6, E7 : oncoprotéines E2, E6 et E7 du papillomavirus humain (HPV) ; Hsp : protéine de fusion ; MVA : modified virus Ankara ; IL2 : interleukine 2.

nogènes et peuvent être reconnus par les lymphocytes T chez les femmes HLA-A2 [27].

Dix-huit patientes ayant une lésion intraépithéliale de haut grade ont été vaccinées par les séquences peptidiques 12-20 et 86-93 de l'HPV-16 E7 associées à un peptide stimulant les lymphocytes T CD4+ (PADRE) [25]. Quatre injections intradermiques espacées de trois semaines ont été faites. La tolérance était bonne avec une douleur locale constante bien tolérée et des manifestations postvaccinales de grade I/II (fièvre, asthénie, nausées, arthralgies, myalgies) dans 5 à 15 % des cas. Une surveillance colposcopique, cytologique, virologique et immunologique a été réalisée au cours du traitement et une conisation a été pratiquée au décours de la dernière injection. Une réponse clinique a été observée dans la moitié des cas (six régressions partielles et trois totales). L'ADN viral n'était plus retrouvé au frottis chez 12 patientes (67 %), mais une activité transcriptionnelle E7 HPV-16 restait détectée en hybridation in situ sur toutes les pièces de conisation. Dix réponses CD8+ ont été observées (55 %).

Le même vaccin a été administré à 19 patientes ayant un cancer du col invasif récidivant et échappant au traitement conventionnel [26]. Il a été bien toléré. Un an après la vaccination, le cancer a progressé chez 15 patientes (79 %) dont un décès, était stable dans deux cas et a régressé dans deux autres cas traités par chimiothérapie concomitante.

Les vaccins peptidiques développés à la fin des années 1990 n'ont pas donné les résultats espérés. Inefficaces dans les cancers invasifs, d'indications limitées aux patientes HLA-A2, les résultats sont mitigés sur les lésions précancéreuses. Si la conisation avait été plus tardive, une meilleure réponse clinique et virologique aurait pu être observée, mais aucune étude ultérieure n'a confirmé cette hypothèse. Toutefois, les vaccins peptidiques continuent à être développés sous la forme d'un peptide long E6 et E7 d'HPV-16 formé de 30 à 35 acides aminés [28]. Les résultats sont intéressants chez les femmes ayant une dysplasie sévère de la vulve avec 50 % de réponses cliniques. De même, la vaccination de souris transgéniques par VacciMax® composé de peptides E6/7 et d'adjuvants (*immunovaccine technologies*, Halifax, Canada) a permis l'éradication de tumeurs induites [29].

## Protéines recombinantes

Certains vaccins ont été élaborés à partir de protéines de fusion associant un antigène viral et un antigène d'origine bactérienne augmentant ainsi l'immunogénicité de l'antigène viral, ce qui permet à l'organisme de mieux le reconnaître.

CoVal™ HspE7 (Stressgen, San Diego, Californie) est une protéine de fusion entre Hsp65 du BCG et la protéine E7 de l'HPV-16. Elle a été testée avec succès chez des patients ayant des verrues anogénitales [30]. Dans un essai de phase II piloté par le National Cancer Institute, Stressgen (<http://www.stressgen.com>) rapporte les résultats de 31 patientes ayant un CIN 3 dont l'HPV n'a pas été typé. Elles ont reçu trois injections sous-cutanées de 500 µg de HspE7 espacées de 20 jours. La tolérance était bonne, avec la réaction inflammatoire cutanée habituelle sur le site d'injection, voire un syndrome pseudogrippal. Deux mois après la dernière injection, une conisation était réalisée. Le CIN 3 avait disparu chez dix patientes (32 %), 12 (39 %) étaient toujours porteuses de la lésion qui avait régressé de plus de 50 % en colposcopie et neuf (29 %) n'ont pas répondu au vaccin. L'efficacité de CoVal™ HspE7 sur les verrues anogénitales contraste avec une réponse beaucoup plus modeste sur des lésions intraépithéliales cervicales de haut grade tout venant. Ce brevet a été racheté par Nventa Biopharmaceuticals Corporation (Victoria, British Columbia, Canada) qui y a incorporé des adjuvants afin d'augmenter la réponse immunitaire cellulaire [31].

HPV-16 Immunotherapeutic est une protéine de fusion exprimant E6 et E7 de l'HPV-16 associée à un adjuvant ISCOMATRIX™ (CSL Limited Company, Parkville, Australie). Trente et une patientes ayant une dysplasie cervicale légère à sévère induite par l'HPV-16 ont été randomisées versus placebo (3 : 1) dans un essai de phase I [32]. Les différentes doses testées ont toutes entraîné des effets secondaires de faible sévérité. Les patientes ont développé une immunité humorale et cellulaire et la charge virale HPV-16 a significativement diminué chez les femmes vaccinées. Toutefois, les biopsies cervicales guidées sous colposcopie réalisées 9 à 12 semaines après l'évaluation initiale n'ont montré qu'une seule régression anatomopathologique

parmi les 23 lésions de haut grade. Une seule semaine s'est déroulée entre la dernière injection et l'examen final du col, ce qui paraît insuffisant pour espérer une réponse histologique.

En France, un vaccin bivalent contre HPV-16 et 18 a été développé par BT PHARMA en collaboration avec l'Institut Pasteur. Cette société a montré l'intérêt d'utiliser une protéine bactérienne, l'adénylate cyclase (CyaA) afin de vectoriser des antigènes HPV exprimés dans les lésions précancéreuses du col utérin [33]. Cette protéine, issue de la bactérie de la coqueluche *Bordetella pertussis*, présente la particularité de se fixer avec une grande affinité à un récepteur exprimé par les cellules dendritiques présentatrices de l'antigène et de transloquer un fragment protéique dans le cytoplasme de ces cellules. Des séquences réorganisées de l'oncoprotéine E7 du papillomavirus HPV-16 ont été insérées par génie génétique dans la CyaA. Administré à des souris C57BL/6 porteuses de tumeurs, ce candidat vaccin induit une réponse T cytotoxique et une régression tumorale complète chez 100 % des animaux en une seule injection et sans adjuvant. Une protéine recombinante homologue pour l'HPV-18 a également été développée. Un premier essai clinique utilisant le vaccin bivalent HPV-16 et 18 (ProCervix®) doit débiter en 2007 et ciblera les lésions cervicales intraépithéliales de haut grade.

### Virus et bactéries recombinants

Le virus de la vaccine (poxviridae) a été utilisé comme vecteur pour exprimer les gènes codant pour E6 et E7 des HPV-16 ou 18.

Les essais préliminaires réalisés chez les patientes ayant un cancer du col invasif ont été décevants en termes de réponse immunitaire ou de réponse clinique. Vingt-neuf patientes ayant un cancer du col précoce ont été vaccinées par TA-HPV (Cantab/Xenova), virus de la vaccine recombinant exprimant E6 et E7 de l'HPV-16 et 18, quelques semaines avant la colpohystérectomie [34]. La tolérance de deux injections espacées de quatre semaines était bonne, mais seules huit femmes (28 %) ont développé des anticorps dirigés contre les HPV. Chez huit patientes traitées pour un cancer du col avancé par une dose unique de TA-HPV, trois (37 %) ont eu une réponse immunitaire et une seule réponse clinique (12 %) a été attribuée au vaccin [35].

En France, un vaccin recombinant dirigé contre HPV-16 a été développé par le laboratoire Transgene (Strasbourg). Le vecteur développé par Transgene (TG 4001) est le virus de la souche de vaccine atténuée MVA (*modified virus Ankara*) dont le génome a été modifié pour intégrer les gènes codant pour les protéines E6 et E7 rendues non oncogènes de l'HPV-16 et le gène codant pour l'interleukine 2 humaine (MVA-HPV-IL2). Des essais précliniques ont été réalisés chez l'animal. Des souris immunocompétentes, préalablement implantées par voie sous-cutanée ou intraveineuse avec des cellules murines tumorales exprimant les antigènes E6 et E7 du virus HPV-16, ont été vaccinées par trois injections sous-cutanées de TG 4001 (MVA-HPV-IL2),  $5 \times 10^6$  plaque-forming units (pfu), espacées d'une semaine ou par trois injections d'un placebo. Le taux de survie à quatre mois était respectivement de 70 et 5 % dans ce modèle préclinique. Des essais de phase I chez des patientes ayant une

dysplasie sévère et un cancer invasif du col ont montré une bonne immunogénicité du vecteur, puisque les lymphocytes T CD8+ synthétisant de l'interféron- $\gamma$  en présence d'antigènes de l'HPV-16 ont été mis en évidence chez 75 % des patientes immunisées [36]. Dans une étude de phase II, 21 patientes ayant une lésion intraépithéliale de haut grade induite par HPV-16 (PCR sur biopsie) ont été vaccinées par trois injections sous-cutanées de TG 4001 à la dose de  $5 \times 10^7$  pfu. Elles étaient initialement porteuses d'ADN viral d'HPV à haut risque (*hybrid capture* II) et d'ARNm codant pour E6 et E7 (Norchip PreTect HPV-Proofer). À six mois, une réponse clinique (normalisation de la colposcopie) et cytologique (frottis normal, ASCUS ou bas grade) a été détectée chez dix femmes (48 %) permettant d'éviter une conisation dans huit cas. Les activités transcriptionnelles E6 et E7 d'HPV-16 avaient disparu chez les dix patientes, suggérant l'élimination des cellules cervicales infectées. Les résultats à 12 mois confirment ces données. Cependant, la négativation de l'*hybrid capture* n'est pas obtenue dans tous les cas, deux femmes étant encore porteuses d'HPV-16 probablement sous forme épisomale et deux autres ayant contracté un ou plusieurs autres HPV (45, 52, 58, 59) au cours de la période de suivi [37].

Au Mexique, le vaccin développé par le laboratoire Lemery (Mexico City) est le virus de la vaccine MVA couplé au gène codant pour E2 (MVA-E2). La protéine E2 inhibe l'expression des oncogènes E6 et E7 des HPV, nécessaires au maintien de l'activité tumorale. En stimulant l'activité des lymphocytes et des macrophages, ce vaccin a montré une cytotoxicité sur les cellules tumorales infectées par HPV. Des essais préliminaires chez l'animal (souris, lapin) ont confirmé son efficacité [38]. Deux études cliniques de phase II ont ensuite été publiées [39,40]. Le vaccin a été injecté par voie muqueuse intra-utérine ( $10^7$  pfu), une fois par semaine pendant six semaines. La tolérance a été moyenne avec des céphalées, une fièvre ou un syndrome pseudogrippal dans un tiers des cas. Une évaluation clinique, histologique, immunologique et virologique a été faite trois semaines après la fin du traitement. Toutes les patientes ont développé une immunité humorale (anticorps dirigés contre le virus MVA et la protéine E2) et cellulaire (activation des lymphocytes T cytotoxiques contre les cellules tumorales). La première série était constituée d'un groupe hétérogène de 36 patientes (21 lésions de bas grade et 15 lésions de haut grade) [39]. La colposcopie s'est normalisée dans 85 % des cas. Les lésions dysplasiques ont disparu chez 34 patientes (94 %). Les lésions de haut grade ont moins bien répondu au vaccin (27 % de koilocytes ou de CIN 1 résiduels) que les lésions de bas grade (5 % de koilocytes résiduels). L'ADN viral évalué par *hybrid capture* s'est négativé dans la moitié des cas. La deuxième série était composée de 34 patientes ayant une lésion intraépithéliale de haut grade (CIN 3) [40]. La colposcopie ne montrait plus de lésion chez 19 patientes (56 %), une régression de plus de 60 % pour 11 d'entre elles (32 %) et une réduction de 25 % chez quatre patientes (12 %). Les lésions ont entièrement régressé en histologie dans 20 cas (59 %), ou partiellement (deux CIN 2 et une CIN 1) dans trois cas (9 %). La charge virale était indétectable chez 11 patientes (32 %) et diminuée de 95 % chez cinq d'entre elles (15 %). Au total, le vaccin MVA-E2 entraîne une régression des

lésions de haut grade chez deux tiers des patientes, mais l'élimination de l'HPV n'est pas constante deux mois après le début de la vaccination.

### Vaccins ADN

Des fragments de plasmide ADN d'origine bactérienne codant pour la protéine E7 d'HPV-16 (ZYC101) ou codant pour les protéines E6 et E7 des HPV-16 et 18 (Amolimogene® ou ZYC101a) ont été mis au point par le laboratoire ZYCOS (MGI Pharma Biologics, Lexington, Massachusetts) pour des essais vaccinaux. Trois injections intramusculaires espacées de trois semaines sont réalisées. Dans une étude de phase I, l'efficacité de la vaccination par ZYC101 de 15 patientes ayant une lésion intraépithéliale de haut grade a été vérifiée par une conisation faite quatre semaines après la dernière injection [41]. Aucun effet indésirable sérieux n'a été rapporté. Cinq patientes (33 %) ont eu une réponse histologique complète et quatre d'entre elles ont développé une immunité humorale sous la forme d'anticorps anti-E2 (Ig A). Onze patientes (73 %) ont développé une réaction lymphocytaire cytotoxique contre HPV. Dans une étude multicentrique randomisée de phase II, 86 patientes ayant une CIN 2 ou 3 vaccinées par ZYC101a ont été comparées à 41 patientes vaccinées par un placebo [42]. Le test *hybrid capture* était positif pour un HPV oncogène à haut risque, mais les HPV-16 et 18 n'étaient isolés que dans la moitié des cas. Une conisation était pratiquée systématiquement au bout de six mois. La tolérance vaccinale était bonne, limitée à des effets secondaires modérés intéressant le site d'injection (douleur : 68 vs 32 % ; érythème : 20 vs 6 %). Les lésions intraépithéliales de haut grade disparaissaient dans respectivement 43 et 27 % des cas ( $p = 0,12$ ). Les résultats devenaient significatifs dans le sous-groupe des 24 femmes de moins de 25 ans avec une réponse observée dans 70 et 23 % des cas respectivement ( $p = 0,007$ ), indépendamment du type d'HPV impliqué. Au total, on peut se demander si les résultats modestes de cette étude ne seraient pas liés à la vaccination d'une population trop large, porteuse d'autres virus oncogènes que ceux concernés par ZYC101a, le sous-groupe des jeunes femmes ne représentant que 19 % de cette population. Un suivi à un an a été fait chez 77 femmes vaccinées (52 par ZYC101a et 25 par placebo) [43]. Dix-neuf (25 %) avaient encore un test HPV positif par PCR (sept HPV-16/18 et 12 autres HPV) avec une répartition identique entre les deux bras. Dans ce sous-groupe de patientes, huit (42 %) exprimaient un virus différent du type initial. Le taux de lésions intraépithéliales de bas grade et de haut grade était respectivement de 10 et 4 %. Chez les femmes de moins de 25 ans, un HPV était détecté chez trois (20 %) sur 15 des femmes vaccinées par ZYC101a et 3/7 (43 %) des placebos, mais le faible effectif de ces sous-groupes ne permet pas de tirer des conclusions valables.

### Cellules dendritiques

Les cellules dendritiques ont un rôle essentiel en présentant l'antigène au système immunitaire. Des réinjections de cellules dendritiques, soit immatures incubées avec des extraits tumoraux, soit matures et transfectées par le gène

codant pour E7, ont été pratiquées dans le cadre d'essais de phase I. Chez des patientes ayant un cancer du col ne répondant plus aux thérapies conventionnelles, des monocytes ont été prélevés, puis différenciés en culture in vitro en cellules dendritiques. L'épitope E7 HLA-A0201 est ensuite intégré à ces cellules qui sont réinjectées de façon autologue [44,45]. La tolérance était bonne et aucun effet secondaire majeur n'a été rapporté. Sur 11 des 15 patientes évaluables traitées pour un stade IV, trois réponses humorales et quatre réponses T cellulaires ont été détectées, mais aucune réponse clinique n'a été observée [44]. Dans une autre série, quatre patientes ayant un cancer du col avancé récidivant ou métastatique ont été vaccinées par des cellules dendritiques transfectées par le gène codant pour E7 des HPV-16 et 18 associées à de l'interleukine 2 humaine recombinante [45]. Deux ont développé une réponse immunitaire humorale et cellulaire. Chez ces patientes immunisées, la tumeur a progressé moins rapidement (survie médiane 13 mois) que chez les patientes non immunisées (survie médiane cinq mois). La littérature ne fait pas état d'essais concernant le traitement des dysplasies cervicales par les cellules dendritiques.

### Particules pseudovirales

L'effet des vaccins prophylactiques à base de particules pseudovirales VLP a été testé chez des femmes déjà infectées par le virus HPV. Dans une étude randomisée, la clairance virale a été évaluée chez 1259 femmes positives en *hybrid capture* II et vaccinées par Cervarix® (HPV-16 et 18) ou Havrix® (hépatite A) [46]. Le taux de disparition des HPV-16 et 18 n'était significativement pas différent dans ces deux groupes, respectivement 35 et 31 % à six mois et 53 et 55 % à 12 mois. Il en était de même pour les autres HPV identifiés par PCR, qu'ils soient de type oncogénique ou non. Les vaccins prophylactiques ne s'adressent donc qu'aux femmes indemnes d'infection virale et a fortiori de lésions cervicales.

Des VLP chimériques HPV-16 ont été fabriquées en incorporant les protéines E2 et E7 à VLP-L1 [47]. L'injection de ces VLP chimériques à des souris transgéniques a montré une meilleure immunogénicité T cellulaire que l'injection des protéines E2 ou E7 seules. Les auteurs suggèrent que le développement des vaccins thérapeutiques associe E2 aux classiques oncoprotéines E6 et E7, en raison de son expression précoce dans les lésions intraépithéliales du col utérin et de la réponse immunitaire qu'il stimule.

### Au total

L'efficacité des vaccins thérapeutiques chez l'animal apparaît plus nuancée chez la femme. Les modèles murins ne reflètent qu'imparfaitement les néoplasies cervicales humaines induites par HPV, d'où l'intérêt de confronter les résultats de plusieurs essais cliniques. Si la réponse vaccinale sur les tumeurs invasives reste décevante, les résultats sur les lésions intraépithéliales de haut grade sont encourageants. Dans ce domaine, les vaccins recombinants utilisant le virus MVA se sont révélés les plus efficaces avec 48-62 % de réponse à six mois, alors que le taux de régression spon-



tanée des CIN 3 est inférieur à 30 %, voire 20 % lorsqu'ils sont induits par HPV-16 [48].

Les essais continuent à se mettre en place en Europe et aux États-Unis avec un degré d'avancement variable selon les équipes. Si ces résultats sont confirmés, voire améliorés par des adjuvants ou étendus à d'autres HPV du même type phylogénique que ceux injectés, les vaccins thérapeutiques pourraient représenter une alternative à la conisation pour traiter les lésions cervicales intraépithéliales de haut grade. Cela pourrait éviter la persistance ou la récurrence virale après conisation (20 %), à l'origine de récurrences dysplasiques (5 à 15 %), ainsi que les sténoses et les béances cervicales (5 à 15 %) compromettant la fertilité et l'avenir obstétrical des jeunes femmes [49].

## Place des vaccins dans la prévention des cancers du col utérin

Les vaccins prophylactiques devraient être proposés à toutes les femmes, idéalement avant le début de leur activité sexuelle. En effet, la prévalence de l'infection HPV est élevée dès les premiers rapports, rendant difficile l'isolement de circonstances ou de groupes à risque. L'âge idéal de la vaccination est la résultante d'un compromis entre l'âge minimal efficace (ou acceptable), l'âge maximal inutile et la faisabilité. Les jeunes filles âgées de 11 à 18 ans sont les principales bénéficiaires, parce que l'âge moyen des premiers rapports est de 17 ans et que 20 % des filles de 15 ans ont déjà été exposées. Au sein de cette population, la tranche d'âge 11-13 ans représente la cible idéale. En effet, cet âge représente celui des premières règles, moment propice pour commencer à parler de gynécologie, de sexualité et de prévention ; de plus, la vaccination serait faite avant le début de l'activité sexuelle, au même moment que certaines injections de rappel prévues dans le calendrier vaccinal français. Cette population jeune est encore relativement accessible pour laisser espérer une bonne adhésion, facteur de succès en santé publique. L'acceptabilité de cette vaccination reste à définir auprès des parents et des adolescents. Une information large et didactique sur l'infection HPV et sa relation avec le cancer du col doit leur être délivrée. Toutefois, certains éléments ne sont pas encore définis. La durée de la protection est à évaluer : elle est d'environ cinq ans actuellement et la nécessité d'un rappel n'est pas établie. Les résultats de la vaccination sur l'incidence du cancer seront différés, d'autant plus qu'elle est réalisée chez des jeunes femmes. La stratégie de vaccination des femmes de plus de 18 ans en période d'activité sexuelle est en théorie envisageable, mais doit être sans doute adaptée aux résultats des prélèvements virologiques cervicaux.

La vaccination prophylactique est complémentaire du dépistage qui reste indispensable du fait de l'absence de protection complète que confère la vaccination. Toutefois, ce dépistage doit être repensé en raison de la perte importante de pertinence du frottis cytologique chez les femmes vaccinées. En effet, la prévalence des frottis anormaux pourrait diminuer de 4 % à moins de 1 % et rendra inacceptable la faible sensibilité de la cytologie cervicale comme outil de dépistage. Les techniques de biologie moléculaire plus sensibles, par la mise en évidence du génome viral HPV

dans le tractus génital féminin, seront probablement préférées. Les modalités du dépistage (début, fin, intervalle entre deux prélèvements) restent à préciser.

Quoi qu'il en soit, les lésions intraépithéliales cervicales pourraient persister, à cause d'un défaut possible de couverture vaccinale ou de l'émergence des infections par des HPV oncogènes autres que 16 ou 18. Les vaccins thérapeutiques ont alors une place pour rattraper les insuffisances de la vaccination prophylactique, si leur développement autorise un usage en routine dans les années qui viennent. Dans ces conditions, la vaccination prophylactique et thérapeutique contre les HPV pourrait prévenir quasiment tous les cas de cancers du col utérin.

## Remerciements

Les auteurs remercient les Drs Martine Baudin et Valérie Calenda (Transgene), Myriam Bouillette-Marussig (BT-Pharma) et Jean-Luc Taupin (CHU de Bordeaux) pour les informations qu'ils ont bien voulu donner et pour leur lecture critique de cette revue.

## Références

- [1] Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999;49:33-64.
- [2] Exbrayat C. Col de l'utérus. In: Remontet L, Buemi A, Velten M, Jouglu E, Estève J, editors. Évolution de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1978 à 2000. Paris: INVS; 2003. p. 107-12.
- [3] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12-9.
- [4] Bosch FX, Rohan T, Schneider A, Frazer I, Pfister H, Castellsague X, et al. Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV 2000 international papillomavirus conference. *J Clin Pathol* 2001;54:163-75.
- [5] Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer* 2004;111:278-85.
- [6] Peters RK, Thomas D, Hagan DG, Mack TM, Henderson BE. Risk factors for invasive cervical cancer among Latinas and non-Latinas in Los Angeles County. *J Natl Cancer Inst* 1986;77:1063-77.
- [7] Orth G, Croissant O. Papillomavirus humains et carcinogenèse du col utérin : perspectives dans les domaines du dépistage et de la prévention. *Bull Acad Natl Med* 1997;181:1365-94.
- [8] Syrjanen K, Hakama M, Saarikoski S, Vayrynen M, Yliskoski M, Syrjanen S, et al. Prevalence, incidence, and estimated lifetime risk of cervical human papillomavirus infections in a non-selected Finnish female population. *Sex Transm Dis* 1990;17:15-9.
- [9] Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338:423-8.
- [10] Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993;12:186-92.
- [11] Wieland U, Pfister H. Papillomaviruses in human pathology: epidemiology, pathogenesis and oncogenic role. In: Gross R, Barrasso R, editors. Human papillomavirus infection: a clinical atlas. Ullstein Mosby; 1997. p. 1-18.
- [12] Lafuma A, Monsonogo J, Moyal-Barracco M, Pribil C. Comparaison coût-efficacité par modélisation de l'imiquimod et de

- la podophyllotoxine dans le traitement du condylome acuminé externe en France. *Ann Dermatol Venerol* 2003;130:731-6.
- [13] Lukasiewicz E, Aractingi S, Flahault A. Incidence et prise en charge des condylomes acuminés externes en médecine générale. *Ann Dermatol Venerol* 2002;129:991-6.
  - [14] Hagensee ME, Yaegashi N, Galloway DA. Self-assembly of human papillomavirus type 1 capsids by expression of the L1 protein alone or by coexpression of the L1 and L2 capsid proteins. *J Virol* 1993;67:315-22.
  - [15] Rose RC, Reichman RC, Bonnez W. Human papillomavirus (HPV) type 11 recombinant virus-like particles induce the formation of neutralizing antibodies and detect HPV-specific antibodies in human sera. *J Gen Virol* 1994;75:2075-9.
  - [16] Schiller JT, Lowy DR. Papillomavirus-like particles and HPV vaccine development. *Semin Cancer Biol* 1996;7:373-82.
  - [17] Harro CD, Pang YY, Roden RB, Hildesheim A, Wang Z, Reynolds MJ, et al. Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:284-92.
  - [18] Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Barr E, Alvarez FB, et al. Proof of Principle Study Investigators. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med* 2002;347:1645-51.
  - [19] Mao C, Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Wiley DJ, et al. Efficacy of human papillomavirus-16 vaccine to prevent cervical intraepithelial neoplasia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2006;107:18-27.
  - [20] Harper DM, Franco EL, Wheeler C, Ferris DG, Jenkins D, Schuind A, et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet* 2004;364:1757-65.
  - [21] Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM, et al. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet* 2006;367:1247-55.
  - [22] Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Ault KA, Giuliano AR, 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;6:271-8.
  - [23] Villa LL, Ault KA, Giuliano AR, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, et al. Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus types 6, 11, 16, and 18. *Vaccine* 2006;24:5571-83.
  - [24] Boland G, Beran J, Lievens M, Sasadeusz J, Dentico P, Nothdurft H, et al. Safety and immunogenicity profile of an experimental hepatitis B vaccine adjuvanted with AS04. *Vaccine* 2004;23:316-20.
  - [25] Munderspach L, Wilczynski S, Roman L, Bade L, Felix J, Small LA, et al. A phase I trial of a human papillomavirus (HPV) peptide vaccine for women with high-grade cervical and vulvar intraepithelial neoplasia who are HPV-16 positive. *Clin Cancer Res* 2000;6:3406-16.
  - [26] Van Driel WJ, Rensing ME, Kenter GG, Brandt RMP, Krul EJT, van Rossum AB. Vaccination with HPV-16 peptides of patients with advanced cervical carcinoma: clinical evaluation of a phase I-II trial. *Eur J Cancer* 1999;35:946-52.
  - [27] Steller MA, Gorski KJ, Murakami M, Daniel RW, Shah KV, Celis E, et al. Cell-mediated immunological responses in cervical and vaginal cancer patients immunized with a lipidated epitope of human papillomavirus type 16E7. *Clin Cancer Res* 1998;4:2103-9.
  - [28] Kenter GG, Welters M, Lowik M, Vloon A, Drijfhout JW, Valentijn R, et al. Preliminary results of HPV-16 long peptide vaccination in patients with HPV induced genital lesion: safety, immunogenicity and clinical effect. *Proceedings of the 23rd international papillomavirus conference and clinical workshop. Prague. 2006 7.*
  - [29] Daftarian PM, Mansour M, Pohajdak B, Korets-Smith E, Fuentes-Ortega A, Brown RG, et al. Eradication of large HPV-16-expressing established tumors (CA 1000 mm<sup>3</sup>) by a single administration of a vaccine composed of liposome-encapsulated CTL-T helper peptides in a water-in-oil emulsion. *Proceedings of the 23rd international papillomavirus conference and clinical workshop. Prague. 2006 7.*
  - [30] Goldstone SE, Palefsky JM, Winnett MT, Neeffe JR. Activity of HspE7, a novel immunotherapy, in patients with anogenital warts. *Dis Colon Rectum* 2002;45:502-7.
  - [31] Webb J, Liu H, Wick D, Bantoch S, Johnsen V, Lowe K, et al. Potent CD8T cell responses against HPV-16 E7 antigen: augmenting the anti-HSPE7 immune response with poly ICLC or CPG. *Proceedings of the 23rd international papillomavirus conference and clinical workshop. Prague. 2006 67.*
  - [32] Frazer IH, Quinn M, Nicklin JL, Tan J, Perrin LC, Ng P, et al. Phase 1 study of HPV-16-specific immunotherapy with E6E7 fusion protein and ISCOMATRIX<sup>TM</sup> adjuvant in women with cervical intraepithelial neoplasia. *Vaccine* 2004;23:172-81.
  - [33] Prévile X, Ladant D, Timmerman B, Leclerc C. Eradication of established tumors by vaccination with recombinant *Bordetella pertussis* adenylate cyclase carrying the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein. *Cancer Res* 2005;65:641-9.
  - [34] Kaufmann AM, Stern PL, Rankin EM, Sommer H, Nuessler V, Schneider A, et al. Safety and immunogenicity of TA-HPV, a recombinant vaccinia virus expressing modified human papillomavirus HPV-16 and HPV-18 E6 and E7 genes, in women with progressive cervical cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:3676-85.
  - [35] Borysiewicz LK, Fiander A, Nimako M, Man S, Wilkinson SW, Westmoreland D, et al. A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins, as immunotherapy for cervical cancer. *Lancet* 1996;347:1523-7.
  - [36] Bourgault-Villada I. Vaccination anti-papillomavirus humains. *Thérapie* 2005;60:271-4.
  - [37] Brun JL, Bory JP, Leveque J, Mathevet P, Raulic P, Baldauf JJ, et al. Twelve month follow-up data of the HPV-16 CIN2/3 women having responded to Transgene's therapeutic vaccine TG4001. *Proceedings of the 23rd international papillomavirus conference and clinical workshop. Prague. 2006 66.*
  - [38] Rosales C, Valadez G, Arrellin R, Merchant H, Rosales R. A recombinant vaccinia virus containing the papilloma E2 protein promotes tumor regression by stimulating macrophage antibody-dependent cytotoxicity. *Cancer Immunol Immunother* 2000;49:347-60.
  - [39] Corona-Gutierrez CM, Tinoco A, Navarro T, Contreras ML, Cortes RR, et al. Therapeutic vaccination with MVA E2 can eliminate precancerous lesions (CIN 1, CIN 2, and CIN 3) associated with infection by oncogenic human papillomavirus. *Hum Gene Ther* 2004;15:421-31.
  - [40] Garcia-Hernandez E, Gonzales-Sanchez JL, Andrade-Manzano A, Contreras ML, Padilla S, Guzman CC, et al. Regression of papilloma high-grade lesions (CIN 2 and CIN 3) is stimulated by therapeutic vaccination with MVA E2 recombinant vaccine. *Cancer Gene Ther* 2006;13:592-7.
  - [41] Sheets EE, Urban RG, Crum CP, Hendley ML, Politch JA, Gold MA, et al. Immunotherapy of human cervical high-grade intraepithelial neoplasia with microparticle-delivered human papillomavirus 16E7 plasmid DNA. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:916-26.
  - [42] Garcia F, Petry KU, Munderspach L, Gold MA, Braly P, Crum CP, et al. ZYC101a for treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2004;103:317-26.
  - [43] Bua D, McKane S, Gedney A, Meldorf M. Follow-up HPV status in subjects who underwent LEEP during a trial evaluating the

- efficacy and safety of amolimogene (ZYC101a). Proceedings of the 23rd international papillomavirus conference and clinical workshop. Prague. 2006 191.
- [44] Ferrara A, Nonn M, Sehr P, Schreckenberger C, Pawlita M, Durst M, et al. Dendritic cell-based tumor vaccine for cervical cancer II: results of a clinical pilot study in 15 individual patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003;129:521-30.
- [45] Santin AD, Bellone S, Palmieri M, Ravaggi A, Romani C, Tassi R, et al. HPV-16/18 E7-pulsed dendritic cell vaccination in cervical cancer patients with recurrent disease refractory to standard treatment modalities. *Gynecol Oncol* 2006;10:469-78.
- [46] Hildesheim A, Herrero R. Effect of a HPV-16/18 vaccine on resolution of infections in women with pre-existing HPV. Proceedings of the 23rd international papillomavirus conference and clinical workshop. Prague. 2006 6.
- [47] Qian J, Dong Y, Pang YYS, Ibrahim R, Berzofsky JA, Schiller JT, et al. Combined prophylactic and therapeutic cancer vaccine: enhancing CTL responses to HPV-16 E2 using a chimeric VLP in HLA-A2 mice. *Int J Cancer* 2006;118:3022-9.
- [48] Trimble CL, Piantadosi S, Gravitt P, Ronnett B, Pizer E, Elko A, et al. Spontaneous regression of high-grade cervical dysplasia: effects of human papillomavirus type and HLA phenotype. *Clin Cancer Res* 2005;11:4717-23.
- [49] Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskevidis E. Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2006;367:489-98.