

HPV 感染与阴茎癌

编者按：人乳头状瘤病毒（HPV）流行广泛并对泌尿生殖健康有重大影响。不仅参与很多良性疾病，而且在阴茎癌变过程中发挥关键的作用。本文经美国 Moffitt 肿瘤中心 Philippe E. Spiess 教授独家授权发布。

Barrett Z. McCormick^{1,2}, Adam S. Baumgarten^{1,2}, Philippe E. Spiess^{1,2}

1 美国佛罗里达州坦帕 Moffitt 肿瘤中心泌尿生殖肿瘤系

2 美国佛罗里达州坦帕 南佛罗里达州大学医学院泌尿科

通讯作者：Philippe E. Spiess, E-mail:Philippe.spiess@moffitt.org

【摘要】

人乳头状瘤病毒（HPV）流行广泛并对泌尿生殖健康有重大影响。不仅参与很多良性疾病，而且在阴茎癌变过程中发挥着关键作用。本文探讨了当前对 HPV 在良、恶性疾病中的认识。对此病毒的各个方面包括高、低风险血清型、分子生物学和发病机制以及临床表现进行了论述。最后对当前的疫苗研究策略进行了讨论。

【关键词】 人乳头状瘤病毒（HPV）； 阴茎癌； 疫苗

Current Understanding in HPV-mediated Penile Carcinogenesis

Barrett Z. McCormick^{1,2}, Adam S. Baumgarten^{1,2}, Philippe E. Spiess^{1,2}

1 Department of Genitourinary Oncology, Moffitt Cancer Center, Tampa, Florida

2 Department of Urology, University of South Florida College of Medicine, Tampa, Florida

Corresponding author: Philippe E. Spiess, E-mail:Philippe.spiess@moffitt.org.

Department of Genitourinary Oncology, H. Lee Moffitt Cancer Center, Tampa, FL 33612

【Abstract】 Human papillomavirus (HPV) is a prevalent condition with numerous implications on genitourinary health. While responsible for numerous benign conditions, it also plays a pivotal role in penile carcinogenesis. This review aims to discuss the current understanding of HPV in benign and malignant disease. Various aspects of the virus are discussed including high and low risk serotypes, molecular biology and pathogenesis mechanisms, as well as clinical manifestations. Finally, a discussion of current vaccination strategies is presented.

【Keywords】 Human papilloma virus (HPV), penile cancer, condyloma, vaccination

认识任一种阴茎癌都需要理解人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 与阴茎癌之间的关系。虽然各研究的具体发病率各不相同, 但都认为阴茎癌 HPV 共感染的发生率在 30%~80% 之间^[1,2]。这种关系在 HPV 介导和非 HPV 介导的阴茎癌分子通路中进一步得到了证实。虽然美国及欧洲阴茎癌的发生率仍小于 1%^[2], 但全世界范围的发病率已多于发达国家的 20 至 30 倍^[1]。鉴于这些差异, 了解世界范围内 HPV 的感染情况对阴茎癌具有重要意义。另外, 最近出现的 HPV 疫苗接种预防阴茎癌一个重要亚型的应用前景令人鼓舞。本文将重点讨论 HPV 感染在阴茎癌中的意义。目的是回顾 HPV 在阴茎癌及阴茎上皮内瘤 (PeIN) 中的作用的文献更新。也将讨论现有的对这些疾病分子通路的认识。最后, 概述了最近的疫苗审批和接种项目。

人类乳头状瘤病毒

已有超过 170 类 HPV 见诸文献报道^[3], HPV 是双链病毒的代表, 在不同人类疾病中发挥不同作用。HPV 基因组为环形双链 DNA, 含 800 个核苷酸碱基对^[4]。基于发病机制及临床表现出的疾病过程, DNA 测序已能够将病毒亚型区分为更多分型^[3]。泌尿外科更关注于 α 属分类, 目前已确定了包括 30 多种具有生殖道黏膜感染倾向的 HPV 亚型^[5]。这也包括高和低风险亚型, 下文将进一步讨论。

从分子角度看, 许多不同 HPV 亚型仍具有高度的基因组相似性。HPV 病毒结构包含 1 个二十面体核衣壳及核酸组蛋白核心。基因组编码约 8 个基因, 分别是: 早期基因 E1-E7、称为长控制区 (long control region, LCR) 的非编码区、编码 L1 与 L2 衣壳蛋白的区域^[3]。E6 和 E7 基因是存在于所有 HPV 亚型中的最保守序列, 主要的癌症相关病毒亚型也均存在。下文将阐述这些基因对癌症发生的分子通路的影响。

HPV 在阴茎癌癌前病变中的意义

阴茎癌的前期病变可分为两类: ①极少至无恶性潜能的病变; ②可能进展为浸润性癌的病变。反之, 基于潜在的致癌能力, HPV 也可分为“低”和“高”风险类型。最常见的高危 HPV 血清型是 16 和 18, 可引起超过 70% 的男性 (及女性) 宫颈及肛门生殖器癌症^[7]。在宫颈癌研究方面, 2009 年 Bouvard 等尝试对病毒进行亚型分类。在该项研究中, HPV 被划分为致癌、可能致癌及低可能致癌三种类型。高危 (HR) 致癌类型包括 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58 和 59 型^[8]。而最常见的低危 (LR) HPV 血清型 6 和 11 认为可引起绝大多数可见病变^[7]。本节旨在探讨目前以下癌前病变中 HPV 的作用: 尖锐湿疣,

巨型尖锐湿疣（Buschke-Lowenstein 肿瘤），*Bowenoid* 丘疹，原位癌（Queyrat 增殖性红斑及 Bowen's 病），和阴茎扁平样变（醋酸白色病变）。

尖锐湿疣

尖锐湿疣是临床常见的生殖器疣，表现为无痛性分叶样病变，通常通过直接性接触传播^[9]。如前文所述，这类病变最常由低危 HPV 血清型 6（89%）和 11（11%）引起。这类病变自发缓解率较高（30%~40%）^[7]。但具有高度传染性（>60%）^[7]。生殖器疣主要位于男性阴茎龟头及阴茎体两侧^[10]。总的来说，低危 HPV 亚型的致癌能力极低，约 5%~10%^[7]。Bloomberg 等在基于丹麦人群队列的标志研究中，对约 50000 名男性及女性生殖器疣患者进行了长达 20 年的评估。通过对比实际与预期发生率，评估了生殖器疣对各种亚型口腔及肛门癌的影响。对于阴茎癌，在生殖器疣诊断后 1 年内阴茎癌的发病率显著增加。对其他任何时间点的分析均无这种显著性^[11]。该研究的局限是只研究了 22 例阴茎癌患者。此外，HPV 毒株与阴茎癌诊断之间的相关性还缺少病理学评估。虽然低危 HPV 类别仍存在较低的癌症进展可能，但在单纯尖锐湿疣存在情况下，应当告知患者疾病进展可能性基本为零，应作为良性病变对待。

巨型尖锐湿疣

巨型尖锐湿疣（以前称为 Buschke-Lowenstein 肿瘤）是种罕见的性传播疾病。表现为生殖器或肛门直肠区域大的菜花状肿块，可致患者虚弱，在临床治疗方面存在许多挑战。HPV 6 型和 11 型与该病发生密切相关，也有其他亚型的报告^[12]。导致巨大尖锐湿疣的其他危险因素包括慢性炎症及免疫抑制病史。需要注意的是这种情况复发率超过 60%，进展为浸润性癌的可能性超过 50%^[13]。重要的是，还应当注意，虽然其具有高侵袭潜能，但是转移的可能性仍然较低^[13]。组织学上，其与普通尖锐湿疣的区别是角质层增厚、乳头状突起及深度浸润倾向。此外，其具有完整的基底膜，可据此与恶性鳞状细胞癌相区别^[14]。治疗通常包括手术切除及阴茎再造。巨型尖锐湿疣并非那种可广泛转移及致死的肿瘤，其与尖锐湿疣相异的是与 HPV 感染有直接关系。

Bowenoid 丘疹

Bowenoid 丘疹，也称未分化上皮内瘤样变，通常发生于年轻男性。表现为龟头或阴茎体上的棕红色丘疹，一般属于良性病变。区别于其他原位鳞状细胞癌的特点是组织学表现为全层细胞不典型增生^[4]。然而，最终诊断通常是基于临床表现。

HPV，特别是 16、18、31、39 型，在 Bowenoid 丘疹发生中起主导作用^[15]。虽然一般认为其是良性病变，但是极少见的高危 HPV 型别感染可发展为浸润性癌。治疗通常包括密切观察或局部治疗^[9]。

原位癌

Queyrat 增殖性红斑及 Bowen's 病均指具有高比率（一些研究为 10%~15%）进展为浸润性鳞状细胞癌的鳞状上皮瘤样变^[15]。Queyra 增殖性红斑具有最高的恶性进展可能^[15]，其十分罕见，引起少于 1% 的男性恶性肿瘤^[16]。Queyra 增殖性红斑表现为位于龟头或未行包皮环切的男子包皮的边界清楚、扁平红斑^[9]，常伴有结痂、出血或溃疡，尤其是当其具有侵袭性时^[16]。与鳞状细胞癌相似，Queyrat 增殖性红斑及 Bowen's 病与 HPV-16 及 18 感染高度相关。而 Queyrat 增殖性红斑与鳞状细胞癌的区别在于前者与 HPV-8 相关。Wieland 等对 8 名 Queyrat 增殖性红斑患者的活检标本进行了 PCR 测序分析。88% 的标本可检出 HPV-16，所有标本均可检出 HPV-8。此外，在炎症、良性阴茎病变、鲍恩病样本或宫颈癌和外阴癌标本对照中没有发现该亚型（HPV-8）^[17]。值得注意的是，部分样本也检出了 HPV-39 及 51。作者认为，HPV-8 的共感染可以作为 Queyrat 增殖性红斑的独特组织病理学表现。此外，也可用于区分 Bowen's 病^[17]。

相反，Bowen's 病临床表现为阴茎体上区域性鳞屑、软化及红斑^[18]，通常无明显症状，有时可能有疼痛。组织学特点是表皮全层不典型增生、无序结构及异常核分裂相^[19]。大约 70% 的 Bowen's 病与 HPV-16 及 18 相关，鳞状细胞癌的发生率约为 5%^[15]。Bowen's 病的治疗方法 with Queyrat 增殖性红斑相似，包括适时的包皮环切术、局部治疗及切除。

阴茎扁平样病变

阴茎扁平样病变或醋酸白色样变是较少见的癌前病变。有别于以上其他疾病，这类病变临床通常无症状且肉眼无法注意到。病变通常位于阴茎黏膜表面，醋酸溶液染色时可显示边界清楚的病变区域^[20]。PCR 检测已证实，醋酸白病变存在时 HPV 感染的阳性率高^[21]。此外，病毒载量与 HPV 阳性率呈正相关。Bleeker 等对无性接触传染史男性及那些伴侣有宫颈上皮内瘤样病变（CIN）的患者进行了研究。研究发现，有 CIN 阳性伴侣的患者临床表现与 HPV 血清学阳性率、病毒载量、病变直径相关性更高^[22]。理论上，高病毒载量的男性患者传播给未知伴侣的危险性更高。这些结果对临床实践提出了挑战。

分子通路

HPV 能够感染健康细胞并致癌，其机制涉及感染部位、建立产毒存活方式及向恶性转化之间复杂的相互作用。本部分将深入讨论其要点。

病毒生命周期与感染

HPV感染起始于上皮损伤,从而允许基底细胞感染HPV^[23]。被内吞小体摄入后,病毒DNA转移至宿主细胞核,病毒基因组稳定游离于基底层细胞^[24]。在细胞分裂的S期病毒基因组复制,在此过程中,HPV基因组的E2蛋白尤其重要,其可以将游离基因结合至进行有丝分裂的宿主染色体上^[25]。感染至病变出现的时间差异较大。应用犬类HPV毒株的实验显示,感染4周后出现病变^[26],一些研究也提示初始病毒滴度和HPV血清型是重要的决定因素^[27]。

E6及E7病毒癌基因调节细胞增殖已阐述得较为清楚^[24]。通常参与细胞周期调控的蛋白由细胞(未处于细胞周期)中与E2F转录因子结合的*retinoblastoma*蛋白(pRb)进行调控^[24]。正常情况下,cyclin/CDK复合物的激活引起pRb的磷酸化及E2F释放,随后蛋白质表达释放。HPV感染时,E7蛋白与pRb形成复合物使E2F解离从而使蛋白表达。正常情况下,虽然避开了反馈调节,但是持续的细胞增殖会导致p53表达增高及细胞凋亡。然而,在HPV增殖周期中,尤其是高危HPV类型,E6形成泛素连接酶介导p53降解并防止细胞死亡^[24]。另外,要考虑到低危及高危HPV亚型之间p21和p27激酶抑制蛋白的表达。如数量足够,p21和p27激酶抑制蛋白将与E7及其它细胞周期蛋白结合并使之失活^[28]。在高危情况下,此过程极大地受到由病毒基因组表达的高水平E7蛋白的影响^[24]。高危HPV血清型感染细胞增殖的另一机制,由E6经由其PDZ末端结合域单独介导。E6调节上层基底细胞增殖,可能在HPV相关肿瘤的转移中起重要作用^[29]。

进展为恶性肿瘤需要持续的病毒基因组表达、包装、释放之间复杂的相互作用以促进感染。一些理论认为,恶性肿瘤发生于细胞增殖失控后,最终导致持续点突变及癌变。然而目前尚存在争议,并需要进一步研究^[30]。

用于阴茎癌的HPV疫苗

目前美国食品和药物管理局(FDA)批准了两种HPV疫苗。四价疫苗防治HPV-6、11、16和18型,FDA于2006年批准用于女性^[31],2009年10月批准用于男孩和9~26岁的年轻男性^[32]。近来,FDA批准了另一个疫苗用于预防由HPV-6、11、16、18、31、33、45、52和58型引起的宫颈、外阴、肛门及阴茎癌^[33]。此疫苗可用于9~26岁的女性及9~15岁的男性,按照2个月及6个月的间隔分3次接种^[33]。

含病毒样颗粒(VLP)的HPV疫苗来自病毒的L1外层蛋白^[34],以球形组装成病毒样外壳^[35]。VLP刺激机体产生抗HPV血清型抗体。抗体与病毒结合抑制其通过进入上皮细胞基膜层造成感染的能力^[36]。疫苗的临床试验证实了其在男性中的安全性和免疫原性^[35]。

关于HPV疫苗疗效的数据大部分来自于宫颈癌的文献^[37]。数据显示二价和

四价疫苗用于宫颈上皮内瘤样变的疗效超过90%^[37]。但初始数据显示，疫苗对于活跃或已建立的感染疗效较差，因此推荐在性行为开始前进行接种。

2011年，一项大型双盲安慰剂对照试验在超过4000名年龄16~26岁的男性中评估了四价疫苗的疗效。观察终点包括预防HPV-6、11、16和18型引起的外生殖器病变。疫苗组36例出现病变，而安慰剂组为89例^[38]。这项研究的一个重要特点是，疫苗与安慰剂组的病变绝大多数是尖锐湿疣（77vs.28，均由低危HPV血清型引起）。然而，此研究表明四价疫苗对所有血清型HPV均有疗效^[38]。尽管现有疫苗的安全性及有效性已证实，但是疫苗的运输仍存在重大挑战，包括来自地方社区的担忧、成本问题和对高危及不方便社区提供疫苗的有效物流。

总结

HPV对良性及恶性条件下的泌尿生殖健康有重要意义。本文综述了目前对HPV的认识及其在阴茎癌中的意义。随着预防性疫苗最新的进展，未来有望降低HPV相关疾病的社会影响。虽然还需要很多努力，但是继续建立有组织的疫苗接种计划及对疾病分子生物学方面深入了解能够将有助于消灭HPV感染。



Philippe E. Spiess

美国 Moffitt 肿瘤中心泌尿外科、南佛罗里达州大学医学院泌尿外科副教授，Moffitt 肿瘤中心临床遗传性肾癌联席主任。Philippe E. Spiess 教授于 2010 年获美国临床癌症研究协会（AACR）“临床癌症研究方法（Methods in Clinical Cancer Research）”奖。Philippe E. Spiess 教授擅长泌尿系肿瘤的微创治疗，研究领域集中在进展性前列腺癌和肾癌的创新治疗方法，是 NCCN 膀胱癌和阴茎癌临床指南副主编。目前已经发表超过 100 篇相关论文，为多本泌尿外科专著撰写相关章节。此外担任《泌尿学国际杂志》（*International Journal of Urology*）、《腔内泌尿外科杂志》（*Journal of Endourology*）、《泌尿学杂志》（*Journal of Urology*）、

《泌尿学》（*Urology*）、《癌症》（*Cancer*）、《癌症生物学与治疗》（*Cancer Biology & Therapy*）等多本专业杂志审稿人。

参考文献

1. Bleeker MCG, Heideman D a M, Snijders PJF, Horenblas S, Dillner J, Meijer CJLM. Penile cancer: Epidemiology, pathogenesis and prevention. *World J Urol*. 2009;27(2):141-150. doi:10.1007/s00345-008-0302-z.
2. Clinical N, Guidelines P, Guidelines N. Penile Cancer. 2014.
3. Ghittoni R. The role of human papillomaviruses in carcinogenesis. *Ecancermedicalscience*. 2015;9(4):307-313. doi:10.3332/ecancer.2015.526.
4. Cardoso JC, Calonje E. Cutaneous manifestations of human papillomaviruses: a review. *Acta dermatovenerologica Alpina, Pannonica, Adriat*. 2011;20(3):145-154. doi:00000232 [pii].
5. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004;324(1):17-27. doi:10.1016/j.virol.2004.03.033.
6. Baker TS, Newcomb WW, Olson NH, Cowser LM, Olson C, Brown JC. Structures of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction. *Biophys J*. 1991;60(6):1445-1456. doi:10.1016/S0006-3495(91)82181-6.
- 7.GREE M, Mravak-Stipetić M. Human papillomavirus-associated diseases. *Clin Dermatol*. 2014;32(2):253-258. doi:10.1016/j.clindermatol.2013.10.006.
8. Bouvard V, Baan R, Straif K, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol*. 2009;10(4):321-322. doi:10.1016/S1470-2045(09)70096-8.
9. Rosenblatt A, De Campos Guidi HG. *Human Papillomavirus: A Practical Guide for Urologists*.; 2009. doi:10.1007/978-3-540-70974-9.
10. Dupin N. Genital warts. *Clin Dermatol*. 2004;22(6):481-486. doi:10.1016/j.clindermatol.2004.07.003.
11. Blomberg M, Friis S, Munk C, Bautz A, Kjaer SK. Genital warts and risk of cancer: a Danish study of nearly 50 000 patients with genital warts. *J Infect Dis*. 2012;205(10):1544-1553. doi:10.1093/infdis/jis228.
12. Spinu D, Radulescu A, Bratu O, Checherita IA, Ranetti AE, Mischianu D. Giant condyloma acuminatum - Buschke-Lowenstein disease - a literature review. *Chirurgia (Bucur)*. 2014;109(4):445-450.
13. Lee PK, Wilkins KB. Condyloma and other infections including human immunodeficiency virus. *Surg Clin North Am*. 2010;90(1):99-112, Table of Contents.

- doi:10.1016/j.suc.2009.09.005.
14. Chu QD, Vezeridis MP, Libbey NP, Wanebo HJ. Giant condyloma acuminatum (Buschke-Lowenstein tumor) of the anorectal and perianal regions. Analysis of 42 cases. *Dis Colon Rectum*. 1994;37(9):950-957. doi:10.1007/BF02052606.
15. Henquet CJM. Anogenital malignancies and pre-malignancies. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;25(8):885-895. doi:10.1111/j.1468-3083.2010.03969.x.
16. Kutlubay Z, Engin B, Zara T, Tüzün Y. Anogenital malignancies and premalignancies: facts and controversies. *Clin Dermatol*. 2013;31(4):362-373. doi:10.1016/j.clindermatol.2013.01.003.
17. Wieland U, Jurk S, Weissenborn S, Krieg T, Pfister H, Ritzkowski a. Erythroplasia of queyrat: coinfection with cutaneous carcinogenic human papillomavirus type 8 and genital papillomaviruses in a carcinoma in situ. *J Invest Dermatol*. 2000;115(3):396-401. doi:10.1046/j.1523-1747.2000.00069.x.
18. Dillner J, von Krogh G, Horenblas S, Meijer CJ. Etiology of squamous cell carcinoma of the penis. *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 2000;(205):189-193.
19. Arlette JP. Treatment of Bowen's disease and erythroplasia of Queyrat. *Br J Dermatol*. 2003;149 Suppl :43-49. doi:10.1046/j.0366-077X.2003.05635.x.
20. Kumar B, Gupta S. The acetowhite test in genital human papillomavirus infection in men: What does it add? *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2001;15(1):27-29. doi:10.1046/j.1468-3083.2001.00196.x.
21. Bleeker MC, Snijders PF, Voorhorst FJ, Meijer CJ. Flat penile lesions: the infectious "invisible" link in the transmission of human papillomavirus. *Int J Cancer*. 2006;119(11):2505-2512. doi:10.1002/ijc.22209.
22. Bleeker MC, Hogewoning CJ, Voorhorst FJ, et al. HPV-associated flat penile lesions in men of a non-STD hospital population: less frequent and smaller in size than in male sexual partners of women with CIN. *Int J Cancer*. 2005;113(1):36-41. doi:10.1002/ijc.20502.
23. Doorbar J. Model Systems of Human Papillomavirus-Associated Disease. *J Pathol*. 2015. doi:10.1002/ef2.
24. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci*. 2006;110(5):525-541. doi:10.1042/CS20050369.
25. You J, Croyle JL, Nishimura A, Ozato K, Howley PM. Interaction of the bovine papillomavirus E2 protein with Brd4 tethers the viral DNA to host mitotic chromosomes. *Cell*. 2004;117(3):349-360. doi:10.1016/S0092-8674(04)00402-7.
26. Nicholls P, Klaunberg B, Moore R, et al. Naturally occurring, nonregressing canine oral papillomavirus infection: host immunity, virus characterization, and experimental infection.

- Virology*. 1999;265:365-374. doi:10.1006/viro.1999.0060.
27. Zhang P, Nouri M, Brandsma JL, Iftner T, Steinberg BM. Induction of E6/E7 expression in cottontail rabbit papillomavirus latency following UV activation. *Virology*. 1999;263(2):388-394. doi:10.1006/viro.1999.9950.
28. Funk JO, Waga S, Harry JB, Espling E, Stillman B, Galloway DA. Inhibition of CDK activity and PCNA-dependent DNA replication by p21 is blocked by interaction with the HPV-16 E7 oncoprotein. *Genes Dev*. 1997;11(16):2090-2100. doi:10.1101/gad.11.16.2090.
29. Nguyen ML, Nguyen MM, Lee D, Griep AE, Lambert PF. The PDZ ligand domain of the human papillomavirus type 16 E6 protein is required for E6's induction of epithelial hyperplasia in vivo. *J Virol*. 2003;77(12):6957-6964. doi:10.1128/JVI.77.12.6957.
30. Kayes O, Ahmed HU, Arya M, Minhas S. Molecular and genetic pathways in penile cancer. *Lancet Oncol*. 2007;8(5):420-429. doi:10.1016/S1470-2045(07)70137-7.
31. Sharma R, Sharma CL, R. S, C.L. S. Quadrivalent human papillomavirus recombinant vaccine: The first vaccine for cervical cancers. *J Cancer Res Ther*. 2007;3(2):92-95. doi:10.4103/0973-1482.34686.
32. CDC. FDA licensure of quadrivalent human papillomavirus vaccine (HPV4, Gardasil) for use in males and guidance from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR*. 2010;59(20):630-632. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20508594>.
33. Food and Drug Administration. FDA News Release: FDA approves Gardasil 9 for prevention of certain cancers caused by five additional types of HPV. Press Release. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm426485.htm>. Published 2014.
34. Kim K, Park S, Ko K. Current status of human papillomavirus vaccines. *Clin Exp Vaccine Res*. 2014;3(2):168-175. doi:10.7774/cevr.2014.3.2.168.
35. Brotherton JM. Human papillomavirus vaccination: Where are we now? *J Paediatr Child Health*. 2014;50:959-965. doi:10.1111/jpc.12627.
36. Day PM, Kines RC, Thompson CD, et al. In vivo mechanisms of vaccine-induced protection against HPV infection. *Cell Host Microbe*. 2010;8(3):260-270. doi:10.1016/j.chom.2010.08.003.
37. Schiller JT, Castellsagué X, Garland SM. A review of clinical trials of human papillomavirus prophylactic vaccines. *Vaccine*. 2012;30(SUPPL.5):F123-F138. doi:10.1016/j.vaccine.2012.04.108.
38. Giuliano AR, Palefsky JM, Goldstone S, et al. Efficacy of Quadrivalent HPV Vaccine against HPV Infection and Disease in Males. *N Engl J Med*. 2011;364(5):401-411. doi:10.1056/NEJMoa0909537.