

# Humane Papillomviren

## Klinische Bedeutung bei Mann und Frau

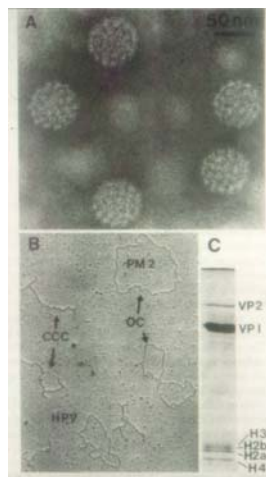
### Nachweismethoden

### Impfung

Vortrag von PD Dr. H.G. Köchel  
Inst. für Virologie der Univ. Göttingen

## HPV-Struktur

Wichtige virale Genprodukte:  
L1 und L2=Kapsidproteine  
E6 und E7=virale Onc-Proteine  
E4



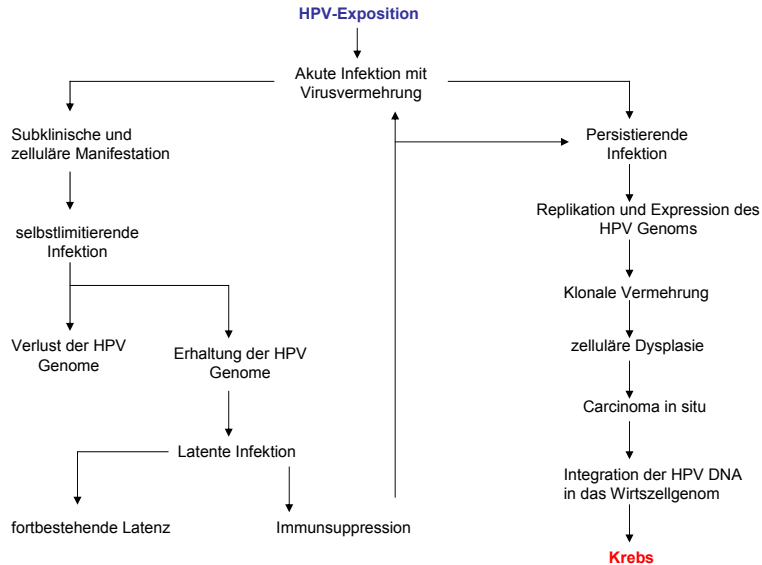
# Humane Papillomviren

- bilden 3 Gruppen:
  - mukokutane (Warzenbildung; HPV 1 – 4 u.a.)
  - Epidermodysplasie assoziierte (Kutane Neoplasien; HPV 5, 8, 9 u.a.)
  - anogenitale (Kondylome, Anal-, Penis- und Cervixkarzinome; HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33 u.a.)

## Phylogenetische und epidemiologische Klassifikation der anogenitalen HPV-Typen

Phylogenetische Klassifikation	Epidemiologische Klassifikation	
	Hoch-Risiko	Niedrig-Risiko
Hoch-Risiko	16,18,26,31,33,35, 39,45,51,52,53,56, 58,59,68,82	70
Niedrig-Risiko	73	6,11,40,42,43,44, 54,61,72,81, CP6108

## Der Verlauf der HPV-Infektion



## HPV und anogenitale Erkrankungen

Anogenitale Erkrankung	HPV-Typ
Condylomata acuminata	<u>6,11</u> ,30,42,44,45,51,52,54
Bowenoide Papulose	<u>16,18</u> ,34,39,42,45
Buschke-Löwenstein Tumor	<u>6,11</u>
Nicht klassifizierbare interepitheliale Neoplasien	30,34,39,40,53,57,59,61,62,64,66,67,68,69
Niedriggradige intraep. Neoplasien	<u>6,11</u> ,43
Intermediäre intraep. Neoplasien	<u>31,33,35,42,44,45,51,52</u>
Hoch-gradige intraep. Neoplasien	<u>16,18</u> ,56,58
Vulva-Karzinom	<u>16,18</u>
Vagina-Karzinom	<u>16</u>
Cervix-Karzinom	<u>16,18,31</u>
Anus-Karzinom	<u>16,31,32,33</u>
Carcinoma in situ des Penis	<u>16</u>
Penis-Karzinom	<u>16,18</u>

## Durch Niedrig-Risiko-Typen verursachte Erkrankungen



Condyloma acuminatum



Flache keratotische Warzen



Flache Condylome



Glatte papilläre Warzen

## Vergleichende Epidemiologie Cervix- vs. Penis-Carcinom

### • Cervix-Karzinom

- mittleres Erkrankungsalter: 54 Jahre
- Prävalenz 15:100 000
- HPV-16,18,31 (>90%)
- HPV massgeblicher Risikofaktor
- HPV prognostischer Faktor
- Vorsorgeuntersuchung sollte HPV mit einbeziehen

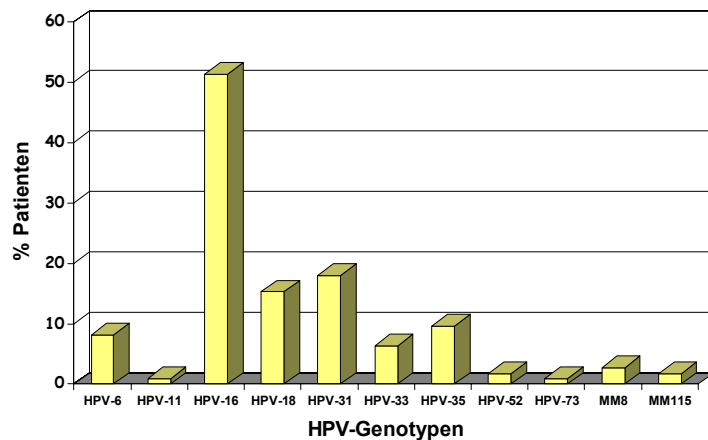
### • Penis-Karzinom

- mittleres Erkrankungsalter: >60 Jahre
- Prävalenz 1:100 000
- HPV-16,18 (~30%)
- noch andere HPV-Typen?
- nicht-HPV Ätiologie
- HPV kein prognostischer Faktor
- Zirkumcision der Neugeborenen schützt zu 100%

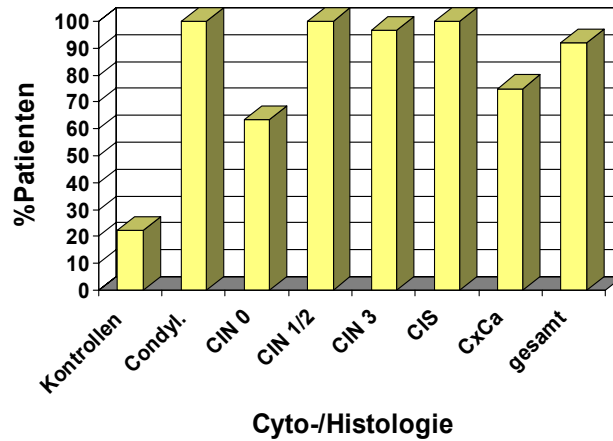
## Was spricht für humane Papillomviren in der Ätiologie des Cervixkarzinoms

- Frauen mit genitalen Warzen weisen häufig auch prä maligne Läsionen des Zervix uteri auf und erkranken häufiger am CervixCa
- Höhere Prävalenzen von HPV-DNA bei Patientinnen mit Cervix-Ca oder Vorstadien als bei normalen Kontrollen
- Höhere Prävalenzen bestimmter HPV-spezifischer Serumantikörper bei Patienten als bei Kontrollen
- Molekularbiologische Daten

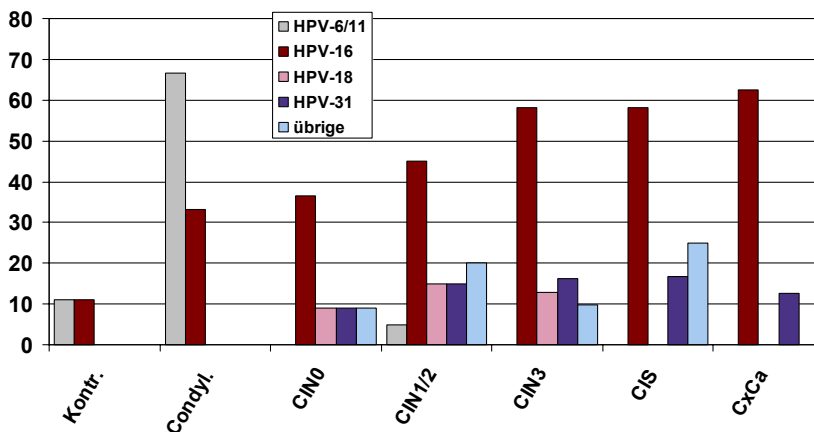
## Art und Prävalenz der nachgewiesenen HPV-Genotypen



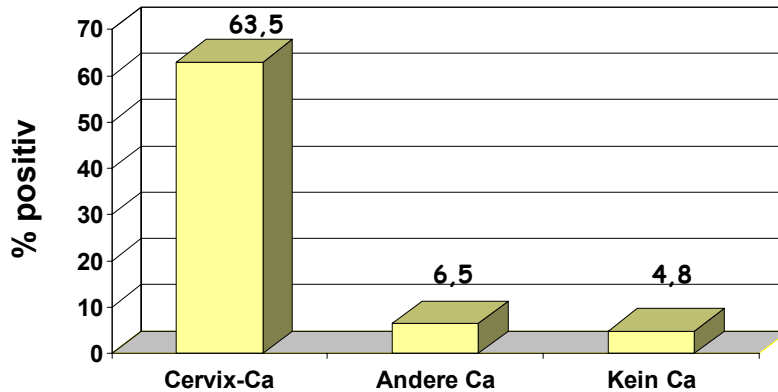
## HPV-Prävalenz und cytohistologische Bewertung



## HPV-Befund und cytohistologische Bewertung



## Antikörper gegen HPV16/18 E4 und E7 in verschiedenen Patientengruppen



## Epidemiologie CervixCa in Relation zur HPV-Infektion

- 40 000 / 100 000 HPV-Infizierte (40%)
- 3 000 / 100 000 CIN I (3%)
- 15 / 100 000 CxCa (0,015%)

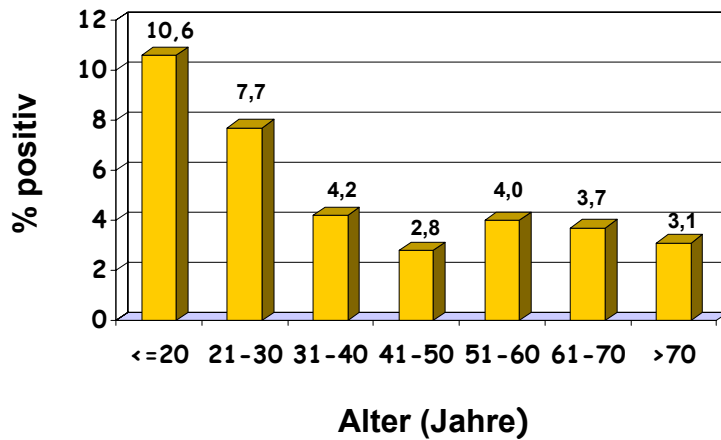
## Warum HPV-Diagnostik?

- Senkung der Mortalität und Inzidenz des CervixCa um mindestens 50%
- Konventionelle Zytologie hat zwar hohe Spezifität aber nur niedrige Sensitivität
- Für einmaligen Pap-Abstrich Sensitivität 20-43,5%
- Nachweis von schweren Läsionen gelingt mit zusätzlichem HPV-Nachweis leichter als mit der Zytologie allein

## Probleme der HPV-Diagnostik

- Hohe Durchseuchung der Bevölkerung
- Höchste Prävalenzen bei Frauen  $\leq 20$
- Die meisten HPV-Infektionen verlaufen transient
- Hohe Remissionsraten bei PapIIIId (CIN1, CIN2)
- Starke psychische Belastung
- Stigmatisierung von Frauen

## Altersabhängige HPV16/18-Prävalenz bei normaler Cytologie



## Verlauf der Zervixdysplasie ohne Therapie

	Spontanremission	Persistenz	Progression
<b>CIN 1</b>	55 %	30 %	15 %
<b>CIN 2</b>	40 %	30-40 %	20-30 %
<b>CIN 3</b>	10 %	20-40 %	50-70 %

## Wann sollte getestet werden?

- Bei Vorliegen eines unklaren PapIIw- und PapIII-Befundes
- Bei PapIIId wegen des prognostischen Werts
- Bei PapIV/V, aber nicht wirklich indiziert.

## Sinnvolle Testprinzipien?

- Papillomvirus-Typen morphologisch und serologisch nicht unterscheidbar
- Serologie zeigt nur die kumulative Infektion oder das bestehende Karzinom. Kein prognostischer Wert
- HPV unterscheiden sich aber in der Abfolge der Bausteine ihres Erbguts
- Daher fast ausschliesslich DNA-Nachweismethoden etabliert
- PCR-basierte Methoden oder spezielle Hybridisierungsmethoden (DNA-DNA, DNA-RNA)

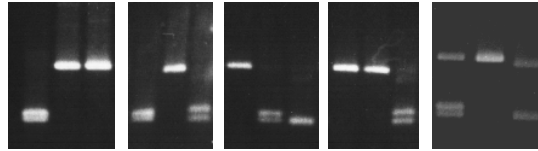
## Etablierte HPV Teste und deren Eigenschaften

Methode	Bezeichnung	Sonden/ Primer	Reaktions- produkte	Sensitivität	Zahl der HPV-Typen
Hybridisierung	Hybrid Capture Assay (HC2)	Mischung komplementärer RNA	DNA-RNA Hybride	2500 Genomkopien	18
PCR	PCR+RFLP oder Sequenzierung	Konsensus-Primer MY09/11	450 Bp	10 Kopien	alle
PCR	MY09/11 Dot Blot Assay	MY09/11	450 Bp	10 Kopien	39
PCR	MY09/11 Reverse Line Blot Assay (LBA)	MY09/11	450 Bp	50 Kopien	27
PCR	GP5+/6+ EIA ELISA	Konsensus-Primer	150 Bp	50 Kopien	20
PCR	GP5+/6+ Reverse Line Blot Assay (LBA)	Konsensus-Primer	150 Bp	50 Kopien	37
PCR	SPF-PCR Reverse Line Blot Assay (LiPA)	Mischung von Konsensus-Primern	65 Bp	10 Kopien	43

## Wahl der Teste?

- **obsolet, da zu wenig empfindlich:**
  - Southern-blot
  - In-situ-Hybridisierung
  - Immunhisto- und -cytochemie
- **empfohlen durch Fachgesellschaften:**
  - PCR
    - Vorteile: empfindlich, schnell, spezifisch, prinzipbedingt alle HPV-Typen erfassbar
    - Nachteil: störanfällig; kein Grenzwert definiert, ab dem klinische Relevanz (latente Infektion)
  - Hybrid-Capture-Assay
    - Vorteile: schnell, spezifisch, 18 HPV-Typen werden erfasst
    - Nachteile: höherer apparativer Aufwand, Diskriminierung nur zwischen High- und Low-Risk-Typen möglich

## HPV-PCR und RFLP-Muster (HinfI, EcoRI, PstI) der häufigsten genitalen HPV-Typen



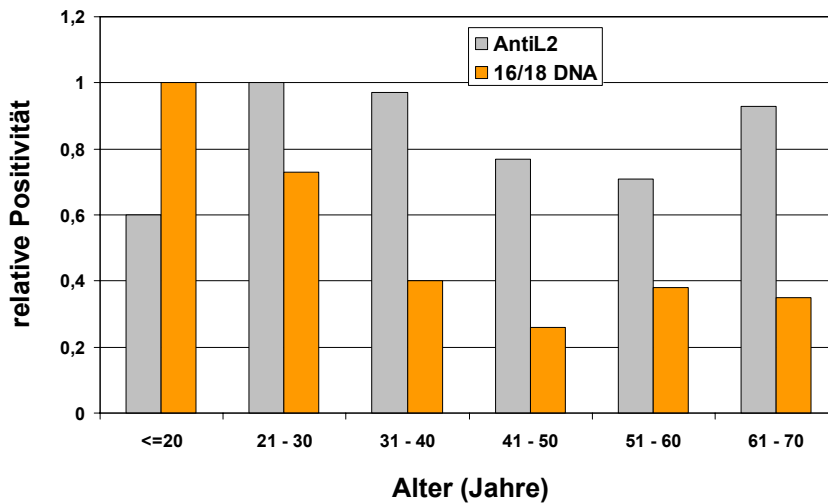
HPV-6 HPV-11/33 HPV-16 HPV-18 HPV-31/35

Sequenzen der L1-Consensus-Primer:

sense: 5'-GCM-CAG-GGW-CAT-AAY-AAT-GG-3'

antisense: 5'-CGT-CCM-ARR-GGA-WAC-TGA-TC-3'

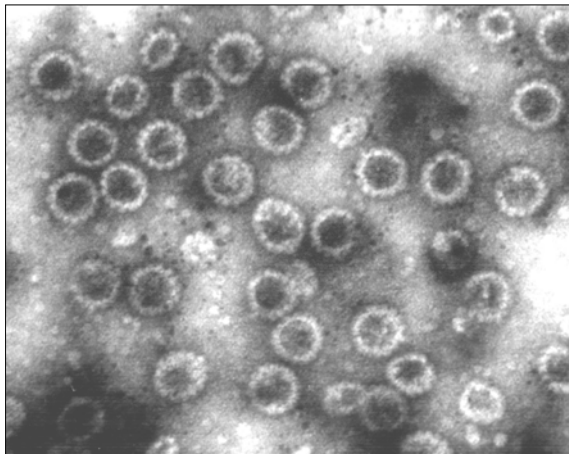
## Vergleich HPV-16/18-DNA und Anti-L2 bei cytologisch normalen Patientinnen



## HPV Vakzine

- Impfstoff: sog. Virus-Like-Particles (VLP) aus dem Kapsidprotein L1
- werden gentechnisch in Insektenzellen mit rekombinanten Baculoviren hergestellt

HPV-31 VLPs aus rekombinanten Baculoviren



# Klinische Entwicklung

## Therapeutische Versuche mit HPV-16/18 VLPs: Resultate von 27 Phase I/II Studien an 772 Patienten

- Therapeutische Phase I/II Studien nur bei Patienten mit CIN, VIN und AIN vielversprechend
- Impfstoff wurde gut toleriert
- Insgesamt schlechte Korrelation zwischen Immunantwort und klinischem Erfolg

## The New England Journal of Medicine

Copyright © 2002 by the Massachusetts Medical Society

VOLUME 347

NOVEMBER 21, 2002

NUMBER 21



### A CONTROLLED TRIAL OF A HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 16 VACCINE

LAURA A. KOUTSKY, PH.D., KEVIN A. AULT, M.D., COSETTE M. WHEELER, PH.D., DARRON R. BROWN, M.D.,  
ELIYV BARR, M.D., FRANCES B. ALVAREZ, R.N., LISA M. CHACCHIERINI, PH.D., AND KATHRIN U. JANSEN, PH.D.,  
FOR THE PROOF OF PRINCIPLE STUDY INVESTIGATORS

#### ABSTRACT

**Background** Approximately 20 percent of adults become infected with human papillomavirus type 16 (HPV-16). Although most infections are benign, some progress to anogenital cancer. A vaccine that reduces the incidence of HPV-16 infection may provide important public health benefits.

**H**UMAN papillomavirus (HPV) infection is a common sexually transmitted disease.<sup>1-4</sup> Although most infections are benign, persistent infection (repeated detection of an oncogenic type of HPV) is associated with the development of cervical and other anogenital cancers.<sup>5-9</sup> Of the more than 30 types of HPV known to infect hu-

# Studiendesign

- randomisiert
- doppelblind
- multizentrisch
- 2392 Frauen zu Beginn (16 – 23 Jahre alt)
- zum Zeitpunkt 0 und nach 7 Monaten keine HPV-Infektion
- Drei Impfdosen zu je 40 µg HPV-16 VLPs
- Zeit 0, nach 2 und 6 Monaten
- Kontrolle über exfoliative Zytologie nach der 3. Impfung und danach alle 6 Monate
- Endpunkt = persistierende HPV-16 Infektion

# Ergebnisse

- 768 Frauen erhielten Impfung, 765 erhielten Placebo
- Impfstoff wurde gut toleriert
- nach 17,4 Monaten primäre Analyse der Qualität der Impfung (Efficacy)
- 41 Fälle von HPV-16-Infektion nur in der Placebo-Gruppe
- 9 Fälle von HPV-16 bedingten intraepithelialen Neoplasien nur in der Placebogruppe
- Efficacy 100%
- Zur Überprüfung der klinischen Efficacy (Krebs) allerdings langer Zeitraum erforderlich (Latenzzeit)

## Schlußfolgerungen

- Gabe der HPV-16 Vakzine senkt offensichtlich die Inzidenz der HPV-16-Infektion
- Wenn Zusammenhang zwischen HPV-Infektion und Krebsentwicklung besteht, könnte eine Impfung das Krebsrisiko signifikant senken

## Welche Impfstoffe werden zur Verfügung stehen?

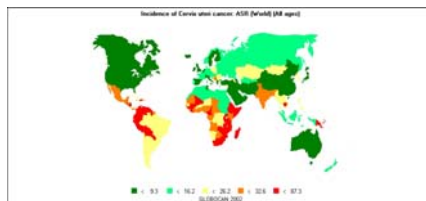
- Cervarix (Smith-Kline-Glaxo)
  - enthält L1 VLPs von HPV-16 und HPV-18
- Gardasil (Sanofi-Pasteur-MSD-Merck&Co)
  - enthält L1 VLPs von HPV-6, -11, -16 und -18

# Probleme der Impfung

- Vielzahl der genitalen HPV-Typen
- Biologisches Gleichgewicht zwischen HPV-Typen?
- Dauer des Schutzes?
- Therapeutischer Effekt der Vakzine?
- Akzeptanz der Impfung
- Male-Faktor
- Trügerische Sicherheit
- Mit Einführung der Vakzine Pap-Screening nicht obsolet

# Weitere Probleme

- Impfstoff sehr teuer (ca. 300 – 500 € für 3 Dosen)
- Für Entwicklungsländer daher wenig geeignet



- Alternative Impfstoffe gefordert
  - Unkomplizierte, ökonomische Produktion
  - Stabil
  - kreuzprotektiv
  - therapeutisch wirksam
  - nichtinvasive Applikation

# Chimäre HPV Kapsomere

(nach Gissmann, DKFZ Heidelberg)

- Lassen sich ökonomisch und in grossen Mengen in *E. coli* herstellen
- **Anteile:** L1, E7/E6, immunogene Bereiche von L2
  - prophylaktische und therapeutische Eigenschaften
  - Behandlung persistierender Infektionen und Vermeidung von Reinfektionen
  - Adjuvante Immuntherapie
  - geeignet zur Anwendung in Drittweltländern

## Zusammenfassung

- Humane Papillomviren sind an der Ätiologie von Krebs (Cervixkarzinom) beim Menschen beteiligt
- Daher ist die Einbeziehung der HPV-Diagnostik in die Vorsorgeuntersuchung diagnostisch sinnvoll.
- Eine Impfung könnte bei einer viralen Ätiologie die Entstehung des Cervixkarzinoms verhindern