

Humane Papillomviren

Klinische Bedeutung bei Mann und Frau

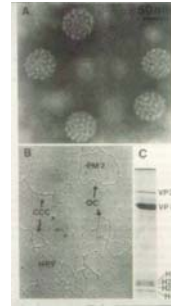
Nachweismethoden

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



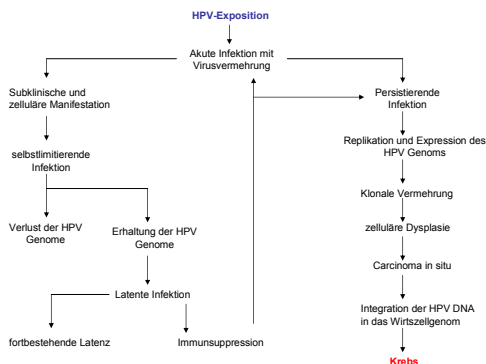
Humane Papillomviren

- 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



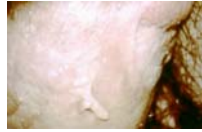
HPV und anogenitale Erkrankungen

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

Durch Niedrig-Risiko-Typen verursachte Erkrankungen



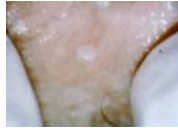
Condyloma acuminatum



Flache keratöse 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

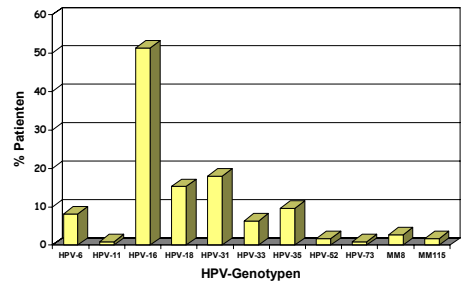
• Penis-Karzinom

- 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%

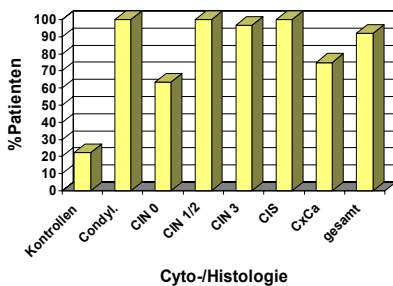
Was spricht für humane Papillomviren in der Ätiologie des Cervixkarzinoms

- Frauen mit genitalen Warzen weisen häufig auch prämaligene 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

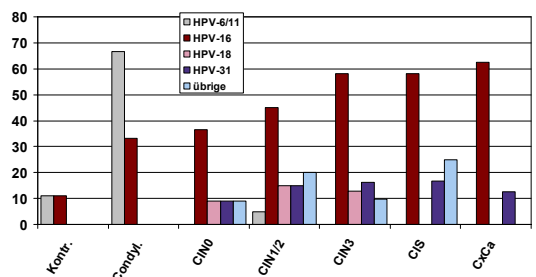
Art und Prävalenz der nachgewiesenen HPV-Genotypen



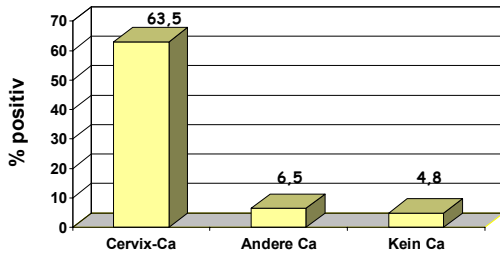
HPV-Prävalenz und cytohistologische Bewertung



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%)

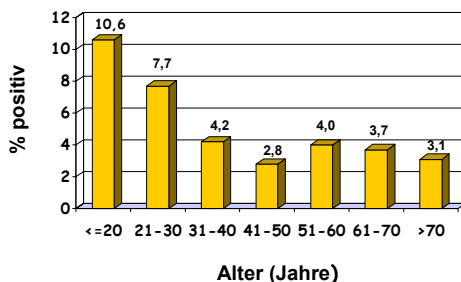
Warum HPV-Diagnostik?

- 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 ≤ 20
- Die meisten HPV-Infektionen verlaufen transient
- Hohe Remissionsraten bei PapIIIa (CIN1, CIN2)
- Starke psychische Belastung
- Stigmatisierung von Frauen

Altersabhängige HPV16/18-Prävalenz bei normaler Zytologie



Verlauf der Zervixdysplasie ohne Therapie

	Spontanremission	Persistenz	Progression
CIN 1	55 %	30 %	15 %
CIN 2	40 %	30-40 %	20-30 %
CIN 3	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)

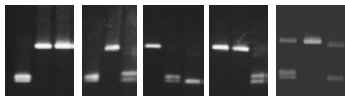
Etablierte HPV Tests und deren Eigenschaften

Methode	Bezeichnung	Sonden/Primer	Reaktionsprodukte	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 Tests?

- **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 (Hinfl, EcoRI, PstI) der häufigsten genitalen HPV-Typen



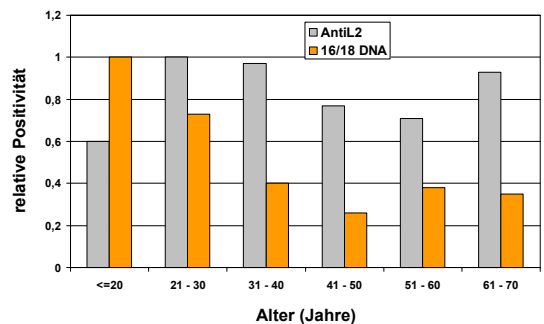
HPV-6 HPV-11/33 HPV-16 HPV-18 HPV-31/35

Sequenzen der L1-Konsensus-Primer:

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

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

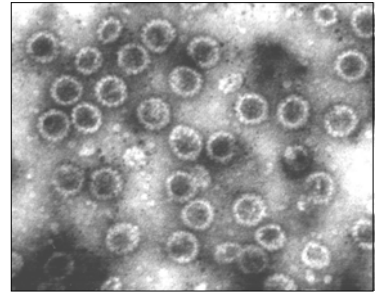
Vergleich HPV-16/18-DNA und Anti-L2 bei cytologisch normalen Patientinnen



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.; DAMON R. BROWN, M.D.; ELIAV BARR, M.D.; FRANCES B. ALVAREZ, R.N.; LISA M. CHACCHERINI, Ph.D.; AND KATHIN U. JANSEN, Ph.D.,
FOR THE 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.

HUMAN papillomavirus (HPV) infection is a common sexually transmitted disease.^{1,2} 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.^{3,4} 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
- Trägerische 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