



INFORMATIONSBLETT MOLEKULARE PATHOLOGIE

HUMANE PAPILLOMVIREN (HPV)

ERREGER

Humane Papillomviren (HPV, auch humane Papillomaviren) sind unbehüllte, doppelsträngige DNA-Viren, die Epithelzellen der Haut und verschiedener Schleimhäute infizieren. In den infizierten Zellen verhindern die viralen E6- und E7-Gene, die Apoptose, die DNA-Reparatur und bewirken eine gesteigerte Zellteilung. Bisher sind über 170 HPV-Typen bekannt.

INFEKTION

Die Infektion im Genital- oder Analbereich erfolgt meist durch sexuelle Aktivitäten. Die Latenzzeit beträgt in der Regel 15-25 Jahre.

EPIDEMIOLOGIE

Das durch HPV ausgelöste Zervixkarzinom ist weltweit die zweithäufigste Krebserkrankung und mit ca. 250.000 Todesfällen die dritthäufigste Krebstodesursache bei Frauen weltweit. Die Häufigkeit liegt in Finnland bei 3,6 und in Kolumbien bei 45 pro 100.000 Frauen pro Jahr. In Deutschland lag sie 2002 bei 13,3 pro 100.000. Die Inzidenz höhergradiger Präkanzerosen der Cervix uteri liegt um das 50- bis 100-Fache höher. Früher war es der häufigste Genitalkrebs der Frau, doch durch Früherkennungsuntersuchungen konnte die Häufigkeit in Mitteleuropa auf zirka 25 Prozent aller Genitalkarzinome gesenkt werden. Dagegen zeigt die Inzidenz zervikaler Krebsvorstufen eine steigende Tendenz. In Deutschland ist der Gebärmutterhalskrebs die elfthäufigste diagnostizierte Krebsart. Gleichzeitig ist die Erkrankung die zwölft häufigste Ursache für krebisbedingte Todesfälle. Jährlich erkranken in Deutschland etwa über 6000 Frauen neu an einem Zervixkarzinom, etwa 1800 sterben daran. Die 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit der Patientinnen beträgt etwa 60 %. Das Zervixkarzinom wird am häufigsten im Alter von 45 bis 55 Jahren diagnostiziert, Vorstufen können schon bei 20- bis 30-jährigen Patientinnen auftreten. Die Erkrankung kann auch in der Schwangerschaft auftreten. Die Inzidenz beträgt hier 1,2 pro 10.000 Schwangerschaften. Rauchen stellt einen unabhängigen Risikofaktor für die Entstehung eines Zervixkarzinoms dar.

KLINIK

Einige HPV-Typen sind verantwortliche Auslöser für v. a. Zervixkarzinome, aber vermutlich auch für einen erheblichen Anteil der Vulva-, Penis- und Anal-Karzinome. Etwa 30 HPV-Typen infizieren fast ausschließlich Haut und Schleimhaut im Anogenitalbereich. Bei den genitalen HPV-Typen werden generell zwei Gruppen unterschieden, die **Niedrigrisiko-** (Low Risk-) und die **Hochrisiko-** (High Risk-) Typen. Die Einteilung erfolgt aufgrund des Risiko-Typs: Einige wenige Virustypen gelten als Auslöser für Karzinomen (v. a. Zervixkarzinome) und werden daher der Hochrisiko-Gruppe zugeordnet.

- Die **Hochrisiko-Typen** sind bei der Pathogenese von praktisch allen Zervixkarzinomen beteiligt. Dabei wird der Großteil aller Zervixkarzinome (ca. 70 %) durch die Hochrisiko-Typen 16 und 18 hervorgerufen, gefolgt von den Genotypen 31 und 33.

HPV High-Risk-Typen: dominant 16, 18, 31 und 33, seltener auch 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 und 82. Möglicherweise High-Risk-Viren sind ebenfalls HPV25, 53 und 66.

- Die **Niedrigrisiko-Typen** sind fast nie direkt an der Entwicklung eines Zervixkarzinoms beteiligt. Bei multiplen Infektionen mit mehreren HPV-Genotypen können sie aber auch in Zervixkarzinomen, zusammen mit einem klinisch relevanten Hochrisiko-Typ, nachgewiesen werden.

HPV Low-Risk-Typen:

HPV6 und 11 verursachen Warzen in Genitalbereich (Condylomata acuminata, „Feigwarzen“). Weitere Low-Risk-Typen sind 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 und CP6108.

Die Erkrankung entsteht durch Veränderungen am zervikalen Pattenepithel stufenweise aus einer sogenannten **zervikalen intraepithelialen Neoplasie** (CIN I bis III). Dabei gelten die dysplastischen Zellveränderungen bei CIN I und II als rückbildungsfähig. CIN III stellt dagegen eine obligate Präkanzerose dar. Das heißt, mehr als 30 Prozent entwickeln sich innerhalb von fünf Jahren in eine Krebserkrankung. Dabei werden unter CIN III wegen des gleichen biologischen Verhaltens die hochgradige Dysplasie und das Carcinoma in situ (CIS) zusammengefasst.

INDIKATION

auffälliger PAP-Test (PAP III/PAPIIID);
Verdacht auf eine HPV-Infektion

NACHWEISMETHODE

HPV spezifische multiplex-PCR mit anschließender Array-Hybridisierung zur HPV-Typisierung (e-BRID-System; Fa. Medac).

UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Frisches oder Formalin-fixiertes Gewebe aus PE oder OP-Präparat. oder zytologische Abstrichproben.

ANSPRECHPARTNER

Dr. Marcus Bettstetter

ÜBERSICHTSLITERATUR

Cogliano V et al. Carcinogenicity of human papillomaviruses. *Lancet Oncol.* 2005 Apr;6(4):204
Petry KU et al. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. *Br J Cancer* 2003;88:1570-72. Ronco G. et al. Results at Recruitment From a Randomized Controlled Trial Comparing Human Papillomavirus Testing Alone With Conventional Cytology as the Primary Cervical Cancer Screening Test. *J Natl Canc Inst* 2006;98:765-744;
Mayrand MH et al. Human Papillomavirus DNA versus Papanicolaou Screening Test for Cervical Cancer. *NEJM* 2007;357:1579-1588 zur Hausen: *Papillomviren als Krebsreger*. Geburtsh Frauenheilk 58 (1998), Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), S2, Prävention, Diagnostik und Therapie der HPV-Infektion und präinvasiver Läsionen des weiblichen Genitale; 8/2008, www.leitlinien.net, Abruf: 28.1.2010.

LINKS

[Wikipedia](#), [Krebsinformationsdienst](#), [Netdoktor](#), [Digene](#),



INFORMATIONSBLATT MOLEKULARE PATHOLOGIE

GESCHICHTLICHES

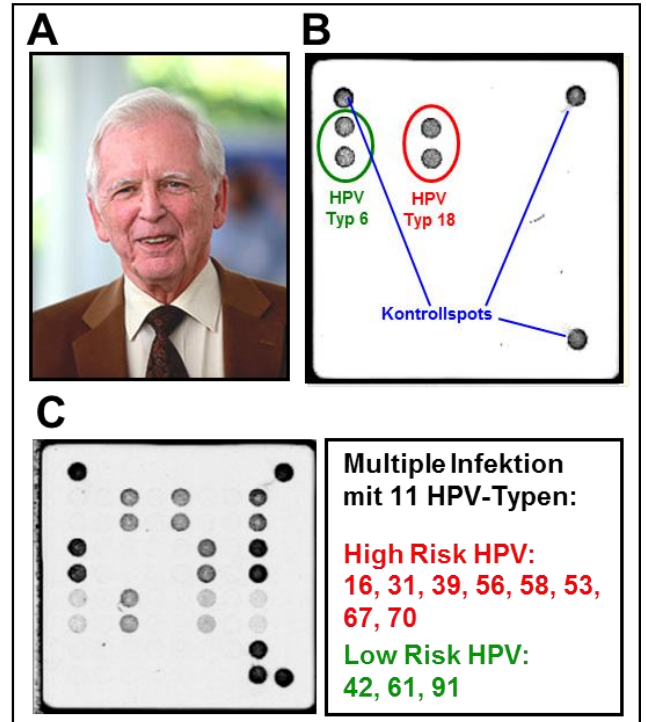
1878 beschrieben Carl Ruge und Johann Veit den Gebärmutterhalskrebs erstmalig als eigenes Krankheitsbild. Der österreichische Gynäkologe Walther Schauenstein entwickelte 1908 die bis heute gültige These der stufenweisen Pathogenese des Zervixkarzinoms. Seine Arbeit zu histologischen Untersuchungen bei atypischem Plattenepithel an der Portio war eine der ersten Beschreibungen des Oberflächenkarzinoms der Zervix.

Erste Gebärmutterentfernungen bei Krebserkrankungen der Gebärmutter auf vaginalem und abdominalem Weg wurden 1813 von Konrad Langenbeck und 1822 von Johann Sauter durchgeführt. Der österreichische Gynäkologe Ernst Wertheim entwickelte 1898 eine radikale Operationsmethode über einen Bauchschnitt, die später der Amerikaner Joe Meigs weiterentwickelte. Hans Hinselmann entwickelte 1925 mit der Kolposkopie das erste Verfahren zur Früherkennung des Gebärmutterhalskrebses. 1928 erarbeitete George Papanicolaou mit dem Pap-Test ein weiteres Verfahren zur Frühdiagnostik dieses Tumors. Besondere Verdienste um die Einführung der Zytologie in Verbindung mit der Kolposkopie als Früherkennungsmethode erwarb sich Ernst Navratil. Am 9. Februar 1951 wurden bei einer 31-jährigen Patientin Zervixkarzinomzellen vom Muttermund entnommen, die später in Zellkulturen vermehrt (HeLa-Zellen) und bis heute zu Forschungszwecken genutzt werden. 1971 erfolgte die Einführung des Zervixkarzinomscreenings als Programm in der Bundesrepublik Deutschland. 1974 veröffentlichte Harald zur Hausen erste Berichte über eine mögliche Rolle von Papillomviren beim Zervixkarzinom, wofür ihm 2008 der Nobelpreis für Physiologie oder Medizin verliehen wurde.

2006 wurde ein erster HPV-Impfstoff zugelassen: (quadrivalenter Impfstoff = wirksam gegen die vier HPV-Typen 6, 11, 16 und 18).

2007 wurde ein bivalenter Impfstoff (wirksam gegen die zwei HPV-Typen 16 und 18) zugelassen. Die Hochrisiko-HPV-Typen 16 und 18 sind weltweit für etwa 70 % aller Zervixkarzinome bei der Frau verantwortlich.

ABBILDUNGEN



A) Der Nobelpreisträger Professor H. zur Hausen entdeckte den Zusammenhang von HPV-Infektionen und Zervixkarzinomen.

B) Ein positives Testergebnis auf einem Hybridisierungsarray (beispielhaft): Die Kontrollspots verifizieren eine korrekte Färbung des Chips. Die verschiedenen HPV-Typen sind jeweils doppelt aufgebracht. In diesem Fall lag eine Doppelinfektion mit einem Low-Risk-HPV (Typ 6) und einem High-Risk-HPV (Typ 18) vor.

C) Ca. 40% aller HPV-Infektionen sind multiple Infektionen mit mehreren HPV-Typen. In dieser Probe eines Cervix-Abstriches waren insgesamt 11 verschiedene HPV-Typen nachweisbar



INFORMATIONSBLETT MOLEKULARE PATHOLOGIE

LEISTUNGSVERGLEICH

Die in der Molekularpathologie Südbayern (MPS) angewandte HPV-Analytik bietet eine weit höhere analytische Performance als der weiter verbreitete HybridCapture II (HCII)-Test. Die Daten sind im Folgenden zusammengefasst.

NACHWEISBARE HPV-TYPEN

Mit dem Hybridisierungschip der Fa. Chipron können die **18** häufigsten **High Risk HPV** und **13 Low Risk HPV**-Typen separat detektiert und spezifiziert werden. (Abb. A)

Via Sequenzierung haben wir zusätzlich die Möglichkeit, praktisch ALLE der bisher ca. 170 bekannten HPV-Typen nachzuweisen.

Wir führen dann eine Sequenzierung durch, falls der Array nach positiver HPV-DNA-Amplifikation keine Hybridisierung anzeigt. Dazu werden die amplifizierten PCR-Produkte sequenziert und die Sequenzen mit einer Datenbank abgeglichen (NCBI BLAST).

Vergleichsweise kann der HybridCapture II-Test nur 12 High Risk HPV-Typen nachweisen. Eine Spezifizierung der einzelnen HPV-Typen ist mit dem HybridCapture II-Test nicht möglich. Es gibt nur die beiden Ergebnisse „positiv“ oder „negativ“.

Eine vergleichende Auswertung unserer HPV-Analytik von 585 Proben zeigte, dass 9% (n=50) aller detektierten High Risk HPV Infektionen mit dem HybridCapture II-Test nicht nachweisbar wären!

Ebenso wären die 29% (n=168) aller HPV-Infektionen, die nur Low Risk HPV-Typen enthielten via HybridCapture II-Test nicht nachweisbar gewesen.

(Abb. B)

SENSITIVITÄT

Bei unserer HPV-Analytik werden HPV-Sequenzen mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) exponentiell amplifiziert. Durch diesen Schritt werden schon wenige HPV-DNA-Moleküle nachweisbar. Zudem umfasst unser Test Kontrollen, die eine korrekte Reaktion überwachen und die grundsätzliche Eignung des Analysematerials prüfen.

Der HybridCapture II-Test umfasst keine Amplifikation. Dadurch wird eine geringere Sensitivität erreicht und vergleichbare Kontrollen finden nicht statt.

FAZIT

Die HPV-Analytik der Molekularpathologie Südbayern kann praktisch ALLE HPV-Typen mit höchster Sensitivität und Spezifität sicher nachgewiesen. Dies leistet kein anderer uns bekannter Testalgorithmus.

KOSTEN

Die HPV-Analytik der Molekularpathologie Südbayern beinhaltet eine Amplifikation und eine umfassende HPV-Typisierung sowie ggf. eine Sequenzierung. Diese aufwendige Analytik verursacht naturgemäß höhere Eigenkosten (ca. 100 €) als eine einfachere, aber dafür weniger aussagekräftige Analytik.

ABBILDUNGEN

A

High Risk HPV	nachweisbar?		Low Risk HPV	nachweisbar?	
	MPS HPV-Array	HCII		MPS HPV-Array	HCII
16	✓	✓	6	✓	-
18	✓	✓	11	✓	-
31	✓	✓	42	✓	-
33	✓	✓	44	✓	-
35	✓	✓	54	✓	-
39	✓	✓	61	✓	-
45	✓	✓	62	✓	-
51	✓	✓	72	✓	-
52	✓	✓	81	✓	-
56	✓	✓	83	✓	-
58	✓	✓	84	✓	-
68	✓	✓	90	✓	-
53	✓	-	91	✓	-
66	✓	-	Σ13 Low Risk Typen		
67	✓	-			
70	✓	-			
73	✓	-			
82	✓	-			
Σ18 High Risk Typen					

B

