

A. Schneider¹ · M. Dürst¹ · I. Jochmus² · L. Gissmann² · ¹Abteilung für Frauenheilkunde, Friedrich-Schiller-Universität Jena · ²Institut für Angewandte Tumorstudiologie, Universität Heidelberg

Epidemiologie, Ätiologie und Prävention des Zervixkarzinoms

Zusammenfassung

Durch molekulare und epidemiologische Studien wurde bewiesen, daß die humanpathogenen Papillomviren (HPV) Typ 16 und 18 ursächlich an der Entstehung des Zervixkarzinoms beteiligt sind. Diese Aussage gilt auch in bisher noch eingeschränktem Maße für andere sog. High-risk-HPV-Typen wie HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 und 58. Etwa 1/2 Mio. Frauen erkranken jährlich weltweit am Zervixkarzinom und zwischen 1–4% aller jüngeren Frauen leiden an einer Präkanzerose der Cervix uteri. Das Wissen um die virale Genese anogenitaler Neoplasien wird jedoch bisher nicht für die primäre und sekundäre Prävention dieser Erkrankungen eingesetzt. Dies liegt vor allem daran, daß die Infektion mit genitalen HPV-Typen bei jungen Frauen hoch prävalent ist, jedoch nur selten zum Karzinom führt. In der folgenden Übersicht werden daher die wichtigsten vorliegenden epidemiologischen Daten zum Zervixkarzinom und seinen Vorstufen auf ihre Assoziation mit HPV analysiert. Im weiteren werden die molekularbiologischen Daten von HPV für die anogenitale Karzinogenese dargestellt. Abschließend wird auf die Bedeutung von HPV für die Prävention des Zervixkarzinoms eingegangen.

Schlüsselwörter

Zervixkarzinom · Epidemiologie · Humane Papillomviren · Karzinogenese · Prävention

Epidemiologie

Demographie

Die Inzidenz des Zervixkarzinoms liegt weltweit zwischen 5 und 48 Frauen pro 100.000, wobei Spanien die niedrigste Rate, Kolumbien die höchste Rate aufweist [1]. Etwa 500.000 Frauen erkranken weltweit pro Jahr am Zervixkarzinom und 350.000 Frauen sterben jährlich an dieser Erkrankung. Die Inzidenz für das Zervixkarzinom in Deutschland schwankt zwischen 15,1 im Saarland und 27,1/100.000 Frauen in der ehemaligen DDR. Die ehemalige DDR wies damit die höchste altersstandardisierte Inzidenzrate in Europa auf.

Bei einer mittleren Inzidenz von 21,1/100.000 und einer Gesamtzahl von 41.674.600 Frauen im gesamten Bundesgebiet kann die Anzahl an Neuerkrankungen von Zervixkarzinom in Deutschland auf ca. 8800 pro Jahr geschätzt werden. Die Inzidenz von genitalen Präkanzerosen der Frau liegt verglichen mit dem Zervixkarzinom um das 100fache höher. Damit dürfte in Deutschland die Inzidenz schwergradiger Präkanzerosen der Cervix uteri bei ca. 1% liegen (ca. 300.000 Frauen/Jahr). Daten aus Österreich zeigen, daß die Inzidenz zervikaler Präkanzerosen bei Frauen in der Altersgruppe zwischen 21 und 30 Jahren von 1985–1989 im Vergleich zu 1980–1984 signifikant um das 4fache zugenommen

hat [2]. Jüngere Arbeiten zeigen, daß die Inzidenz des Adenokarzinoms speziell bei jüngeren Frauen zunimmt [3].

Histologische Typen

Beim Zervixkarzinom unterscheidet man 2 größere histologische Gruppen: Plattenepithel- und Adenokarzinom. In einer Übersicht von 8647 Fällen von invasiven Zervixkarzinomen wurden 77% als Plattenepithelkarzinom, 11% als Adenokarzinom, 2,5% als adenosquamös und der Rest als andere Zelltypen oder unspezifizierte epitheliale Tumoren deklariert [3].

Risikofaktoren

HPV

Epidemiologische Untersuchungen über Risikofaktoren für die Entwicklung von Zervixkarzinomen haben eine lange Tradition. In ca. 100 Fallkontrollstudien wird eine enge Korrelation zwischen dem Nachweis von HPV-16-DNA und dem Vorkommen von invasiven Zervixkarzinomen und dessen Vorstufen berichtet [4]. Prospektive Studien bestäti-

Prof. Dr. A. Schneider, M.P.H.
Abteilung für Frauenheilkunde,
Friedrich-Schiller-Universität, Bachstraße 18,
D-7740 Jena

A. Schneider · M. Dürst ·
I. Jochmus · L. Gissmann

Epidemiology, aetiology and prevention of carcinoma of the cervix

Summary

Molecular and epidemiological studies have confirmed that human pathogenic papillomaviruses (HPV) types 16 and 18 are causally involved in the development of carcinoma of the cervix. This statement is also true, albeit with reservations as yet, of other so-called high-risk HPV types, such as HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 and 58. Around 500,000 women throughout the world become ill with carcinoma of the cervix every year, and 1–4% of all younger women have a precancer of the cervix uteri. This knowledge of the viral origin of anogenital neoplasms has not yet been exploited for primary and secondary prevention of these illnesses, however. This is mainly because infection with genital HPV types is very prevalent in young women but seldom leads to carcinoma. In this review, therefore, the most important epidemiological data available on cervical carcinoma and its preliminary stages are analysed with reference to an association with HPV. In addition, the molecular biological data on HPV as it relates to anogenital carcinogenesis are presented. In conclusion, the significance of HPV for the prevention of carcinoma of the cervix is discussed.

Key words

Carcinoma of the cervix · Epidemiology · Human papillomavirus · Carcinogenesis · Prevention

Zum Thema: Zervixkarzinom

gen diese Annahme, wobei für high-risk-HPV-positive Frauen ein relatives Risiko von 10 für die Entwicklung einer zervikalen Präkanzerose errechnet wurde [5] (M. Schiffman, persönliche Mitteilung).

Die Erkenntnis, daß humane Papillomviren als Karzinogene wirken und als Hauptrisikofaktoren in der zervikalen Karzinogenese angesehen werden [4], hat das Rationale der epidemiologischen Forschung im Bereich Zervixkarzinom grundlegend geändert. Alle bisher untersuchten Risikofaktoren müssen nun auf ihre Unabhängigkeit von HPV untersucht werden. Hierbei ist entscheidend, ob die jeweiligen Faktoren nur als Kofaktoren für die Aquirierung und Propagierung von HPV-Infektionen wirken oder wirklich unabhängige Risikofaktoren darstellen. Nur von wenigen Faktoren ist bisher bekannt, auf welche Weise sie an den verschiedenen Punkten der zervikalen Karzinogenese einwirken (Abb. 1).

Alter

Das invasive Zervixkarzinom wird nur selten bei Frauen unter 20 Jahren beobachtet, nimmt aber deutlich in der Inzidenz während der reproduktiven Jahre mit einem Altersgipfel zwischen 40 und 60 Jahren zu. Während bei Kaukasierinnen die Inzidenz und Mortalitätsrate

keinen weiteren Anstieg nach dem 60. Lebensjahr zeigen, kann bei Amerikanerinnen afrikanischen Ursprungs weiter ein Anstieg bis in die 8. Lebensdekade beobachtet werden. Der Nachweis genitaler HPV-Infektionen zeigt einen Gipfel zwischen dem 20. und 24. Lebensjahr und fällt dann in seiner Häufigkeit kontinuierlich mit zunehmenden Alter ab [6]. Diese Altersverteilung ist für alle HPV-Typen ähnlich und die Assoziation von HPV-Nachweis und jungem Alter ist unabhängig von anderen Risikofaktoren. Das Phänomen der Altersabhängigkeit wird durch den Erwerb von Immunität, hormonellen Veränderungen und abnehmende Exposition mit zunehmenden Alter erklärt.

Sexuelle Faktoren

Die Analyse von 10 Fallkontrollstudien zeigt, daß zwischen zunehmender Anzahl an Sexualpartnern und dem Risiko für zervikale intraepitheliale Neoplasie und invasives Zervixkarzinom eine direkte Korrelation besteht: Das relative Risiko variiert zwischen 1,7 und 9,0, auch wenn für Faktoren wie u. a. Alter, ethnische Abstammung, sozioökonomischer Status, Alter bei Heirat, Alter bei Kohabitarche, Rauchen und Einnahme von oralen Kontrazeptiva kontrolliert wurde [7, 8].

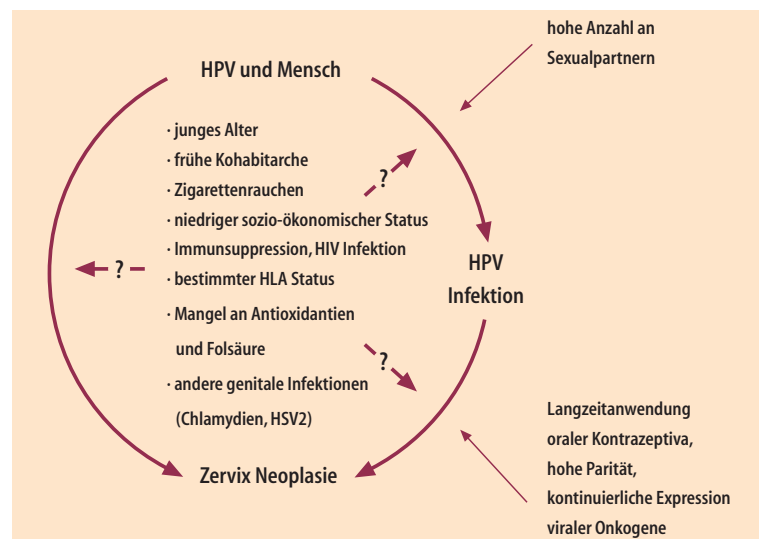


Abb. 1 ▲

Die wichtigsten Risikofaktoren und ihr Wirkungspunkt bei der anogenitalen Karzinogenese

Wird die Assoziation zwischen Anzahl der Sexualpartner und Zervixneoplasie für HPV kontrolliert, führt dies zu einer deutlichen Reduktion des relativen Risikos [9]. Das gleiche Phänomen wird beobachtet, wenn der Risikofaktor junges Alter bei Kohabitarche näher untersucht wird: 10 von 11 Fallkontrollstudien fanden ein relatives Risiko zwischen 1,1 und 16,1, wenn Frauen mit Kohabitarche im Alter von weniger als 16 Jahren mit Frauen, die bei Kohabitarche älter als 10 waren, verglichen wurden, auch wenn für andere Risikofaktoren (s. oben) kontrolliert wurde [7, 8].

Wie bei der Anzahl der Sexualpartner verschwindet der Effekt von früher Kohabitarche nach Kontrolle für HPV fast vollständig [10]: Das Alter bei Kohabitarche kann als Indikator für den Zeitpunkt des Beginns der HPV-Infektion angesehen werden. Andererseits kann junges Alter eine vulnerable Phase der Zervix anzeigen, während der HPV den größten transformierenden Effekt ausüben kann.

Sozioökonomischer Status

Zervixkarzinom kommt vorwiegend bei Frauen mit niedrigem sozioökonomischem Status vor [7, 8]. Es ist allerdings schwierig, den sozioökonomischen Status als eine unabhängige Variable zu identifizieren. Schlechte Ernährung, Multiparität und genitale Infektionen könnten hier Kovariablen darstellen. In einer Studie aus Costa Rica konnte gezeigt werden, daß – wenn kontrolliert für Alter, Anzahl der Sexualpartner, Parität, Rauchen und Alter bei Kohabitarche – niedriger sozioökonomischer Status mit einem relativen Risiko von 2,0 für das Zervixkarzinom vergesellschaftet war [11].

Herpes genitalis

In zahlreichen serologischen Fallkontrollstudien wurde die Assoziation zwischen HSV2-Seropositivität und Zervixkarzinom untersucht. Hierbei konnten acht von neun retrospektiven Studien, wenn kontrolliert für andere bekannte Risikofaktoren (z. B. Alter, sozioökonomischer Status) ein relatives Risiko zwischen 1,5 und unendlich nachweisen [8].

Eine prospektive Studie aus der ehemaligen Tschechoslowakei fand eine Verminderung des relativen Risikos auf 0,3 [12]. In diesen Fallkontrollstudien wurde Serum bei Diagnosestellung Zervixkarzinom entnommen; 2 weitere Fallkontrollstudien entnahmen Serum vor Diagnose und fanden ein relatives Risiko von 2,1 und 5,2 [12, 13]. Wenn die Assoziation HSV2 und Zervixkarzinom für HPV kontrolliert wird, verschwindet die Assoziation weitgehend [14].

Chlamydiencervicitis wurde aufgrund seroepidemiologischer Fallkontrollstudien [15] und chlamydienassoziiertes zytologischer Veränderungen [16] als Risikofaktor für die Entstehung von Zervixkarzinomen angesehen. Die seroepidemiologische Assoziation zwischen Chlamydieninfektion und Zervixkarzinom wird jedoch neutralisiert, wenn für HPV kontrolliert wird [14].

Zigarettenrauchen

Alle 14 größeren Fallkontrollstudien zeigen einen Effekt zwischen Zigarettenrauchen und Zervixneoplasie: Der Risikoeffekt von Zigarettenrauchen beschränkt sich nur auf das Plattenepithelkarzinom und wird nicht beim Adeno- oder adenosquamösen Karzinom beobachtet [17]. Das relative Risiko bewegt sich zwischen 1,5 und 12,7, wenn für andere Risikofaktoren (s. oben) kontrolliert wird [8]. Wird allerdings auf eine HPV-Infektion kontrolliert, konnte kein unabhängiger Effekt des Zigarettenrauchens beobachtet werden [10]. Da beide letzteren Studien in Kohorten durchgeführt wurden, in denen der Zusammenhang zwischen Rauchen und Zervixkarzinom ohnehin nicht ausgeprägt war, müssen diese Daten noch in anderen Populationen überprüft werden.

Orale Kontrazeptiva

Der Zusammenhang zwischen Einnahme von oralen Kontrazeptiva und zervikaler intraepitheliale Neoplasie sowie Zervixkarzinom wurde in 14 größeren Fallkontrollstudien untersucht. 12 Studien zeigen ein für andere Risikofaktoren kontrolliertes relatives Risiko zwischen 1,1 und 3,2, wobei sich kein klarer Dosis-

Wirkungs-Effekt zeigt, da zwischen der Einnahme von mehr als 2 Jahren und von mehr als 10 Jahren kein Unterschied im relativen Risiko gezeigt wird [8]. Zwei Studien berichten über eine Erniedrigung des relativen Risikos für das invasive Zervixkarzinom auf 0,7 und 0,9 [18, 19]. Ob diese Diskrepanz durch ein over matching der Kontrollfälle erklärt werden kann, ist nicht klar. Die Assoziation mit der Einnahme oraler Kontrazeptiva scheint für das Adenokarzinom mehr ausgeprägt zu sein als für das Plattenepithelkarzinom [20]. Dies könnte auch das schon bereits erwähnte Phänomen der zunehmenden Inzidenzraten für zervikales Adenokarzinom bei jungen Frauen teilweise erklären [3]. In 2 Studien wurde gezeigt, daß das Risiko für invasives Zervixkarzinom bei HPV-positiven Frauen, die orale Kontrazeptiva eingenommen haben, erhöht ist [9, 21]. Orale Kontrazeptiva könnten somit HPV-infizierte Zellen vermehrt transformieren.

Ernährungsfaktoren

Bei Frauen mit zervikalen intraepithelialen Neoplasien wird ein Mangel an Antioxidantien und Folsäure gefunden [22]. Ein niedriger Folsäurespiegel ist mit einem erhöhten Risiko für einen HPV-16-Nachweis in Zervixabstrichen assoziiert [23]. Bisher fehlen allerdings prospektive Daten und therapeutische Studien, die die Bedeutung von Ernährungsfaktoren in diesem Zusammenhang belegen.

Genetik

Es gibt wenige Studien, die über das familiäre Auftreten von Zervixkarzinom berichten [24, 25]. Jüngere Studien finden eine Assoziation zwischen HLA-Allelen mit invasivem Zervixkarzinom und HPV-assoziierten zervikalen intraepithelialen Neoplasien [26, 27]. In jüngster Zeit werden verschiedene HLA-Loci vor allem im Zusammenhang mit HPV-Infektionen untersucht [27].

Immunsuppression

Zervikale Neoplasien sind bei nach Nierentransplantation immunsupprimier-

ten Frauen häufig [28]. HIV-positive Patientinnen haben ein erhöhtes Risiko für HPV-Infektionen und zervikale intraepitheliale Neoplasien: Dies gilt vor allem für Frauen mit niedriger CD4-Zellzahl [29]. Hierbei ist nicht klar, ob eine HIV-Immunsuppression zur Reaktivierung einer latenten HPV-Infektion oder zu einem erhöhten Risiko für eine Reinfektion führt. Im weiteren ist unklar, ob die HPV-induzierte Immunsuppression die Progredienz zervikaler Neoplasien zum Karzinom beschleunigt oder lediglich die Prävalenz und Persistenz von zervikalen intraepithelialen Neoplasien erhöht.

Natürlicher Verlauf von HPV-Infektionen

Die natürliche Entwicklungsgeschichte von genitalen HPV-Infektionen ist noch weitgehend unklar [30]. Die Übertragung genitaler HPV-Typen erfolgt primär durch Sexualkontakt [31]; es wird jedoch auch die perinatale, digitale und orale Übertragung sowie Autoinokulation beschrieben.

Das Risiko für genitale HPV-Infektionen erhöht sich mit jedem neuen sexuellen Kontakt und die Mehrzahl der Infizierten entwickelt primär keine klinischen Zeichen oder Symptome [32]. Eine supprimierte zelluläre Immunität erhöht die Replikation des Virus und die Wahrscheinlichkeit für neue oder rekurrente Läsionen. Nur etwa 2% der Infizierten entwickeln ein HPV-assoziiertes Karzinom [33].

Das Zervixkarzinom ist das häufigste HPV-assoziierte genitale Malignom. Eine erhöhte Empfänglichkeit der Zellen an der Grenze zwischen Zylinderepithel und Plattenepithel für eine Infektion und Transformation durch karzinogene HPV-Typen ist hierfür im Moment die plausibelste Erklärung.

Für die Entwicklung von Zervixkarzinomen scheinen persistierende Infektionen notwendig zu sein. Tatsächlich persistieren HPV-16-Infektionen häufiger als Infektionen durch andere HPV-Typen [34]. Schwergradige zervikale Präkanzerosen CIN 2/3 entwickeln sich aus leichtgradigen Präkanzerosen (CIN1) [35]. Alternativ können CIN 2/3 spontan ohne vorherigen Nachweis von leichtgradigem CIN auftreten [5].

HPV-assoziierte Morphologie

In einem HPV-induzierten CIN 1 findet man morphologisch in der produktiven Phase der Infektion nukleäre Atypien sowie vermehrt Mitosen und Koilozyten. Aus diesen Läsionen oder unmittelbar nach der Infektion können sich sog. Krebsvorstufen entwickeln (CIN 2/3) (s.oben), die eine vermehrte nukleäre Atypie, eine erhöhte Mitoserate sowie eine verstärkte epitheliale Desorganisation aufweisen; diese Läsionen sind praktisch immer aneuploid und enthalten Zellen mit atypischen Mitosefiguren [36].

Durch DNA-Zytometrie wurde in zervikalen Präkanzerosen Aneuploidie nachgewiesen [37, 38]. Untersuchungen aus mehreren Arbeitsgruppen belegen, daß alle untersuchten Fälle von CIN, welche im weiteren Verlauf progredierten, aneuploide DNA-Verteilungsmuster aufwiesen [36, 39].

Die Diagnostik vor allem der leichtgradigen Präkanzerosen der Cervix uteri ist kompliziert und nur schwer reproduzierbar. Die histologische Untersuchung wird allgemein als Standardverfahren zur Einstufung des Schweregrades einer Präkanzerose angesehen, erfüllt jedoch nicht die Anforderungen, die an einen goldenen Standard gestellt werden:

Während der letzten 20 Jahre kamen bereits 4 verschiedene histologische Klassifikationssysteme zur Anwendung, die alle das biologische Potential von genitalen Präkanzerosen nicht exakt eingrenzen können (Abb. 2).

Molekulare Ätiologie

Erste Zusammenhänge zwischen Papillomviren und der Entstehung des Zervixkarzinoms erhärteten sich, als Anfang der 80er Jahre 2 neue HPV-DNA-Isolate HPV-16 und HPV-18 aus Zervixkarzinomen kloniert wurden [40, 41]. Inzwischen sind über 80 verschiedene HPV-Typen identifiziert worden, wobei etwa die Hälfte aus Läsionen des anogenitalen Trakts isoliert wurden [42].

Aufgrund ihrer Häufigkeit und charakteristischen Verteilung in Läsionen und Karzinomen wurden die genitalen HPV-Typen in verschiedene Risikogruppen eingeteilt. So wurden z. B. HPV-6 und HPV-11, die Läsionen mit nur geringem Entartungspotential erzeugen, als Low-risk-Typen bezeichnet, während HPV-16 und HPV-18, die vorwiegend in prä malignen Läsionen und Zervixkarzinomen nachweisbar sind, als High-risk-Typen bezeichnet werden. Ein kausaler Zusammenhang zwischen HPV-Infektion und der Entstehung des Zervixkarzinoms war aufgrund dieser Befunde nicht gegeben und bedurfte weiterer experimenteller Untersuchungen.

Es zeigte sich, daß in Zervixkarzinomen – im Gegensatz zu prä malignen

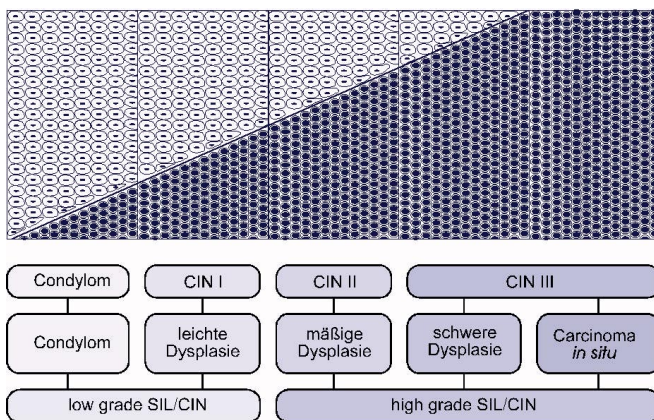


Abb. 2 ▲ Verschiedene Nomenklaturen für zervikale Präkanzerosen [152].

Läsionen – die virale DNA häufig im Wirtsgenom integriert vorliegt [43, 44]. Obwohl es im Rahmen der Integration zu Umstrukturierungen bzw. Deletion viraler Genomabschnitte kommen kann, bleiben die Gene für die Proteine E6 und E7 sowie die vorgeschaltete Kontrollregion (ncr) des Virus stets erhalten [45]. Diese Gene werden sowohl in Tumoren als auch in den davon abgeleiteten Zervixkarzinomzelllinien in Proteinen überschrieben. Es ergab sich somit der Verdacht, daß die Proteine E6 und E7 eine Rolle bei der Tumorentstehung und möglicherweise auch bei der Aufrechterhaltung des tumorigenen Phänotyps spielen. Tatsächlich zeigte sich, daß sowohl die Proliferation von Zervixkarzinomzellen in der Zellkultur (in vitro) als auch die Tumorbildung im Versuchstier (in vivo) von der kontinuierlichen Expression der Gene E6 und E7 abhängig ist [46, 47].

In bezug auf die Bedeutung der viralen Proteine bei der Tumorentstehung war die Beobachtung, daß High-risk-HPV-Typen in der Lage waren, den Absterbeprozess primärer Zellen in Kultur zu blockieren, von Bedeutung. Dieser Vorgang wird als Zellimmortalisierung bezeichnet und stellt möglicherweise das In-vitro-Äquivalent zu frühen Stufen der Kanzerogenese in vivo dar.

In ersten Experimenten wurde zur Immortalisierung humaner Keratinozyten das komplette HPV-Genom verwendet [48, 49]. In späteren Experimenten konnte die immortalisierende Funktion auf eine Kooperation der Gene E6 und E7 eingeeengt werden [50, 51].

Primäre Nagetierzellen kann das E7-Gen alleine immortalisieren oder in Kooperation mit einem aktivierten ras-Onkogen transformieren [52, 53]. Der Expression der viralen Onkogene E6 und E7 wird eine zentrale Bedeutung in der Tumorentstehung zugeordnet. Dies konnte unter anderem in Experimenten gezeigt werden, in denen die Malignität von Zervixkarzinomzellen direkt mit dem Expressionsniveau dieser Gene korreliert [47]. Möglicherweise haben HPV-16-infizierte Zellen, in denen eine Deregelung der Kontrolle dieser Gene vorliegt, einen Wachstumsvorteil. Hinweise dafür konnten aus Untersuchun-

gen an Gewebeschnitten prämaligener Läsionen erhalten werden.

Es zeigte sich, daß in den Basalzellen einiger niedriggradiger Läsionen deutlich weniger E6- bis E7-spezifische Transkripte vorliegen als in hochgradigen Läsionen [54]. Hingegen gibt es zwischen hochgradigen Läsionen und Zervixkarzinomen bezüglich der HPV-Genexpression keine konsistenten qualitativen oder quantitativen Unterschiede [54–56]. Interessanterweise sind Low-risk-HPV-Typen nicht oder nur sehr ineffizient in der Lage, primäre Keratinozyten zu immortalisieren.

Hinweise mehrten sich, daß die Transformation einer Zelle als Folge einer Deregelung der viralen Gene auftritt [57]. Integration der viralen DNA ins Wirtsgenom kann durch eine Inaktivierung viraler Kontrollelemente, aber auch durch Positionseffekte im Chromatin eine Überexpression der Gene E6 und E7 zur Folge haben. Eine viruseigene Regulation der E6-Promotoraktivität wird durch das E2-Protein ausgeübt. Durch Deletion des viralen E2-Gens, die für integrierte HPV-DNA in Karzinomzellen charakteristisch ist, wird diese Kontrollmöglichkeit ausgeschaltet.

Darüber hinaus weist die „non-coding-region“ (ncr) eine Vielzahl weiterer Enhancer- und Silencerelemente auf, die fein aufeinander abgestimmt die Expression der viralen Onkogene beeinflussen. Interessanterweise konnte in Zervixkarzinomen, die keine integrierte HPV-DNA enthalten, häufig eine Deletion in der ncr festgestellt werden, die zu einem Verlust von Bindungsstellen für den Transkriptionsfaktor YY1 führen [58]. Eine YY1-vermittelte Repression des E6-Promotors [59] wäre dadurch ausgeschaltet.

Molekulare Wirkungsmechanismen

Die molekularen Wirkungsmechanismen der viralen E6- und E7-Proteine sind nur teilweise verstanden. Bisher am besten untersucht ist die spezifische Komplexierung der viralen Onkoproteine mit den zellulären Proteinen p53 und pRB. Letztere besetzen eine Schlüsselstellung in der Zellregulation und tragen zur Entscheidung bei, ob eine Zelle sich

teilt, in den Differenzierungsprozess eintritt oder aufgrund von genetischen Veränderungen durch Apoptose (programmierten Zelltod) entfernt wird [60]. Beide Proteine üben ihre Kontrollfunktion in der G₁-Phase des Zellzyklus aus. Das Rb-Protein inhibiert durch Bindung die Aktivität von Transkriptionsfaktoren der E2F-Familie; Rb wiederum unterliegt der Kontrolle durch Cyclin-abhängige Kinasen (CDK). Wird Rb durch Phosphorylierung inaktiviert, so werden die E2F-Faktoren freigesetzt und vermitteln die Transkription verschiedener Gene, deren Proteine an der DNA-Synthese beteiligt sind; P53 reguliert u. a. die Transkription des kürzlich identifizierten Gens p21, das für einen Inhibitor der Cyclin-abhängigen Kinase kodiert.

Eine Arretierung des Zellzyklus kann dadurch erreicht werden, daß p53 die Transkription von p21 stimuliert und als Folge die Cyclin-abhängige Kinase hemmt und dadurch die Inaktivierung von Rb und die Freisetzung von E2F verhindert. Über p21 sind damit die Kontrollfunktionen von p53 und pRB miteinander verknüpft. DNA-Schädigungen führen zur Aktivierung von p53 und dadurch zu einer Zellzyklusarretierung in der G₁-Phase [61]. Dies ermöglicht der Zelle, den DNA-Schaden zu beheben und verhindert letztendlich, daß Mutationen in der S-Phase verdoppelt und an die Tochterzelle weitergegeben werden.

Somatische Mutationen der Gene p53 und pRB treten gehäuft in Tumorzellen auf. Die Genprodukte büßen dadurch ihre Kontrollaktivität ein. Experimentelle Ansätze zeigten, daß die Expression der High-risk-HPV-Onkoproteine dieselbe Auswirkung auf die Zelle ausübt wie die oben erwähnten Mutationen der Tumorsuppressorgene. Die Interaktion zwischen dem E6-Protein von High-risk-Typen und p53 – vermittelt durch ein zelluläres E6-assoziiertes Protein – führt zu einer Ubiquitin-abhängigen Proteolyse von p53 [62].

Diese In-vitro-Ergebnisse werden durch Analysen ergänzt, in denen gezeigt wurde, daß HPV-16-E6 eine p53-vermittelte Stimulation von zellulären Genen unterdrücken kann [63]. Da p53

Tabelle 1

Vergleich der beiden am häufigsten verwandten PCR-HPV-DNA-Nachweismethoden [34, 96–98]

	MY09-MY11	GP5+/GP6+
Primer	Konsensus; degeneriert; ein zusätzlicher Primer wurde hinzugefügt, um HPV-51 [34] zu amplifizieren	Konsensus; nicht degeneriert; Original-primer wurden verlängert, um den Nachweis zu verbessern [96]
Template	450 Basenpaare im L1 ORF	140 Basenpaare im L1 ORF
Markierung	Biotin	Dioxigenin
Nachweis des PCR Produkts	(i) Hybridisierung mit typenspezifischer und generischer Sonde (ii) Angepaßt an ELISA-Format [97]	(i) Hybridisierung mit typenspezifischer, generischer und cocktail [98] (low risk/high risk) Sonde (ii) Angepaßt an ELISA-Format

Nach Einführung des zytologischen Screening kam es zu einer deutlichen Abnahme der Inzidenz des invasiven Zervixkarzinoms und es konnte eine deutliche Verschiebung von höheren Stadien (II bis IV) zum Stadium I beobachtet werden [90].

Vom Screening profitieren hauptsächlich Frauen der Altersgruppe 35–55 Jahre. Dabei sollte allerdings nicht übersehen werden, daß schon vor Einführung des Screenings die Prognose des Zervixkarzinoms wesentlich verbessert werden konnte. Dies ist vor allem auf eine bessere Ausbildung und Aufklärung von Ärzten/-innen, Schwestern und Hebammen, auf Verbesserung der klinischen Früherkennung und Intensivierung der lokalen Therapie und auf eine Zentralisation der Diagnostik und Therapie des Zervixkarzinoms an spezialisierten Einrichtungen zurückzuführen.

Das Zervixkarzinom ist das malignom, bei dem eine Früherkennung und Prävention durch Identifizierung und Behandlung von Präkanzerosen am besten gelingt. Dies darf jedoch nicht darüber hinwegtäuschen, daß das im Moment praktizierte Vorsorgesystem entscheidende Mängel aufweist und verbessert werden sollte.

HPV-Nachweisverfahren

Obwohl HPV der wichtigste Risikofaktor für die Entstehung des Zervixkarzinoms

ist, hat der routinemäßige HPV-DNA-Nachweis noch keine Bedeutung für die Früherkennung und Behandlung der zervikalen intraepithelialen Neoplasien gefunden. Dies liegt vor allem daran, daß bisher noch keine validen Testsysteme kommerziell zur Verfügung stehen und sich das Spektrum der nachzuweisenden HPV-Typen in kurzer Zeit auf mehr als 40 genitale HPV-Typen erweitert hat. Zudem ist nicht klar, welche Gruppe von Frauen am meisten von einem HPV-DNA-Nachweis profitieren würde.

HPV-Infektionen können durch den Nachweis von HPV-Nukleinsäuren im Gewebe oder Abstrich oder durch den Nachweis von HPV-Proteinen in Geweben oder im gewissen Umfang anhand virusspezifischer Antikörper im Serum identifiziert werden. Die Isolierung des Virus in der Gewebekultur ist für humane Papillomviren nicht möglich, da sie nur in ihrem natürlichen Wirt propagiert werden können. HPV-DNA-Nachweismethoden wurden vor allem für die HPV-Typen etabliert, die im Genitaltrakt vorkommen, da diese Infektionen mit dem Zervixkarzinom assoziiert werden.

Von den 40–45 HPV-Typen, die den Genitaltrakt infizieren, werden bestimmte Typen (z. B. HPV 16, 18, 31 oder 45) häufig in Zervixkarzinomen gefunden (sog. High-risk-HPV-Typen) während andere Typen (z. B. HPV 6, 11, 42, 43 oder 44) selten in Karzinomen gefunden werden

und daher als Low-risk-HPV-Typen bezeichnet werden. In klinisch-epidemiologischen Untersuchungen konzentriert man sich daher häufig auf den Nachweis der sog. High-risk-HPV-Typen.

Der indirekte Nachweis von HPV anhand morphologischer Phänomene in zytologischen oder histologischen Präparationen ist zwar spezifisch aber nicht sensitiv und soll daher im weiteren nicht näher diskutiert werden.

HPV-Nukleinsäuren werden entweder durch Methoden identifiziert, welche die viralen Sequenzen zunächst durch Polymerasekettenreaktion (PCR) amplifizieren oder alternativ steht der direkte Hybridisierungsnachweis des viralen Genoms ohne vorherige Amplifikation zur Verfügung. Jede HPV-DNA-Nachweismethode hat ihre spezifische Indikation und es gibt keine ideale Methode. Die Grenzen der Methoden sind durch Sensitivität, klinischen Nutzen, Schwierigkeit der Durchführung und kommerzielle Verfügbarkeit gekennzeichnet. Während der letzten Jahre wurden entscheidende Fortschritte auf dem Gebiet der HPV-Diagnostik erzielt, deren wichtigste Verfahren im folgenden aufgelistet werden.

Nicht-amplifizierende HPV-DNA-Nachweisverfahren

Mehrere Nachweisverfahren wie Southern-blot-, Dot-blot-, In-situ- und Fil-

ter-in-situ-Hybridisierung stehen zum HPV-DNA-Nachweis zur Verfügung [91]. Kommerziell waren bisher vor allem Dot-blot-Verfahren wie ViraPap/ViraType und Profile (Fa. Digene) verfügbar und von der Federal Drug Administration genehmigt.

Während der letzten beiden Jahre hat sich ein nicht-radioaktives Sandwichhybridisierungsverfahren, der „hybrid capture assay“ und als Nachfolger der „hybrid capture microplate“, von allen kommerziellen Kits am meisten bewährt und durchgesetzt. Mit diesen Verfahren können ein breites Spektrum an High-risk- und Low-risk-HPV identifiziert werden und die Menge an viraler DNA quantifiziert werden. Falsch-positive Ergebnisse kommen in weniger als 3% der Untersuchungen vor [92, 154].

Amplifizierende HPV-DNA-Nachweisverfahren

Die HPV-DNA-Nachweismethoden nach PCR-Amplifikation sind in großen epidemiologischen Studien die am häufigsten verwandten Tests. Sie besitzen die höchste Sensitivität und 10–100 HPV-Genomkopien können in 1000 Zellen einer klinischen Probe nachgewiesen werden.

Eine einzige Amplifikationsreaktion mit sog. Konsensusprimern, die hochkonservierte Sequenzen des viralen Genoms amplifizieren, können PCR-Produkte generieren, die dann durch typenspezifische Identifikation analysiert werden. Falsch-positive Ergebnisse aufgrund von Kontamination spielen seit mehreren Jahren in den hochspezialisierten Laboratorien keine Rolle mehr. In einem kleinen Prozentsatz von Zervixabstrichen kann jedoch aufgrund von noch teilweise unbekanntem inhibierenden Faktoren keine DNA amplifiziert werden. Die HPV-PCR-Nachweismethoden wurden in mehreren Übersichtsarbeiten gegenübergestellt [93–95]. Die wichtigsten Daten der beiden am häufigsten verwandten Methoden sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Serologische Nachweisverfahren

Neben dem Nachweis von Virus DNA in Abstrichen und Gewebeproben wurden

Seren von Frauen mit und ohne HPV-assoziierten Erkrankungen untersucht: HPV-spezifische Antikörper konnten bei Tumorpatientinnen verglichen mit zytologisch negativen Frauen mit verschiedenen Nachweissystemen signifikant häufiger gegen die Proteine E4, E6 oder E7 von HPV 16 gezeigt werden [99–101, 155, 156]. Die Sensitivität und Spezifität der Antikörper Nachweismethoden läßt sich bei Verwendung viraler Proteine -synthetisiert in eukaryontischen Expressionssystemen oder in virus like particles (VLP) – verglichen mit synthetischen Peptiden erhöhen [102]. Für den Nachweis von Präkanzerosen oder von genitalen Infektionen mit High-risk-HPV-Typen stehen bisher keine HPV-Antikörperrnachweissysteme für den klinischen Einsatz zur Verfügung.

Screening

Im Rahmen des Screening bei Frauen mit vorausgegangenem negativem zytologischen Abstrich konnte durch den HPV-DNA-Nachweis durch Southern-blot bzw. PCR die Sensitivität der Zytologie zur Erkennung von CIN 2/3 erhöht werden.

In einer US-amerikanischen Studie waren HPV-DNA-Nachweis, zytologischer Abstrich und Zervikographie gleichwertig; eine Kombination von Zytologie und HPV-DNA-Nachweis konnte die Sensitivität zur Erkennung schwergradiger Präkanzerosen auf 96% steigern. Eine Kosten-Nutzen Analyse in den USA zeigte, daß die kombinierte Methode die Kosten für die Erkennung einer schwergradigen Präkanzerose pro Patientin von 17.000,- DM auf 10.000,- DM senken konnte [103].

In einer in England durchgeführten Studie wurden 44% der CIN 2/3 durch die zytologische Untersuchung übersehen und durch den HPV-DNA-Nachweis mittels der PCR erkannt. Weitere 22% der CIN 2/3 zeigten zytologisch nur geringgradige Veränderungen [104]. Der Nachweis der HPV-Typen 16, 18, 31 oder 33 konnte 25% der CIN 2/3 nicht erkennen. Die Autoren folgern, daß ein HPV-DNA-Test die konventionelle Zytologie gut ergänzen, aber nicht ersetzen könnte.

In einer weiteren Screeningstudie konnte die Zytologie nur 29% der CIN 2/3 nachweisen, die Zervikographie 45% und der HPV-DNA-Nachweis 50%. Eine Kombination von 2 oder 3 Methoden konnte die Sensitivität signifikant auf 60% steigern [105].

Triage

Im Rahmen der Triage von Patientinnen mit leichtgradigen zytologischen Veränderungen wurden mehrere Studien mit dem hybrid capture assay durchgeführt, wobei der Nachweis von High-risk-HPV-Typen bei Patientinnen mit auffälligem Zervixabstrich als Triageinstrument eingesetzt wurde. Cox et al. berichten über 217 Studentinnen, die in eine Kolposkopie Sprechstunde unter der zytologischen Diagnose von ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance) überwiesen wurden [106]. Diese Patientinnen wurden mittels „hybrid capture assay“ auf eine HPV-Infektion sowie zytologisch untersucht. Alle Patientinnen wurden kolposkopiert und falls notwendig biopsiert; 50 Fälle von CIN (35 CIN 1 und 15 CIN 2 oder 3) wurden diagnostiziert. Kein invasives Karzinom wurde in der Studie gefunden. Der „hybrid capture assay“ identifizierte 14 der 15 CIN 2/3 mit einer Sensitivität von 93%.

In den Studien von Farthing und Wright [107, 108] zeigte sich, daß der Nachweis von Infektionen mit High-risk-HPV-Typen für die Erkennung von schwergradigen Präkanzerosen eine Sensitivität von 70–80% besitzt, die der Sensitivität der zytologischen Untersuchung gleich kam. Wurden beide Methoden, Zytologie und HPV-DNA-Nachweis kombiniert, konnte die Sensitivität jeweils signifikant auf über 90% erhöht werden. In einer der Studien wurde eine Kosten-Nutzen-Analyse durchgeführt, wobei die Triage mittels „hybrid capture assay“ als HPV-DNA-Test keine eindeutige finanzielle Einsparung erbrachte [108].

In einer weiteren Studie waren von 150 Frauen mit CIN 2/3 oder invasivem Karzinom nur 98 für die neun untersuchten karzinogenen HPV-Typen mittels „hybrid capture assay“ positiv (Sensitivität 73%) [109]. Eine Kombination

von HPV-DNA-Test und Zytologie steigerte die Sensitivität auf 92%, führte jedoch zu einer Abnahme von Spezifität und positivem Vorhersagewert. Dabei zeigten von 9 invasiven Karzinomen nur 5 (55%) im HPV-DNA-Test eine positive Reaktion. Eine Kombination von Zytologie und „hybrid capture assay“ hätte alle invasiven Karzinome erkannt, aber 7 von 126 CIN 2/3 wären übersehen worden.

Prognose

Für die prognostische Einstufung von CIN 1 ist der Nachweis von High-risk-HPV von Bedeutung. Erste Studien hatten den Nachteil, daß Läsionen durch Biopsie entfernt wurden, zwischen Biopsie und chirurgischer Behandlung nur ein kurzes Zeitintervall lag und die Technik des HPV-DNA-Nachweises suboptimal war [110].

In einer kürzlich durchgeführten prospektiven Studie wurde gezeigt, daß bei einer mittleren Verlaufsbeobachtung von 16,5 Monaten die Entwicklung von CIN 2/3 bei 17 von 19 Patientinnen mit dem Nachweis von High-risk-HPV-Typen mittels PCR, in den beiden restlichen Fällen mit dem Nachweis von noch nicht klassifizierten HPV-Typen verbunden war [111].

In einer weiteren prospektiven Studie von Patientinnen mit CIN 1 konnte gezeigt werden, daß der positive Vorhersagewert des High-risk-HPV-Nachweises nur bei ca. 50% liegt [112], da die Hälfte aller High-risk-HPV-positiven CIN 1 spontan regredieren. Daher ist der Virusnachweis per se als klinischer Indikator nicht ausreichend. Virusmenge und/oder Viruspersistenz sowie weitere genetische intermediäre Marker sind potentielle Kandidaten für die Einstufung des biologischen Potentials von leichtgradigen zervikalen intraepithelialen Neoplasien.

Vakzinierung

Die Infektion mit HPV ruft wie andere virale Infektionen sowohl humorale als auch zelluläre Immunreaktionen hervor. Antikörper gegen frühe und späte HPV Proteine wurden bei Patienten mit HPV-Infektionen und HPV-assoziierten Neo-

plasien und auch bei Kontrollpersonen nachgewiesen [113]. Die Antikörper scheinen zwar den Verlauf der Infektionen nicht zu beeinflussen, einige, wie z. B. Antikörper gegen HPV-16-E7, korrelieren aber mit HPV-assoziierten malignen Erkrankungen [114].

In Tiermodellen [bovine papillomavirus (BPV); cottontail rabbit papillomavirus (CRPV); canine oral papillomavirus (COPV)] werden entweder nach natürlicher Infektion oder nach Immunisierung mit rekombinanten Virus-kapsidproteinen neutralisierende Antikörper produziert [115–117]. Diese Antikörper schützen bei späterer Virusinokulation und verhindern die Etablierung einer Virusinfektion. Neutralisierende Antikörper erkennen meistens konformationsabhängige Epitope und sind für individuelle Papillomavirustypen spezifisch.

Antikörper gegen virale Strukturproteine wurden auch in Seren von HPV-positiven Patienten nachgewiesen [102, 118–120]; bisher konnte aber keine Korrelation zwischen dem Antikörperstatus und der Regression oder dem Wiederauftreten einer HPV-induzierten Läsion beobachtet werden.

Kürzlich gelang die Synthese virusähnlicher Partikel (VLP) nach Expression der Virusstrukturproteine in vitro [102]. Diese VLP erwiesen sich als besonders geeignet für die prophylaktische Vakzinierung. Kaninchen, die mit CRPV-VLP geimpft wurden, produzieren neutralisierende Antikörper und sind gegen eine Infektion mit CRPV geschützt [121, 122]; COPV-VLP wirken nach systemischer Verabreichung prophylaktisch gegen die Infektion von Hunden mit COPV und die Entwicklung von Schleimhautpapillomen [123]. Zukünftige Studien am Menschen werden zeigen, ob durch die Immunisierung mit VLP auch HPV-Infektionen verhindert werden können.

Die spontane Regression papillomavirusinduzierter Läsionen ist bei Kaninchen [124], Rindern [125] und beim Menschen [126] immer mit einer starken Infiltration der betroffenen Tumore durch CD4- und/oder CD8-positive T-Lymphozyten verbunden. Die Regression von Papillomen erfolgte bei Kanin-

chen nach Vakzinierung mit CRPV E1 und E2 [127] und bei Rindern nach Vakzinierung mit BPV 4 E7 [128]. In den Rindern wurden E7-spezifische Antikörper [129] und T-Zellen [130] nachgewiesen.

Das gehäufte Auftreten HPV-assoziiertter prä-maligner und maligner Läsionen bei Immunsupprimierten [131] weist außerdem darauf hin, daß die zelluläre Immunantwort ausschlaggebend für die In-vivo-Kontrolle solcher Erkrankungen ist. Die Rolle von T-Zellen bei der Abwehr HPV-transformierter Zellen wurde in verschiedenen tierexperimentellen Systemen untersucht.

Die Immunisierung mit den frühen HPV-16-Proteinen E6 und E7 induziert spezifische zytotoxische T-Zellen (CTL) [132–134, 157, 158] und eine Hypersensitivität vom verzögerten Typ [135, 136]. Dabei konnte die Abstoßung transplantiertter Zellen, die die Proteine E6 oder E7 exprimieren, bewirkt bzw. das Wachstum von HPV-positiven Tumoren verhindert werden. Periphere Blutlymphozyten (PBL) von asymptomatischen Spendern [137–139] und Patientinnen mit HPV-assoziierten Erkrankungen [140, 141] lassen sich in vitro durch HPV-Proteine zur Proliferation anregen.

Kürzlich wurden aus PBL von HLA-A2-positiven, gesunden Spendern in vitro zytotoxische T-Zellen gegen HPV 11 und 16 E7 gewonnen. Dabei erfolgte die Stimulation mit autologen Zellen, die entweder mit rekombinanten Vakzinia Viren infiziert oder mit synthetischen Peptiden inkubiert worden waren [142–144]. In HPV-16-positiven CIN- und Zervixkarzinompatientinnen ließen sich aber nur selten (4 von 22) peptidspezifische Gedächtnis-CTL nachweisen [145].

Die Eliminierung virusinfizierter Zellen durch CTL ist von der MHC-Klasse I restringierten Präsentation viraler Peptide auf den Zielzellen abhängig. Für den Mangel einer effektiven Anti-HPV-Immunantwort in Patienten könnte daher die Herunterregulation von MHC-Klasse-I-Molekülen auf HPV-infizierten Zellen verantwortlich sein, die von verschiedenen Autoren vor allem für Karzinome, aber auch für Neoplasien der Cervix uteri beschrieben wurde [146].

Allerdings genügen bereits sehr wenige MHC/Peptid-Komplexe für die Erkennung einer Zielzelle durch spezifische CTL.

Neben der Interaktion zwischen diesen Komplexen und dem T-Zell-Rezeptor sind noch weitere Antigen-unabhängige Signale für die primäre Aktivierung ruhender T-Lymphozyten notwendig. Die Abwesenheit einer CD28/B7-Interaktion führt z. B. zu klonaler Anergie bestimmter T-Zellen durch inadäquate Antigenpräsentation [147].

Keratinocyten, die ausschließlich von HPV infiziert werden, exprimieren das B7-Antigen normalerweise nicht. Folglich könnte für die limitierte Stimulation der zellulären Immunantwort gegen HPV bzw. HPV-infizierte Tumore auch inadäquate Präsentation der HPV-Antigene durch Keratinocyten verantwortlich sein. Dieses Problem könnte durch Vakzinierung überwunden werden.

Daten über erste Erfahrungen mit einer therapeutischen Vakzine liegen aus England vor [148]: rekombinantes Vakzinia-Virus (TA-HPV), das die E6- und E7-Proteine von HPV 16 und 18 exprimiert, wurde in einer Phase-I/II-Studie 8 HPV-16-positiven Patientinnen mit Zervixkarzinom Stadium IB bis IVB subkutan verabreicht [148, 149]. Alle Patientinnen entwickelten Anti-Vakzinia-Antikörper, bei einer Patientin war ein Anstieg des Antikörpertiters gegen HPV 16 E7 zu beobachten und bei 3 Patientinnen ließen sich anti-HPV-18-E7-Antikörper nachweisen. Eine von 3 untersuchten Patientinnen zeigte außerdem eine HPV-18-spezifische CTL-Reaktivität. Dies ist auch die einzige Patientin, die 1 Jahr nach Vakzinierung in kompletter Remission blieb.

In einer anderen klinischen Studie wurden HLA-A*0201-restringierte HPV-16-E7-Peptide [145] in Kombination mit einem HLA-DR-T-Helfer-Epitop und Adjuvans bei 15 HLA-A*0201-positiven Patientinnen mit fortgeschrittenem Zervixkarzinom in unterschiedlicher Dosierung als therapeutische Vakzine eingesetzt (C.T.H. Melief, persönliche Mitteilung). Die Impfung mit Peptiden, die CTL-Epitopen entsprechen, war im Mausmodell sehr erfolgreich und daher

vielversprechend [150]. Bei den Patientinnen konnte jedoch nur T-Zell-Proliferation gegen das T-Helfer-Epitop festgestellt werden, die Induktion von E7-spezifischen Gedächtnis-CTL fand nicht statt.

In einer weiteren Phase-I-Studie wurden 26 Probanden mit einem in *Escherichia coli* exprimierten HPV-6-L2E7-Fusionsprotein in Kombination mit Adjuvans geimpft. Alle Probanden reagierten mit Antikörperbildung und T-Zell-Proliferation. In der darauf folgenden Phase-II-Studie konnten eindeutige Hinweise auf die therapeutische Wirkung der Vakzine gewonnen werden. Von 27 Patienten mit Genitalwarzen, denen die Vakzine nach Behandlung verabreicht wurde, waren nach einer Beobachtungszeit von 4 Monaten alle krankheitsfrei; alle Patienten entwickelten eine Antikörperantwort und zeigten 19 von 25 T-Zell-Aktivierung im Proliferationsstest [159].

In zukünftigen Studien sollen VLP, die aus späten oder einer Kombination von frühen und späten viralen Genprodukten bestehen, zur prophylaktischen oder therapeutischen Impfung eingesetzt werden.

Fazit für die Praxis

Epidemiologische Studien zum Zervixkarzinom haben eine lange Tradition, und vor mehr als 150 Jahren [151] wurde aufgrund epidemiologischer Daten das Zervixkarzinom als sexuell übertragene Erkrankung definiert. Inzwischen ist das infektiöse Agens in Form der humanen Papillomviren identifiziert worden. Die Bedeutung aller bisher identifizierten Risikofaktoren wie hohe Anzahl an Sexualpartnern, junges Alter, frühe Kohabitarche, Zigarettenrauchen, niedriger sozioökonomischer Status, Immunsuppression, bestimmter HLA Status, Mangel an Antioxidantien und Folsäure, andere genitale Infektionen, Langzeitanwendung oraler Kontrazeptiva und hohe Parität muß in ihrer Assoziation mit HPV untersucht werden. Während eine hohe Anzahl an Sexualpartnern wahrscheinlich ausschließlich das Risiko für HPV-Infektion erhöht, scheinen hohe Parität und Lang-

zeitanwendung oraler Kontrazeptiva die Transformierung von HPV-infiziertem Epithel zu begünstigen. Molekularbiologische Daten zeigen, daß die kontinuierliche Expression der viralen Onkogene E6 und E7 für die Transformation des HPV-infizierten Epithels entscheidend ist. Es bleibt offen, ob neben viralen Genen bestimmte zelluläre Gene in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen. Im Rahmen des Zervixkarzinomscreenings kann der Nachweis von high risk HPV-Typen die Empfindlichkeit der zytologischen Vorsorge verbessern.

Im Moment laufen erste Impfstudien mit therapeutischen Impfstoffen und Studien zur prophylaktischen Vakzinierung sind in Planung. Es bestehen berechnete Hoffnungen, daß diese Tumorerkrankung durch Vakzinierung vermieden werden kann.

Literatur

- Muir C, Waterhouse J, Mack T, Powell J, Whelan S (1987) (eds) **Cancer incidence in five continents**. IARC, Lyon, p 5
- Kainz C, Tempfer C, Gitsch G, Heinzl H, Reinthaller A, Breitenecker G (1995) **Influence of age and human papillomavirus-infection on reliability of cervical cytopathology**. Arch Gynecol Obstet 256: 23–28
- Schwartz SM, Weiss NS (1986) **Increased incidence of adenocarcinoma of the cervix in young women in the United States**. Am J Epidemiol 124: 1045–1047
- IARC Monograph (1995) **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human papillomaviruses**. IARC, Lyon, France, p 64
- Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW et al. (1992) **A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection**. N Engl J Med 327: 1272–1278
- Melkert PW, Hopman E, van den Brule AJ et al. (1993) **Prevalence of HPV in cytologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent**. Int J Cancer 53: 919–923
- Brinton LA, Hamman RF, Huggins GR, Lehman HF, Levine RS, Mallin K, Fraumeni JF (1987) **Sexual and reproductive risk factors for invasive squamous cell cervical cancer**. J Natl Cancer Inst 79: 23–30
- Brinton LA (1992) **Epidemiology of cervical cancer – overview**. IARC Sci Publ, Lyon, pp 3–23

9. Eluf Neto J, Booth M, Munoz N, Bosch FX, Meijer CJ, Walboomers JM (1994) **Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil.** *BR J Cancer* 69:114-119
10. Bosch FX, Munoz N, de Sanjose S, Izarzugaza I, Gili M, Viladin P, Tormo MJ, Moreo P, Asunce N, Gonzales LC, et al (1992) **Risk factors for cervical cancer in Colombia and Spain.** *Int J Cancer* 52:750-758
11. Herrero R, Brinton LA, Hartge P et al. (1993) **Determinants of the geographic variation of invasive cervical cancer in Costa Rica.** *Bull Pan Am Health Organ* 27: 15-25
12. Vonka V, Kanka J, Hirsch I et al. (1984) **Prospective study on the relationship between cervical neoplasia and herpes simplex type-2 virus. II. Herpes simplex type-2 antibody presence in sera taken at enrollment.** *Int J Cancer* 33:61-66
13. Choi NW, Shettigara PT, Abu-Zeid HAH, Nelson NA (1977) **Herpesvirus infection and cervical anaplasia - a seroepidemiological study.** *Int J Cancer* 19: 167-171
14. de Sanjose S, Munoz N, Bosch FX et al. (1994) **Sexually transmitted agents and cervical neoplasia in Colombia and Spain.** *Int J Cancer* 56: 358-363
15. Schachter J, Hill EC, King EB, Heilbron DC, Ray RM, Margolis AJ, Greenwood SA (1982) **Chlamydia trachomatis and cervical neoplasia.** *JAMA* 248: 2134-2138
16. Allerding TJ, Jordan SW, Boardman RE (1985) **Association of human papillomavirus and Chlamydia infections with incidence cervical neoplasia.** *Acta Cytol* 29: 653-660
17. Brinton LA, Schairer C, Haenszel W, Stolley P, Lehman HF, Levine R, Savitz DA (1986) **Cigarette smoking and invasive cervical cancer.** *JAMA* 255: 3265-3269
18. Celentano DD, Klassen AC, Weisman CS, Ronsenshein NB (1987) **The role of contraceptive use in cervical cancer: The Maryland Cervical Cancer Case-Control Study.** *Br Med J* 295: 1446-1447
19. Irwin KL, Rosero Bixby L et al. (1988) **Oral contraceptives and cervical cancer risk in Costa Rica. Detection bias or causal association?** *JAMA* 259: 59-64
20. Ursin G, Peters RK, Henderson BE (1994) **Oral contraceptive use and adenocarcinoma of cervix.** *Lancet* 344: 1379-1390
21. Bosch FX, Munoz N, Shah KV, Meheus A (1992) **Second International Workshop on the Epidemiology of Cervical Cancer and Human Papillomaviruses.** *Int J Cancer* 52: 171-173
22. Schneider A, Shah K (1989) **The role of vitamins in the etiology of cervical neoplasia: an epidemiological review.** *Arch Gynecol Obstet* 246: 1-13
23. Butterworth CE Jr., Hatch KD, Macaluso M et al. (1992) **Folate deficiency and cervical dysplasia.** *JAMA* 267: 528-533
24. Bender S (1976) **Carcinoma in situ of cervix and sisters.** *Br Med J* 502
25. Brinton LA, Tashima KT, Lehman HF (1987) **Epidemiology of cervical cancer by cell type.** *Cancer Res* 47: 1706-1711
26. Wank R, Thomssen C (1991) **High risk of squamous cell carcinoma of the cervix for women with HLA-DQw3 [see comments].** *Nature* 352: 723-725
27. Apple RJ, Erlich HA, Klitz W, Manos MM, Becker TM, Wheeler CM (1994) **HLA DR-DQ associations with cervical carcinoma show papillomavirus-type specificity.** *Nat Genet* 6: 157-162
28. Schneider V, Kay S, Lee HM (1983) **Immuno-suppression as a high-risk factor in the development of condyloma acuminatum and squamous neoplasia of the cervix.** *Acta Cytol* 27: 220-224
29. Ho GY, Burk RD, Fleming I, Klein RS (1994) **Risk of genital human papillomavirus infection in women with human immunodeficiency virus-induced immunosuppression.** *Int J Cancer* 56: 788-792
30. Koutsky LA, Galloway DA, Holmes KK (1988) **Epidemiology of genital human papillomavirus infection.** *Epidemiol Rev* 10: 122-163
31. Barrett TJ, Silbar JD, McGinley JP (1954) **Genital warts - a venereal disease.** *JAMA* 154: 333-334
32. Bauer HM, Ting Y, Greer CE et al. (1991) **Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method [see comments].** *JAMA* 265: 472-477
33. zur Hausen H (1991) **Viruses in human cancers.** *Science* 254: 1167-1173
34. Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE et al. (1994) **Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women.** *J Infect Dis* 169: 235-240
35. Richart RM (1973) **Cervical intraepithelial neoplasia.** *Pathol Ann* 8: 301-328
36. Fu YS, Reagan JW, Fu AS, Janiga KE (1982) **Adenocarcinoma and mixed carcinoma of the uterine cervix. II. Prognostic value of nuclear DNA analysis.** *Cancer* 49: 2571-2577
37. Boecking A, Hilgarth M, Auffermann W, Hack-Werdier C, Fischer-Becker D, von Kalkreuth G (1986) **DNA-cytometric diagnosis of prospective malignancy in borderline lesions of the uterine cervix.** *Acta Cytol* 6: 608-615
38. Sprenger E, Hilgarth M, Schaden M (1974) **A follow up of doubtful findings in cervical cytology by Feulgen DNA cytophotometry.** *Beitr Pathol* 152: 58-65
39. Boecking A, Adler CP, Common HH, Hilgarth M, Granzen B, Auffermann W (1984) **Algorithm for a DNA-cytophotometric diagnosis and grading of malignancy.** *Anal Quant Cytol* 6: 1-8
40. Duerst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H (1983) **A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions.** *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 3812-3815
41. Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurlen W, zur Hausen H (1984) **A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer.** *EMBO J* 3: 1151-1157
42. de Villiers EM (1994) **Human pathogenic papillomavirus types: an update.** *Curr Top Microbiol Immunol* 186: 1-12
43. Duerst M, Kleinheinz A, Hotz M, Gissman L (1985) **The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant genital tumours.** *J Gen Virol* 66: 1515-1522
44. Cullen AP, Reid R, Campion M, Loerincz AT (1991) **Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasia.** *J Virol* 65: 606-612
45. Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremmler A, zur Hausen H (1985) **Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells.** *Nature* 314: 111-114
46. von Knebel Doeberitz M, Oltersdorf T, Schwarz E, Gissmann L (1988) **Correlation of modified human papilloma virus early gene expression with altered growth properties in C4-1 cervical carcinoma cells.** *Cancer Res* 48: 3780-3786
47. von Knebel Doeberitz M, Rittmuller C, zur Hausen H, Duerst M (1992) **Inhibition of tumorigenicity of cervical cancer cells in nude mice by HPV E6-E7 anti-sense RNA [letter].** *Int J Cancer* 51: 831-834
48. Duerst M, Dzarlieva Petrussevska RT, Boukamp P, Fusenig NE, Gissmann L (1987) **Molecular and cytogenetic analysis of immortalized human primary keratinocytes obtained after transfection with human papillomavirus type 16 DNA.** *Oncogene* 1: 251-256
49. Pirijs L, Yasumoto S, Feller M, Doniger J, DiPaolo JA (1987) **Transformation of human fibroblasts and keratinocytes with human papillomavirus type 16 DNA.** *J Virol* 61: 1061-1066
50. Muenger K, Phelps WC, Bubb V, Howley PM, Schlegel R (1989) **The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes.** *J Virol* 63: 4417-4421
51. Hawley Nelson P, Vousden KH, Hubbert NL, Lowy DR, Schiller JT (1989) **HPV16 E6 and E7 proteins cooperate to immortalize human foreskin keratinocytes.** *EMBO J* 8: 3905-3910
52. Yasumoto S, Burkhardt AL, Doniger J, DiPaolo JA (1986) **Human papillomavirus type 16 DNA-induced malignant transformation of NIH 3T3 cells.** *J Virol* 57: 572-577

53. Bedell MA, Jones KH, Laimins LA (1987) **The E6-E7 region of human papillomavirus type 18 is sufficient for transformation of NIH 3T3 and rat-1 cells.** *J Virol* 61:3635–3640
54. Duerst M, Glitz D, Schneider A, zur Hausen H (1992) **Human papillomavirus type 16 (HPV 16) gene expression and DNA replication in cervical neoplasia: analysis by in situ hybridization.** *Virology* 189:132–140
55. Sherman L, Alloul N, Golan I, Duerst M, Baram A (1992) **Expression and splicing patterns of human papillomavirus type-16 mRNAs in pre-cancerous lesions and carcinomas of the cervix, in human keratinocytes immortalized by HPV 16, and in cell lines established from cervical cancers.** *Int J Cancer* 50:356–364
56. Hemström Nilsson C, Bakos E, Petry K, Schneider A, Duerst M (1996) **Promoter usage in the E7 ORF of HPV 16 correlates with epithelial differentiation and is largely confined to low grade genital neoplasia.** *Int J Cancer* 65:6–12
57. zur Hausen H (1994) **Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types.** *Curr Top Microbiol Immunol* 186:131–156
58. Dong XP, Stubenrauch F, Beyer Finkler E, Pfister H (1994) **Prevalence of deletions of YY1-binding sites in episomal HPV 16 DNA from cervical cancers.** *Int J Cancer* 58:803–808
59. Bauknecht T, Angel P, Royer HD, zur Hausen H (1992) **Identification of a negative regulatory domain in the human papillomavirus type 18 promoter: interaction with the transcriptional repressor YY1.** *EMBO J* 11:4607–4617
60. Levine AJ (1993) **The tumor suppressor genes.** *Annu Rev Biochem* 62:623–651
61. Fritsche M, Haessler C, Brandner G (1993) **Induction of nuclear accumulation of the tumor suppressor protein p53 by DNA-damaging agents.** *Oncogene* 8:307–318
62. Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM (1993) **The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53.** *Cell* 75:495–505
63. Mietz JA, Unger T, Huibregtse JM, Howley PM (1992) **The transcriptional transactivation function of wild-type p53 is inhibited by SV40 large T-antigen and by HPV-16 E6 oncoprotein.** *EMBO J* 11:5013–5020
64. White AE, Livanos EM, Tlsty TD (1994) **Differential disruption of genomic integrity and cell cycle regulation in normal human fibroblasts by the HPV oncoproteins.** *Genes Dev* 8:666–677
65. Pagano M, Duerst M, Joswig S, Draetta G, Janzen Durr P (1992) **Binding of the human E2F transcription factor to the retinoblastoma protein but not to cyclin A is abolished in HPV-16-immortalized cells.** *Oncogene* 7:1681–1686
66. Scheffner M, Romanczuk H, Muenger K, Huibregtse JM, Mietz JA, Howley PM (1994) **Functions of human papillomavirus proteins.** *Curr Top Microbiol Immunol* 186:83–99
67. Hoppe-Seyler F, Butz K (1994) **Tumor suppressor genes in molecular medicine.** *Clin Investig* 72:619–630
68. Miyashita T, Reed JC (1995) **Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene.** *Cell* 80:293–299
69. Pim D, Storey A, Thomas M, Massimi P, Banks L (1994) **Mutational analysis of HPV-18 E6 identifies domains required for p53 degradation in vitro, abolition of p53 transactivation in vivo and immortalisation of primary BMK cells.** *Oncogene* 9:1869–1876
70. Chen JJ, Reid CE, Band V, Androphy EJ (1995) **Interaction of papillomavirus E6 oncoproteins with a putative calcium-binding protein.** *Science* 269:529–531
71. Jewers RJ, Hildebrandt P, Ludlow JW, Kell B, McCance DJ (1992) **Regions of human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein required for immortalization of human keratinocytes.** *J Virol* 66:1329–1335
72. Hurlin PJ, Kaur P, Smith PP, Perez-Reyes N, Blanton RA, McDougall JK (1991) **Progression of human papillomavirus type 18-immortalized human keratinocytes to a malignant phenotype.** *Proc Natl Acad Sci USA* 88:570–574
73. Garrett LR, Perez Reyes N, Smith PP, McDougall JK (1993) **Interaction of HPV-18 and nitrosomethylurea in the induction of squamous cell carcinoma.** *Carcinogenesis* 14:329–332
74. Duerst M, Seagon S, Wanschura S, zur Hausen H, Bullerdiek J (1995) **Malignant progression of an HPV 16-immortalized human keratinocyte cell line (HPK1A) in vitro.** *Cancer Genet Cytogenet* 85:105–112
75. Klingelhutz AJ, Smith PP, Garrett LR, McDougall JK (1993) **Alteration of the DCC tumor-suppressor gene in tumorigenic HPV-18 immortalized human keratinocytes transformed by nitrosomethylurea.** *Oncogene* 8:95–99
76. Smith PP, Bryant EM, Kaur P, McDougall JK (1989) **Cytogenetic analysis of eight human papillomavirus immortalized human keratinocyte cell lines.** *Int J Cancer* 44:1124–1131
77. Crook T, Greenfield I, Howard J, Stanley M (1990) **Alterations in growth properties of human papilloma virus type 16 immortalised human cervical keratinocyte cell line correlate with amplification and overexpression of c-myc oncogene.** *Oncogene* 5:619–622
78. Pei XF, Gorman PA, Watt FM (1991) **Two strains of human keratinocytes transfected with HPV16 DNA: comparison with the normal parental cells.** *Carcinogenesis* 12:277–284
79. Popescu NC, DiPaolo JA (1990) **Integration of human papillomavirus 16 DNA and genomic rearrangements in immortalized human keratinocyte lines.** *Cancer Res* 50:1316–1323
80. Atkin NB (1986) **Chromosome 1 aberrations in cancer.** *Cancer Genet Cytogenet* 21:279–285
81. Wong YF, Wong FWS, Cheung TH et al. (1993) **Frequent loss of heterozygosity on the short arm of chromosome 1 in cervical carcinoma.** *Med Sci Res* 24:891–892
82. Segers P, Haesen S, Amy JJ, De Sutter P, Van Dam P, Kirsch Volders M (1994) **Detection of premalignant stages in cervical smears with a biotinylated probe for chromosome 1.** *Cancer Genet Cytogenet* 75:120–129
83. Yokota J, Tsukada Y, Nakajima T et al. (1989) **Loss of heterozygosity on the short arm of chromosome 3 in carcinoma of the uterine cervix.** *Cancer Res* 49:3598–3601
84. Chung GT, Huang DP, Lo KW, Chan MK, Wong FW (1992) **Genetic lesion in the carcinogenesis of cervical cancer.** *Anticancer Res* 12:1485–1490
85. Karlsen F, Rabbitts PH, Sundresan V, Hagmar B (1994) **PCR-RFLP studies on chromosome 3p in formaldehyde-fixed, paraffin-embedded cervical cancer tissues.** *Int J Cancer* 58:787–792
86. Hampton GM, Penny LA, Baergen RN et al. (1994) **Loss of heterozygosity in cervical carcinoma: subchromosomal localization of a putative tumor-suppressor gene to chromosome 11q22-q24.** *Proc Natl Acad Sci USA* 91:6953–6957
87. Jones MH, Koi S, Fujimoto I, Hasumi K, Kato K, Nakamura Y (1994) **Allelotype of uterine cancer by analysis of RFLP and microsatellite polymorphisms: frequent loss of heterozygosity on chromosome arms 3q, 9q, 10q, and 17q.** *Genes Chromosom Cancer* 9:119–123
88. Mitra AB, Murty VV, Li RG, Pratap M, Luthra UK, Chaganti RS (1994) **Allelotype analysis of cervical carcinoma.** *Cancer Res* 54:4481–4487
89. Sreekantaiah C, De Braekeleer M, Haas O (1991) **Cytogenetic findings in cervical carcinoma. A statistical approach.** *Cancer Genet Cytogenet* 53:75–81
90. Bryans RE, Boyles DA, Fidler HK (1964) **The influence of a cytological screening program upon the incidence of invasive squamous cell carcinoma of the cervix in British Columbia.** *Am J Obstet Gynecol* 88:898

91. Schneider A, Schlunck G (1989) **Detection and typing of genital papillomaviruses: nucleic acid hybridization and type-specific antigen detection.** In: Gross G, Jablonska S, Pfister H, Stegner HE (eds) *Genital papillomavirus infections: Advances in modern diagnosis and therapy.* Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 69–86
92. Schiffman MH, Kiviat NB, Burk RD et al. (1995) **Accuracy and interlaboratory reliability of human papillomavirus DNA testing by hybrid capture.** *J Clin Microbiol* 33: 545–550
93. Gravitt PE, Manos MM (1992) **Polymerase chain reaction-based methods for the detection of human papillomavirus DNA.** *IARC Sci Publ, Lyon*, pp 121–133
94. van den Brule AJ, Hemrika DJ, Walboomers JM, Raaphorst P, van Amstel N, Bleker OP, Meijer CJ (1993) **Detection of Chlamydia trachomatis in semen of artificial insemination donors by the polymerase chain reaction.** *Fertil Steril* 59: 1098–1104
95. Walboomers JMM, de Roda Husman AM, van den Brule AJC (1994) **Detection of genital human papillomavirus infections: critical review of methods and prevalence studies in relation to cervical cancer.** In: Stern P, Stanley MA (eds) *Human papillomaviruses and cervical cancer.* Oxford University Press, Oxford, pp 41–71
96. de Roda Husman AM, Walboomers JMM, van den Brule AJC, Meijer CLJM, Snijders PJF (1995) **The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR.** *J Gen Virol* 76: 1057–1062
97. Terry G, Ho L, Szarewski A, Cuzick J (1994) **Semiautomated detection of human papillomavirus DNA of high and low oncogenic potential in cervical smears.** *Clin Chem* 40: 1890–1892
98. Jacobs MV, de Roda Husman AM, van den Brule AJ, Snijders PJ, Meijer CJ, Walboomers JM (1995) **Group-specific differentiation between high- and low-risk human papillomavirus genotypes by general primer-mediated PCR and two cocktails of oligonucleotide probes.** *J Clin Microbiol* 33: 901–905
99. Jochmus-Kudielka I, Schneider A, Braun R et al. (1989) **Antibodies against the human papillomavirus type 16 early proteins in human sera: correlation of anti-E7 reactivity with cervical cancer.** *J Natl Cancer Inst* 81: 1698–1704
100. Mueller M, Viscidi RP, Sun Y, Guerrero E et al. (1992) **Antibodies to HPV-16 E6 and E7 proteins as markers for HPV-16-associated invasive cervical cancer.** *Virology* 187: 508–514
101. Nindl I, Benitez-Bribiesca L, Berumen J et al. (1994) **Antibodies against linear and conformational epitopes of the human papillomavirus (HPV) type 16 E6 and E7 oncoproteins in sera of cervical cancer patients.** *Arch Virol* 137: 341–353
102. Kirnbauer R, Hubbert NL, Wheeler CM, Becker TM, Lowy DR, Schiller JT (1994) **A virus-like particle enzyme-linked immunosorbent assay detects serum antibodies in a majority of women infected with human papillomavirus type 16 [see comments].** *J Natl Cancer Inst* 86: 494–499
103. Reid R, Loerincz AT (1995) **Human papillomavirus tests.** *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 9: 65–103
104. Cuzick J, Szarewski A, Terry G et al. (1995) **Human papillomavirus testing in primary cervical screening.** *Lancet* 345: 1533–1536
105. Schneider A, Zahm DM, Kirchmayr R, Schneider V (1996) **Screening for cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: validity of cytology study, cervicography and human papillomavirus detection.** *Am J Obstet Gynecol* 174: 1534–1541
106. Cox JT, Loerincz AT, Schiffman MH, Sherman ME, Cullen A, Kurman RJ (1995) **Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance.** *Am J Obstet Gynecol* 172: 946–954
107. Farthing A, Masterson P, Mason WP, Vousden KH (1994) **Human papillomavirus detection by hybrid capture and its possible clinical use.** *J Clin Pathol* 47: 649–652
108. Wright TC, Sun XW, Koulos J (1995) **Comparison of management algorithms for the evaluation of women with low-grade cytologic abnormalities.** *Obstet Gynecol* 85: 202–210
109. Hatch KD, Schneider A, Abdel Nour MW (1995) **An evaluation of human papillomavirus testing for intermediate- and high-risk types as triage before colposcopy.** *Am J Obstet Gynecol* 172: 1150–1157
110. Kataja V, Syrjanen S, Mantyjarvi R, Yliskoski M, Saarikoski S, Syrjanen K (1992) **Prognostic factors in cervical human papillomavirus infections.** *Sex Transm Dis* 19: 154–160
111. Remmink AJ, Walboomers JM, Helmerhorst TJ et al. (1995) **The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months.** *Int J Cancer* 61: 306–311
112. Herrington CS, Evans MF, Hallam NF, Charnock FM, Gray W, McGee JO (1995) **Human papillomavirus status in the prediction of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in patients with persistent low-grade cervical cytological abnormalities.** *Br J Cancer* 71: 206–209
113. Galloway DA, Jenison SA (1990) **Characterization of the humoral immune response to genital papillomaviruses.** *Mol Biol Med* 7: 59–72
114. Jochmus I, Gissmann L (1997) **Immunological aspects of E6 and E7: tools for diagnosis and therapeutic intervention.** In: Tommasino H (ed) *The E6 and E7 oncoproteins of human papillomaviruses.* Molecular Biology Intelligence Unit, Landes Bioscience, pp 137–165
115. Jarrett WF, Smith KT, O'Neil BW et al. (1991) **Studies on vaccination against papillomaviruses: prophylactic and therapeutic vaccination with recombinant structural proteins.** *Virology* 184: 33–42
116. Lin YL, Borenstein LA, Selvakumar R, Ahmed R, Wettstein FO (1992) **Effective vaccination against papilloma development by immunization with L1 or L2 structural protein of cottontail rabbit papillomavirus.** *Virology* 187: 612–619
117. Bell JA, Sundberg JP, Ghim SJ, Newsome J, Jensen AB, Schlegel R (1994) **A formalin-inactivated vaccine protects against mucosal papillomavirus infection: a canine model.** *Pathobiology* 62: 194–198
118. Bonnez W, Kashima HK, Leventhal B, Mounts P, Rose RC, Reichman RC, Shah KV (1992) **Antibody response to human papillomavirus (HPV) type 11 in children with juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis (RRP).** *Virology* 188: 384–387
119. Christensen ND, Kreider JW, Shah KV, Rando RF (1992) **Detection of human serum antibodies that neutralize infectious human papillomavirus type 11 virions.** *J Gen Virol* 73: 1261–1267
120. Nonnenmacher B, Hubbert NL, Kirnbauer R et al. (1995) **Serologic response to human papillomavirus type 16 (HPV-16) virus-like particles in HPV-16 DNA-positive invasive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia grade III patients and controls from Colombia and Spain.** *J Infect Dis* 172: 19–24
121. Breitburd F, Kirnbauer R, Hubbert NL et al. (1995) **Immunization with viruslike particles from cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) can protect against experimental CRPV infection.** *J Virol* 69: 3959–3963
122. Jansen KU, Rosolowsky M, Schultz LD et al. (1995) **Vaccination with yeast-expressed cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) virus-like particles protects rabbits from CRPV-induced papilloma formation.** *Vaccine* 13: 1509–1514
123. Suzich JA, Ghim SJ, Palmer Hill FJ et al. (1995) **Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas.** *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 11553–11557
124. Selvakumar R, Schmitt A, Iftner T, Ahmed R, Wettstein FO (1997) **Regression of papillomas induced by cottontail rabbit papillomavirus is associated with infiltration of CD8+ cells and persistence of viral DNA after regression.** *J Virol* 71: 5540–5548
125. Knowles G, O'Neil BW, Campo MS (1996) **Phenotypical characterization of lymphocytes infiltrating regressing papillomas.** *J Virol* 70: 8451–8458
126. Coleman N, Birley HD, Renton AM et al. (1994) **Immunological events in regressing genital warts.** *Am J Clin Pathol* 102: 768

127. Selvakumar R, Borenstein LA, Lin YL, Ahmed R, Wettstein F (1995) **Immunization with non-structural proteins E1 and E2 of cottontail rabbit papillomavirus stimulates regression of virus induced papillomas.** *J Virol* 69:602–605
128. Campo MS, Grindlay GJ, O'Neil BW, Chandrachud LM, McGarvie GM, Jarrett WF (1993) **Prophylactic and therapeutic vaccination against a mucosal papillomavirus [published erratum appears in *J Gen Virol* 1993 Sep; 74(Pt 9):2038].** *J Gen Virol* 74:945–953
129. Chandrachud LM, O'Neil BW, Jarrett WF, Grindlay GJ, McGarvie GM, Campo MS (1994) **Humoral immune response to the E7 protein of bovine papillomavirus type 4 and identification of B-cell epitopes.** *Virology* 200:98–104
130. McGarvie GM, Grindlay GJ, Chandrachud LM, O'Neil BW, Jarrett WF, Campo MS (1995) **T cell responses to BPV-4 E7 during infection and mapping of T cell epitopes.** *Virology* 206:504–510
131. Benton C, Shahidullah H, Hunter JAA (1992) **Human papillomavirus in the immunosuppressed.** *Papillomavirus Report* 3:23–26
132. Chen LP, Thomas EK, Hu SL, Hellstrom I, Hellstrom KE (1991) **Human papillomavirus type 16 nucleoprotein E7 is a tumor rejection antigen.** *Proc Natl Acad Sci USA* 88:110–114
133. Chen L, Mizuno MT, Singhal MC, Hu SL, Gallo-way DA, Hellstrom I, Hellstrom KE (1992) **Induction of cytotoxic T lymphocytes specific for a syngeneic tumor expressing the E6 oncoprotein of human papillomavirus type 16.** *J Immunol* 148:2617–2621
134. Feltkamp MC, Vreugdenhil GR, Vierboom MP et al. (1993) **Cytotoxic T lymphocytes raised against a subdominant epitope offered as a synthetic peptide eradicate human papillomavirus type 16-induced tumors.** *Eur J Immunol* 25:2638–2642
135. McLean CS, Sterling JS, Mowat J, Nash AA, Stanley MA (1993) **Delayed-type hypersensitivity response to the human papillomavirus type 16 E7 protein in a mouse model.** *J Gen Virol* 74:239–245
136. Chambers MA, Stacey SN, Arrand JR, Stanley MA (1994) **Delayed-type hypersensitivity response to human papillomavirus type 16 E6 protein in a mouse model.** *J Gen Virol* 75:165–169
137. Strang G, Hickling JK, McIndoe GA, Howland K, Wilkinson D, Ikeda H, Rothbard JB (1990) **Human T cell responses to human papillomavirus type 16 L1 and E6 synthetic peptides: identification of T cell determinants, HLA-DR restriction and virus type specificity.** *J Gen Virol* 71:423–431
138. Altmann A, Jochmus Kudielka I et al. (1992) **Definition of immunogenic determinants of the human papillomavirus type 16 nucleoprotein E7.** *Eur J Cancer* 28:326–333
139. Steele JC, Stankovic T, Gallimore PH (1993) **Production and characterization of human proliferative T-cell clones specific for human papillomavirus type 1 E4 protein.** *J Virol* 67:2799–2806
140. de Grijij TD, Bontkes HJ, Stukart MJ et al. (1996) **T cell proliferative responses against human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein are most prominent in cervical intraepithelial neoplasia patients with a persistent viral infection.** *J Gen Virol* 77:2183–2191
141. Kadish AS, Romney SL, Ledwidge R et al. (1994) **Cell-mediated immune responses to E7 peptides of human papillomavirus (HPV) type 16 are dependent on the HPV type infecting the cervix whereas serological reactivity is not type-specific.** *J Gen Virol* 75:2277–2284
142. Tarpey I, Stacey S, Hickling J, Birley HD, Renton A, McIndoe A, Davies DH (1994) **Human cytotoxic T lymphocytes stimulated by endogenously processed human papillomavirus type 11 E7 recognize a peptide containing a HLA-A2 (A*0201) motif.** *Immunology* 81:222–227
143. Rensing ME, Sette A, Brandt RMP et al. (1995) **Human CTL epitopes encoded by human papillomavirus type 16 E6 and E7 identified through in vivo and in vitro immunogenicity studies of HLA – A*0201 – binding peptides.** *J Immunol* 154:5934–5943
144. Jochmus I, Osen W, Altmann A et al. (1997) **Specificity of human cytotoxic T lymphocytes induced by a human papillomavirus type 16 E7 derived peptide.** *J Gen Virol* 78:1689–1695
145. Rensing ME, van Driel WJ, Celis E et al. (1996) **Occasional memory cytotoxic T-cell responses of patients with human papillomavirus type 16-positive cervical lesions against a human leukocyte antigen-A*0201-restricted E7-encoded epitope.** *Cancer Res* 56:582–588
146. Duggan-Keen M, Keating PJ, Cromme FV, Wal-boomers JMM, Stern PL (1998) **Alterations in major histocompatibility complex expression in cervical cancer: possible consequences for immunotherapy.** In: Lacey C (ed) *Papillomavirus reviews: Current research in papillomaviruses.* University Press, Leeds, pp 141–150
147. Lancavecchia A (1993) **Identifying strategies for immune intervention.** *Science* 260:937–944
148. Borysiewicz LK, Fiander A, Nimako M et al. (1996) **A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer.** *Lancet* 347:1523–1527
149. Bournsnel ME, Rutherford E, Hickling JK et al. (1996) **Construction and characterisation of a recombinant vaccinia virus expressing human papillomavirus proteins for immunotherapy of cervical cancer.** *Vaccine* 14:1485–1494
150. Feltkamp MC, Smits HL, Vierboom MP et al. (1993) **Vaccination with cytotoxic T lymphocyte epitope-containing peptide protects against a tumor induced by human papillomavirus type 16-transformed cells.** *Eur J Immunol* 23:2242–2249
151. Rigoni-Stern D (1842) **Fatti statistici relativi alle melatie cancerose.** *Gi Serv Progr Pathol Terap* 2:507–517
152. Schneider A (1994) **Natural history of genital papillomavirus infections.** *Intervirol* 37:201–214
153. Solinas-Toldo S, Dürst M, Lichter P (1997) **Specific chromosomal imbalances in human papillomavirus-transfected cells during progression toward immortality.** *Proc Natl Acad Sci USA* 94:3854–3859
154. Nindl I, Lörinz A, Mielzynska I, Petry U, Baur S, Kirchmayr R, Michels W, Schneider A (1998) **Human papillomavirus detection in ervial intraepithelial neoplasia by the second-generation hybrid apture microplate test, comparing two different ervical specimen collection methods.** *Clin Diagn Virol* 10:49–56
155. Meschede W, Zumbach K, Braspenning J, Scheffner M, Benitz-Bribiesca L, Luande J, Gissmann L, Pawlita M (1998) **Antibodies against early proteins of human papillomaviruses as diagnostic markers for invasive cervical cancer.** *J Clin Microbiol* 36:475–480
156. Nindl I, Rindfleisch K, Teller K, Schneider A, Dürst M (1999) **Cervical cancer, HPV 16 E6, variant genotypes, and serology.** *The Lancet* 353:152
157. Greenstone HL, Nieland JD, de Visser KE, de Bruijn ML, Kimbauer R, Roden RB, Lowy DR, Kast WM, Schiller JT (1998) **Chimirc papillomavirus-like particles elicit antitumor immunity against E7 oncoprotein in an HPV16 tumor model.** *Proc Natl Acad Sci USA* 95:1800–1805
158. Schäfer K, Müller, Faath S et al (1999) **Immune response to HPV16 L1/E7 chimeric virus-like particles: Induction of cytotoxic T cells and specific tumor protetion.** *Int J Cancer*, in press
159. Lacey CJ, Thompson HS, Monteiro EF, O'Neill T, Davies ML, Holding FP, Fallon RE, Roberst JS (1999) **Phase IIa safety and immunogenicity of a therapeutic vaccine, TA-GW, in persons with genital warts.** *J Infect Dis* 179:612–618

Eine umfangreiche Literaturliste mit 283 Zitaten kann beim Erstautor anfordert werden.