

Kan testing og vaksiner for humant papillomavirus forebygge livmorhalskreft?

Livmorhalskreft er den tredje hyppigste kreftformen blant kvinner på verdensbasis. Infeksjon med humant papillomavirus (HPV) er en nødvendig risikofaktor og første trinn i kreftutviklingen.

I denne artikkelen gis en oversikt over muligheter for å forebygge livmorhalskreft ved HPV-testing og vaksinasjon.

HPV-testing kan ikke erstatte cervixcytologi, men vil kunne forbedre screeningprogrammet for livmorhalskreft. Slik testing er ennå ikke inkorporert i noen nasjonale screeningprogrammer, men det pågår studier ellers i Skandinavia og i Nederland. Det gjenstår å dokumentere om HPV-testingen er kostnadseffektiv og kan føre til at man kan starte screeningprogrammet i høyere alder og senere øke intervallene for rutinemessig prøvetaking. I flere land pågår det klinisk utprøving av terapeutiske og profylaktiske vaksiner, og også i Norge deltar man i en av disse studiene. Det vil ta flere år før man har svar på om disse forsøkene er effektive, og om vaksinene kan anvendes globalt i bekjempelsen av livmorhalskreft. Terapeutiske vaksiner har så langt hatt liten effekt på cervixkarzinomer. De fremtidige vaksinasjonsforsøk vil være rettet mot anogenitale dysplasier og kondylomer. Det pågår nå profylaktiske vaksinasjonsstudier mot HPV 6, 11, 16 og 18 i kliniske fase 1- og fase 2-studier, og fase 3-studier er under planlegging.

HPV-testing kan øke sensitiviteten og spesifisiteten i screeningprogrammet for livmorhalskreft. Før slik testing inkorporeres i masseundersøkelsen bør et prøveprosjekt evalueres. Randomiserte forsøk med HPV-testing av kvinner over 30 år med usikre celleforandringer og lavgradig intraepitelial neoplasi anbefales. Foreløpige resultater fra vaksinasjonsstudier gir grunn til optimisme. Det vil ta minst fem år før vi kan forvente konklusive resultater fra de kliniske studiene som nå pågår.

A. Kathrine Lie
agnes-kathrine.lie@labmed.uio.no

Tone Bjørge
Seksjon for biopsi og autopsi
Avdeling for patologi

Åslaug Helland
Avdeling for genetikk

Det Norske Radiumhospital
0310 Oslo

Bjørn Hagen
Kvinneklinikken
Regionsykehuset i Trondheim
7006 Trondheim

Finn Egil Skjeldestad
Seksjon for epidemiologisk forskning
Unimed, Sintef
7465 Trondheim

Bjørn Hagmar
Avdeling for patologi
Rikshospitalet
0027 Oslo

Steinar Thoresen
Kreftregisteret
Institutt for epidemiologisk kreftforskning
0310 Oslo

Livmorhalskreft er den tredje vanligste kreftformen blant kvinner på verdensbasis, og utgjør ca. 10 % av all kreft hos kvinner (1). Sykdommen er den femte hyppigste «kreftdødsårsak» blant kvinner, og fører til ca. 190 000 dødsfall årlig (2). Livmorhalskreft er den nest hyppigste kreftform blant kvinner i utviklingsland, mens forekomsten generelt sett er lav i vår del av verden.

I Norge ble det i 1997 diagnostisert 359 nye tilfeller av livmorhalskreft, og 134 personer døde av sykdommen (3). De fleste tilfellene er plateepitelkarzinomer, vel 15 % er adenokarzinomer (4). Insidensen av forstadene til livmorhalskreft er langt hyppigere, da 2 125 nye tilfeller av CIN III (cervikal intraepitelial neoplasi, grad 3) ble diagnostisert i Norge i 1997. I motsetning til andre gynekologiske kreftformer er livmorhalskreft en sykdom som rammer relativt unge kvinner. I 1997 var median alder for kvinner med CIN III 33 år (16–83 år), median alder var 50 år (21–93 år) for kvinner med invasiv liv-

Lie AK, Bjørge T, Helland Å, Hagen B, Skjeldestad FE, Hagmar B, Thoresen S.

Can human papillomavirus testing and vaccination prevent cervical carcinoma?

Tidsskr Nor Lægeforen 2001; 121: 2947–51.

Background. Cervical cancer is the third most frequent cancer among women worldwide. Human papillomavirus (HPV) infection is a necessary risk factor and the first step in cervical carcinogenesis.

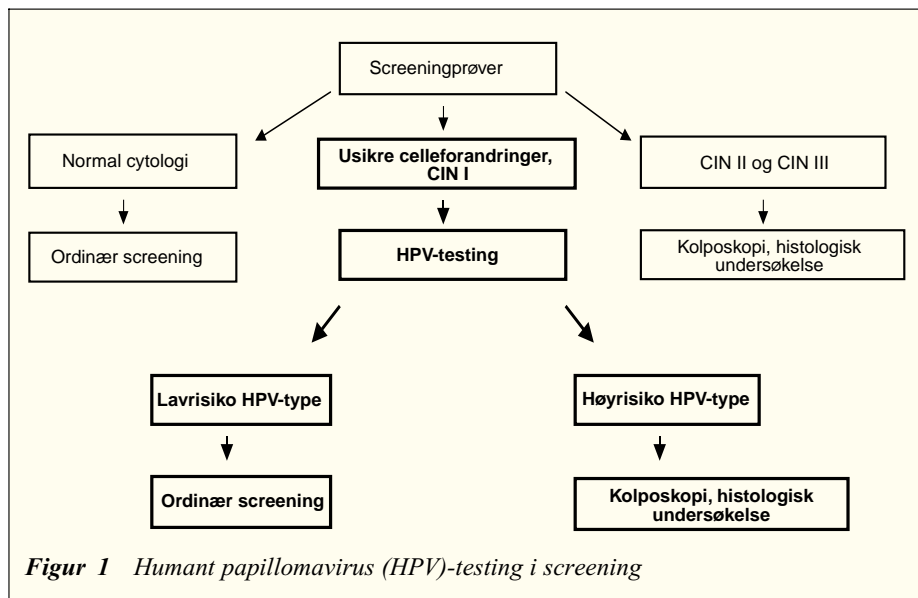
Material and methods. This article reviews the current literature concerning the possibility of preventing cervical cancer by HPV testing and vaccination.

Results. HPV testing cannot replace cytology, but will reduce false negative cytology and may improve the screening programme for cervical neoplasia. It has not yet been incorporated in any national cervical cancer screening program, but trials are ongoing in Scandinavia and in the Netherlands. The cost-effectiveness of HPV testing in screening has to be proven and whether it can affect the recommended screening-intervals. Therapeutic and prophylactic vaccines for HPV associated disease are in progress. Evaluating the clinical trials that are ongoing will take several years. Several anti-HPV vaccines are now in clinical trials; Norway will also participate. Therapeutic vaccines against cervical cancer have so far not been successful, but anogenital dysplasias and condylomas may be more susceptible. Prophylactic vaccines against HPV 6, 11, 16 and 18 have been evaluated in clinical phase I and II trials, and phase III trials are in progress.

Interpretation. HPV testing improves the specificity and sensitivity of cervical cytology and it can be used to clarify cases with atypical cells of undetermined significance (ASCUS) and low-grade intraepithelial neoplasia. In the near future it may also be included in the cervical cancer screening programme for women above the age of 30. The first results in clinical vaccine trials are encouraging, and final conclusions about the effectiveness of these vaccines may be achieved in five years' time.

morhalskreft (S.E. Tysvær, Kreftregisteret, personlig meddelelse).

Infeksjon med humant papillomavirus (HPV) er en av de hyppigste seksuelt overførbare sykdommene, og prevalensen er kanskje økende. Humant papillomavirus er en nødvendig, men ikke tilstrekkelig risikofaktor for utvikling av livmorhalskreft (5). Det naturlige forløpet av en HPV-infeksjon og de karsinogene effektene er tidligere omtalt i Tidsskriftet (6). Kvinner som er infisert med onkogene HPV-typer, har 40–180 ganger økt risiko for utvikling av høygradig cervikal intraepitelial neoplasi (CIN II-III)



(7–9). Det er imidlertid beregnet at bare 12–22 % av CIN III-lesjonene vil progrediere til invasiv cancer (10, 11). Forekomsten av HPV-infeksjon er høyest blant unge kvinner, vel 13 % av kvinner uten påvist cervixneoplasi har infeksjon med onkogene HPV-typer (12). I en nederlandsk studie av over 3 000 normale celleutstryk fra kvinner i alderen 15–69 år var det høyest prevalens av humant papillomavirus hos kvinner i alderen 25–29 år, 19,6 % (13). Prevalensen var 10 % i aldersgruppen 30–39 år og 4,3 % for alle kvinner over 30 år. De aller fleste cervixkarsinomer er HPV-positive, og det diskuteres om HPV-negative cervixkarsinomer overhodet eksisterer (14–16). I de største multinasjonale studier som har vært gjennomført finnes HPV 16 alene i over 50 % av tilfellene, mens HPV 16, 18, 31, 33 og 45 er påvist i over 80 % av alle cervixkarsinomer (14, 17).

Mer enn 20 års forskning har ført frem ny kunnskap om humant papillomavirus som kan utnyttes til forebygging og diagnostikk av cervixneoplasi (12, 18, 19). Større prospektive studier med HPV-testing og vaksinasjonsforsøk pågår nå i flere land. Norge har foreløpig ikke deltatt i disse prosjektene eller hatt anledning til å lage egne studier. I denne artikkelen gis en oversikt over status og fremtidsutsikter for HPV-testing og vaksinasjon nasjonalt og internasjonalt.

Diagnostikk av HPV-infeksjon

For at en test skal kunne brukes i screening, må den ha høy sensitivitet og spesifisitet, slik at andelen falskt positive og falskt negative resultater blir minimal (20). Det er foreløpig bare to molekylærbiologiske teknikker som til nå har oppfylt disse kravene (12), nemlig polymerasekjedereaksjon (PCR) med konsensusprimerne My 09/11 (21) eller Gp 5+/6+ (22) og annen generasjon av den kommersielle testen Hybrid Capture II

(Digene Laboratories, Silver Spring, MD, USA).

Ved PCR påvises HPV-gensekvenser i det infiserte vevet med amplifikasjonsteknikk og konsensusprimere som identifiserer et bredt spekter av HPV-typer. HPV-typing kan gjøres med typespesifikke primere eller andre teknikker, som sekvensering, analyse av restriksjonsfragmentlengdepolymeriser (RFLP) og Southern blotting. PCR-teknikken er foreløpig den mest sensitive for påvisning av humant papillomavirus, men krever ekspertise og gode laboratorierutiner for å unngå kontaminasjon og falskt positive prøver (23). Metoden belastes også av en rekke patenter, noe som gjør den kostbar og vanskelig å gjennomføre i klinisk praksis. Ved bruk av nyere teknikker med RNA-amplifisering kan man også få undersøkt på genekspresjon av virus, ikke bare tilstedeværelse av virus-DNA. En av disse, amplifikasjon basert på nukleinsyresekvenser (NASBA), er også automatisert og kan kjøres i en kontaminasjonsfri laboratorierobot (24, 25).

Hybrid Capture II er en ikke-radioaktiv hybridiseringsteknikk i løsning på mikroplate med kjemiluminescensdeteksjon. Denne teknikken er mer automatisert, raskere og ikke forbundet med kontaminasjonsfare slik som PCR-metoden. Den er anbefalt brukt i kombinasjon med væskebasert encellelag utstryksteknikk. Hybrid Capture II kan påvise 18 ulike HPV-typer, inndelt i lavrisiko- og høyrisikotyper. Formalinfiksert, parafinnstøpt materiale kan ikke analyseres med Hybrid Capture II, og testen kan heller ikke brukes for spesifikk HPV-typing. Fordelen er at denne testen er automatisert og kan håndtere store prøvevolumer – dermed blir det billigere.

For å få gjennomført HPV-testing i screeningprogrammer må rutineene for prøvetaking av celleprøver fra livmorhalsen endres

noe. Børsten med prøvematerialet som gjenstår etter utstryk må transporteres i et egnet væskemedium til laboratoriet for DNA-/RNA-analyse. Alternativt kan prøvematerialet overføres direkte i en bufferløsning og transporteres til laboratoriet, hvor det både lages encellelag utstryk for cytologisk screening og gjøres DNA/RNA-analyse for HPV-testing. Denne teknikken er dyrere enn nåværende utstryksteknikk, men gir flere fordeler ved mikroskopering.

Diagnostisk HPV-testing versus HPV-screening

Det pågår nå en debatt om hvordan HPV-testing kan inkorporeres i screeningprogrammer for livmorhalskreft. I land med velorganiserte masseundersøkelser og med god kvalitetskontroll i cytologilaboratoriene har flere tvilt på nytten av dette (26–30). Godt organiserte cytologibaserte screeningprogrammer har redusert både insidens- og mortalitetsrater av livmorhalskreft (31–34), men disse kan forbedres. Den høye andel falskt negative prøver i cytologisk screening (ca. 20 %) gir grunn til bekymring. Innføring av ny teknologi som væskebasert cytologi, automatisert cytologisk screening og HPV-testing er anbefalt for å redusere antall falskt negative prøver og dermed øke sensitiviteten i screeningprogrammene (35).

Kostnad-nytte-effekten av HPV-testing er ennå ikke godt nok dokumentert, men flere nyere, større studier har vist at slik testing er mer sensitiv enn cervixcytologi for påvisning av høygradig cervixneoplasi (36–40). Data så langt gir imidlertid ingen holdpunkter for at HPV-testing kan erstatte cervixcytologi (12).

Ulike strategier for testingen er foreslått (41). Hele populasjonen kan screenes for humant papillomavirus, eller utvalgte grupper kan testes. Gjennomgang av litteraturen tyder på at det er mest hensiktsmessige å HPV-teste kvinner med usikre celleforandringer og lavgradig cervikal intraepitelial neoplasi (fig 1). Man vil på denne måten få raskere avklart hvilke kvinner som må henvises til kolposkopi og histologisk prøvetaking. Disse kvinnene vil dermed unngå unødig engstelse i venting på gjentatte cytologikontroller som kanskje likevel ikke fanger opp høygradige celleforandringer. I en svensk studie ble det påvist at over 50 % av kvinner med cytologisk diagnose lett dysplasi hadde høygradig cervikal intraepitelial neoplasi ved histologisk undersøkelse (42). Screeningintervallene kan økes for kvinner med normal cytologisk prøve og negativ HPV-prøve. Økt intervall for ny prøve blant kvinner med lavrisiko HPV-infeksjoner og normale celler/lette celleforandringer vil være kostnadsreduserende for det totale screeningprogrammet. Det er foreslått at screeningintervallene kan økes til inntil ti år for disse lavrisikogrupperne (43).

I den nylig publiserte evalueringsrapporten for masseundersøkelsen mot livmorhals-

kreft i Norge anbefales det å vurdere et prøveprosjekt med HPV-testing av kvinner med lavgradige celleforandringer (4). Det er dokumentert at påvisning av høyrisiko HPV-typer kan predikere CIN III hos kvinner med lavgradig cervixcytologi (38, 44, 45). Kombinasjon av cervixcytologi og HPV-testing vil derfor øke både sensitiviteten og spesifisiteten i screeningprogrammer (46). Forskere i Nederland har i en rekke studier evaluert effekten av HPV-testing og automatiserte screeningteknikker mot ordinær cytologiscreening (18). De har vist at morfologiske markører for HPV-infeksjon korrelerer dårlig med HPV-DNA-status (45). Høyrisiko HPV-testing er den mest sensitive metode for påvisning av CIN III (sensitivitet 92 % versus 46 % ved automatisert cytologiscreening). Selv om positiv prediktiv verdi for HPV-testing er lav, var den i denne studien høyere enn for automatisert cytologiscreening (9,9 % versus 6,7 %).

Til tross for at enkelte pasienter og klinikere ber om HPV-testing, vil vi sterkt fraråde en slik tilfeldig screening. Det bør igangsettes et prøveprosjekt i masseundersøkelsen mot livmorhalskreft med HPV-testing av kvinner over 30 år med usikre celleforandringer og lavgradig cervikal intraepitelial neoplasie. Dette bør gjennomføres som en randomisert studie for å få evaluert kostnadsnytte-effekten av HPV-testing mot ordinær cytologiscreening. Generell HPV-testing av yngre kvinner har liten hensikt, fordi disse har høy prevalens av HPV-infeksjoner som går spontant i regress uten at de noensinne utvikler cervixneoplasie. Dette vil bare bidra til redusert spesifisitet på grunn av økt antall falskt positive prøver.

Nyere studier tyder på at kvantitativ HPV-deteksjon er mer sensitivt for å fange opp kvinner med risiko for utvikling av cervixneoplasie (47, 48). Virusmengden varierer hos infiserte individer og influeres av en rekke faktorer, som røyking og hormonelle og genetiske forhold (47). Disse svenske studiene har vist høy korrelasjon mellom HPV 16-virusmengde og senere risikoen for utvikling av CIN III mange år før celleforandringer kan påvises med cervixcytologi. Kvinner med høyt titer av HPV 16 hadde 30 ganger så stor risiko for å få CIN III som kvinner som ikke fikk påvist HPV 16. En firedel av kvinnene med høy virusmengde før fylte 25 år utviklet CIN III i løpet av 15 år.

HPV-vaksinasjon

Til tross for effektiv cytologiscreening er livmorhalskreft fortsatt et alvorlig helseproblem som forårsaker mange dødsfall, spesielt i u-land. Disse landene vil aldri kunne kontrollere utbredelsen av HPV-assosierte sykdommer ved screening på grunn av mangelfullt utbygd helsevesen.

HPV-assosierte sykdommer kan tenkes forebyggt og behandlet ved å indusere virusspesifikk immunrespons hos pasienten.

Store fremskritt i molekylærbiologiske teknikker og cellekulturteknikker har ført til utvikling av profylaktiske og terapeutiske vaksiner (49, 50). Vellykkede resultater fra eksperimentelle vaksinasjonsforsøk i dyremodeller har ført til klinisk utprøving i fase 1- og fase 2-studier, og fase 3-studier er underveis. Utvikling av HPV-vaksiner er vanskelig fordi virus ikke kan dyrkes i kultur, men må formere seg i prolifererende epitelceller. Det finnes heller ikke gode nok dyremodeller for slimhinneassosierte HPV-typer. Papillomavirus er artsspesifikke, det vil si at smitte mellom menneske og dyr ikke forekommer. Resultater fra vaksinasjonsforsøk i dyremodeller kan derfor ikke appliseres direkte på mennesker. På den 18. internasjonale HPV-konferansen i Barcelona i juli 2000 ble det imidlertid signalisert at vi om fem år kan forvente konklusive resultater fra de første større kliniske studiene.

En rekke utfordringer må overvinnes før vaksinasjonsprogrammer kan startes. Først og fremst må det utvikles billige og stabile vaksiner som kan distribueres globalt. Vaksinerne må gi beskyttelse mot de vanligst forekommende onkogene HPV-typene. I de kliniske studiene som nå pågår, utprøves vaksiner mot HPV 6, 11, 16 og 18. Sist, men ikke minst, må foreldre overbevises slik at de tillater profylaktisk vaksinasjon av sine tenåringsbarn mot en seksuelt overførbart sykdom.

Immunologi

Mens den humorale immunresponsen gir beskyttelse mot HPV-infeksjon, er den cellemedierte immunresponsen nødvendig for eliminering av etablert HPV-infeksjon og HPV-assosiert neoplasie (51). En rekke mekanismer og molekyler er involvert i immunresponsen, blant dem er immunglobuliner, T-cellerreseptor og human leucocyte antigen (HLA) hos menneske. Av grunner som ikke er helt klarlagt ennå, kan virus unnslipe immunsystemet og gi en persisterende infeksjon. Sekretorisk IgA i slimhinnen utgjør førstelinjeforsvaret mot HPV-infeksjon. De aller fleste pasienter som smittes av viruset, serokonverterer i løpet av få måneder. IgM og IgA forsvinner etter at infeksjonen er eliminert, mens serum-IgG persisterer (52).

Profylaktiske vaksiner

Seksuell smitte kan forhindres med profylaktiske vaksiner som induserer nøytraliserende antistoffer som inaktiverer virus og forhindrer at målcellen blir infisert. I dyremodeller er det vist at immunisering med rekombinante HPV-virusliknende partikler beskytter mot eksperimentell infeksjon med homologe vertsspesifikke papillomavirus (53–55). Den beskyttende effekten av nøytraliserende antistoffer ble dokumentert ved passiv overføring av serum fra vaksinerte dyr til ikke-vaksinerte dyr. Disse antistoffene må virke lokalt i genitalslimhinnen, hvor

HPV-infeksjonen finner sted. Antistoffene syntetiseres av plasmaceller lokalt eller migrerer fra plasma. Det finnes ikke gode nok dyremodeller for seksuell smitte av papillomavirus i cervix for å evaluere antistoffresponsen. Dette må følges opp i randomiserte kliniske forsøk. De vaksiner som er under utprøving, er basert på systemisk injeksjon av HPV 6, 11, 16 og 18 VLP (49, 50). Det er ikke avklart om lokal immunisering med nasal eller vaginal applikasjon kan gi både en systemisk og en lokal immunrespons, og om det er nødvendig med både systemisk IgG og lokalt IgA for å gi effektiv beskyttelse mot HPV-infeksjon i cervix (49). Antakelig vil en kombinasjon av lokal og systemisk immunisering bli utprøvd i fremtidige vaksinasjonsforsøk (18. Internasjonale HPV konferanse i Barcelona i juli 2000). Foreløpige resultater fra kliniske fase 1- og fase 2-studier med vaksiner basert på HPV-virusliknende partikler gir grunn til optimisme (49). Disse har vist at parenteral vaksiner med relativt lave doser HPV-virusliknende partikler genererer høye titre med nøytraliserende IgG-antistoffer uten bivirkninger. In vitro-studier har dessverre vist at vaksiner basert på HPV-virus-liknende partikler er typespesifikke (56). For å gi en effektiv beskyttelse mot HPV-infeksjon må derfor vaksiner inneholde HPV-virusliknende partikler fra flere HPV-typer. I laboratoriene arbeides det nå med såkalt kimære vaksiner basert på HPV-virusliknende partikler som både har en profylaktisk og en terapeutisk effekt.

Terapeutiske vaksiner

Ved terapeutisk vaksinasjon rettes den spesifikke cellulære immunresponsen mot de onkogene HPV-proteinene E6 og E7. Disse uttrykkes kontinuerlig i maligne lesjoner (57). Terapeutiske vaksiner består av syntetiske peptider, rekombinante proteiner eller levende virus/bakterievektorer (50). Vaksiner rettet mot E6- og E7-proteinene til HPV 16 og 18 er nå tilgjengelige og utprøves i fase 1- og fase 2-studier hos kvinner med lokal avansert livmorhalskreft eller forstadier til kreft. Få resultater er til nå publisert (58, 59). Vaksinerne tolereres godt, men har så langt hatt liten effekt hos kvinner med kreft i utbredt stadium, antakelig fordi disse har svekket immunforsvar med nedregulert HLA-klasse I-molekyler, som er nødvendige for presentasjon av virusspesifikke peptider og igangsetting av immunrespons (60). Det er sannsynlig at fremtidige studier vil være rettet mot pasienter med anogenitale dysplasier og kondylomer. Disse pasientgruppene er ikke immunosupprimerte, slik at sjansen for vellykket immunisering er større. Latenstiden fra infeksjon til utvikling av livmorhalskreft er antatt å være 15–25 år, og forekomsten av livmorhalskreft er lav i de yngste aldersgruppene (< 40 år). Man håper dessuten på større oppslutning om vaksinasjonsprogrammer som er rettet mot langt

mer prevalente sykdommer enn livmorhalskreft. Forsøk har så langt vist at vaksinering med HPV 6-virusliknende partikler har gitt god behandlingsrespons hos pasienter med kondylomer (61).

Konklusjon

Diagnostisk HPV-testing og vaksinasjon vil i stor grad kunne forebygge livmorhalskreft. Det er dokumentert at slik testing gjør cytologiscreeningen mer sensitiv, men HPV-deteksjon alene vil ikke kunne erstatte cervixcytologi. Før HPV-testing inkorporeres i masseundersøkelsen mot livmorhalskreft bør et prøveprosjekt evalueres. Vi anbefaler en randomisert studie med og uten HPV-testing av kvinner over 30 år med usikre celleforandringer og lavgradig cervikal intraepitelial neoplasia. Terapeutiske og profylaktiske vaksiner er under klinisk utprøving. Foreløpige resultater er lovende, men det vil ta minst fem år før vi kan forvente konklusive resultater og få svar på om vaksinen kan brukes globalt.

MSD Norge har under utprøving vaksine mot flere HPV-typer, og Finn Egil Skjeldestad er forsøksleder for den norske delen av dette arbeidet. Bjørn Hagmar har mottatt støtte til stipendiatstillinger fra Norchip AS, som utvikler mikroteknikk som kan brukes i virusdiagnostikk generelt.

Litteratur

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999; 80: 827–41.
2. Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999; 83: 18–29.
3. Kreft i Norge 1997. Oslo: Kreftregisteret, 2000.
4. Masseundersøkelsen mot livmorhalskreft i Norge. Evaluering av programmet 1992–98. Oslo: Kreftregisteret, 2001.
5. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 690–8.
6. Lie AK. Humant papillomavirus som årsak til kreftutvikling. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2000; 23: 2771–6.
7. IARC Working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human papillomaviruses. Lyon: IARC, 1995.
8. Olsen AO, Gjølven K, Sauer T, Ørstavik I, Næss O, Kierulf K et al. Human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia grade II-III: a population-based case-control study. *Int J Cancer* 1995; 61: 312–5.
9. Lie AK, Skarsvåg S, Haugen OA, Skjeldestad FE, Olsen AO, Skovlund E et al. Association between the HLA DQB1*0301 gene and human papillomavirus infection in high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Pathol* 1999; 18: 206–10.
10. McIndoe WA, McLean MR, Jones RW, Mullins PR. The invasive potential of carcinoma in situ of the cervix. *Obstet Gynecol* 1984; 64: 451–8.
11. Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12: 186–92.
12. Cuzick J, Sasieni P, Davies P, Adams J, Normand C, Frater A et al. A systematic review of the role of human papilloma virus (HPV) testing

- within a cervical screening programme: summary and conclusions. *Br J Cancer* 2000; 83: 561–5.
13. Jacobs MV, Walboomers JMM, Snijders PJF, Voorhorst FJ, Verheijen RHM, Franssen-Daalmeijer N et al. Distribution of 37 mucosotropic HPV types in women with cytologically normal cervical smears: the age-related patterns for high-risk and low-risk types. *Int J Cancer* 2000; 87: 221–7.
 14. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) study group. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796–802.
 15. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch XF, Kupek E, Shah KV et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12–9.
 16. Herrington CS. Do HPV-negative carcinomas exist? – revisited. *J Pathol* 2000; 189: 1–3.
 17. Munoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol* 2000; 19: 1–5.
 18. Meijer CJLM, Walboomers JMM. Cervical cytology after 2000: where to go? *J Clin Pathol* 2000; 53: 43.
 19. Cornelison TL. Human papillomavirus genotype 16 vaccines for cervical cancer prophylaxis and treatment. *Curr Opin Oncol* 2000; 12: 466–73.
 20. Bjørge T, Tropé CG, Engeland A. Screening mot kreft. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1999; 119: 1129–36.
 21. Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells* 1989; 7: 209–14.
 22. de Roda Husman AM, Walboomers JMM, van den Brule AJ, Meijer CJLM, Snijders PJF. 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* 1995; 76: 1057–62.
 23. Lie AK. DNA-analyser i diagnostisk patologi. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2000; 5: 589–94.
 24. Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim van Dillen PM, van der Noordaa J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 495–503.
 25. Compton J. Nucleic acid sequence-based amplification. *Nature* 1991; 350: 91–2.
 26. Kaufman RH, Adam E, Icenogle J, Lawson H, Lee N, Reeves KO et al. Relevance of human papillomavirus screening in management of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 87–92.
 27. Kaufman RH, Adam E, Icenogle J, Reeves WC. Human papillomavirus testing as triage for atypical squamous cells of undetermined significance and low-grade squamous intraepithelial lesions: sensitivity, specificity, and cost-effectiveness. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 930–6.
 28. Kaufman RH, Adam E. Is human papillomavirus testing of value in clinical practice? *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1049–53.
 29. Sigurdsson K. Cervical cancer, Pap smear and HPV testing: an update of the role of organized Pap smear screening and HPV testing. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78: 467–77.
 30. Syrjanen KJ, Syrjanen SM. Human papillomavirus (HPV) typing as an adjunct to cervical cancer screening. *Cytopathology* 1999; 10: 8–15.
 31. Laara E, Day NE, Hakama M. Trends in mortality from cervical cancer in the Nordic countries: association with organised screening programmes. *Lancet* 1987; 1: 1247–9.
 32. Gustafsson L, Ponten J, Zack M, Adami HO. International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. *Cancer Causes Control* 1997; 8: 755–63.
 33. Sigurdsson K. Trends in cervical intraepithelial neoplasia in Iceland through 1995: evalu-

- ation of targeted age groups and screening intervals. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78: 486–92.
34. Quinn M, Babb P, Jones J, Allen E. Effect of screening on incidence of and mortality from cancer of cervix in England: evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ* 1999; 318: 904–8.
 35. Stoler MH. Advances in cervical screening technology. *Mod Pathol* 2000; 13: 275–84.
 36. Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M et al. Hybrid capture II-based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1518 women. *Br J Cancer* 1999; 80: 1306–11.
 37. Manos MM, Kinney WK, Hurley LB, Sherman ME, Shieh NJ, Kurman RJ et al. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. *JAMA* 1999; 281: 1605–10.
 38. Noppenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EK et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical cancer screening: a prospective study. *Lancet* 1999; 354: 20–5.
 39. Ratnam S, Franco EL, Ferenczy A. Human papillomavirus testing for primary screening of cervical cancer precursors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 945–51.
 40. Clavel C, Masure M, Levert M, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M et al. Human papillomavirus detection by the hybrid capture II assay: a reliable test to select women with normal cervical smears at risk for developing cervical lesions. *Diagn Mol Pathol* 2000; 9: 145–50.
 41. Jenkins D, Sherlaw-Johnson C, Gallivan S. Can papilloma virus testing be used to improve cervical cancer screening? *Int J Cancer* 1996; 65: 768–73.
 42. Risberg B, Andersson A, Lie AK, Nordin B, Zetterberg C. Histology corresponding to mildly dyskaryotic smears – a study of 190 laser cone biopsied patients. *Gynecol Oncol* 1998; 68: 193–7.
 43. Stoler MH. Human papillomaviruses and cervical neoplasia: a model for carcinogenesis. *Int J Gynecol Pathol* 2000; 19: 16–28.
 44. Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P et al. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1365–71.
 45. Rozendaal L, Westerga J, Walboomers JMM, Voorhorst FJ, Risse EK, Boon ME et al. PCR based high risk HPV testing is superior to neural network based screening for predicting incident CIN III in women with normal cytology and borderline changes. *J Clin Pathol* 2000; 53: 606–11.
 46. Franco EL, Ferenczy A. Assessing gains in diagnostic utility when human papillomavirus testing is used as an adjunct to papanicolaou smear in the triage of women with cervical cytologic abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 382–6.
 47. Josefsson AM, Ylitalo N, Sørensen P, Qwarforth-Tubbin P, Andersen PK, Melbye M et al. Viral load of human papillomavirus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet* 2000; 355: 2189–93.
 48. Ylitalo N, Sørensen P, Josefsson AM, Magnusson G, Andersen PK, Ponten J et al. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case control study. *Lancet* 2000; 355: 2194–8.
 49. Schiller JT, Hidesheim A. Developing HPV virus-like particle vaccines to prevent cervical cancer: a progress report. *J Clin Virol* 2000; 19: 67–74.
 50. Ling M, Kanayama M, Roden R, Wu TC. Preventive and therapeutic vaccines for human papillomavirus-associated cervical cancers. *J Biomed Sci* 2000; 7: 341–56. →

51. Stern PL, Brown M, Stacey SN, Kitchener HC, Hampson I, Abdel-Hady E et al. Natural HPV immunity and vaccination strategies. *J Clin Virol* 2000; 19: 57–66.
52. Dillner J. The serological response to papillomaviruses. *Semin Cancer Biol* 1999; 9: 423–30.
53. Kirnbauer R, Chandrachud LM, O'Neil BW, Wagner ER, Grindlay GJ, Armstrong A et al. Virus-like particles of bovine papillomavirus type 4 in prophylactic and therapeutic immunization. *Virology* 1996; 219: 37–44.
54. Breitburd F, Kirnbauer R, Hubbert NL, Nonnenmacher B, Trin-Dinh DC, Orth G et al. Immunization with viruslike particles from cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) can protect against experimental CRPV infection. *J Virol* 1995; 69: 3959–63.
55. Suzich JA, Ghim SJ, Palmer-Hill FJ, White WI, Tamura JK, Bell JA et al. Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11553–7.
56. White WI, Wilson SD, Bonnez W, Rose RC, Koenig S, Suzich JA. In vitro infection and type-restricted antibody-mediated neutralization of authentic human papillomavirus type 16. *J Virol* 1998; 72: 959–64.
57. Crook T, Morgenstern JP, Crawford L, Banks L. Continued expression of HPV-16 E7 protein is required for maintenance of the transformed phenotype of cells cotransformed by HPV-16 plus EJ-ras. *Embo J* 1989; 8: 513–9.
58. Borysiewicz LK, Fiander A, Nimako M, Man S, Wilkinson GW, Westmoreland D et al. A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. *Lancet* 1996; 347: 1523–7.
59. Muderspach L, Wilczynski S, Roman L, Bade L, Felix J, Small A et al. A phase I trial of a human papillomavirus (HPV) peptide vaccine for women with high-grade cervical and vulvar intraepithelial neoplasia who are HPV 16 positive. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3406–16.
60. Connor ME, Stern PL. Loss of MHC class-I expression in cervical carcinomas. *Int J Cancer* 1990; 46: 1029–34.
61. Zhang LF, Zhou J, Chen S, Cai LL, Bao QY, Zheng FY et al. HPV6b virus like particles are potent immunogenes without adjuvant in man. *Vaccine* 2000; 18: 1051–8.

○

Annons