

HPV-test gör cellprovstagning mer träffsäker

Cervixcancer kan spåras effektivare



SONIA ANDERSSON, docent, överläkare, divisionen för obstetrik och gynekologi, Institutet för klinisk vetenskap, intervention och teknologi, Karolinska Universitetssjukhuset Huddinge sonia.andersson@karolinska.se
ANDERS HJERPE, professor, överläkare, avdelningen för cytologi
BO C JOHANSSON, docent, labo-

rador, avdelningen för klinisk virologi; de båda sistnämnda Institutet för laboratoriemedicin; de tre sistnämnda Karolinska institutet, Stockholm
BJÖRN HAGMAR, professor, överläkare, Avdelning för patologi, Rikshospitalet, Oslo, Norge

Etiologin och patogenesen vid cervixcancer är nu ganska utförligt klarlagda. Persisterande infektion med vissa typer av humant papillomvirus (HPV) är huvudorsaken till cervixcancer, även om andra miljö- och värdrelaterade faktorer dessutom spelar in. Infektion med högrisktyper av HPV (HR-HPV), dvs HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56, 58, 59 och 68, är en förutsättning för utveckling av cancer i livmoderhalsen. Det finns en rad goda översiktsartiklar i ämnet [1-4].

HR-HPV griper in i värdcellens kontroll av mitosfunktionen, bl a genom att interferera med centrala tumörsuppressorer (p53 och pRb). När viruset når epitelets basala celler, vilket det lättast gör i transformationszonens tunna epitel, finns förutsättningar för persistens av infektionen över lång tid. Resultatet blir att cellernas genetiska stabilitet minskar med ökad risk för mutationer, och så småningom utvecklas neoplas. Utvecklingen till cancer tar som regel 10-20 år från infektionstillfället. Processen sker stegvis, och de flesta infektionerna läker spontant tack vare kvinnans immunförsvar [4, 5].

Utvecklingen av neoplas förändrar cellens utseende i ljusmikroskopet; det vi i histopatologisk diagnostik kallar cervical intraepitelial neoplas (CIN) svarar mot skvamös intraepitelial lesion (SIL) i cytologisk nomenklatur (Bethesda) och dysplasi (enligt äldre nomenklatur). De lindrigare förändringarna kan vara omöjliga att skilja från reaktiva processer utan risk för utveckling av cancer. En mindre del av dessa förändringar blir höggradiga (CIN grad 2-3). Risken att en etablerad CIN-förändring utvecklas till invasiv cancer uppskattas vara i storleksordningen 10-20 procent. Den tilltar med ökande CIN-grad, men sannolikt kan också CIN 3-förändringar gå tillbaka.

Cellprovskontroll för att förebygga cervixcancer

Ett allmänt screeningprogram startade i Sverige 1965 och var utbyggt i hela landet 1977. Detta har lett till en säkerställd minskning av antalet cancerfall [6, 7]. Den cytologiska tekniken har dock svagheter, och programmets effektivitet förutsätter att provet upprepas med viss frekvens. Specificiteten av det cytologiska fyndet är god vid höggradiga förändringar, men sensitiviteten för att identifiera en riskpatient är mindre än 70 procent [8].

Styrkan i hälsokontrollen är att cytologprovet upprepas regelbundet. Sensitiviteten blir därmed så hög att så gott som alla fall av invasiv cervixcancer teoretiskt skulle kunna upptäckas i tid. Ökad närvaro vid cellprovskontrollen är kanske den åtgärd som skulle ge störst preventiv utdelning. Om man dessutom kunde förbättra den primära känsligheten hos det enkla cytologprovet skulle undersökningsintervallen kunna förlängas, vilket skulle ge bättre ekonomi för programmet.

En nyckel till framgång med programmet är att alla patienter med påvisade förändringar följs upp. Detta är dyrt, och cellprovskontrollens kostnadseffektivitet skulle förbättras med ökat prediktivt värde av en lågradig diagnos, dvs om man bättre kunde särskilja CIN I från reaktiva förändringar av liknande typ.

Ända sedan screeningprogram började införas i västvärlden har det funnits en strävan att ersätta den »manuella« screeningen med en teknisk lösning, en »maskinscreenare«. Det finns på marknaden ett stort antal apparater, vilka emellertid ännu inte lyckats förbättra kvaliteten jämfört med manuell granskning av preparaten eller ge screeningen bättre ekonomi.

För att förbättra fixering och preparering av det cytologiska provet har en alternativ vätskebaserad teknologi utvecklats (liquid based cytology, LBC) [9-11]. I anglosaxiska länder har tekniken vunnit stor spridning, och den amerikanska läkemedelsmyndigheten FDA godkände den redan 1996 för gynekologisk cytologisk screening. Själva provtagningen skiljer sig från dagens genom att cellmaterialet direkt slamas upp i en fixeringslösning i stället för att strykas ut på ett objektglas. Cellsuspensionen skickas sedan till laboratoriet, där man kan preparera ett närmast enskiktat cellager, vilket underlättar bedömningen. Det är endast en mindre del av cellsuspensionen som går åt till denna preparation. Tekniken gör det därför möjligt att utföra kompletterande undersökningar med immuncytokemisk eller molekylärbiologisk teknik utan att kvinnan kallas till ny provtagning (reflextestning).

Metoder för HPV-testning

Det finns cirka 100-150 HPV-typer, men flertalet har inget samband med uppkomsten av cervixcancer. De vanligaste me-

SAMMANFATTAT

Cancer och cellförändringar i livmoderhalsen är kopplade till infektion med humant papillomvirus (HPV).

Hälsokontroller med cellprovstagning har visserligen minskat förekomsten av livmoderhalscancer, men fortfarande drabbas många kvinnor av sjuklighet och för tidig död. **Varje år** får knappt 500 svenska kvinnor livmoderhalscancer, medan betydligt fler, ungefär 30 000 kvinnor, får besked om att de har cellförändringar.

Dagens metoder att urskilja kvinnor med cellförändringar som kommer att utvecklas till cancer är otillräckliga. En genomtänkt användning av HPV-testning som ett led i cancerpreventionen skulle dock förbättra diagnostiken.

Genom att öka träffsäkerheten i diagnostiken som komplement till vaginalcytologisk screening borde riskgruppen för utveckling av livmoderhalscancer bättre kunna identifieras.

Att kartlägga tidiga förändringar kan hjälpa oss att i tidigt skede finna kvinnor med risk för utveckling av livmoderhalscancer.

Detta innebär att kvinnor med lindriga cellförändringar inte skulle behöva genomgå utredning och behandling och inte behöva kallas till upprepad provtagning med täta intervall, vilket är fallet idag.

Riktlinjerna bör omarbetas och omfatta hela det svenska screeningprogrammet.

»Att kartlägga tidiga förändringar direkt i cytologiprovet kan hjälpa oss att i tidigt skede finna kvinnor med risk för utveckling av cervixcancer.«

.....
 toderna för att skilja de olika HPV-typerna från varandra är baserade på analyser av HPV-DNA eller -RNA [12, 13]. Tekniskt sett innebär detta en hybridiseringsreaktion mot en del av DNA i virus, antingen med immunologisk förstärkning av signalen från hybridiserat DNA som vid s k hybrid capture II (HC-II), det mest använda testet globalt, eller med PCR-amplifiering.

HC-II kan påvisa de 13 vanligaste HR-HPV-typerna, men testet skiljer inte de olika typerna från varandra. Detta är en viktig begränsning, eftersom man med detta test inte kan definiera en persisterande infektion, dvs samma HR-HPV-typ hos en kvinna med 6 eller 12 månaders mellanrum. Persisterande HR-HPV-infektion är den starkaste riskfaktorn för dysplasi som hittills kunnat verifieras [14].

Testning för HPV

HPV smittar sexuellt, och det är visat att de flesta sexuellt aktiva kvinnor blir smittade med viruset. Hos majoriteten, sannolikt 90 procent, försvinner infektionen efter en tid. Prevalensen av HPV i åldersgruppen 16–25 år är i Sverige 20–30 procent. Samtidigt är frekvensen dysplasier låg i denna åldersgrupp [15, 16]. Fynd av HPV-DNA i denna åldersgrupp kan inte särskilt väl identifiera kvinnor med CIN (låg specificitet). Hos kvinnor över 30 år sjunker emellertid prevalensen av infektioner ner mot 7–15 procent, samtidigt som frekvensen dysplasier ökar [17]. Ett negativt HPV-test kan här få relativt högt prediktivt värde: de kvinnor som är HPV-negativa vid 30 års ålder har mycket liten risk att utveckla dysplasi och cancer.

Det finns också metoder som går ut på att påvisa mRNA för de virala gener som är cancerogena (E6- och E7-generna). Vid dysplastiska förändringar uttrycks E6 och E7 genom hela epitelets bredd, och ökad RNA-nivå kan därför indikera risk för utveckling av dysplasi.

Expressionen av mRNA kan mätas på olika sätt. Den vanliga metoden är med omvänt transkriptas-PCR (rtPCR). I Norge har dock metoden HPV-Proofer (Norchip, Klokkarstua) utvecklats, vilken använder NASBA-teknik (NASBA = nucleic acid sequence-based amplification) för att amplifiera RNA, och som påvisar 5 HR-HPV-typer (16, 18, 31, 33 och 45). Ett av problemen med RNA-undersökning är att mätbara nivåer även finns vid aktiv, icke-karcinogen infektion. Vid en undersökning bland Oslokvinnor under 30 års ålder var två tredjedelar av de kvinnor som var HPV-DNA-positiva också positiva för HPV-RNA [18, 19]. RNA-undersökning gav också negativt fynd i 40–50 procent hos CIN 2+-patienter [20].

Det finns även en risk med denna teknik att en studerad virusgen inte uttrycks i provtagningsögonblicket. Studier behövs för att jämföra denna teknologi med DNA-baserade metoder. RNA-undersökning har inte validerats i större, epidemiologiska studier.

HPV-undersökning i screeningprogram

Primärscreening med HPV, där ett positivt fynd vid HPV-test följs upp med cytologisk utredning, är ett tänkbart alternativ till dagens cellprovskontroll. För att nå cellprovskontrollens samlade sensitivitet skulle i så fall HPV-testen upprepas, vilket också kan ge upplysning om eventuell persistens av påvisad infektion.

En möjlighet som diskuterats är att införa HPV-testning som primärscreening för kvinnor över 30 års ålder [21]. Positiva

provfynd skulle då följas upp med cytologi. Ekonomiskt skulle detta sannolikt vara ett gynnsamt alternativ, eftersom HPV-negativa kvinnor i denna ålder har liten risk för att utveckla förstadier till cancer.

HPV-testen har ett högt negativt prediktivt värde, och virus-negativa kvinnor kunde följas upp efter ett längre tidsintervall än viruspositiva kvinnor.

Sådan primärscreening är ännu inte införd som rutin i något land, utan har bara genomförts i olika studier, där resultaten ännu till stor del inte är analyserade. Den svenska studien SWEDESCREEN är delvis publicerad efter mer än 5 års uppföljning [22]. Där har man kunnat visa bl a att kombinationen av HPV-test och cytologi gav längre »skydd« mot dysplasier än en modalitet ensam. Om bägge proven är negativa, har kvinnan minimal risk att utveckla dysplasi inom 5–6 år. Studiens resultat talar således inte för att den ena tekniken skall ersätta den andra, utan att man i ett framtida screeningprogram skall nyttja information från båda analyserna.

Sekundärscreening innebär att ett cytologprov som påvisat låggradiga förändringar följs upp med ett HPV-test. Den s k ALTS-studien i USA (ALTS = Ascus and Low Grade Lesion Triage Study) har haft stor genomslagskraft internationellt [23, 24]. Studien visade att uppföljning med HPV-test i kombination med vätskebaserad cytologi var mer kostnadseffektiv än både kolposkopi och ett enkelt nytt, »vanligt« cytologiprov när det gällde att påvisa risk för dysplasi.

Resultaten från studier i USA, där screening och diagnosrutiner är olika våra, kan dock inte direkt överföras till skandinaviska förhållanden. De diagnostiska normerna i Sverige är anorlunda; medan vi vid hälsokontroll upptäcker cirka 3–4 procent som avvikande, är motsvarande siffra vid laboratorier i USA oftast mellan 12 och 25 procent. Ekonomiskt kan dock en uppföljning med HPV-test visa sig lönsam, eftersom HPV-negativa kvinnor med låggradiga cytologiska förändringar inte skulle behöva annan uppföljning än den vanliga cellprovskontrollen [25].

En svensk studie visade att 66 procent av de kvinnor som följdes upp för lindriga cellförändringar som upptäckts vid cellprovskontroll var bärare av HR-HPV [26]. Resultat som redovisas tyder på att för cirka en tredjedel av kvinnorna kunde en mer omfattande utredning undvikas, och de kunde återföras till den ordinarie cellprovskontrollens provtagning. Detta innebär både en ekonomisk besparing och mindre belastning av kvinnors psykosociala hälsa.

Uppföljning efter behandling

En speciell situation där HPV-testning är betydelsefull är när resultatet av en genomgången behandling skall följas upp. En HR-HPV-infektion som kan påvisas vid första kontrollen efter konisering talar för att förändringen inte kunnat avlägsnas radikalt, oavsett vad den histologiska radikalitetsbedömningen visat. Det är just dessa kvinnor som löper stor risk att få recidiv under den närmaste tiden [27].

När den cytologiska provtagningen sker med vätskebaserad teknik ger detta särskilda möjligheter att kombinera information från cytologiska och virologiska undersökningar. HPV-testet kan då utföras på samma prov som innehållit de lindrigt förändrade cellerna, s k reflexscreening. Utfallet av HPV-testet skall vägas in i det cytologiska utlåtandet, och proceduren blir på detta sätt mer inriktad på att öka utlåtandets prediktiva värde.

Genom att båda undersökningarna görs på samma material undgår man både den ökning av provtagningsfel och de ökade kostnader som följer med upprepad provtagning. En studie

som syftar till att visa de eventuella effekter som sådan reflex-screening kan ha på den svenska gynekologiska cellprovskontrollen kommer att slutföras vid cytologiska laboratoriet vid Karolinska Universitetssjukhuset Huddinge i samarbete med kvinnokliniken och avdelningen för klinisk virologi under våren 2007.

Framtiden

Hur blir då utvecklingen, inte minst i relation till en begynnande vaccinationsverksamhet? HPV-detektion och -typning spelar redan en roll i sekundärscreening, men centrala direktiv för användning av HPV-test har ännu inte kommit. En studie om användning av HPV i sekundärscreening i Stockholm blev klar våren 2007.

Det är helt klart att HPV-detektion och -typning har kommit för att stanna som ett led i screeningen. Så mycket data om långtidseffekten har nu ackumulerats att det börjar bli dags för en seriös diskussion också om HPV-testets roll i primärscreening. Ett problem är dock att komma överens om vilka metoder/vilken metod som skall användas för HPV-detektion/-typning. Detta, och ett optimalt åldersintervall för

primär, kombinerad cytologi/HPV-screening, återstår att definiera.

Genom att öka specificiteten i den molekylärvirologiska diagnostiken som komplement till vaginalcytologisk screening borde riskgruppen för utveckling av cervixcancer bättre kunna identifieras. Att kartlägga tidiga förändringar direkt i cytologiprovet kan hjälpa oss att i tidigt skede finna kvinnor med risk för utveckling av cervixcancer. Detta innebär att kvinnor med lindriga cellförändringar inte skulle behöva genomgå utredning och behandling och inte behöva kallas till upprepade provtagning med täta intervall, vilket nu är fallet.

Kunskap om detta kan förändra omhändertagandet av kvinnorna och därmed ge möjlighet till ett mer individualiserat omhändertagande samt förbättra den gynekologiska cellprovskontrollen.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

Kommentera denna artikel på www.lakartidningen.se

REFERENSER

- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189(1):12-9.
- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(6):518-27.
- Bosch FX, Munoz N. The viral etiology of cervical cancer. *Virus Res.* 2002;89(2):183-90.
- zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(5):342-50.
- Sparén P. Early detection and screening for cancer of the cervix in Sweden during 20th century [dissertation]. Uppsala: Uppsala universitet; 1996.
- Scott DR, Hagmar B, Maddox P, Hjerpe A, Dillner J, Cuzick J, et al. Use of human papillomavirus DNA testing to compare equivocal cervical cytological interpretations in the United States, Scandinavia, and the United Kingdom. *Cancer.* 2002;96(1):14-20.
- Monsonogo J, Auttilo-Touati A, Bergeron C, Dachez R, Liaras J, Saurel J, et al. [Liquid phase cytology in the primary screening for cervical cancer: a multicenter study.] *Gynecol Obstet Fertil.* 2001;29(11):799-807.
- Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti M, Wacholder S, et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in high-risk province of Costa Rica. *JAMA.* 2000;283:87-93.
- Peyton CL, Schiffman M, Lorincz AT, Hunt WC, Mielzynska I, Bratti C, et al. Comparison of PCR- and hybrid capture-based human papillomavirus detection systems using multiple cervical specimen collection strategies. *J Clin Microbiol.* 1998;36(11):3248-54.
- Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA.* 2001;286(24):3106-14.
- Forslund O, Antonsson A, Edlund K, van den Brule AJ, Hansson BG, Meijer CJ, et al. Population-based type-specific prevalence of high-risk human papillomavirus infection in middle-aged Swedish women. *J Med Virol.* 2002;66(4):535-41.
- Hagmar B, Kalantari M, Skyldberg B, Moberger B, Johansson B, Walaas L, et al. Human papillomavirus in cell samples from Stockholm gynecologic health screening. *Acta Cytol.* 1995;39(4):741-5.
- Wright TC Jr. Cervical cancer screening in the 21st century: Is it time to retire the PAP smear? *Clin Obstet Gynecol.* 2007;50(2):313-23.
- Andersson S, Hansson B, Norman I, Gaberi V, Mints M, Hjerpe A, et al. Expression of E6/E7 mRNA from »high risk« human papillomavirus in relation to CIN grade, viral load and p16INK4a. *Int J Oncol.* 2006;29(3):705-11.
- Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006;119(5):1095-101.
- Elfgren K, Rylander E, Radberg T, Strander B, Strand A, Paajanen K, et al. Colposcopic and histopathologic evaluation of women participating in population-based screening for human papillomavirus deoxyribonucleic acid persistence. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(3 Pt 1):650-7.
- Sherman ME, Schiffman M, Cox JT; Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study Group. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *J Natl Cancer Inst.* 2002;94(2):102-7.
- Solomon D, Schiffman M, Tarone R; ALTS Study group. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(4):293-9.
- Bistoletti P, Ellström A, Dillner J, Sennfält K, Sparén P, Strander B. Screening for cervixcancer kan vara kostnadseffektiv. Kombinationen cellprov och HPV-test skulle ge ytterligare vinster. *Läkartidningen.* 2005;102(24-25):1874-9.
- Andersson S, Dillner L, Elfgren K, Mints M, Persson M, Rylander E. A comparison of the HPV test and Pap smear as a second screening method for women with minor cytological abnormalities. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005;84(10):996-1000.

Streamer