

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. med. Fritz Jänicke

**Assoziation von HLA-DQB1-Allelen mit zervikalen intraepithelialen Neoplasien
in einem norddeutschen Patientinnenkollektiv**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg
vorgelegt von

Katja Behrens
geb. in Marburg an der Lahn
Hamburg 2002

Angenommen von dem Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 30. Mai 2002

Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Dekan: Prof. Dr. C. Wagener

Referent: Prof. Dr. Ch. Thomssen

Koreferent: Prof. Dr. F. Jänicke

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	3
1.1	ALLGEMEINE EINFÜHRUNG	3
1.1.1	Zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN): Definition, Häufigkeit und Verlauf	3
1.1.2	Humane Papillomavirus (HPV)-Infektion	6
1.1.2.1	Ätiologischer Faktor der CIN	6
1.1.2.2	Molekularbiologische Vorgänge der HPV-induzierten Kanzerogenese	9
1.1.3	Mögliche Progressionsfaktoren der CIN	11
1.1.4	Immunabwehr gegen HPV	12
1.1.5	Humanes-Leukozyten-Antigen-(HLA)-System	15
1.1.6	HLA und HPV-assoziierte zervikale Läsionen	16
1.2	FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	18
2	PATIENTINNEN UND METHODEN	19
2.1	PATIENTINNEN	19
2.2	METHODEN	20
2.2.1	Histologische CIN-Diagnostik	20
2.2.2	HPV-Diagnostik	21
2.2.3	HLA-Typisierung	22
2.2.4	Therapie	25
2.3	AUSWERTUNG UND STATISTIK	26
3	ERGEBNISSE	28
3.1	CIN	28
3.1.1	Schweregrad der CIN	28
3.1.2	Verlauf der CIN	28
3.1.2.1	Beobachtung CIN 1 und CIN 2	28
3.1.2.2	Rezidivierende CIN nach operativer Therapie	29
3.2	HPV-INFEKTION	30
3.2.1	HPV-Infektion und CIN	30
3.2.2	HPV-Infektion und Verlauf der CIN	32
3.3	HLA-TYPISIERUNG	33
3.3.1	HLA-Typisierung und CIN	33

3.3.1.1 HLA-Typisierung und Schweregrad der CIN.....	36
3.3.1.2 HLA-Typisierung und Verlauf der CIN	37
3.3.2 HLA-Typisierung und HPV	39
4 DISKUSSION.....	43
4.1 HLA UND ZERVIKALE NEOPLASIEN, ÜBERSICHT DER LITERATUR ..	43
4.1.1 HLA und invasives Zervixkarzinom	43
4.1.2 HLA und CIN	46
4.1.3 HLA und Verlauf der zervikalen Neoplasie	50
4.1.4 HLA und HPV	50
4.2 DISKUSSION DER EIGENEN ERGEBNISSE.....	54
4.2.1 HLA und CIN	54
4.2.2 HLA und Schweregrad der CIN.....	58
4.2.3 HLA und Verlauf der CIN	59
4.2.3.1 HLA und Beobachtung von CIN 1 und CIN 2.....	59
4.2.3.2 HLA und rezidivierende CIN.....	59
4.2.4 HLA und HPV-Infektion.....	60
4.3 BEDEUTUNG DER HLA-TYPISIERUNG IN DER KLINISCHEN PRAXIS.	64
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	65
6 LITERATURVERZEICHNIS.....	66
7 ANHANG	78
7.1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	79
7.2 TABELLEN	80

1 EINLEITUNG

1.1 ALLGEMEINE EINFÜHRUNG

1.1.1 Zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN): Definition, Häufigkeit und Verlauf

Der Prozeß der zervikalen Kanzerogenese ist bis heute weder morphologisch noch biologisch eindeutig geklärt.

Die überwiegend squamösen invasiven Zervixkarzinome entwickeln sich aus präinvasiven Vorstufen, die als epitheliale Dysplasien oder zervikale intraepitheliale Neoplasien (CIN) bezeichnet werden. Nicht jede Epitheldysplasie ist eine obligate Präkanzerose, also der Beginn eines invasiven Prozesses, sondern es handelt sich um Läsionen mit unterschiedlicher Abheilungs- und Entartungswahrscheinlichkeit. Der Verlauf der Dysplasie kann progredient von der leichtgradigen Veränderung bis zum invasiven Karzinom, teilweise über Jahrzehnte, sein (Richart 1973). Eine schwergradige Läsion wird aber auch spontan, ohne vorhergehenden Nachweis leichtgradiger Veränderungen, diagnostiziert (Kiviat und Koutsky 1993).

Die histologische und zytologische Klassifikation unterliegt immer wieder Veränderungen, da eine klare Einteilung der unterschiedlichen Schweregrade mit ihrem Entartungsrisiko nicht möglich ist. Diese Unsicherheit und der damit verbundene Wandel der Klassifikationen führt in der klinischen Beurteilung zu Schwierigkeiten bei Therapieempfehlungen.

1973 entwickelte Richart eine Gliederung, nach der drei Schweregrade der zervikalen intraepithelialen Neoplasie, leichtgradig (CIN 1), mittelgradig (CIN 2) und schwergradig (CIN 3), unterschieden werden (Richart 1973). Verglichen mit der vorhergehenden Einteilung, nach Empfehlung der WHO, werden in der Gruppe CIN 3 die schwere Dysplasie und das Carcinoma in situ (Cis) zusammengefaßt, da ihre prämaligne Potenz gleich eingeschätzt wird. 1990 modifiziert Richart diese Klassifikation und unterscheidet nur noch zwei Gruppen, low-risk und high-risk Läsionen (Richart 1990), die in ähnlicher Weise auch in der Bethesda-Klassifikation zytologischer Diagnosen als LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) und HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion) beschrieben werden (Kurman und Solomon 1994). Die mittelgradige intraepitheliale Neoplasie (CIN 2) wird den schwergradigen

Veränderungen (CIN 3) als high-risk Läsion gleichgesetzt. Aufgrund eines deutlich höheren Prozentsatzes an spontanen Rückbildungen und der weniger wahrscheinlichen Progression der CIN 2 gerät diese Einteilung immer wieder in Kritik.

Abbildung 1: Einteilungsprinzipien der histologischen und zytologischen Klassifikationen mit schematischer Darstellung der histologischen Befunde (Riethdorf L et al. 1999)

WHO / ISGYP	kondylomatöse Läsion	leichte Dysplasie	mäßige Dysplasie	schwere Dysplasie	Carcinoma in situ
Richart 1973		CIN 1	CIN 2	CIN 3	
Richart 1990	Lo-CIN (low grade)		Hi-CIN (high grade)		
München II	Pap II + HPV	III D		IV A	
Bethesda-Nomenklatur	L-SIL (low grade squamous intraepithelial lesion)		H-SIL (high grade squamous intraepithelial lesion)		

In verschiedenen prospektiven Studien wurde der Verlauf der zervikalen intraepithelialen Neoplasien untersucht. In ca. 10% der Fälle entwickelt sich aus einer unbehandelten Zervixdysplasie ein invasives Karzinom (Koss 1989). Die Progressionswahrscheinlichkeit hängt vom Schweregrad der Dysplasie ab. Innerhalb eines Beobachtungszeitraums von 3 bis 4 Jahren wurde bei 62% der leichtgradigen Läsionen (CIN 1) eine spontane Remission und nur bei 16% eine Progression zur höhergradigen Atypie beobachtet (Nasiell et al. 1983; Kataja et al. 1989). Im Stadium CIN 3 stellt eine spontane Remission die Ausnahme dar. Eine Verlaufsstudie an Carcinoma in situ zeigt innerhalb eines Beobachtungszeitraums von 5 bis 28 Jahren eine Persistenz in 75% und eine Progression zum invasiven Karzinom in 25% der Fälle (McIndoe et al. 1984). In anderen Arbeiten wird die Progressionswahrscheinlichkeit der CIN 3 sogar mit 33 bis 50% angegeben (Schiffman und Brinton 1995).

Tabelle 1: Verlauf der Zervixdysplasien Lönning 2001 (modifiziert nach Östor 1993)

	Abheilung	Persistenz	Progression
CIN 1	50-70% (57%)	20-40% (32%)	10-30% (11%) zu Cis 1% zum inv. Karzinom
CIN 2	20-60% (43%)	30-60% (35%)	15-60% (22%) zu Cis 5% zum inv. Karzinom
CIN 3	10-70% (32%)	20-70%	< 5-40% (>12%) zum inv. Karzinom

Das Zervixkarzinom ist noch immer eine der häufigsten malignen Erkrankungen der Frau und tritt mit einer Inzidenz von 16/100.000 in Deutschland auf. In Ländern der dritten Welt ist das Zervixkarzinom sogar der häufigste maligne Tumor der Frau. Weltweit schwankt die Inzidenz zwischen 5 und 88 Frauen pro 100.000, wobei Israel die niedrigste und Kolumbien die höchste Rate aufweist (Kessler 1987, Brinton und Hoover 1992).

Die Inzidenz von zervikalen intraepithelialen Neoplasien ist ungefähr 30mal höher als die des Zervixkarzinoms (Koss 1989). In den USA werden jährlich ca. 600.000 Dysplasien diagnostiziert (400/100.000/Jahr), darunter 8.400 schwere Dysplasien und Carcinoma in situ (1,4%). In 0,5% bis 3% der Fälle werden im zytologischen Screening zervikale Dyplasien nachgewiesen (Sandmire et al. 1976; Wright und Richart 1992). Damit dürfte in Deutschland die Inzidenz schwergradiger Präkanzerosen bei 1% liegen (ungefähr 300.000 Frauen/Jahr). Das mittlere Lebensalter bei Diagnose liegt für Dysplasien, Cis und invasives Zervixkarzinom bei 34, 42 und 48 Jahren (Wright und Richart 1992, Perez et al. 1992).

1.1.2 Humane Papillomavirus (HPV)-Infektion

1.1.2.1 Ätiologischer Faktor der CIN

Die squamösen zervikalen intraepithelialen Neoplasien sind nach virologischen und morphologischen Befunden eine Konsequenz aus, vermutlich in vielen Fällen seit Jahren, persistierender Infektion mit humanen Papillomaviren (zur Hausen 1977; IARC 1995). Dabei handelt es sich um eine notwendige, aber keinesfalls ausreichende Bedingung der zervikalen Kanzerogenese. Eine Infektion mit humanen Papillomaviren führt in 2% der Fälle zur Entstehung eines invasiven, HPV-positiven, Karzinoms (zur Hausen 1991).

Humane Papillomaviren infizieren Epithelzellen und rufen unterschiedliche proliferative Läsionen des Gewebes, sowohl benigne als auch maligne Formen, hervor. Mittlerweile sind fast 100 verschiedene Virustypen entdeckt worden, die spezifisch verschiedene Krankheitsbilder verursachen (De Villiers 1989). Im Bereich genitaler Infektionen sind ungefähr 40 verschiedene Typen nachgewiesen worden (Walboomers et al. 1994). Aufgrund des unterschiedlichen sogenannten onkogenen Potentials werden low-risk und high-risk HPV-Typen unterschieden (van Ranst et al. 1992). Low-risk HPV (HPV 6, 11, 42, 43 und 44) werden in Condylomata acuminata und leichtgradigen Dysplasien nachgewiesen, aber nur ausnahmsweise in invasiven Karzinomen, high-risk HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, u.a.) hingegen finden sich typischerweise in invasiven Karzinomen und schwergradigen intraepithelialen Neoplasien (Lörincz et al. 1992, Schiffman et al. 1993, Bosch et al. 1995).

Die Inzidenz von HPV-Infektionen bei jungen Frauen ist hoch und liegt nach einer Studie von Ho bei 20 bis 46% (Ho et al. 1998). Mit Aufnahme des Geschlechtsverkehrs und einer erhöhten Zahl wechselnder Sexualpartner, ist die hohe Inzidenz von mehr als 50% im Alter von 15 bis 19 Jahren zu erklären (Ley et al. 1991; Bosch et al. 1992). Die Prävalenz der HPV-Infektion erreicht mit 20% einen Häufigkeitsgipfel zwischen dem 20. und 25. Lebensjahr und sinkt mit zunehmendem Alter auf 3 bis 10% bei Frauen im 30. bis 50. Lebensjahr (Reid et al. 1987; Koutsky et al. 1988; Melkert et al. 1993; Schiffman und Brinton 1995). Die meisten Infektionen verlaufen also regredient. Legt man die Polymerase Kettenreaktion (PCR), als die wohl zur Zeit sensitivste Bestimmungsmethode für HPV zugrunde, liegt die durchschnittliche Prävalenz der

HPV-Infektion insgesamt in einem Bereich von 10 bis 15%, davon 65 bis 70% mit den onkogenen Typen HPV 16 und 18 (Schiffman et al.1994; Krüger et al.1994).

Bei jungen Frauen liegt die Wahrscheinlichkeit eine initiale HPV-Infektion wieder zu verlieren, innerhalb von 6 Monaten bei 52% und innerhalb von 18 Monaten bei 92% (Ho et al. 1995). Die Dauer der Infektion hängt einerseits von biologischen Faktoren und andererseits einer genetischen Disposition des Wirtes ab. Eine sogenannte Reifung der Wirtsimmunität gegenüber HPV über einen Zeitraum von 12-14 Jahren wird als Erklärung für die abnehmende Infektionsrate mit zunehmenden Lebensalter diskutiert (Koutsky et al. 1995). Dieser Vorstellung widersprechend wurde in einer jüngeren Studie aus Costa Rica ein zweiter Häufigkeitsgipfel der HPV-Infektion mit einer Prävalenz von 20% bei Frauen ab dem 65. Lebensjahr beschrieben (Herrero et al. 2000).

Trotz der hohen Inzidenz von HPV-Infektionen, auch mit high-risk HPV-Typen, treten zervikale intraepitheliale Neoplasien nur bei bis zu 3% der Frauen auf (Ho et al. 1998). In einer amerikanischen Untersuchung von Studentinnen waren über einen Beobachtungszeitraum von 3 Jahren 60% der HPV-Infektionen transient und nur 10% der HPV-infizierten Frauen entwickelten eine Dysplasie (Schiffman und Brinton 1995). Persistierende Infektionen mit bestimmten high-risk Papillomavirustypen, besonders HPV 16, sind mit einem erhöhten Progressionsrisiko verbunden (Kataja et al.1992; Koutsky et al. 1992; Olsen et al. 1995; Nobbenhuis et al. 1999). Im Unterschied dazu zeigt die Gruppe der low-risk Typen (HPV 6,11 etc.) selten eine persistierende Infektion (Hildesheim et al. 1994) und man findet sie nur ausnahmsweise in malignen Zellveränderungen. In den Fällen, in denen eine LSIL zu CIN 3 progredierte konnte in über 95% der Fälle high-risk HPV, besonders HPV 16, nachgewiesen werden (Campion et al. 1986; Remmink et al. 1995). Der Virusnachweis allein ist aber kein ausreichender Parameter zur Verlaufsbeurteilung. In einer weiteren prospektiven Studie von Patientinnen mit CIN 1 lag der positive Vorhersagewert des high-risk HPV-Nachweises nur bei ca. 50%, da die Hälfte aller high-risk HPV-positiven CIN 1 spontan regredierten (Herrington et al. 1995).

Mit zunehmendem Schweregrad der Dysplasie zeigt sich eine zunehmende Häufigkeit HPV-positiver Befunde (Tabelle 1.1.2.1). In ungefähr 60% der CIN 1 und in über 90% der CIN 3 werden HPV-Typen nachgewiesen (Lörinz et al. 1992; zur Hausen 1994).

Beim invasiven Karzinom können mit sensitiven Methoden (PCR) in bis zu 99,7% HPV-Infektionen nachgewiesen werden (Kleter et al. 1999; Walboomers et al. 1999). Die Frage ob HPV-negative Zervixkarzinome existieren wird immer wieder diskutiert. Dies erscheint aber bei Anwendung moderner Nachweisverfahren und Kenntnis noch unbekannter HPV-Typen unwahrscheinlich (Walboomers und Meijer 1997).

High-risk HPV-Infektionen lassen sich bei unauffälliger Exfoliativzytologie in 5 bis 15% der Fälle, bei CIN 1 in ungefähr 50%, bei CIN 2 in 75% und CIN 3 in 95% der Fälle nachweisen (Melkert et al. 1993; Kjaer et al. 1996). Am häufigsten ist die Infektion mit HPV 16, die bei 50% der invasiven Plattenepithelkarzinome auftritt (Walboomers et al. 1999), sowie bei höhergradigen CIN doppelt so häufig im Vergleich zu niedriggradigen CIN 1 (van den Brule et al. 1991). Low-risk HPV-Typen kommen nur selten in zervikalen intraepithelialen Neoplasien vor und sind in durchschnittlich 4 bis 6% nachweisbar (Burger et al. 1995).

In einer deutschen Studie ergab sich eine entsprechende Verteilung der high-risk und low-risk Typen, wobei HPV 16 und 31 am häufigsten auftraten; HPV 16 bei CIN 3 sogar in 74% der Fälle (Nindl et al. 1999).

Simultane Infektionen mit mehreren HPV-Typen treten in ungefähr 30% der CIN auf und sind nachweislich nicht mit einem höheren Progressionsrisiko verbunden (Ho et al. 1998; Herrero et al. 2000). In invasiven Karzinomen ist in der Regel nur ein HPV-Typ nachweisbar. Dies entspricht dem monoklonalen Ursprung der malignen Transformation.

Tabelle 1.1.2.1 Häufigkeit von HPV-Infektion bei zervikalen Dysplasien

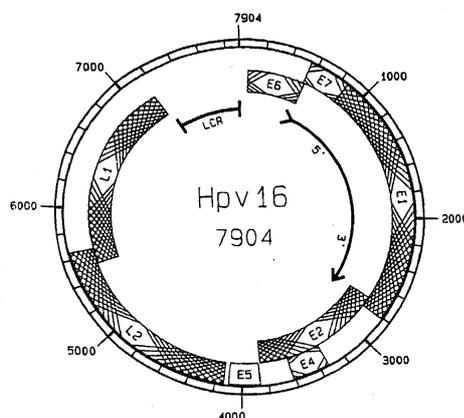
	Normale Zyto	LSIL	HSIL	
		CIN 1	CIN 2	CIN 3
HPV (Kjaer et al.)	15%	61%	74%	
HrHPV (Nindl et al.)		47%	77%	97%
HPV 16 (Lorincz et al.)	02%	16%	47%	

1.1.2.2 Molekularbiologische Vorgänge der HPV-induzierten Kanzerogenese

Die molekularen Wirkmechanismen, die zur malignen Transformation der Zelle führen, sind nur teilweise erklärt. Die Progression von der leichten zur schweren Dysplasie sowie zum invasiven Zervixkarzinom geht mit einer zunehmenden Expression viraler Onkogene einher, welche direkt in die Regulation des Zellzyklus und die Stabilität des Genoms eingreifen (Kasher et al. 1988; Kahn et al. 1994; Heinzl et al. 1995; zur Hausen 1994a).

Das humane Papillomavirus trägt eine doppelsträngige, zirkuläre DNA von ca. 8000 Basenpaaren in einem Kapsid. Man unterscheidet drei funktionelle Regionen der DNA: URR (upstream regulatory region), „early region“ und „late region“. Die Regulation der Transkription viraler Proteine erfolgt über die URR. Die „early region“ kodiert die sogenannten Onkoproteine E1, E2, E4, E5, E6 und E7, von denen E6 und E7 eine besondere Bedeutung bei der malignen Transformation zukommt. In der „late region“ sind die viralen Kapsidproteine L1 und L2 kodiert.

Abbildung 2: Genom des HPV Typ 16 (Milde-Langosch et al. 1999)



In schwergradigen Dysplasien und im invasiven Zervixkarzinom ist die Expression von E6 und E7 deutlich erhöht (Duerst et al. 1992; Sherman et al. 1992; Nilsson et al. 1996) und korreliert mit der Malignität der Karzinomzellen (von Knebel Doeberitz et al. 1992). Die Immortalisierung humaner Keratinozyten in vitro, das heißt die Blockade des Absterbens dieser Zellen in Kultur, ist auf die Wirkung dieser Onkogene aus high-risk HPV zurückzuführen (Hawley Nelson et al. 1989; Muenger et al. 1989).

Die spezifische Komplexierung der viralen Onkoproteine E6 (White et al. 1994) und E7 (Pagano et al. 1992) mit den Tumorsuppressorproteinen p53 und Retinoblastomprotein (Rb), die eine Schlüsselstellung in der Zellregulation besitzen (Levine 1993), ist bisher am besten untersucht.

Das E6-Onkoprotein bindet p53, so daß es über die Ubiquitin-abhängige Proteolyse zur Degradation dieses Tumorsuppressorgens kommt (Park et al. 1995; Scheffner et al. 1993). P53 kann sowohl Apoptose, als auch Zellzyklusarrest zur Behebung von DNA-Schäden induzieren. Der Verlust von p53 in E6-exprimierenden Zellen kann zu einer unkontrollierten Zellzyklusprogression und Akkumulation genetischer Mutationen führen und somit zur neoplastischen Zelltransformation beitragen.

Das E7-Onkoprotein kann mit dem Tumorsuppressor Retinoblastoma-Protein (Rb) und seinen verwandten Proteinen p107 und p130 Komplexe bilden (Scheffner et al. 1994; Park et al. 1995). In normalen nicht HPV-infizierten Zellen spielen diese Proteine eine zentrale Rolle im Zellzyklus, indem sie die Bildung verschiedener, an der DNA-Replikation in der S-Phase beteiligter, Proteine kontrollieren. Durch die Bindung des HPV 16 E7-Onkoproteins an Rb, sowie p107 und p130, wird dieser Mechanismus gestört. Es kommt zur unkontrollierten Transkription von Zellzyklus-abhängigen Genen.

Auch Veränderungen der Regulationsmechanismen der spezifischen Akzeptorsequenzen der URR, zum Beispiel durch die Integration der HPV-DNA (zur Hausen 1988) oder die Deletion der URR-Region (May et al. 1994) können zu einer unkontrollierten Onkogenexpression und damit möglicherweise zu einer neoplastischen Transformation führen. In den meisten Zervixkarzinomen (70%) ist die HPV-DNA in das Wirtsgenom integriert (Schwarz et al. 1985), in gutartigen Läsionen hingegen liegt sie in zirkulärer, extra-chromosomaler, episomaler Form vor (Cullen et al. 1991). Die Angaben zur Häufigkeit integrierter HPV-DNA in präinvasiven Zervixläsionen schwanken zwischen 5 und 50%; dabei kann es sich um Risikoläsionen mit höherer Progressionswahrscheinlichkeit handeln (Cullen et al. 1991; Klaes et al. 1999).

Die kanzerogene Wirkung der high-risk HPV mit den Onkoproteinen E6 und E7 läßt sich durch eine funktionelle Inaktivierung der Tumorsuppressorgene p53 und Rb nicht vollständig erklären.

1.1.3 Mögliche Progressionsfaktoren der CIN

Welche zusätzlichen Faktoren außer der Infektion mit onkogenen HPV-Typen eine Rolle für die Entwicklung einer atypischen oder invasiven Läsion spielen, ist Inhalt zahlreicher Forschungsprojekte. Bei virusassoziierten Tumorerkrankungen besteht typischerweise eine jahrelange Latenz zwischen der Primärinfektion und dem Auftreten des invasiven Karzinoms und nur bei einem geringen Prozentsatz der virusinfizierten Personen kommt es überhaupt zur malignen Entartung (Butz und Hoppe-Seyler 1995). Eine zusätzliche Schädigung der Wirtszelle oder eine genetische Disposition ist zur Kanzerogenese erforderlich.

Mögliche zusätzliche Progressionsfaktoren sind

- virale Marker, z.B. die Viruskonzentration,
- tumorbiologische Marker, z.B. das Enzym Telomerase, die chromosomale Aneuploidie und
- humangenetische Marker, z.B. eine bestimmte Konstellation der HLA-Allele.

Die Frage der Bedeutung der Viruskonzentration (viral load) wird kontrovers diskutiert. Einige Untersuchungsergebnisse zeigen, daß die Zahl der Viruskopien im Zellabstrich mit dem onkogenen Potential korreliert (Greenberg et al. 1995). Bei Frauen mit dysplastischen Läsionen ist die Zahl der Viruskopien 5-fach höher als bei Frauen mit HPV-Infekt und normaler Zytologie (Villa et al. 1995). Bei Nachweis hoher HPV-16-Konzentrationen könnte die Wahrscheinlichkeit zur Entwicklung einer schweren Dysplasie mit bis zu 90% vorhergesagt werden (Cuzick et al. 1992; Cuzick et al. 1994). Um den diagnostischen Wert der HPV-Konzentration als prognostischen Marker für den Krankheitsverlauf zu ermitteln, sind noch weitere Untersuchungen erforderlich.

Das Enzym Telomerase trägt zur Zellimmortalisierung bei, die wahrscheinlich eine entscheidende Voraussetzung für die maligne Transformation darstellt. Die Verkürzung der Chromosomen während der Zellteilung durch unvollständige Replikation von repetitiven DNA-Sequenzen, den Telomeren, stellt ein wesentliches Merkmal der zellulären Seneszenz dar. Das Enzym Telomerase restauriert die Telomere und wirkt so an der Immortalisierung der Zellen. Bei HPV 16 E6 transfizierten, menschlichen Keratinozyten konnte eine hundertfache Zunahme der Telomeraseaktivität und der Zellimmortalisierung induziert werden (Klingelhutz et al. 1996). Auch in

Zervixkarzinomen und in präneoplastischen Läsionen wurde Telomeraseaktivierung in enger Assoziation mit viraler Onkogenexpression nachgewiesen (Riethdorf S et al. 2001).

Die chromosomale Aneuploidie der zytologischen Präparate könnte ein möglicher zusätzlicher Marker der neoplastischen Transformation sein. Aufgrund von Defekten bestimmter Mitose-Gene ist die reguläre Aufteilung der Chromatiden gestört und es kommt zu numerischen und/oder strukturellen Chromosomenaberrationen. Das Ausmaß der DNA-Aneuploidie korreliert mit dem Grad der Malignität (Boecking et al. 1986). Nach einer Untersuchung von Boecking liegt der mittlere positive prädiktive Wert bei bis zu 95% und der negative Vorhersagewert bei 98% (Boecking 1998).

Aktuell werden als weitere Prognosefaktoren onkogene Virussubtypen (Londesborough et al. 1996) und noch zu identifizierende Tumorgene diskutiert (Nees et al. 1998).

Nach übereinstimmender Auffassung ist eine dieser zusätzlichen Untersuchungsmethoden allein nicht in der Lage, eine hinreichende Aussage zum Verlauf der HPV-Infektion zu machen.

Die Diskussion humangenetischer Marker konzentriert sich auf eine bestimmte Konstellation der HLA-Allele und wird in den folgenden Kapiteln ausführlich dargestellt.

1.1.4 Immunabwehr gegen HPV

Die Immunabwehr bei HPV-Infektion und HPV-induzierten Läsionen ist erst wenig verstanden. Sowohl zelluläre als auch humorale Immunmechanismen spielen eine Rolle beim Verlauf der HPV-Infektion (Pyrhönen 1978; Kirchner 1986). Eine persistierende Infektion, als Hauptrisikofaktor für die Progression der epithelialen Dysplasie, wird erklärt durch eine verminderte Immunkompetenz des Wirtes (Labeit et al. 1995). Die HPV-infizierten Zellen sind dem Immunsystem nur eingeschränkt zugänglich, da sie ausschließlich im epithelialen Gewebe liegen. Die Hauptmediatoren der Immunantwort sind also die Keratinozyten, intraepithelialen Lymphozyten und dendritischen Langerhanszellen (Jenson et al. 1991; Roche und Crum 1991). Im Unterschied zu anderen Virusinfektionen kommt es bei der HPV-Infektion nicht zu einer Virämie während der Replikation (Odunsi und Ganesan 1997).

Bei immunsupprimierten Frauen (Halpert et al. 1986; Benton et al. 1992) besonders mit eingeschränkter zellulärer Abwehr und reduzierter Anzahl an CD4-T-Lymphozyten (Ho et al. 1994) sowie HIV-Infizierten (Laga et al. 1992), ist ein erhöhtes Risiko an HPV-Infektionen und assoziierten prämaligen und malignen Läsionen zu erkranken, beschrieben. Die Effektivität der zellulären Immunabwehr ist wohl entscheidend für den Verlauf der Erkrankung und kann eine Regression der CIN und eine Elimination von HPV bewirken (Kadish et al. 1997). Patientinnen mit eingeschränkter Antikörper-Produktion sind nicht häufiger von HPV-Infektionen betroffen (Benton et al. 1992). Antikörper gegen exprimierte HPV-Proteine der "early region " und "late region" sind nachweisbar (Galloway und Jenison 1990). Einige korrelieren anscheinend mit dem Verlauf der Erkrankung, ohne diesen jedoch zu beeinflussen (Jochmus 1997).

Betrachtet man die Verteilung der Abwehrzellen und Expression von HLA-Molekülen im Tumorgewebe stellen sich folgende Zusammenhänge dar.

Papillomavirus-induzierte Tumore mit spontaner Regression zeigen eine deutliche Infiltration mit CD4-Helfer- und/oder CD8-Killer-T-Lymphozyten im Tiermodell bei Kaninchen und Rindern (Selvakumar et al. 1997; Knowles et al. 1996) sowie auch beim Menschen (Coleman et al. 1994). In zervikalen intraepithelialen Neoplasien ist eine erhöhte Anzahl an CD4-Zellen beschrieben (Tay et al. 1987). Eine reduzierte inflammatorische Immunreaktion, die bei höhergradigen CIN gezeigt worden ist, könnte die Progression der Dysplasie erklären (Tendler et al. 1999). Eine ineffektive lokale Immunabwehr kann zusätzlich durch die verminderte Toxizität natürlicher Killerzellen bedingt sein, wie bei HPV 16-induzierten anogenitalen Dysplasien und invasiven Karzinomen beschrieben (Malejczyk J et al. 1988; Malejczyk J und M 1991).

Die Eliminierung virusinfizierter Zellen ist von der Präsentation der Fremdartigene durch HLA-Klasse 1- und 2-Moleküle an die Lymphozyten abhängig. Interessanterweise zeigen Zervixkarzinomzellen eine Reduktion der Expression von HLA-Klasse 1-Molekülen im Unterschied zu einer gesteigerten Expression von HLA-Klasse 2-Molekülen (Glew et al. 1992). Auch in zervikalen intraepithelialen Neoplasien ist eine Herunterregulation der HLA-Klasse 1-Moleküle beschrieben (Cromme et al. 1993; Duggan-Keen und Lacey 1998). Durch die Reduktion der HLA-Klasse 1-Moleküle, versuchen die HPV-infizierten Zellen der Immunabwehr zu entgehen.

Hingegen ist mit zunehmendem Schweregrad der Dysplasie eine zunehmende Expression von HLA-Klasse 2-Molekülen, besonders HLA-DQ, von Keratinozyten und Langerhanszellen nachweisbar (Mota et al. 1998).

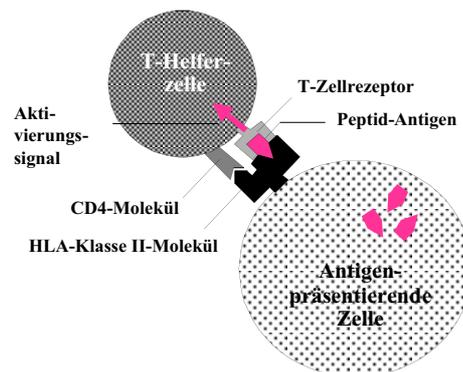
Die HLA-Klasse 2-Moleküle scheinen eine Schlüsselrolle zu tragen, da sie vermehrt von transformierten Zellen exprimiert werden. Außerdem aktivieren sie die, im Tumorgewebe häufiger nachweisbaren, CD4-T-Lymphozyten durch die Präsentation von HPV-Epitopen und setzen dadurch eine Kaskade von Immunreaktionen in Gang.

Die lokale Immunantwort im Epithelgewebe ist der entscheidende Abwehrmechanismus bei HPV-assoziierten Läsionen. Das HLA-System trägt eine zentrale Rolle bei der Abwehr von Virusinfektionen und Eliminierung transformierter Zellen.

Folgende Mechanismen sind vorstellbar, die die Bedeutung des HLA-Phänotyps für die Abwehr von HPV-Infektion und HPV-assoziierten Läsionen erklären:

- Bestimmte HLA-Moleküle präsentieren HPV-Epitope von infizierten dysplastischen Zellen nur ineffektiv den immunkompetenten Zellen, z.B. durch geringe Affinität.
- In der Phase der Deletion von T-Zellen im Thymus werden durch bestimmte Konstellationen die HLA-Moleküle selektiert und deletiert, die für die Abwehr von HPV entscheidend wären.
- Es findet eine aktive Suppression der Immunantwort durch HPV-induzierte Veränderungen statt, z. B. Veränderungen der HLA-Expression der Zellen.
- Ein protektiver Mechanismus einiger HLA-Moleküle ist vorstellbar durch eine hohe Bindungsaffinität zu HPV-Epitopen und eine dadurch effektivere Abwehr.

Abbildung 3: Präsentation von Fremdantigenen durch HLA an T-Lymphozyten



1.1.5 Humanes-Leukozyten-Antigen-(HLA)-System

1954 wurde im Rahmen der Transplantationsmedizin das HLA-System beim Menschen, auch bezeichnet als Haupt-Histokompatibilitätsantigen-Komplex oder MHC (major histocompatibility complex), entdeckt (Dausset 1954).

Die entscheidende Funktion der HLA-Moleküle ist die Bindung von körperfremden Antigenen, z.B. viralen oder bakteriellen Pathogenen, und deren Präsentation an immunkompetente Zellen. Durch den HLA-Peptid-Komplex wird sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunabwehr aktiviert. Die Abwehr fremder Antigene ist also unmittelbar abhängig von der Konstellation des HLA-Systems.

Die Gene, die den HLA-Komplex kodieren, sind auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 lokalisiert (Franke und Pellegrino 1977; Campbell und Trowsdale 1993) und werden in der Regel als Kopplungseinheit, Haplotyp, vererbt. Ein ausgeprägter Polymorphismus kennzeichnet das HLA-System, denn es existieren bis zu 70 verschiedene Allele für einen Genlocus. Für einige dieser Allele wurde ein sogenanntes Kopplungsungleichgewicht beschrieben, das heißt sie treten häufiger in einem Haplotyp gemeinsam auf als populationsgenetisch erwartet. Exprimiert werden die HLA-Gene kodominant, so daß je zwei Antigene an der Zellmembran existieren.

Bei den HLA-Molekülen handelt es sich um transmembranöse Proteine, die aus zwei Ketten bestehen, jeweils einer α - und einer β -Kette. Der proximale Anteil der Moleküle ist in der Zellmembran verankert, der distale, variable Anteil trägt eine Bindungsstelle für Antigen und T-Zellrezeptor. HLA-Moleküle können im Prinzip unzählige Peptide binden, sie sind also nicht spezifisch. Einzelne Aminosäuren in der Bindungsstelle sorgen für die Verankerung verschiedener Peptide (Rammensee et al. 1993).

Man untergliedert zwei Klassen, die sich strukturell und funktionell voneinander unterscheiden: HLA-Klasse 1 mit den Typen HLA-A, -B und -C, sowie HLA-Klasse 2 mit HLA-DR, -DQ, -DP. HLA-Klasse 1-Antigene sind auf allen kernhaltigen Zellen des Menschen zu finden. HLA-Klasse 2-Antigene auf Zellen der Immunabwehr, nämlich den B-Lymphozyten, Makrophagen und einigen anderen professionell antigenpräsentierenden Zellen (APC), z.B. den dendritischen Zellen und Langerhanszellen. Durch Induktion von Interferon- γ können auch Epithelzellen HLA-Klasse 2-Moleküle exprimieren.

HLA-Klasse 1-Moleküle präsentieren intrazelluläre Antigene an CD8-positive zytotoxische T-Zellen. Im Zytosol werden Proteine von Enzymkomplexen, den Proteasomen, in Peptide gespalten und von ATP-abhängigen Transportmolekülen (TAP) in das endoplasmatische Retikulum geleitet. Dort bildet die α -Kette der HLA-Klasse 1 mit einem β 2-Mikroglobulin und dem Peptid einen Komplex, der an die Zellmembran transportiert wird. Das HLA-Molekül mit dem Peptid ist der Ligand für den Rezeptor der CD8-T-Lymphozyten.

HLA-Klasse 2-Moleküle präsentieren die Fremdartigene CD4-positiven T-Zellen, den inflammatorischen und den Helfer-Zellen, die dann eine Kaskade von Abwehrreaktionen auslösen (z.B. Aktivierung von Makrophagen, die die infizierte Zelle eliminieren und Aktivierung von B-Lymphozyten zur Umwandlung in Plasmazellen mit Produktion von Antikörpern und Mediatorstoffen). Lysosomale Peptide, z.B. aus extrazellulären Pathogenen, werden in Endosomen an HLA-Klasse 2-Moleküle gekoppelt und dann auf der Zelloberfläche exprimiert.

1.1.6 HLA und HPV-assoziierte zervikale Läsionen

Die Bedeutung der Konstellation des HLA-System ist bereits für verschiedene virus-induzierte maligne Tumore beschrieben. Sowohl das durch Epstein-Barr-Virus induzierte invasive Nasopharynx-Karzinom (Lu et al. 1990; Liebowitz 1994), als auch Hodgkin-Lymphome (Klitz et al. 1994) zeigen eine Assoziation mit bestimmten HLA-Klasse 2-Allelen. Ein protektiver Mechanismus durch das HLA-Klasse 2-Allel DRB1*1302 vor persistierenden Hepatitis-B-Infektionen, ein Risikofaktor für das invasive hepatozelluläre Karzinom (HCC), ist gezeigt worden (Thursz 1995). Man geht davon aus, daß das Hepatitis-B-Virus an der Entwicklung von ca. 75% bis 90% der Fälle von primären HCC beteiligt ist und sich das karzinogene Risiko für chronisch HBV-infizierte Patienten auf das 100-fache erhöht (Beasley et al. 1988).

Etwa 10% der weltweit auftretenden Krebserkrankungen stehen in Beziehung zu humanen Papillomavirus-Infektionen (zur Hausen 1991). Im Tiermodell ist die Regression HPV-induzierter Tumore mit HLA-DR-Molekülen und ein erhöhtes Risiko der malignen Transformation mit HLA-DQ-Molekülen assoziiert (Han et al. 1992).

Beim Menschen sind die bisherigen Ergebnisse zu Assoziationen von HLA-Genen mit dem invasiven Zervixkarzinom richtungsweisend. Die Resultate bei zervikalen intraepithelialen Neoplasien und die Korrelation mit bestimmten HPV-Typen sind noch uneinheitlich. Ursächlich dafür können unterschiedliche Populationen mit genetischer Heterogenität, unterschiedlich sensitive und spezifische Methoden der HLA- sowie der HPV-Typisierung und geringe Fallzahlen von untersuchten Patientinnen- und Kontrollgruppen sein. Bei Betrachtung von Patientinnen mit präinvasiven Epitheldysplasien kommt erschwerend hinzu, daß die Klassifikation zytologisch oder histologisch erfolgen kann und verschiedene Einteilungsprinzipien Anwendung finden.

Mit Abstand am häufigsten wurde eine positive Korrelation von **HLA-DQB1*03** mit dem invasiven Zervixkarzinom beschrieben (Wank und Thomssen 1991; Hildesheim et al. 1998; Cuzick et al. 2000 u.a.). Eine entscheidende Bedeutung dieser Allele für die Pathogenese der höhergradigen zervikalen neoplastischen Zellveränderungen scheint sehr wahrscheinlich. Als zweithäufigstes Empfänglichkeitsgen wird **DQB1*0602** dargestellt, besonders in Zusammenhang mit Nachweis einer HPV 16- und 18-Infektion (Wank et al. 1993; Gregoire et al. 1994; Apple et al. 1994; Cuzick et al. 2000).

Bemerkenswert sind die Ergebnisse, in denen Korrelationen nur bei Betrachtung spezifischer HPV-Infektionen beschrieben werden. DQB1*0303 und DQB1*0602 sind signifikant positiv assoziiert mit den high-risk HPV-Typen 16 und 18. Für Trägerinnen dieser Allele besteht ein deutlich erhöhtes Risiko, an einer HPV-induzierten zervikalen Neoplasie zu erkranken.

Mehrfach wurde ein protektiver Mechanismus durch das HLA-Klasse 2-Molekül DR13 gezeigt (Apple et al. 1994; Sastre-Garau et al. 1996; Krul et al. 1999).

Nach bisherigem Wissensstand ist noch nicht geklärt, ob die Etablierung der Primärinfektion mit HPV oder die Entwicklung einer malignen Transformation bei bestehender HPV-Infektion durch eine bestimmte Konstellation der HLA-Allele beeinflusst wird.

Die bisher gezeigten Korrelationen von HLA mit invasivem Zervixkarzinom sowie CIN und HPV werden im Rahmen der Diskussion (Kapitel 4.1) näher beschrieben.

1.2 FRAGESTELLUNG DER ARBEIT

Seit Anfang der achtziger Jahre ist allgemein akzeptiert, daß die Infektion mit humanen Papillomaviren ein entscheidender Faktor für die Entstehung zervikaler Neoplasien ist. Trotz der hohen Inzidenz der HPV-Infektion entwickelt jedoch nur eine Minderheit der Frauen eine Epitheldysplasie und davon nur ein geringer Prozentsatz ein invasives Karzinom. In der Tat verläuft der größte Teil der HPV-Infektionen regredient. Welche zusätzlichen Faktoren die zervikale Kanzerogenese beeinflussen ist Schwerpunkt zahlreicher wissenschaftlicher Studien.

Wie bei anderen virus-induzierten Erkrankungen ist vorstellbar, daß die Funktionsfähigkeit der Immunabwehr den Verlauf der HPV-Infektion entscheidend beeinflußt. Nachgewiesen ist, daß immunsupprimierte Frauen ein deutlich erhöhtes Risiko tragen an CIN und invasivem Zervixkarzinom zu erkranken.

Eine Schlüsselrolle der Immunantwort übernimmt das HLA-System durch Präsentation der HPV-Epitope an immunkompetente Zellen.

Hypothese ist, daß durch eine bestimmte Konstellation der HLA-Allele die Immunabwehr gegen HPV und dadurch Entstehung und Verlauf der zervikalen intraepithelialen Neoplasie beeinflußt werden.

Es sind bereits zahlreiche Korrelationen von HLA-Klasse 2-Allelen mit dem invasiven Zervixkarzinom beschrieben. Eine besondere Bedeutung der positiv assoziierten HLA-DQB1*03-Allele ist sehr wahrscheinlich. Die bisher gezeigten Assoziationen mit CIN sind noch uneinheitlich und auch die Zusammenhänge mit HPV-Infektion oder spezifischen HPV-Typen sind nicht abschließend geklärt.

Ziel der Arbeit ist es, an einem norddeutschen Patientinnenkollektiv die Assoziation von HLA- DQB1-Allelen und CIN zu beleuchten.

Untersucht werden Häufigkeitsverteilungen der HLA-DBQ1-Allele bei:

- CIN im Vergleich zu Kontrollen
- CIN unterschiedlichen Verlaufes
- CIN mit Nachweis unterschiedlicher HPV-Infektion.

2 PATIENTINNEN UND METHODEN

2.1 PATIENTINNEN

Das Patientinnenkollektiv setzt sich aus insgesamt 106 norddeutschen Frauen zusammen, die sich in den Dysplasie-Sprechstunden der Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Eppendorf und der gynäkologischen Praxis Frau Dr. Kühler-Obbarius in Hamburg in den Jahren 1997 bis 1999 vorstellten.

Die Untersuchung der Patientinnen in der Dysplasie-Sprechstunde umfaßt die kolposkopische, zytologische und histologische Diagnostik. Bei allen Patientinnen ist histologisch eine zervikale intraepitheliale Neoplasie unterschiedlicher Schweregrade gesichert.

In insgesamt 97 Fällen ist eine HPV-Diagnostik an zytologischen oder histologischen Materialien mit den Verfahren der Polymerasekettenreaktion (PCR) oder des Hybrid Capture Assays durchgeführt worden.

In der überwiegenden Zahl der Fälle, 96 Patientinnen, handelt es sich um die Erstdiagnose einer CIN und die dann anschließende Behandlung. Eine Verlaufsbeurteilung (Beobachtungszeitraum 5 bis 192 Monate) war in 54 Fällen möglich. Acht Patientinnen mit CIN 1 und CIN 2 wurden ohne operative Sanierung der Läsion beobachtet. 17 Patientinnen (2 CIN 1, 4 CIN 2, 11 CIN 3) wurden wegen eines Rezidives nach operativer Therapie in der Dysplasie-Sprechstunde behandelt. 29 Patientinnen wurden in der Sprechstunde in regelmäßigen Nachsorgeuntersuchungen ohne Wiederauftreten der Erkrankung betreut.

Bei allen Patientinnen wurde eine Anamnese erhoben in der allgemeine Erkrankungen und Herkunft erfaßt wurden. Nur norddeutsche Patientinnen, das heißt Frauen mit Eltern norddeutscher Herkunft, wurden in die Studie aufgenommen.

Aus der Anamnese der Patientinnen haben sich bei drei Frauen zusätzliche Erkrankungen ergeben, nämlich Hyperprolaktinämie, Morbus Crohn und invasives Mammakarzinom. In allen Fällen lag diese Erkrankung Jahre zurück und es bestand keine Therapie zum Zeitpunkt der Diagnose der CIN. Aufgrund keiner bewiesenen oder

vermuteten Korrelation dieser Erkrankungen mit bestimmten HLA-Allelen wurden die Patientinnen in die weitere Auswertung eingeschlossen.

Das mediane Lebensalter lag bei 30,5 Jahren (19-52 Jahre).

Die Behandlung der Patientinnen erfolgte in unterschiedlicher Weise, abhängig vom Schweregrad der Dysplasie und der individuellen Lebenssituation entsprechend der Empfehlung der Arbeitsgemeinschaft für Zervixpathologie und Kolposkopie der deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe.

Das Kontrollkollektiv setzt sich aus insgesamt 116 norddeutschen Frauen mit unauffälliger Exfoliativzytologie innerhalb des vorhergehenden Jahres und ohne anamnestisch bekannte genitale Erkrankungen zusammen. Es handelt sich dabei um Patientinnen und Mitarbeiterinnen der Universitätsfrauenklinik Hamburg-Eppendorf. Insgesamt waren 110 Frauen Wöchnerinnen oder Schwangere (95% der Kontrollgruppe), die in der Universitätsfrauenklinik betreut worden sind. Eine Anamnese mit Fragen zur Herkunft, genitalen und allgemeinen Erkrankungen wurde in allen Fällen erhoben. Zusätzliche Erkrankungen sind bei 3 Frauen bekannt. In 2 Fällen handelt es sich um Neurodermitis; bei einer Patientin wurde eine fokale noduläre Hyperplasie (FNH) der Leber diagnostiziert. Da ein gehäuftes Auftreten dieser Erkrankungen nach dem derzeitigen Wissensstand nicht mit bestimmten HLA-Typen korreliert, wurden diese 3 Frauen in die Untersuchungen der Kontrollgruppe mit einbezogen.

Das mediane Lebensalter des Kontrollkollektives lag bei 31,7 Jahren (17-72 Jahre) und unterschied sich damit nicht signifikant von dem der Patientinnengruppe (30,5 Jahre).

Alle Frauen gaben nach entsprechender Aufklärung ihre Einwilligung zur wissenschaftlichen Auswertung der erhobenen Befunde.

2.2 METHODEN

2.2.1 Histologische CIN-Diagnostik

Bei allen Patientinnen wurde histologisch eine zervikale intraepitheliale Neoplasie gesichert und entsprechend der Klassifikation nach Richart aus dem Jahre 1973 als CIN 1, CIN 2 und CIN 3 beschrieben. Die histologische Diagnostik erfolgte bei 78 Patientinnen in der Abteilung für Gynäkopathologie des Universitätsklinikums

Eppendorf, bei 18 Frauen in der Praxis Dr. Scotland, Hamburg, und bei 10 Frauen durch andere histopathologische Labore.

Die Diagnostik wurde an Probeentnahmen der Portio vaginalis, Zervixabradaten, Präparaten nach LLETZ (large-loop-exzision of the transformation zone), Konisation oder Hysterektomie durchgeführt. Ergaben sich unterschiedliche Schweregrade in verschiedenen Präparaten wurde jeweils der schwerste Grad der Dysplasie als Diagnose gewertet.

Alle Präparate wurden nach Fixation in 5%igem Formalin und Paraffineinbettung geschnitten, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt und mikroskopisch beurteilt.

2.2.2 HPV-Diagnostik

Im Wandel der Entwicklung änderte sich während des Untersuchungszeitraumes die Methode der HPV-Diagnostik.

Der Nachweis einer HPV-Infektion erfolgt gegenwärtig durch Nachweis von HPV-DNA infizierter Zellen aus zytologischen oder histologischen Präparaten. Als molekularbiologische Techniken stehen die Polymerasekettenreaktion (PCR) und der Hybrid Capture Assay zur Verfügung.

Zu Beginn der Untersuchungen wurde die PCR mit einem general primer, GP5+/GP6+ (de Roda Husman et al. 1996), an zervikalen Abstrichen durchgeführt.

Seit 1997 kam zunehmend das Verfahren des Hybrid Capture Assays zur Anwendung mit Differenzierung von 13 high-risk HPV-Typen (16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) und 5 low-risk HPV-Typen (6, 11, 42, 43, 44) ohne weitere Spezifizierung (Wright et al. 1998).

Durch eine typenspezifische PCR konnten Nachweise von HPV 16 (URR; forward 5'-GCAGCTCTGTGCATAAC-3'; reverse 5'-CTGCACATGGGTGTGTGC-3'), HPV 18 (E2; forward 5'-GAATTCACCTCTATGTGCAG-3'; reverse 5'-TAGTTGTTGCCTGTAGGTG-3') und HPV 6/11 (forward 5'-CTCTGCCGGTGGTCAGTGCAT-3'; reverse 5'-ATGCCTCCACGTCTGCAAC-3') erbracht werden (Riethdorf S et al. 2000).

Von insgesamt 97 Patientinnen (92%) liegt eine HPV-Diagnostik vor. Bei 89 Patientinnen wurde diese Analyse an zytologischem (n=72) oder histologischem Material (n=17) durchgeführt, das zum Zeitpunkt der Erkrankung entnommen worden ist. In den anderen 8 Fällen erfolgte die HPV-Diagnostik bei Auftreten des Rezidivs.

2.2.3 HLA-Typisierung

Die serologische Bestimmung der HLA-Klasse 2-Merkmale ist mit einer hohen Fehlerrate behaftet. Daher erfolgt die Bestimmung der HLA-Klasse 2-Antigene heute durch die DNA-Typisierung der kodierenden polymorphen Gensequenzen.

Die Sequenzierung der HLA-DQB1-Allele wurde an peripheren Lymphozyten in dem Labor Professor Wank des Institutes für Immunologie der Ludwig-Maximilian-Universität in München durchgeführt.

Aus peripherem Blut wurden durch Ficoll-Gradient Lymphozyten separiert und anschließend die DNA extrahiert. Die polymorphen DNA-Abschnitte der HLA-Allele wurden zunächst mit Primersequenzen für DQB1*05/*06 sowie DQB1*02/*03/*04 amplifiziert. Die PCR-Produkte wurden dann mit einer ALF Express Maschine automatisch sequenziert, so daß Ergebnisse für 18 verschiedene HLA-DQB1-Allele vorliegen: *0201, *0202, *03011, *0302, *03032, *0304, *0305, *0402, *05011, *0502, *05031, *05032, *06011, *06012, *0602, *0603, *06041, *0607.

Die Blutentnahme erfolgte bei den Patientinnen im Rahmen der Dysplasie-Sprechstunden und bei der Kontrollgruppe in der Universitätsfrauenklinik in Hamburg. Es wurden jeweils drei Vacutainer à 8 ml (CPTTM, Becton Dickinson) pro Patientin abgenommen. Innerhalb von 2 Stunden nach Blutentnahme wurde die Zentrifugation durchgeführt. Zwei Proben wurden per Kurierdienst an das Institut für Immunologie in München gesendet und dort innerhalb von 48 Stunden nach Blutentnahme weiter verarbeitet.

Von jeweils einem Probenröhrchen wurde in Hamburg in dem Labor für gynäkologische Endokrinologie und dem Labor für molekulare Onkologie der Frauenklinik die Lymphozytenseparation durchgeführt und die Zellen in flüssigem Stickstoff asserviert.

In 25 Fällen mußten für die HLA-Typisierung Lymphozytenproben, nach bis zu drei Jahren Asservation, aus Hamburg nach München verschickt werden. An diesen Proben wurde wegen Zellmangels dort eine "nested PCR" vor der automatischen Sequenzierung durchgeführt.

Im Institut für Immunologie, Labor Professor Wank, war zum Zeitpunkt der Durchführung der HLA-Typisierung die Zuordnung der Proben zu Patientinnen- oder Kontrollkollektiv nicht bekannt ("blinde Bestimmung").

2.2.3.1 Präparation der DNA aus Lymphozyten

Die folgende Methode wurde im Institut für Immunologie der Ludwig-Maximilian-Universität in München von Diplombiologe S. Gu durchgeführt.

Zur DNA-Präparation aus den peripheren Blutlymphozyten wurde der QIAamp blood Kit verwendet. Alle Handlungen wurden nach folgendem Vorgehen, gemäß des QIAamp blood Kit und QIAamp tissue Kit Handbuchs, durchgeführt.

A: Proben (bis zu 10⁷ Lymphozyten in 0,2 ml PBS) in 1,5 ml Eppendorf-Gefäße pipettieren

B: 25 µl QIAGEN Protease Stammlösung und 0,2 ml Puffer AL zugeben, Probe sofort 15 Sekunden vortexen

C: bei 70°C für 10 Minuten inkubieren

D: Zugabe von 0,21 ml Ethanol (96-100%) und erneut mischen

E: QIAamp Zentrifugenröhrchen in ein 2 ml Sammeltube stellen und die vorbehandelte Probe zugeben. Bei 6000 g eine Minute zentrifugieren, Röhrchen in ein neues Sammeltube stellen und das alte zusammen mit dem Filtrat verwerfen.

F: 0,5 ml Puffer AW zugeben und wieder 1 Minute bei 6000 g zentrifugieren, das alte Gefäß verwerfen und das Röhrchen in ein neues stellen.

G: Probe erneut mit 0,5 ml Puffer AW waschen und 3 Minuten mit Maximalgeschwindigkeit zentrifugieren.

H: Röhrchen in ein neues 1,5 ml Eppendorf-Gefäß stellen, DNA mit 0,2 ml Puffer AE oder auf 70°C vorgeheiztem destilliertem Wasser verdünnen. Bei Raumtemperatur eine Minute inkubieren, dann bei 6000 g eine Minute zentrifugieren.

I: Die DNA ist nun gebrauchsfertig zur PCR-Amplifikation oder kann bei 4°C zur späteren Verarbeitung gelagert werden.

2.2.3.2 PCR Reaktion für DQB1 Exon2

Primersequenzen für DQB1*05, DQB1*06:

5'forward DQB95010 Bio-GCA TGT GCT ACT TCA CCA ACG

3'reverse DQB95011 CAG GAT CCC GCG GTA CGC CA

Primersequenzen für DQB1*02, DQB1*03 und DQB1*04:

5'forward DQB95010 Bio-GCA TGT GCT ACT TCA CCA ACG

3'reverse DQB95012 CCG CTG AGT TGT GTC TGC ACA C

Sequenzierungsprimer:

DQB95013f Cy5-CCT CGT AGT TGT GTC TGC ACA C

PCR-Programm:

Schritt 1: 95°C 2 min

Schritt 2: 95°C 30 sec

Schritt 3: 56°C 30 sec

Schritt 4: 72°C 45 sec

Schritt 2-4 35x wiederholen

Schritt 5: 72°C 5 min

Schritt 6: 4°C Endtemperatur

Die PCR-Produkte wurden auf einem Agarosegel getestet.

2.2.3.3. Sequenzierung

Die PCR-Produkte wurden mittels einer ALF Express Maschine sequenziert.

Reagenzien und Puffer:

Bindungspuffer: 2 M NaCl, 10 mM Tris / HCl pH 7,6, 1 mM EDTA

TE pH 8,0

1 M HCl

1 M NaOH

DYNA Beads M-280

- PCR-Produkt (40µl) in ein 1,5 ml Eppendorf-Gefäß geben
- 0,3 ml DYNA-Beads-Suspension in ein weiteres Gefäß auf dem Magnetic Particle Concentrator (MPC) geben
- Beads zweimal mit 0,1 ml Bindungspuffer waschen
- 40 µl der gewaschenen Beads mit dem Bindungspuffer zum PCR-Produkt dazugeben
- Mischung 20 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubieren
- Beads erneut mit Bindungspuffer und anschließend mit TE waschen
- DNA mit 0,1 M NaOH (8µl/Röhrchen) 10 Minuten bei Raumtemperatur denaturieren
- Magneten in den MPC geben und das NaOH in ein Gefäß mit 4 µl 2M HCl transferieren (mit dem Überstandstrang darin)
- 0,75 µl Tris/HCl pH 7,6 hinzufügen
- Überstandstränge sind fertig

- Beads mit Bindungspuffer und TE waschen, dann in Wasser waschen und wieder in 13 µl Wasser verdünnen, Beads-Strang ist ebenfalls fertig

Die folgenden verwendeten Reagenzien (ddNTP, T7-Polymerase, Anlagerungspuffer, Extensionspuffer, Stoppuffer) entstammen alle dem ALF autoread200 Sequenzierungs Kit.

- Stränge mit 2 µl Sequenzierungsprimer und 2 µl Anlagerungspuffer bei 65°C für 10 Min. inkubieren

- Mischung bei Raumtemperatur 10 Min. bis 2 Std. inkubieren

- 3 µl ddNTP zur Therasaki-Platte in der Reihenfolge ACGT hinzufügen

- 6 µl T7-Polymerase mit 18 µl Verdünnungspuffer mischen

- Davon 2 µl mit 1 µl Extensionspuffer zu den Strängen geben

- Reaktion in einem 37°C Wasserbad durch Zugabe von 45 µl Stranglösung zu den A,C,G,T-Löchern zum Ende bringen und nach 5 Min. durch Zugabe von 5 µl Stoppuffer in jedes Loch beenden

Die endgültigen Proben werden auf das ReproGel High Solution (Pharmacia Biotech) aufgebracht und laufen dann auf der ALF Express Maschine.

Die hierbei erzielten Ergebnisse werden durch das AIFwin Sequence Analyses Version 2.00 prozessiert und durch das HLA SequiTyper Version 2.00 typisiert.

2.2.4 Therapie

Je nach Schweregrad der CIN und individueller Lebenssituation der Patientin wurde eine Therapie entsprechend der Empfehlung der Arbeitsgemeinschaft für Zervixpathologie und Kolposkopie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (Heinrich 1998) durchgeführt.

Als operative Verfahren kamen destruierende und ablativetechniken zur Anwendung. Die Oberflächendestruktion zur Behandlung ektozervikaler niedriggradiger CIN-Läsionen erfolgte mit einem CO₂-Laser. Als ablativetechniken wurde überwiegend die Hochfrequenzchirurgie, die Schlingenexzision (LLETZ) durchgeführt. Bei Erfordernis einer Konisation erfolgte diese als Messer- oder Laserkonisation. Die einfache Hysterektomie wurde abdominal oder vaginal ohne Lymphonodektomie in üblicher Weise durchgeführt.

2.3 AUSWERTUNG UND STATISTIK

Die Auswertung der Daten erfolgte nach verschiedenen Kriterien.

Die Verteilung der HLA-DQB1-Allele des Patientinnenkollektives mit nachgewiesener CIN (n=106) wurde dem Kontrollkollektiv (n=116) gegenübergestellt. Außerdem wurde die Häufigkeitsverteilung der HLA-Allele bei unterschiedlichen Schweregraden und Verlauf der CIN sowie in Abhängigkeit vom HPV-Nachweis untersucht.

Die jeweiligen Häufigkeiten wurden in Kreuztabellen erstellt und die Gleichheit der Gruppen mittels Pearsons Chiquadrat-Test und dem zweiseitigen exakten Test nach Fisher für kleine Stichproben überprüft. Ein p-Wert kleiner als 0,05 (nach log rank) galt als statistisch signifikant. Das Relative Risiko mit 95% Confidenzintervall wurde berechnet und die OR (odds ratio) als "case-control"-Wert angegeben.

Die Gruppe der leicht und mittelgradigen CIN (17 CIN 1 und 22 CIN 2) umfaßt für Analysen von statistischer Signifikanz eine zu geringe Anzahl von Patientinnen. Die Berechnungen zur Assoziation von HLA-DQB1-Allelen mit den verschiedenen Schweregraden der CIN können nur als hinweisend gewertet werden.

Subgruppenanalysen wurden bei Patientinnen mit niedriggradigen Dysplasien als Verlaufsbeobachtung und bei Patientinnen mit rezidivierenden Dysplasien vorgenommen.

Der Verlauf der CIN 1 und CIN 2 wurde bei insgesamt acht Patientinnen über einen Zeitraum von 6 bis 64 Monaten beobachtet. In dieser Subgruppe wurde die Häufigkeitsverteilung der HLA-DQB1-Allele bei regredierendem, stabilem oder progredientem Verlauf betrachtet.

Patientinnen mit Rezidiv einer Dysplasie wurden Patientinnen ohne Rezidiv bei entsprechender histologischer Diagnose, HPV-Infektion, Therapie und gleichem Beobachtungszeitraum gegenübergestellt. Da es sich hierbei um eine zeitabhängige Betrachtung handelt, wurde eine Überlebensanalyse nach Kaplan-Meyer durchgeführt. Das Auftreten eines Rezidives wurde als Ereignis definiert und in Abhängigkeit von dem HLA-DQB1-Allel als Faktor betrachtet. Die statistische Signifikanz wurde berechnet und ein p-Wert kleiner als 0,05 nach log rank als signifikant gewertet.

Die Korrelation von HLA-DQB1-Allelen mit dem Auftreten einer HPV-Infektion ist in unterschiedlichen Kollektiven der Patientinnen untersucht worden. Da innerhalb des Kontrollkollektives keine HPV-Typisierung erfolgte, wurden Patientinnen mit CIN und unterschiedlichem HPV-Nachweis miteinander verglichen. HPV-positive CIN wurden HPV-negativen, high-risk HPV-positive high-risk HPV-negativen und HPV 16-positive HPV 16-negativen CIN gegenüber gestellt.

Die Auswertung der HPV 18- und HPV 6/11-Infektion erbrachte, entsprechend der erwarteten Häufigkeit, wenig positive Fälle ohne weitere statistische Analysen.

Als statistisches Programm wurde SPSS 6.1.3 für Windows der Landeshochschulen Hamburg (Lizenznummer: 1753508) vom 03.10.1995 verwendet.

3 ERGEBNISSE

3.1 CIN

3.1.1 Schweregrad der CIN

Von 106 Patientinnen mit CIN wurden, entsprechend der Klassifikation von Richart aus dem Jahre 1973, 17 CIN 1, 22 CIN 2 und 67 CIN 3 diagnostiziert (Tabelle 3.1.1).

In 15 Fällen ist die histologische Diagnose nicht exakt einem Schweregrad zugeordnet, sondern in 8 Fällen als CIN 1-2 und in 7 Fällen als CIN 2-3 bewertet worden. Diese Fälle wurden jeweils der höhergradigen histologischen Klassifikation zugeordnet, das heißt CIN 1-2 in die Gruppe der CIN 2 und CIN 2-3 in die Gruppe der CIN 3. Bei den Patientinnen mit CIN 3 lag in 35 Fällen eine schwere Dysplasie und in 32 Fällen ein Carcinoma in situ, davon in 2 Fällen ein mischzelliges, adenosquamöses Carcinoma in situ, vor.

Tabelle 3.1.1 Schweregrade der CIN

CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIN ges.
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
17 (16)	22 (21)	67 (63)	106 (100)

3.1.2 Verlauf der CIN

3.1.2.1 Beobachtung CIN 1 und CIN 2

Acht Patientinnen (3 CIN 1, 5 CIN 2) wurden über einen Zeitraum von 6 bis 64 Monaten beobachtet. Nach bioptisch gesicherter CIN wurden in ungefähr dreimonatlichen Abständen in der Dysplasiesprechstunde kolposkopische und zytologische Verlaufsbeurteilungen durchgeführt.

Bei 3 Patientinnen (1 CIN 1, 2 CIN) kam es nach 7 bis 19 Monaten zum Regreß der Erkrankung mit unauffälligen Kontrollbefunden. 4 Patientinnen (1 CIN 1, 3 CIN 2) zeigten eine persistierende Neoplasie. In einem Fall progredierte eine CIN1 zu CIN 2-3 (Tabelle 3.1.2.1). Entsprechend der erhobenen Befunde wurde bei Progression oder Persistenz der Läsion und auf Wunsch der Patientin in 3 Fällen nach 6, 23 und 24 Monaten eine operative Therapie durchgeführt.

In 6 Fällen liegen Ergebnisse der HPV-Diagnostik vor (siehe Kap. 3.2.2).

Tab. 3.1.2.1 Verlauf von acht CIN, Beobachtungszeitraum 6 bis 64 Monate

	CIN 1 n=03	CIN 2 n=05	CIN ges. n=08
Regression	01	02	03
Persistenz	01	03	04
Progression	01	00	01

3.1.2.2 Rezidivierende CIN nach operativer Therapie

Siebzehn Patientinnen wurden wegen rezidivierender CIN in der Dysplasie-Sprechstunde behandelt. In der histologischen Diagnose bei Primäroperation waren die Resektatränder als frei von Dysplasien beschrieben worden.

In 3 Fällen trat das Rezidiv nach einem Zeitraum von mehr als 5 Jahren nach Primärdiagnose auf. Diese Patientinnen wurden aus der Subgruppenanalyse ausgeschlossen, da keine Patientin mit ähnlich langem Beobachtungszeitraum ohne Rezidiv untersucht wurde.

Bei 14 Patientinnen trat das Rezidiv innerhalb von 5 bis 45 Monaten nach Therapie auf (medianer Beobachtungszeitraum 20 Monate). Dieser Subgruppe wurden Patientinnen ohne Rezidiv mit entsprechender Diagnose, Therapie und ähnlichem Beobachtungsintervall, 5 bis 36 Monate (medianer Beobachtungszeitraum 15 Monate), gegenüber gestellt (Tabelle 3.1.2.2).

Tab.3.1.2.2 Rezidive nach CIN

	CIN 1 n=04 (%)	CIN 2 n=07 (%)	CIN 3 n=32 (%)	CIN ges. n=43 (%)
Rezidiv	01 (25)	03 (43)	10 (31)	14 (33)
Kein Rezidiv	03 (75)	04 (57)	22 (69)	29 (67)

3.2 HPV-INFEKTION

3.2.1 HPV-Infektion und CIN

Bei 97 Patientinnen (92% der CIN-Patientinnen) kann eine Aussage über das Vorliegen einer **HPV-Infektion** ohne Typenspezifizierung gemacht werden.

Insgesamt waren 76 Patientinnen HPV-positiv (78%). Mit zunehmendem Schweregrad der Dysplasie zeigte sich eine zunehmende Häufigkeit HPV-positiver Befunde, bei CIN 3 in 90% (57/63) der Fälle (Tabelle 3.2.1.a).

In der Gruppe der als HPV-negativ bezeichneten Patientinnen (n=22) erbrachten unterschiedliche Untersuchungsmethoden negative Ergebnisse. Bei acht Patientinnen waren alle durchgeführten Testverfahren negativ (general primer PCR, typenspezifische HPV 16, 18, 6/11 PCR und Hybrid Capture Assay). In vier Fällen wurden alle PCR-Methoden durchgeführt, aber kein Hybrid Capture Assay. Drei weitere Patientinnen hatten negative Ergebnisse der general primer PCR, in einem Fall wurde zusätzlich ein Hybrid Capture Assay durchgeführt. Bei den weiteren sechs Fällen zeigte der Hybrid Capture Assay negative Ergebnisse, davon in einem auch die HPV-typenspezifische PCR.

Tab. 3.2.1.a HPV-Nachweis (PCR oder Hybrid Capture Assay) bei 97 Patientinnen

	CIN 1 n=15 (%)	CIN 2 n=19 (%)	CIN 3 n=63 (%)	CIN ges. n=97 (%)
HPV-negativ	07 (47)	08 (42)	06 (10)	21 (22)
HPV-positiv	08 (53)	11 (58)	57 (90)	76 (78)

Von diesen 97 Patientinnen wurde in 87 Fällen durch Hybrid Capture Assay oder spezifische PCR die Infektion mit **high-risk HPV** untersucht.

In den meisten Fällen (n=62, 71%) handelte es sich um eine Infektion mit high-risk HPV, bei CIN 3 sogar in 85% (46/54) der Fälle (Tabelle 3.2.1.b). Von 25 high-risk HPV-negativen Patientinnen lagen für alle negative Ergebnisse des Hybrid Capture Assays vor und von 17 zusätzlich negative Resultate der PCR.

Tab.3.2.1.b High-risk HPV (hrHPV)-Nachweis bei 87 Patientinnen

	CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIN ges.
	n=14 (%)	n=19 (%)	n=54 (%)	n=87 (%)
hrHPV-negativ	08 (57)	09 (47)	08 (15)	25 (29)
hrHPV-positiv	06 (43)	10 (53)	46 (85)	62 (71)

Mit typenspezifischer PCR wurde bei 76 Patientinnen **HPV 16** detektiert.

Eine Infektion mit HPV 16 lag in 50% (38/76) der Fälle vor, davon in 61% der Patientinnen mit CIN 3.

Tab. 3.2.1.c HPV 16-Nachweis bei 76 Patientinnen

	CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIN ges.
	n=10 (%)	n=15 (%)	n=51 (%)	n=76 (%)
HPV 16-negativ	06 (60)	12 (80)	20 (39)	38 (50)
HPV 16-positiv	04 (40)	03 (20)	31 (61)	38 (50)

Eine Infektion mit **HPV 18** war in 5 von 71 Fällen (7%) nachweisbar, ausschließlich in CIN 2 und CIN 3.

Tab. 3.2.1.d HPV 18-Nachweis bei 71 Patientinnen

	CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIN ges.
	n=09 (%)	n=15 (%)	n=47 (%)	n=71 (%)
HPV 18-negativ	09 (10)	12 (80)	45 (96)	66 (93)
HPV 18-positiv	00 (00)	03 (20)	02 (04)	05 (07)

Bei 69 Patientinnen wurde eine typen-spezifische PCR für **HPV 6/11** durchgeführt, die in 13% der Fälle (n=9) positiv war.

Tab. 3.2.1.e HPV 6/11-Nachweis bei 69 Patientinnen

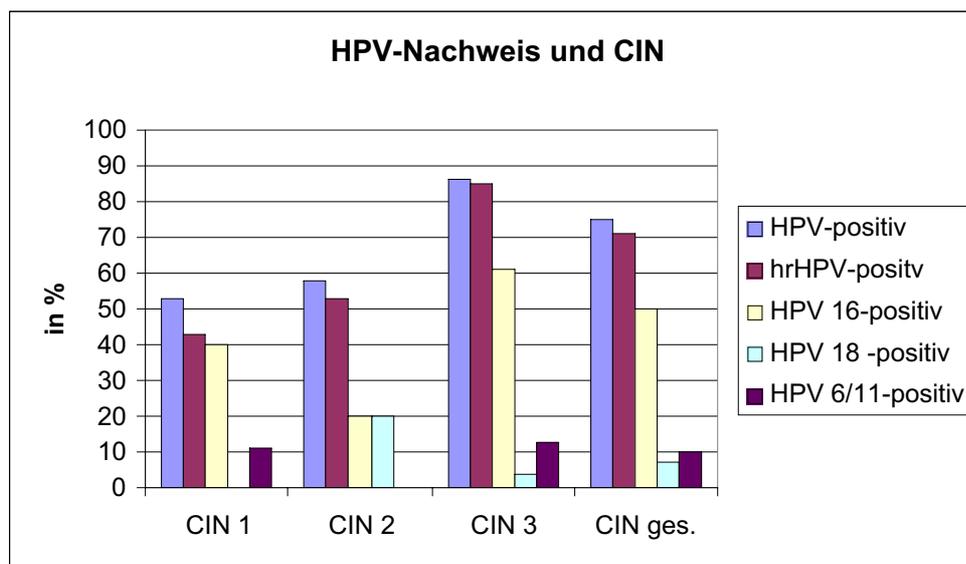
	CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIN ges.
	n=09 (%)	n=14 (%)	n=46 (%)	n=69 (%)
HPV 6/11-negativ	08 (89)	13 (93)	39 (85)	60 (87)
HPV 6/11-positiv	01 (11)	01 (07)	07 (15)	09 (13)

Zusammenfassend lassen sich die Ergebnisse der HPV-Diagnostik folgendermaßen darstellen:

Tab. 3.2.1.f Übersichtstabelle HPV-Infektion in % bei CIN

	CIN 1 (%)	CIN 2 (%)	CIN 3 (%)	CIN ges. (%)
HPV-positiv	53	58	90	78
hrHPV-positiv	43	53	85	71
HPV 16-positiv	40	20	61	50
HPV 18 -positiv	00	20	04	07
HPV 6/11-positiv	11	07	15	13

Diagramm 3.2.1



3.2.2 HPV-Infektion und Verlauf der CIN

Von insgesamt 8 Patientinnen (3 CIN 1 und 5 CIN 2) wurde der Verlauf der Erkrankung beobachtet. Bei 6 Patientinnen sind während des Beobachtungszeitraumes HPV-Nachweise durchgeführt worden.

In 3 Fällen lag eine persistierende high-risk HPV-Infektion vor und diese Patientinnen zeigten persistierende CIN 2. Eine Patientin mit Regression einer high-risk HPV-Infektion zeigte eine Regression der Dysplasie (CIN 2). Eine Patientin ohne HPV-Nachweis (bei 6 entnommenen Abstrichen) hatte eine Regression einer CIN 2. Bei einer Patientin mit persistierendem low-risk HPV-Nachweis bildete sich eine CIN 1 zurück. In 2 Fällen kann keine Aussage zum HPV-Verlauf gemacht werden.

3.3 HLA-TYPISIERUNG

3.3.1 HLA-Typisierung und CIN

Für die Berechnung der Assoziation von HLA-DQB1-Allelen und CIN wurde das Auftreten pro Patientin untersucht, das heißt homozygotes Auftreten wird als ein Fall gewertet. Dies entspricht der Untersuchung von Phänotypen (Tabelle 3.3.1a).

Die Sequenzierung von 18 verschiedenen HLA-DQB1-Allelen ergab für neun Allele (DQB1*0201, *03011, *0302, *03032, *05011, *05031, *0602, *0603, *06041) Häufigkeiten von wenigstens 5% (>10 Fälle) im Gesamtkollektiv, für die dann die Verteilung in den unterschiedlichen Gruppen statistisch analysiert wurde. Aufgrund der niedrigen natürlichen Häufigkeit der anderen neun Allele (DQB1*0202, *0304, *0305, *0402, *0502, *05032, *06011, *06012, *0607) wurde auf eine statistische Aussage über Unterschiede der Verteilung verzichtet.

Tab 3.3.1a HLA-DQB1-Allele bei CIN, Kontrollen und im Gesamtkollektiv

HLA-DQB1	CIN n=106 (%)	Kontrollen n=116 (%)	Ges.Kollektiv n=222 (%)
*0201	34 (32)	50 (43)	84 (38)
*0202	00 (00)	04 (03)	04 (02)
*03011	43 (41)	23 (20)	66 (30)
*0302	05 (05)	25 (22)	30 (14)
*03032	16 (15)	12 (10)	28 (13)
*0304	04 (04)	05 (04)	09 (04)
*0305	01 (01)	01 (01)	02 (01)
*0402	02 (02)	05 (04)	07 (03)
*05011	33 (31)	32 (28)	65 (29)
*0502	03 (03)	02 (02)	05 (04)
*05031	06 (06)	06 (05)	12 (05)
*05032	02 (02)	02 (02)	04 (02)
*06011	01 (01)	02 (02)	03 (01)
*06012	01 (01)	00 (00)	01 (01)
*0602	34 (32)	26 (22)	60 (27)
*0603	12 (11)	13 (11)	25 (11)
*06041	06 (06)	08 (07)	14 (06)
*0607	01 (01)	01 (01)	02 (01)
*0617	01 (01)	00 (00)	01 (01)

Eine Tabelle mit Angaben über die HLA-DQB1-Allel-Kombination jeder einzelnen Patientin ist dem Anhang beigelegt (Tabelle 3.3).

Der Vergleich der Häufigkeiten der statistisch ausgewerteten neun HLA-DQB1-Allele ergab für fünf Allele, HLA-DQB1*0201, *03011, *0302, *03032, *0602 unterschiedliche Verteilungen im Patientinnen- und Kontrollkollektiv (Tabelle 3.3.1.b).

HLA-DQB1*03011, *03032 und *0602 sind bei Patientinnen mit CIN **häufiger** nachweisbar, DQB1*03011 statistisch signifikant ($p=0,00073$, $OR=2,75$).

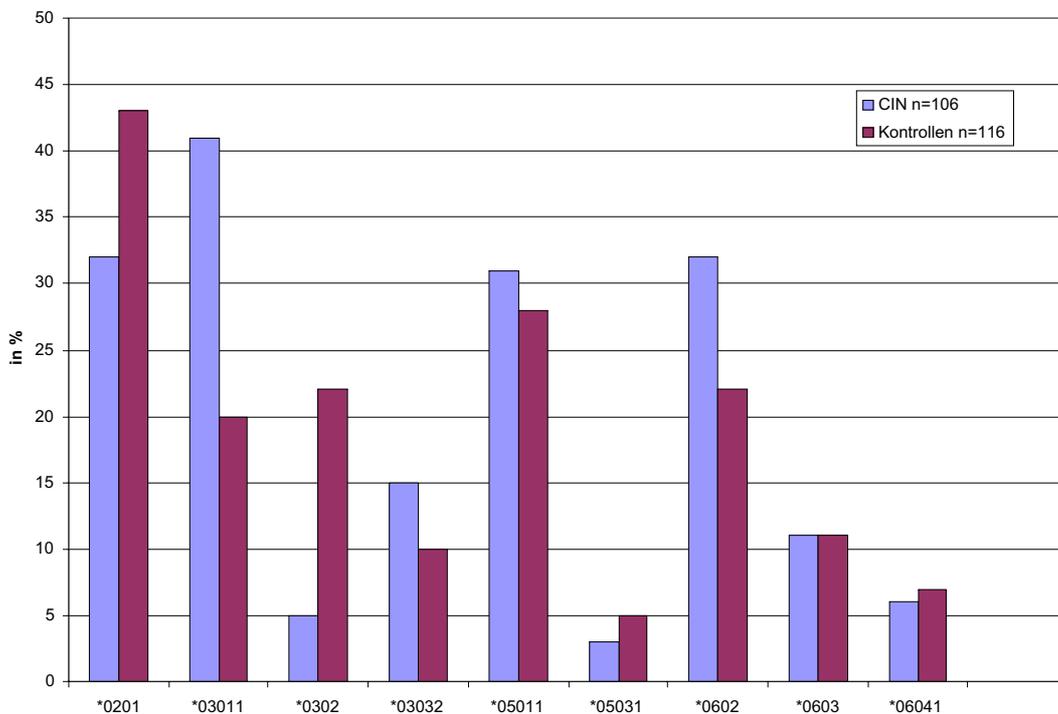
HLA-DQB1*0201 und *0302 treten bei Patientinnen mit CIN **weniger häufig** auf, davon DQB1*0302 deutlich signifikant ($p=0,00025$, $OR=0,18$).

Die Allele HLA-DQB1*05011, *05031, *0603 und *06041 sind gleichmäßig in beiden Gruppen verteilt.

Tab 3.3.1b HLA-DQB1-Allele bei CIN mit p-Wert und OR

	CIN		Kontrollen		OR (95% CI)	p-Wert
	n=106	(%)	n=116	(%)		
*0201	34	(32)	50	(43)	0,62 (0,36-1,08)	0,09059
*03011	43	(41)	23	(20)	2,75 (1,52-5,02)	0,00073
*0302	05	(05)	25	(22)	0,18 (0,07-0,49)	0,00025
*03032	16	(15)	12	(10)	1,54 (0,69-3,42)	0,28701
*05011	33	(31)	32	(28)	1,19 (0,67-2,11)	0,56196
*05031	06	(06)	06	(05)	1,10 (0,34-3,52)	0,87241
*0602	34	(32)	26	(22)	1,63 (0,89-2,97)	0,10542
*0603	12	(11)	13	(11)	1,01 (0,44-2,32)	0,97862
*06041	06	(06)	08	(07)	0,81 (0,27-2,42)	0,70507

Diagram 3.3.1 HLA-DQB1-Allele und CIN



3.3.1.1 HLA-Typisierung und Schweregrad der CIN

Die Häufigkeitsverteilung der HLA-DQB1-Allele wurde für die unterschiedlichen Schweregrade der intraepithelialen Neoplasie untersucht. Die Gruppe der niedrig- und mittelgradigen CIN (CIN 1 und CIN 2) umfaßt nur 17 bzw. 22 Patientinnen, so daß eine statistische Auswertung aufgrund der niedrigen Fallzahl nicht sinnvoll ist. Diese beiden Gruppen sollten, orientierend an der neuen Klassifikation von Richart 1990, nicht zusammengefaßt werden, da CIN 2 eher den high-grade Läsionen zugeordnet wird.

Die Auswertung der Assoziation von HLA-DQB1-Allelen mit den unterschiedlichen Schweregraden der CIN ergibt demnach nur orientierende Werte (Tabelle 3.3.1.1).

Das Empfänglichkeitsgen HLA-DQB1*03011 ist bei CIN 1 in 58% der Fälle (10/17) nachweisbar, im Unterschied zu 32% (07/22) bei CIN 2 und 39% (26/67) bei CIN 3.

Das zweithäufigste Empfänglichkeitsgen HLA-DQB1*0602 trat bei niedriggradiger CIN 1 mit 18% deutlich seltener auf als bei mittel- und schwergradigen Läsionen (36% CIN 2, 34% CIN 3).

Für HLA-DQB1*0603 ergab sich eine unterschiedliche Verteilung in den verschiedenen Schweregraden, die allerdings bei niedriger Gesamthäufigkeit (11%, n=12) nicht statistisch bewertet werden kann.

Bemerkenswert ist, daß DQB1*06041 (n=6) nur bei CIN 3 nachweisbar war.

Tab. 3.3.1.1 HLA-DQB1-Allele und unterschiedliche Schweregrade der CIN

	CIN 1		CIN 2		CIN 3		CIN ges.		Kontrollen	
	n=17	(%)	n=22	(%)	n=67	(%)	n=106	(%)	n=116	(%)
*0201	05	(29)	08	(36)	21	(31)	34	(32)	50	(43)
*03011	10	(58)	07	(32)	26	(39)	43	(41)	23	(20)
*0302	00	(00)	01	(05)	04	(06)	05	(05)	25	(22)
*03032	03	(18)	03	(14)	10	(15)	16	(15)	12	(10)
*05011	05	(29)	08	(36)	20	(30)	33	(31)	32	(28)
*05031	02	(11)	01	(05)	03	(05)	06	(06)	06	(05)
*0602	03	(18)	08	(36)	23	(34)	34	(32)	26	(22)
*0603	01	(06)	04	(18)	07	(10)	12	(11)	13	(11)
*06041	00	(00)	00	(00)	06	(09)	06	(06)	08	(07)

3.3.1.2 HLA-Typisierung und Verlauf der CIN

3.3.1.2.1 Beobachtung von CIN 1 und CIN 2

Interessant ist, daß alle Patientinnen mit persistierender CIN (n=4) HLA-DQB1*03011-positiv waren, davon zwei auch DQB1*0602-positiv. Bei Remission (n=3) war nur jeweils eine Patientin DQB1*03011 oder DQB1*0602 positiv. Von 3 Patientinnen mit Remission trugen zwei das Allel DQB1*0201. Die Patientin mit Progression der CIN wies die Allel-Kombination DQB1*0201/*05032 auf.

Tab.3.3.1.2.1 HLA-DQB1-Allele und Verlauf von CIN 1 und CIN 2

	Remission n=03	Persistenz n=04	Progression n=01	CIN ges. n=106 (%)	Kontrollen n=116 (%)
*0201	02	00	01	34 (32)	50 (43)
*03011	01	04	00	43 (41)	23 (20)
*0302	00	00	00	05 (05)	25 (22)
*03032	00	00	00	16 (15)	12 (10)
*05011	01	01	00	33 (31)	32 (28)
*05031	00	00	00	06 (06)	06 (05)
*0602	01	02	00	34 (32)	26 (22)
*0603	00	00	00	12 (11)	13 (11)
*06041	00	00	00	06 (06)	08 (07)

3.3.1.2.2 Rezidivierende CIN nach operativer Therapie

Von 43 Patientinnen, die über einen Zeitraum von 5 bis 45 Monaten nach Erstdiagnose und Therapie beobachtet worden sind, entwickelten 14 innerhalb von 5 bis 45 Monaten ein (oder mehrere) Rezidive. Die HLA-DQB1-Verteilung der Patientinnen mit Rezidiv wurde derjenigen der Patientinnen ohne Rezidiv nach Kaplan-Meier Überlebensanalysen zeitabhängig gegenübergestellt.

Ein signifikanter Unterschied ergab sich nur für DQB1*05031, das deutlich häufiger bei Patientinnen mit Rezidiv nachweisbar war (p=0,0256).

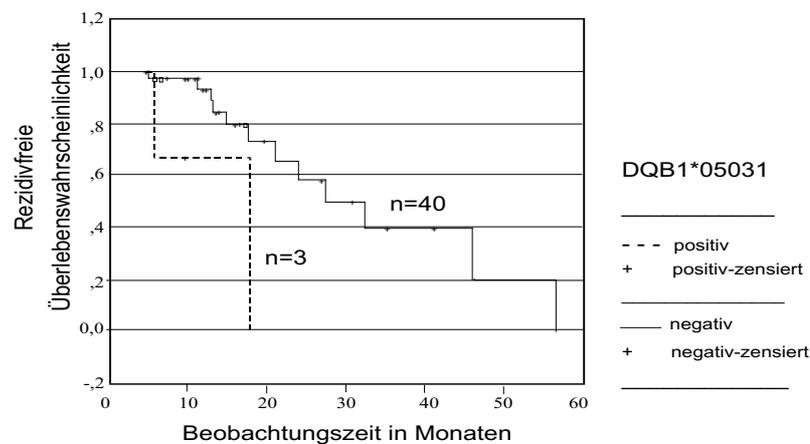
Die Empfänglichkeitsgene DQB1*03011 und DQB1*0602 sind bemerkenswerterweise weniger häufig bei Rezidiven nachweisbar.

Zwei und mehr Rezidive traten bei drei Patientinnen auf, mit jeweils einem (n=01) oder zwei Empfänglichkeitsallelen (n=02) in folgender HLA-DQB1-Kombination: DQB1*0602/*03032, *0602/*0603, *03011/*3032.

Tab. 3.3.1.2.2 HLA-DQB1-Allele und rezidivierende CIN

	Rezidiv		Kein Rezidiv		p-Wert
	n=14	(%)	n=29	(%)	log rank
*0201	05	(39)	11	(38)	0,5317
*03011	02	(14)	10	(34)	0,2952
*0302	02	(14)	01	(03)	0,1083
*03032	02	(14)	02	(07)	0,2412
*05011	09	(64)	08	(28)	0,6719
*05031	02	(14)	01	(03)	0,0256
*0602	03	(21)	12	(41)	0,9249
*0603	02	(14)	04	(14)	0,7717
*06041	00	(00)	02	(07)	0,5873

Diagramm 3: Rezidivfreies Überleben und Nachweis von HLA-DQB1*05031



3.3.2 HLA-Typisierung und HPV

Der Nachweis einer **HPV-Infektion** bei CIN wurde mit den HLA-DQB1-Allelen korreliert. Aufgrund der unterschiedlichen Methodik und des zur Verfügung stehenden Materials konnten folgende HPV-Nachweise miteinander verglichen und die Häufigkeitsverteilung der DQB1-Allele bestimmt werden:

- HPV-positive CIN gegenüber HPV-negativen CIN
- high-risk HPV-positive CIN gegenüber high-risk HPV-negativen CIN
- HPV 16-positive gegenüber HPV 16-negativen CIN.

Für statistische Analysen einer Assoziation der DQB1-Allele mit HPV 18 (n=5) und HPV 6/11 (n=9) sind die Fallzahlen zu gering.

Bei 97 Patientinnen wurde ein HPV-Nachweis mit PCR oder Hybrid Capture Assay durchgeführt und die Verteilung der DQB1-Allele von HPV-positiven mit HPV-negativen verglichen (Tabelle 3.3.2.a).

Es ergab sich kein signifikanter Unterschied der Häufigkeitsverteilung.

Mit leicht reduzierter Frequenz bei HPV-positiven Patientinnen sind DQB1*03032 und DQB1*05011 nachweisbar.

Tab. 3.3.2.a HLA-DQB1-Allele und HPV-Infektion bei 97 Patientinnen mit CIN

	HPV-pos CIN n=76 (%)	HPV-neg CIN n=21 (%)	OR (95% CI)	p-Wert
*0201	27 (36)	05 (24)	1,76 (0,58-5,34)	0,31210
*03011	31 (41)	09 (43)	0,92 (0,35-2,44)	0,86471
*0302	03 (04)	01 (05)	0,82 (0,08-8,34)	1,00000
*03032	10 (13)	05 (24)	0,48 (0,15-1,62)	0,30461
*05011	21 (28)	09 (43)	0,51 (0,19-1,38)	0,18148
*05031	05 (07)	02 (10)	0,67 (0,12-3,72)	0,64262
*0602	25 (33)	06 (29)	1,23 (0,42-3,25)	0,70687
*0603	08 (11)	02 (10)	1,12 (0,22-5,71)	1,00000
*06041	06 (08)	00 (00)		0,33474

In 87 Fällen wurde der Nachweis einer **high-risk HPV**-Infektion durchgeführt und high-risk HPV-positive mit high-risk HPV-negativen verglichen.

Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede darstellen (Tabelle 3.3.2.b).

DQB1*0201 war leicht erhöht bei high-risk HPV-positiven Patientinnen. DQB1*05011 trat in dieser Subgruppenanalyse, wie bei HPV-positiven CIN, weniger häufig auf. DQB1*06041 war ausschließlich bei HPV-positiven Patientinnen nachweisbar, so daß die Berechnung der OR nicht möglich ist.

Tab. 3.3.2.b HLA-DQB1-Allele und high-risk HPV-Infektion bei 87 Patientinnen

	hrHPV-pos CIN		hrHPV-negCIN		OR (95% CI)	p-Wert
	n=62	(%)	n=25	(%)		
*0201	22	(36)	06	(24)	1,74 (0,61-5,00)	0,29948
*03011	24	(39)	11	(44)	0,80 (0,31-2,06)	0,64884
*0302	02	(03)	01	(04)	0,80 (0,69-9,24)	1,00000
*03032	08	(13)	04	(16)	0,78 (0,21-2,86)	0,73693
*05011	18	(29)	10	(40)	0,61 (0,23-1,61)	0,32173
*05031	04	(07)	02	(08)	0,79 (0,14-4,63)	1,00000
*0602	21	(34)	08	(32)	1,09 (0,40-2,93)	0,86696
*0603	07	(11)	02	(08)	1,46 (0,28-7,58)	1,00000
*06041	05	(08)	00	(00)		0,31550

Mit typenspezifischer PCR wurde in 76 Fällen die Infektion mit **HPV 16** getestet.

50% der Patientinnen waren HPV 16-positiv, so daß die Verteilung der DQB1-Allele statistisch ausgewertet werden kann.

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 3.3.2.c).

DQB1*0602 ist annähernd signifikant häufiger nachweisbar bei HPV 16-positiven Patientinnen (p=0,088; OR 2,34 (95% CI 0,87-6,29)). Auch DQB1*03011 ist bei HPV 16-positiven CIN erhöht nachweisbar.

DQB1*0603 und *0201 treten nicht signifikant vermindert auf.

Tab. 3.3.2.c HLA-DQB1-Allele und HPV 16-Infektion bei 76 Patientinnen

	HPV 16-pos CIN		HPV 16-neg CIN		OR (95% CI)	p-Wert
	n=38	(%)	n=38	(%)		
*0201	10	(26)	15	(40)	0,55 (0,21-1,45)	0,22219
*03011	18	(47)	12	(32)	1,95 (0,77-4,96)	0,15912
*0302	02	(05)	01	(03)	2,06 (0,18-23,7)	1,00000
*03032	05	(13)	06	(16)	0,81 (0,22-2,91)	0,74440
*05011	10	(26)	12	(32)	0,77 (0,28-2,09)	0,61296
*05031	02	(05)	03	(08)	0,65 (0,10-4,12)	1,00000
*0602	16	(42)	09	(24)	2,34 (0,87-6,29)	0,08745
*0603	02	(05)	06	(16)	0,29 (0,06-1,57)	0,26191
*06041	02	(05)	02	(05)	1,00 (0,37-2,74)	1,00000

Zusammenfassend lassen sich folgende Häufigkeiten der HLA-DQB1-Allele für die unterschiedlichen HPV-Nachweise darstellen (Tabelle 3.3.2.d).

Für DQB1*0602 und *03011 lässt sich eine positive Assoziation zu HPV 16-positiven CIN beschreiben. Die Allele DQB1*0201 und *0603 sind bei Patientinnen mit HPV 16-Infektion seltener nachweisbar. DQB1*06041 tritt ausschließlich bei HPV-positiven CIN auf. Die Verteilung war nicht statistisch signifikant unterschiedlich.

Tab. 3.3.2.d Übersicht HLA-DQB1-Allele und unterschiedliche HPV-Nachweise bei CIN

	HPV-pos CIN	hrHPV-pos CIN	HPV16-pos CIN	CIN
	in %	in %	in %	in %
*0201	36	36	26	32
*03011	41	39	47	41
*0302	04	03	05	05
*03032	13	13	13	15
*05011	28	29	26	31
*05031	07	07	05	06
*0602	33	34	42	32
*0603	11	11	05	11
*06041	08	08	05	06

Im Vergleich der HPV 16-positiven CIN mit dem Kontrollkollektiv bestätigten sich die Häufigkeitsverteilungen der DQB1-Allele. Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich für DQB1*03011 und *0602 als Empfänglichkeitsgene sowie DQB1*0302 mit vermutlich protektivem Mechanismus.

Tab. 3.3.2.e DQB1-Allele bei HPV 16-positiven CIN im Vergleich mit Kontrollen

	HPV 16-pos CIN	Kontrollen	OR (95% CI)	p-Wert
	n=38 (%)	n=116 (%)		
*0201	10 (26)	50 (43)	0,47 (0,21-1,06)	0,06555
*03011	18 (47)	23 (20)	3,63 (1,66-7,96)	0,00086
*0302	02 (05)	25 (22)	0,20 (0,46-0,90)	0,02192
*03032	05 (13)	12 (10)	1,31 (0,43-4,00)	0,76561
*05011	10 (26)	32 (28)	0,94 (0,41-2,15)	0,87870
*05031	02 (05)	06 (05)	1,02 (0,20-5,27)	1,00000
*0602	16 (42)	26 (22)	2,52 (1,16-5,48)	0,01801
*0603	02 (05)	13 (11)	0,44 (0,09-2,05)	0,36110
*06041	02 (05)	08 (07)	0,75 (0,15-3,70)	1,00000

Die fünf Patientinnen mit **HPV 18**-Infektion zeigten folgende HLA-DQB1-Allel-Kombinationen: DQB1*0602/*03011, *03032/*03011, *0201/*05011, *05011/*03032, *0201/*05031.

Bei keiner der HPV 18-positiven CIN war DQB1*0302 nachweisbar, das vermutlich protektiv wirkt.

HLA-DQB1*03032 trat in zwei Fällen und HLA-DQB1*0602 nur in einem Fall auf.

Alle drei beobachteten Fälle mit **persistierender high-risk HPV**-Infektion und persistierender CIN waren HLA-DQB1*03011 positiv, zwei in Kombination mit DQB1*0602 und einer mit DQB1*05011.

Die Patientin mit Nachweis einer regredierenden HPV-Infektion und Regreß einer CIN 2 war Trägerin von HLA-DQB*0201/*05011.

4 DISKUSSION

4.1 HLA UND ZERVIKALE NEOPLASIEN, ÜBERSICHT DER LITERATUR

4.1.1 HLA und invasives Zervixkarzinom

Erstmals wurde 1991 von Wank und Thomssen für Trägerinnen des HLA-Klasse 2-Moleküls **DQw3** ein siebenfach erhöhtes Risiko für die Erkrankung an einem invasiven Zervixkarzinom beschrieben (Wank und Thomssen 1991). Untersucht wurden 66 Patientinnen von denen 88% in der serologischen Bestimmung HLA-DQw3-positiv waren im Unterschied zu 50% in der lokalen Kontrollgruppe. In einer folgenden Analyse wurden mit einer anderen Methode, der PCR-SSO (sequenzspezifische Oligotypisierung), die Allel-Subgruppen von DQw3, nämlich DQB1*0301, *0302 und *0303 unterschieden. Interessanterweise ergab sich dabei, daß DQB1*0301 (40 von 50 Patientinnen, 80%) und DQB1*0303 (9/50, 18%) deutlich erhöht waren, hingegen DQB1*0302 fast nicht nachweisbar war (1/50).

Bei den DQw3-negativen Karzinompatientinnen fand sich DQB1*0602 (5/7) als zweithäufigster Marker (Wank et al. 1992). Eine ähnliche, aber nicht so stark signifikante Korrelation ergab sich auch für HLA-DR5 (54% der Patientinnen HLA-DR5-positiv versus 26% der Kontrollgruppe). Diese Assoziation könnte durch das Kopplungsungleichgewicht von DR5 und DQw3 bedingt sein.

An diese Ergebnisse anknüpfend wurde in zahlreichen weiteren Studien ein Zusammenhang von **HLA-DQB1*03** mit dem Plattenepithelkarzinom der Cervix uteri gezeigt (Helland et al. 1992; Mehal et al. 1994; Sastre-Garau et al. 1996). Die Allele DQB1*0301 und *0303 scheinen die größte Bedeutung zu haben, da sie am häufigsten mit dem Zervixkarzinom assoziiert sind (Wank et al. 1992; Helland et al. 1994; Gregoire et al. 1994; Sastre-Garau et al. 1996; Cuzick et al. 2000). Für DQB1*0303 zeigt sich eine signifikant positive Korrelation besonders bei Nachweis einer HPV-Infektion, meist HPV 16 (Sastre-Garau et al. 1996; Neumann et al. 2000). Das verminderte Auftreten von DQB1*0302 beim Zervixkarzinom ist nur in einer weiteren Studie beschrieben und zwar als Haplotyp DRB1*0411-DQB1*0302 (Apple et al. 1994), während hingegen in anderen Analysen eine erhöhte Frequenz nachgewiesen worden ist (Helland et al. 1994; Montoya et al. 1998; Hamsikova et al. 1999).

Auch in anderen Populationen stellten sich DQB1*03 und **DQB1*0602** als primäre Empfänglichkeitsgene heraus. Bei Japanerinnen bis zum 35. Lebensjahr mit invasivem

Karzinom oder Carcinoma in situ (Cis) der Cervix uteri trat HLA-DQw3 signifikant häufiger auf (Nawa et al. 1995). In einer Studie an amerikanischen Frauen afrikanischer Abstammung ließ sich nicht nur eine signifikant positive Korrelation von DQB1*0303, sondern auch von DQB1*0602 nachweisen (Gregoire et al. 1994). Bei Patientinnen mit Zervixkarzinom aus Tansania trat DQB1*0602 als primärer Marker auf (Wank et al. 1993).

In einer Untersuchung von mexikanischen Patientinnen zeigte sich eine positive Assoziation von HLA-DR5, die durch das Kopplungsungleichgewicht mit DQw3 erklärt werden kann (Silva et al. 1999).

Einige Autoren vermuten, daß nicht einzelne Allele, sondern die Kombination der Gene in bestimmten Haplotypen entscheidend ist für die lokale Immunabwehr.

Apple et al. zeigte in einer Studie das signifikant häufigere Auftreten des **Haplotypen** DRB1*1501-DQB1*0602 bei 98 untersuchten Frauen hispanischer Herkunft mit invasivem Zervixkarzinom (Apple et al. 1994). In einer britischen Studie wurde nicht nur die positive Korrelation von DQB1*0301 mit dem Zervixkarzinom, sondern auch in Kombination mit DRB1*0401 als Haplotyp DRB1*0401-DQB1*0301 beschrieben (Cuzick et al. 2000).

Die Frage der Bedeutung von bestimmten Haplotypen muß in weiteren Studien auch unter Berücksichtigung der HLA-Klasse 1-Allele untersucht werden.

Im Unterschied zu positiven Korrelationen sind für einige HLA-Gene auch negative Korrelationen beschrieben, die anscheinend einen protektiven Mechanismus implizieren. Besonders häufig konnte diese negative Assoziation für **DR13** und seine Allele gezeigt werden (Apple et al. 1994; Sastre-Garau et al. 1996; Krul et al. 1999). Auch das HLA-Allel DQB1*0603, das assoziiert ist mit DR13, wurde als vermindert nachweisbar beschrieben (Montoya et al. 1998). DR13 ist serologisch ein Teil von DR6, für das ebenso negative Korrelationen dargestellt werden konnten (Wank und Thomssen 1991; Silva et al. 1999).

Andere Allele könnten ebenfalls von protektiver Bedeutung beim invasiven Zervixkarzinom sein, wie DQB1*0201 (Gregoire et al. 1994; Helland et al. 1994) oder DQB1*0501 (Cuzick et al. 2000).

In weiteren Publikationen sind positive Assoziationen für einzelne HLA-Klasse 2-Allele mit dem invasiven Zervixkarzinom beschrieben, die noch weiter untersucht werden müssen, z.B. DR15 und DQB4 (Krul et al. 1999), DRB1*03 (Sastre-Garau et al. 1996).

Tabelle 4.1: Übersicht der Studien zu HLA und Zervixkarzinom (Legende siehe Seite 80)

Studie	Patientinnen	Herkunft	Ergebnisse
Wank u. Thomssen 1991	66 SCC 109 lokale Kontrollen (K)	deutsch	1. DQw3 ↑↑ 2. DR5 ↑↑ 3. DR6 ↓↓
Wank et al. 1992	66 SCC 109 lokale K.	deutsch	1. DQB1*0301 ↑ 2. DQB1*0303 ↑ 3. DQB1*0302 ↓ 4. DQB1*0602 ↑ bei DQw3neg
Helland et al. 1992	168 SCC, 181 lokale K.	norweg.	1. DQw3 ↑↑
Glew et al. 1992	65 Ca (58 SCC; 7AdCa)	englisch	1. Keine Assoziation
Glew et al. 1993	54 Ca 857 Organspender	englisch	1. Keine Assoziation 2. DQB1*0602 ↑ 3. Alle DR5 HPV16pos
Wank et al. 1993	22 SCC, 328 südafrik. K.	tansa.	1. DQB1*0602 ↑↑ bes HPV16, 18pos
Apple et al. 1994	98 Ca (92 SCC, 6AdCa) 220 hispan. K, norm. Zyto	hispan.	1. DRB1*1501-DQB1*0602 ↑ 2. DRB1*1501-DQB1*0602 ↑↑ HPV16pos Ca 3. DRB1*0407-DQB1*0302 ↑ HPV16pos Ca 4. DR13 ↓↓ auch HPV16pos Ca 5. DRB1*1302-DQB1*0604 ↓↓ HPV16pos Ca 6. DRB1*0411-DQB1*0302 ↓ auch HPV16p Ca
Gregoire et al. 1994	66 Ca 214 lokale K.	afroam.	1. DQB1*0303 ↑↑, *0602 ↑ 2. DQB1*0604 ↑↑ 3. DQB1*0201 ↓↓; heterogen *0301/*0501 ↓
Helland et al. 1994	158 Ca 186 lokale Kontrolle	norweg.	1. DQB1*03 ↑↑ 2. DQB1*0301 ↑↑; *0302 ↑, *0303 ↑ 3. DQB1*0201 ↓↓; *0602 ↓ 4. DQA1*030x ↑ 5. DQA1*0201 ↓
Mehal et al. 1994	167 susp. Zyto (27CIN1, 15CIN2, 24CIN3, 28SCC) 73 normale Histo) 60 K.	britisch	1. DQw3 ↑ in SCC 2. DQw3 ↑↑ HPVpos (susp. Zyto) bes. CIN3
Nawa et al. 1994	33 (26Ca, 7Cis) <35. Lj.	japan.	1. DQw3 ↑↑ 2. DQw3 ↑+ DQw1 ↑ bei HPVpos
Sastre-Garau et al. 1996	126 Ca 165 lokale Kontrolle	franz.	1. DRB1*1301/02 ↓↓ Ca 2. DQB1*03 ↑ 3. DQB1*0303 ↑ bes. HPV16pos 4. DQB1*0603 ↓ HPVand Ca
Montoya et al. 1998	142 Ca und CIN 138 lokale Kontrolle	span.	1. A2 ↑ Ca 2. DQB1*0301 ↑↑ CIN1/2 3. DQB1*0402 ↑↑ CIN3/Cis 4. DQB1*0302 ↑ CIN3/Cis + Ca 5. DQB1*0603 ↓ CIN1/2 + Ca
Ferrera et al. 1999	49 (24 CIN3+Ca, 25 CIN1+2) 75 lokale Kontrollen	hondur.	1. DQA1*03011 ↑↑ CIN3/Ca, DQB1*0302 ↑ 2. DQA1*0501 (linkDR52) ↓ 3. DQB1*0602 ↓ HPV16, 18pos 4. DQA1*0201 ↑↑; B1*0603 ↑↑ HPV16, 18pos
Silva et al. 1999	113 Ca 100 lokale Kontrollen	mexikan.	1. A2 ↑↑ 2. DR5 ↑↑ 3. DR6 ↓ 4. DR1 ↓↓, DR2 ↓↓
Hamsikova et al. 1999		tchech.	1. DQB1*0303 ↑; *0302 ↑ 2. DRB1*03 ↑
Cuzick et al. 2000	116 Ca 155 lokale K., norm. Zyto, HPVneg	britsch	1. DQB1*0301 ↑↑ bes. HPVandals16pos Ca 2. DRB1*0401-DQB1*0301 ↑ 3. DQB1*1501 ↑↑ HPV16pos Ca 4. DRB1*1501-DQB1*0602 ↑ HPV16posCa 5. DQB1*0501 ↓
Neumann et al. 2000	96 Ca 168 elter. Kontrollen	amerik.	1. DQB1 ↑ hrHPVpos Ca 2. DQB1*0303 ↑ hrHPVpos Ca

4.1.2 HLA und CIN

Die Assoziation von HLA-Genen und zervikalen intraepithelialen Neoplasien ist besonders interessant, weil sich der Einfluß der Immunabwehr auf Progress oder Regress der Vorstufen des invasiven Karzinoms zeigt.

Mehrere Studien weisen auf eine besondere Assoziation der HLA-DQB1*03 Allele mit CIN hin. Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Allele des DQB1*03-Locus muß noch genauer analysiert werden. Welche weiteren Allele von Bedeutung sind, ist ebenfalls nicht abschließend geklärt. Die Korrelation von DQB1*0602 wird kontrovers diskutiert. Anscheinend protektiv, wie bei invasiven Plattenepithelkarzinomen der Cervix uteri, wirkt DR13.

Nach den überzeugenden Ergebnissen zur positiven Assoziation von **DQB1*03** mit dem invasivem Zervixkarzinom untersuchte 1992 eine britische Arbeitsgruppe das Auftreten dieser Allele in einem Patientinnenkollektiv mit zervikaler intraepithelialer Neoplasie (50 CIN: 5 CIN 1, 15 CIN 2, 30 CIN 3 und 99 Kontrollen). Für Patientinnen mit CIN 3 bestätigte sich eine signifikant positive Assoziation von DQB1*03, das mit einer Häufigkeit von 40% bei CIN 3 gegenüber 22% bei CIN 1/2 und 24% bei der Kontrollgruppe nachweisbar war. Dementsprechend läßt sich für Trägerinnen von DQB1*03 ein 2,5-fach erhöhtes Risiko an CIN 3 zu erkranken, berechnen (David et al. 1992). In einer folgenden Untersuchung in Belgien wurde von insgesamt 71 Patientinnen mit CIN (24 CIN 1, 21 CIN 2, 26 CIN 3) die Verteilung von DQB1*03 analysiert. Ein häufigeres Auftreten von DQB1*03 ließ sich nur bei CIN 1 und CIN 2 beschreiben, jedoch nicht bei CIN 3 (Vandenvelde et al. 1993). In diesen ersten Studien wurden relativ kleine Fallzahlen untersucht.

Für eine größere Anzahl von Patientinnen (178 CIN: 66 CIN 1, 112 CIN 3) ergab eine britische Analyse eine signifikant positive Korrelation von DQB1*03 mit CIN 3 (64%, OR 3,45) und CIN 1 (56%, OR 2,45) im Unterschied zur Kontrollgruppe (34%, n=420) (Odunsi et al. 1995). Besonders die Allele DQB1*0301 (40% versus 09%) und DQB1*0302 (32% versus 10%) waren häufiger bei CIN nachweisbar.

Einige weitere Studien bestätigten **DQB1*0301** und DQB1*0302 als primäre Empfänglichkeitsgene.

Eine signifikant positive Korrelation konnte von DQB1*0301 mit CIN 1/2 in einer spanischen Patientinnengruppe gezeigt werden (Montoya et al. 1998).

In einer großen amerikanischen Studie mit insgesamt 409 Patientinnen bestätigte sich die positive Assoziation von **DQB1*0302**. Untersucht wurden Frauen mit zytologisch diagnostizierter Dysplasie, untergliedert in 141 HSIL, 102 LSIL sowie 166 Patientinnen mit HPV-Infektion, die in die Gruppe der LSIL eingebracht wurden (268 HPV/LSIL), im Vergleich zu Kontrollen ohne HPV-Infektion und mit unauffälliger Exfoliativzytologie (n=202). Ein deutlicher Frequenzanstieg von DQB1*0302 fand sich in beiden Patientinnengruppen HSIL (OR 1,7) und HPV/LSIL (OR 1,5) (Hildesheim et al. 1998). Ein erhöhter Nachweis von DQB1*0302 in CIN 3 und invasivem Zervixkarzinom war auch in der spanischen Analyse (Montoya et al. 1998) und bei einer kleinen Fallzahl von Patientinnen (24 CIN 3/ Ca) aus Honduras (Ferrera et al. 1999) feststellbar. DQB1*0303 gewinnt in Korrelation mit HPV-Nachweis bei CIN an Bedeutung (s.u.).

Untersucht wurde auch die Frage nach einem bestehenden **Synergismus** der positiv assoziierten Allele. Für homozygote Trägerinnen von DQB1*03 (*0301,*0302 und *0303) konnte ein deutlich erhöhtes Risiko an CIN zu erkranken gezeigt werden (Odunsi et al. 1996; Hildesheim et al. 1998). Auch die Kombination von zwei Allelen unterschiedlicher HLA-Klassen kann ein erhöhtes Erkrankungsrisiko bedeuten, wie für Trägerinnen von HLA-B7 und DQB1*0302 beschrieben, beide positiv assoziiert mit SIL (Hildesheim et al. 1998).

Die Analyse von **Haplotypen** erbrachte nur wenige eindeutige Resultate. Eine signifikant positive Korrelation besteht für DRB1*0401-DQB1*0301 und DRB1*1101-DQB1*0301 mit CIN. Vermutlich fällt dem signifikant positiv assoziierten Allel DQB1*0301 die entscheidende Rolle zu (Odunsi et al. 1996).

In den weiteren Analysen der DQB1-Gene ergaben sich teilweise kontroverse Ergebnisse. Die Bedeutung des vermutlich zweithäufigsten Empfänglichkeitsgens beim invasiven Karzinom der Cervix uteri, **DQB1*0602**, ist bei Zervixdysplasien widersprüchlich beschrieben.

Für DQB1*0602 zeigte sich eine leicht positive Assoziation, auch als Haplotyp DQA1*0102-DQB1*0602, mit CIN in einer schwedischen Studie von 74 Patientinnen (Sanjeevi et al. 1996). Für den Haplotyp DRB1*1501-DQB1*0602 wurde einerseits eine positive und andererseits eine negative Assoziation mit CIN beschrieben. Eine erhöhte Häufigkeit wurde in einer Untersuchung von 128 Patientinnen hispanischer Herkunft mit HPV 16-positiver CIN 3 gezeigt (Apple et al. 1995), hingegen ein vermindertes Auftreten (RR 0,21) bei amerikanischen Patientinnen mit HSIL (Hildesheim et al. 1998).

Die Bedeutung von DQB1*0602 wird in Korrelation zum HPV-Typ deutlicher und dort weiter diskutiert (Kap. 4.1.4).

Entsprechend dem vermuteten protektiven Mechanismus von **DR13** beim invasiven Zervixkarzinom findet sich dieses Allel auch bei CIN erniedrigt (Hildesheim et al. 1998). Auch für **DQB1*0603**, das in Kopplungsungleichgewicht zu DR13 steht, wurde ein vermindertes Auftreten in CIN 1/2 gezeigt (Montoya et al. 1998).

Als weitere Empfänglichkeitsgene bei CIN, bisher ohne eindeutigen Zusammenhang beim invasiven Karzinom, werden DR15 und DQ4 beschrieben. In einer niederländischen Studie ist serologisch analysiert DR15 positiv korreliert mit CIN 1/2 (Krul et al. 1999), sowie in der zitierten schwedischen Studie mit HPV 16-positiven CIN auch als Haplotyp DRB1*1501-DQB1*0602 (Sanjeevi et al. 1996).

DQ4 ist serologisch als Risikofaktor mit erhöhtem Nachweis bei CIN und auch beim invasiven Karzinom in der niederländischen Studie dargestellt worden (Krul et al. 1999). Ebenso ergab sich in der spanischen, kleineren, Patientinnengruppe eine positive Assoziation von DQB1*0402 mit höhergradigen CIN (Montoya et al. 1998).

Tabelle 4.2: Übersicht der Studien zu HLA und CIN (Legende siehe Seite 80)

Studie	Patienten	Herkunft	Ergebnisse
David et al. 1992	50 CIN(5CIN1, 15CIN2, 30CIN3) K: 49 nor. Zyto, 50 Blutsp.	britisch	1. DQB1*03 ↑↑ CIN3
Vandenvelde et al. 1993	71 CIN(24CIN1,21CIN2,26CIN3) K: 323 nor. Zyto, 288 Blutsp.,	belgisch	1. DQB1*03 ↑ CIN1+2 bes. HPVpos
Mehal et al. 1994	166 suspekte Zyto 27 CIN1, 15 CIN2, 24 CIN3, 28 SCC, K 73	britisch	1. DQw3 ↑ Ca 2. DQw3 ↑↑ HPVpos, bes. CIN3
Apple et al. 1995	128 CIN 22 CIN1, 33 CIN2, 50 CIN3, 23 Cis 220 K: nor. Zyto.	hispan.	1. DRB1*1501-DQB1*0602 ↑ HPV16posCIN3/Cis 2. DRB1*0407-DQB1*0302 ↑ HPV16posCIN3/Cis 3. DRB1*0701-DQB1*0201 ↑ HPV16posCIN3 4. DQA1*0501-DQB1*0301 ↓ HPV16posCIN3
Odunsi et al. 1995	178 CIN 66 CIN1, 112 CIN3 420 K: nor. Zyto hpv-negativ	britisch	1. DQB1*03 (*0301, *0302) ↑↑ 2. DQB1*03 ↑ bes. HPV 18 3. DQB1*03-homozygot ↑ 24% der HPVpos CIN, heterozygot ↑ 39% der HPVposCIN 7
Odunsi et al. 1996	176 CIN 416 K	britisch	1. DQB1*03 ↑ 2. DRB1*04 ↑ 3. DRB1*11 ↑ 4. DRB1*0401-DQB1*0301 ↑↑ 5. DRB1*1101-DQB1*0301 ↑↑ 6. DRB1*0101-DQB1*0501 ↓
Sanjeevi et al. 1996	74 CIN 162 lokale K	schwed.	1. DQA1*0102 ↑ HPV16pos 2. DQB1*0602 ↑ bes. HPV16pos 3. DR15 ↑ HPV16pos 4. DQA1*0102-DQB1*0602 ↑↑ HPV16pos 5. DQA1*0501-DQB1*0301 ↑ hpv16neg
Hildesheim et al. 1998	141 HSIL, 202 LSIL, 166 HPVpos+nor. Zyto 202 K: nor. Zyto, hpv-neg	amerik.	1. B7 ↑ bes. HPV16 2. DQB1*0302 ↑ bes. HPV16 3. DRB1*13 ↓ bes HPV16 4. DRB1*1501-DQB1*0602 HSIL ↓↓ bes HPV16
Helland et al. 1998	92 CIN2-3/Cis 225 K	norweg.	1. DQA1*0102-DQB1*0602 ↑ HPVpos bes16 2. DQA1*0102-DQB1*0604 ↓ HPVneg
Montoya et al. 1998	142 Ca und CIN 138 lokale K	spanisch	1. A2 ↑ bei CA 2. DQB1*0301 ↑↑ CIN1/2 3. DQB1*0402 ↑↑ CIN3/Cis 4. DQB1*0302 ↑ CIN3/Cis + Ca 5. DQB1*0603 ↓
Bontkes et al. 1998	118 path. Zyto + Histo CIN niederländ. Blutspender	niederl.	1. B44 ↑↑ bei Progreß der Erkrankung 2. DRB1*07 ↑↑ HPV16pos 3. DRB*07/DQB1*0303 ↑↑ HPV16pos CIN 4. DRB*13 ↓ HPV16pos
Ferrera et al. 1999	49 CIN 24 CIN3+Ca, 25 CIN1+2 75 lokale K	hondur.	1. DQA1*03011 ↑↑ CIN3/Ca 2. DQB1*0302 ↑ 3. DQA1*0501 ↓ 4. DQB1*0602 ↓ bei HPV16,18pos 5. DQA1*0201 ↑↑ HPV16,18pos 6. B1*0603 ↑↑ HPV16,18pos
Krul et al. 1999	172 Ca, 116 CIN 39 CIN1/2, 77 CIN3 1161 K: weibl. Blutsp.	niederl.	1. DQ4 ↑ Ca, CIN 2. B63 ↑↑ HPVand16,18, B55 ↑ HPVneg 3. DR15 ↑↑ in CIN 1/2 und Ca 4. DR11 ↑ CaHPV16, DR3 ↑ Ca HPVand16,18 5. DR13 ↓↓ HPVposCa

4.1.3 HLA und Verlauf der zervikalen Neoplasie

Die Korrelation von HLA-Allelen mit dem Erkrankungsverlauf ist erst wenig untersucht. Zwei Studien erörtern auch diese Fragestellung.

Im Rahmen einer niederländischen Immuntherapiestudie beim Zervixkarzinom wurden 63 Patientinnen wegen Rezidiven behandelt. Die Verteilung der HLA-Allele zeigte keinen Unterschied dieser Patientinnen im Vergleich zu anderen mit Zervixkarzinom ohne Rezidiv. Die Autoren vermuten, daß die HLA-Konstellation entscheidend ist für die Entstehung der Invasion, dann allerdings den malignen Prozeß nicht weiter beeinflußt (Krul et al. 1999).

In einer anderen Arbeit wurde prospektiv der Verlauf zytologisch diagnostizierter leicht- und mittelgradiger Dysplasien von 88 HPV 16-positiven Patientinnen untersucht (Bontkes et al. 1998). Bei acht Patientinnen wurde der Verlauf als Progreß bewertet. In dieser Gruppe trat HLA-B*44 signifikant häufiger auf. Ein interessanter Aspekt, da dieses Antigen von Zellen beim invasiven Karzinomen weniger häufig exprimiert wird (Keating et al. 1995). Desweiteren war keine der Patientinnen mit Progreß der Erkrankung Trägerin von HLA-DRB1*13. Für dieses Allel ist auch in anderen Studien ein anscheinend protektiver Mechanismus beschrieben (Apple et al. 1994; Sastre-Garau et al. 1996).

4.1.4 HLA und HPV

Die Frage nach einem Zusammenhang von HLA-System und HPV-Infektion ist wichtig, um zu klären, ob der Mechanismus der lokalen Abwehr mit Antigenpräsentation durch HLA-Moleküle die Primärinfektion mit humanen Papillomaviren oder die neoplastische Veränderung infizierter Zellen entscheidend beeinflußt.

Auch die Korrelation mit spezifischen HPV-Typen ist zu klären, im besonderen mit dem häufigen high-risk HPV-Typ 16. Da beim invasiven Zervixkarzinom annähernd 100% der Fälle HPV-positiv sind, läßt sich an diesen vor allem die Assoziation mit einem spezifischen HPV-Typ analysieren. Bei leicht- und mittelgradigen CIN lassen sich außerdem HPV-negative mit HPV-positiven Patientinnen vergleichen.

Problematisch ist die teilweise sehr geringe Anzahl von Patientinnen mit spezifischen HPV-Typen, bedingt durch deren natürliche Verteilung.

In zahlreichen Studien beim invasiven Zervixkarzinom und auch bei intraepithelialen Neoplasien ist **DQB1*03** unabhängig von HPV-Infektion und HPV-Typ als primäres Empfänglichkeitsgen beschrieben. In einigen Arbeiten ist diese Assoziation bei Nachweis einer HPV-Infektion stärker ausgeprägt. Die signifikant positive Assoziation von DQB1*03 mit CIN in einer britischen Arbeit ist stärker bei Nachweis von HPV-Infektion (16, 18, 31 und 33), 64% der Patientinnen DQB1*03-positiv, und besonders erhöht bei HPV 18 und Mehrfachinfektionen, 77% und 71% DQB1*03-positiv (Odunsi et al. 1995). Auch die Ergebnisse von Vandenvelde für Patientinnen mit CIN 1/2 werden deutlicher, wenn nur high-risk HPV-positive CIN analysiert werden (81% DQB1*03-positiv), allerdings besteht auch dann keine Assoziation mit CIN 3 (Vandenvelde et al. 1993).

Bei Betrachtung der einzelnen Allele des DQB1*03-Locus ist besonders für **DQB1*0303** eine Korrelation mit spezifischen HPV-Typen beschrieben.

Ausschließlich bei high-risk HPV-positiven, invasiven Zervixkarzinomen niederländischer Patientinnen (n=80, davon 81% HPV-positiv) konnte eine erhöhte Häufigkeit von DQB1*0303 gezeigt werden, ohne daß eine Assoziation unabhängig vom HPV-Status bestand (Neumann et al. 2000). In weiteren Arbeiten wurde eine positive Korrelation von DQB1*0303 mit HPV 16-positiven, invasiven Karzinomen der Cervix uteri (Sastre-Garau et al. 1996) und signifikant mit HPV16-positiven CIN, als Haplotyp in Kombination mit DRB1*07, beschrieben (Bontkes et al. 1998).

Zusammengefaßt lassen diese Daten vermuten, daß Trägerinnen von DQB1*0303 mit HPV 16-Infektion ein erhöhtes Risiko tragen an zervikalen Neoplasien zu erkranken.

Die Korrelationen von **DQB1*0301** und **DQB1*0302** werden nicht eindeutig in Zusammenhang mit HPV-Infektion oder bestimmten HPV-Typen gebracht. DQB1*0301 allein und als Haplotyp DRB1*0401-DQB1*0301 wurde beim invasiven Zervixkarzinom besonders bei HPV-Infektion mit anderen Typen als HPV 16 nachgewiesen (Cuzick et al. 2000). DQB1*0302 ist in einer Studie deutlich erhöht bei HPV 16-positiven LSIL und HSIL (Hildesheim et al. 1998). Hier müssen noch weitere Untersuchungen folgen.

Die Bedeutung von **DQB1*0602** als Empfänglichkeitsgen beim invasiven Karzinom wird bei zervikalen intraepithelialen Neoplasien kontrovers diskutiert.

Interessanterweise zeigt sich in zahlreichen Analysen eine Assoziation mit bestimmten high-risk HPV-Typen, meist HPV 16.

Bei Patientinnen mit invasivem Plattenepithelkarzinom der Cervix uteri aus Tansania besteht ein signifikanter Zusammenhang von DQB1*0602 mit HPV 16 und 18. Dieses Allel war bei 9 von 11 (82%) Patientinnen mit Zervixkarzinomen mit HPV 16- oder HPV 18-Infektion (eine Doppelinfektion) und bei nur 2 von 8 (25%) HPV 16/18-negativen Karzinomen nachweisbar (Wank et al. 1993). Eine positive Korrelation mit HPV 16-Infektion bestätigte sich in zwei weiteren Arbeiten, in denen DQB1*0602 als Haplotyp DRB1*1501-DQB1*0602 signifikant erhöht (Apple et al. 1994) und leicht erhöht (Cuzick et al. 2000) in Zervixkarzinomen mit diesem HPV-Typ nachweisbar war.

Eine positive Assoziation von DQB1*0602 und HPV 16 findet sich nicht nur beim invasiven Zervixkarzinom, sondern auch bei zervikalen intraepithelialen Neoplasien. Die beschriebene leicht positive Korrelation mit DQB1*0602 mit CIN von einer schwedischen Arbeitsgruppe ist bei Betrachtung der HPV 16-positiven CIN deutlicher im Vergleich mit HPV 16-positiven Kontrollen. Der Haplotyp DQA1*0102-DQB1*0602 ist sogar signifikant mit HPV 16-positiven CIN assoziiert (Sanjeevi et al. 1996). Der gleiche Haplotyp wird auch von einer norwegischen Arbeitsgruppe als erhöht bei HPV-positiven, besonders HPV 16-positiven CIN 2/3 im Unterschied zu HPV 16-positiven Kontrollen beschrieben (Helland et al. 1998). Der Haplotyp DRB1*1501-DQB1*0602 ist wie beim Karzinom auch bei CIN 3 mit HPV 16-Infektion positiv assoziiert (Apple et al. 1995).

In anderen Populationen bestätigt sich die positive Assoziation nicht. Der Haplotyp DRB1*1501-DQB1*0602 ist in einer amerikanischen Studie bei HPV 16-positiven HSIL als weniger häufig beschrieben (Hildesheim et al. 1998) und in einer Untersuchung von einer kleinen Fallzahl aus Honduras (24 CIN/SCC) ist DQB1*0602 erniedrigt bei HPV 16- und HPV 18-Infektion (Fererra et al. 1999).

Zusammenfassend scheint eine positive Korrelation zwischen DQB1*0602 und HPV 16-induzierter zervikaler Neoplasie zu bestehen. In Kontrollgruppen mit HPV 16-Infektion ohne dysplastische Zellveränderungen fand sich kein erhöhter Nachweis (Sanjeevi et al. 1996; Helland et al. 1998). Das heißt, das Risiko der Infektion mit HPV 16 scheint unabhängig von DQB1*0602 zu sein, das der zervikalen Neoplasie ist bei HPV 16-Infektion und Trägerinnen von DQB1*0602 jedoch erhöht.

Der vermutete protektive Mechanismus von **DR13** steht auch in Zusammenhang mit Nachweis einer HPV-Infektion. Erniedrigt, teilweise sogar signifikant, ist die Häufigkeit von DR13 bei HPV-positiven invasiven Zervixkarzinomen in mehreren Studien (Apple et al. 1994; Sastre-Garau et al. 1996; Krul et al. 1999). Auch bei HPV 16-positiven CIN ist DR13 weniger häufig nachweisbar (Bontkes et al. 1998; Hildesheim et al. 1998).

Für weitere DQB1-Allele sind Korrelationen mit HPV-Infektion nur einzeln beschrieben. DQB1*0604 war bei amerikanischen Frauen afrikanischer Abstammung signifikant erhöht nachweisbar bei HPV-negativen invasiven Zervixkarzinomen (Gregoire et al. 1994). Abgesehen von den Ergebnissen einer weiteren Arbeit, in der dieses Allel bei HPV-negativen CIN 2/3 signifikant erhöht ist (Tabrizi et al. 1999), sind keine weiteren positiven Assoziationen beschrieben. Im Gegensatz dazu ist der Haplotyp DQA1*0102-DQB1*0604 in HPV-negativen CIN bei einem norwegischen Patientinnenkollektiv weniger häufig nachweisbar (Helland et al. 1998).

4.2 DISKUSSION DER EIGENEN ERGEBNISSE

4.2.1 HLA und CIN

Die Ergebnisse zur Assoziation bestimmter HLA-DQB1-Allele mit CIN erhärten die Vermutung, daß der **DQB1*03**-Locus eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung zervikaler Neoplasien spielt.

Signifikant positiv assoziiert mit CIN ist das Allel **DQB1*03011** ($p=0,00073$; OR 2,75), das in dem Patientinnenkollektiv mit einer Häufigkeit von 41% (43/106) und in der Kontrollgruppe von 20% (23/116) nachweisbar ist. Trägerinnen von DQB1*03011 haben dementsprechend ein 2,8-fach erhöhtes Risiko an CIN zu erkranken.

Mit einer signifikant reduzierten Frequenz ist **DQB1*0302** bei Patientinnen nachweisbar ($p=0,00073$; OR 0,18). Die Wahrscheinlichkeit an CIN zu erkranken ist für DQB1*0302-Trägerinnen um 82% reduziert. Die Häufigkeit dieses Allels liegt bei 5% (5/106) im Patientinnenkollektiv im Unterschied zu 22% (25/116) in der Kontrollgruppe.

DQB1*03032 zeigt eine positive, aber nicht signifikante, Korrelation mit CIN ($p=0,287$; OR 1,54). In der Gruppe der Patientinnen sind 15 % (16/106) DQB1*03032-positiv, im Gegensatz zu 10% (12/116) in der Kontrollgruppe.

Im Vergleich mit anderen Studien wird die besondere Bedeutung der DQB1*03-Allele bestätigt. Die Häufigkeitsverteilung der unterschiedlichen Allele DQB1*0301, *0302 und *0303 ist aber bisher nicht immer untersucht und wird teilweise kontrovers diskutiert.

In frühen Studien zur Assoziation von HLA-Molekülen und CIN oder invasivem Zervixkarzinom wurde als Verfahren die Oligotypisierung ohne Differenzierung der **DQB1*03**-Allele angewendet. In den beiden ersten Studien an CIN-Patientinnen wurden positive Korrelationen mit DQB1*03 beschrieben. In einer britischen Analyse (David et al. 1992) trat DQB1*03 signifikant häufiger bei CIN 3 auf sowie in einer niederländischen Untersuchung bei CIN 1 und CIN 2 (Vandenvelde et al. 1993). In beiden Arbeiten wurden jeweils relativ kleine Fallzahlen untersucht und die unterschiedlichen Allele des DQB1*03- Locus nicht differenziert. Da, wie unsere Daten zeigen, die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Allele gegensätzlich sein kann, sind die Aussagen dieser Arbeiten mit aktuellen Analysen schwer vergleichbar. Betrachtet man die Assoziation des DQB1*03-Locus in unserem Kollektiv, so zeigt sich eine annähernd gleichmäßige Verteilung bei Patientinnen (64/106; 60%) und Kontrollen (62/116; 53%).

Auch in einer niederländischen Studie ist der serologische Nachweis von HLA-DQ3 in 116 CIN und 172 invasiven Zervixkarzinomen ohne Unterschied im Vergleich zur lokalen Kontrollgruppe erbracht worden (Krul et al. 1999). Aufgrund der Methode in dieser Studie bleibt allerdings die Frage nach der Häufigkeitsverteilung der unterschiedlichen DQB1*03-Allele unbeantwortet.

An aktuelle Studien muß daher der Anspruch an eine Sequenzierung der HLA-Allele erhoben werden.

Die signifikant positive Assoziation von **DQB1*0301** ist in einer britischen Studie an einer großen Fallzahl (66 CIN 1, 112 CIN 3, 420 Kontrollen) mit einer Häufigkeit von 40% in CIN gegenüber 9% in dem lokalen Kontrollkollektiv beschrieben (Odunsi et al. 1995). Interessanterweise ist in diesem Kontrollkollektiv die Häufigkeit von DQB1*0301 mit 9% deutlich niedriger als in unserer Kontrollgruppe (20%). Das britische Kollektiv umfaßt 420 Frauen mit unauffälliger Exfoliativzytologie und negativem HPV-Nachweis. Bei Annahme einer HPV-Positivität von bis zu 20% der Frauen im 20.-25. Lebensjahr könnte sich in unserem Kontrollkollektiv eine Veränderung der Allelsequenz für HPV-negative Frauen ergeben und dadurch andere, eventuell deutlichere Korrelationen. In einer spanischen Patientinnengruppe tritt DQB1*0301 signifikant häufiger bei CIN 1/2 auf (Montoya et al. 1998). Keine Assoziation bei zytologisch differenzierten HSIL und LSIL erbrachte eine amerikanische Studie, deren Kontrollkollektiv aus HPV-negativen Frauen bestand (Hildesheim et al. 1998).

Beim invasiven Zervixkarzinom ist DQB1*0301 mehrfach als Empfänglichkeitsgen beschrieben (Wank et al. 1992; Helland et al. 1994; Ferrera et al. 1999; Cuzick et al. 2000). Auch in einer Untersuchung von Patientinnen mit Zervixkarzinom (n=50) unserer Klinik zeigte sich eine signifikant positive Assoziation von DQB1*0301 (persönliche Mitteilung).

Da DQB1*0301 sowohl bei präinvasiven als auch invasiven Neoplasien der Cervix uteri signifikant häufiger nachweisbar ist, begünstigt es vermutlich die Progression der Kanzerogenese.

Die Absenz von HLA-**DQB1*0302** bei CIN ist bisher von keiner weiteren Arbeitsgruppe beschrieben. Im Gegensatz dazu wird eine positive Assoziation von DQB1*0302 mit Neoplasien in mehreren Arbeiten gezeigt. Im Vergleich mit HPV-negativen Kontrollen in einer britischen Studie ist DQB1*0302 signifikant häufiger (32% vs. 10%, OR 1,84) und in einer amerikanischen Studie ebenfalls häufiger, aber nicht signifikant, bei Epitheldysplasien nachweisbar (Odunsi et al. 1995; Hildesheim et al. 1998). In drei

weiteren Studien mit kleineren Fallzahlen ist ebenfalls eine positive Assoziation beschrieben (Montoya et al. 1998; Ferrera et al. 1999; Hamsikova et al. 1999). Beim invasiven Zervixkarzinom ist eine signifikant reduzierte Häufigkeit beschrieben (Wank et al. 1992) sowie eine positive, aber nicht signifikante, Assoziation von einer norwegischen Arbeitsgruppe (Helland et al. 1994). In mehreren weiteren Studien ergab sich keine Korrelation (Glew et al. 1993; Gregoire et al. 1994; Sastre-Garau 1996; Cuzick et al. 2000). Bei 50 Patientinnen, die wegen eines Zervixkarzinoms in unserer Klinik behandelt worden sind, ist DQB1*0302 nicht signifikant positiv mit der Erkrankung assoziiert (persönliche Mitteilung).

Die Bedeutung von DQB1*0302 bleibt zur Zeit noch ungeklärt. Aufgrund der divergierenden Ergebnisse sowohl bei CIN als auch beim invasiven Zervixkarzinom ist DQB1*0302 möglicherweise von besonderer Bedeutung für eine Subgruppe von Patientinnen, die es noch zu definieren gilt. Eventuell handelt es sich bei DQB1*0302 um einen Progressionsfaktor, der mit einem ungünstigeren Verlauf nach HPV-Infektion und dysplastischer Zellveränderung einhergeht. Dies könnte die reduzierte Häufigkeit in präinvasiven Vorstufen erklären, da bei DQB1*0302-positiven Frauen diese Läsionen schneller zu höhergradigen Veränderungen progredierten. Bei unseren CIN-Patientinnen trat DQB1*0302 ausschließlich in CIN 2 (1/5) und CIN 3 (4/5) auf.

Eine Korrelation von **DQB1*03032** mit zervikalen intraepithelialen Neoplasien ist bisher nur bei positivem HPV-Nachweis signifikant beschrieben. Unsere Ergebnisse zeigen bei CIN eine leicht positive Assoziation, die auch bei Berücksichtigung des HPV-Nachweises nicht signifikant wird. Beim invasiven Zervixkarzinom ist für DQB1*0303 eine positive Korrelation mehrfach gezeigt worden (Wank et al. 1992; Gregoire et al. 1994; Helland et al. 1994; Hamsikova et al. 1999). In einigen Arbeiten zum invasiven Karzinom besteht eine positive Assoziation nur bei Nachweis einer HPV-Infektion (Sastre-Garau et al. 1994; Neumann et al. 2000). Bei norddeutschen Patientinnen mit invasivem Karzinom der Cervix uteri zeigt sich keine positive Assoziation von DQB1*03032 (persönliche Mitteilung).

Bei einer niedrigen natürlichen Häufigkeit dieses Allels von 13% im Gesamtkollektiv sind große Patientinnenzahlen für statistische Analysen erforderlich.

In der Diskussion um die Bedeutung von **DQB1*0602** sind unsere Resultate ein weiterer Hinweis für die positive Assoziation mit CIN in besonderer Abhängigkeit von einer HPV-Infektion. Eine annähernd signifikant erhöhte Frequenz findet sich bei CIN-Patientinnen mit 32% (34/106) gegenüber 22% (26/116) bei Kontrollen. Signifikant ist

diese Korrelation im Vergleich von HPV 16-positiven CIN (42%, 16/38) mit Kontrollen ($p=0,018$; OR 2,51). In anderen Studien mit CIN-Patientinnen ist bisher nur in einer schwedischen Arbeit eine positive Assoziation beschrieben, die besonders deutlich bei HPV 16-positiven Patientinnen wird (Sanjeevi et al. 1996).

Beim invasiven Zervixkarzinom gibt es mehrere Daten zur positiven Assoziation mit DQB1*0602 (Wank et al. 1992; Wank et al. 1993; Gregoire et al. 1994).

Untersucht man den **Synergismus** der beschriebenen Empfänglichkeitsgene so zeigen sich folgende Zusammenhänge.

Im Unterschied zu 57% der Patientinnen (60/106) tragen 37% (43/116) der Kontrollgruppe entweder DQB1*03011 oder DQB1*0602 oder beide Allele. Ein Synergismus der positiv assoziierten Allele läßt sich signifikant für DQB1*03011 und DQB1*0602 darstellen. Trägerinnen von DQB1*0602 und DQB1*03011 oder homozygote dieser Allele, 16% der Fälle bei CIN (17/106), 5% der Kontrollen (06/116), erkranken signifikant häufiger an CIN ($p=0,0080$, OR 3,50).

Als protektives Allel, das in Disequilibrium zu DR13 steht, hat sich **DQB1*0603** nicht bestätigt. Es zeigt sich eine gleiche Häufigkeitsverteilung bei CIN (11%) und Kontrollen (11%). Der entscheidende protektive Mechanismus könnte auch nur von dem DR-Allel ausgehen.

Als weiteres anscheinend protektives Allel trat **DQB1*0201** mit reduzierter Frequenz bei CIN (32%, 34/106) im Unterschied zu Kontrollen auf (43%, 50/116). In anderen Untersuchungen von zervikalen intraepithelialen Neoplasien wurde diese Assoziation nicht gezeigt. Beim invasiven Zervixkarzinom ist DQB1*0201 in zwei Arbeiten als negativ assoziiert beschrieben: bei norwegischen Patientinnen leicht reduziert und bei amerikanischen Frauen afrikanischer Abstammung signifikant (Helland et al. 1994; Gregoire et al. 1994).

Kritisch bleibt anzumerken, daß sich unsere lokale Kontrollgruppe zu 95% (110/116) aus Schwangeren und Wöchnerinnen zusammensetzt. Die Herkunft der Frauen ist anamnestisch sicher norddeutsch und es bestehen keine zusätzlichen Erkrankungen, insbesondere keine Autoimmunerkrankungen, die in Verbindung mit bestimmten HLA-Konstellationen gesehen werden. Die Verteilung der HLA-Allele könnte bei Schwangeren anders sein als bei Frauen mit habituellen Aborten, für die genetische Faktoren als Ursache diskutiert werden. Vergleicht man die Häufigkeiten der HLA-

DQB1-Allele unserer Kontrollgruppe mit anderen deutschen Kontrollgruppen, so zeigt sich vor allem ein Unterschied beim Auftreten von DQB1*03011. Dieses Allel ist mit 20% (23/116) deutlich weniger häufig als bei Münchener (37%) Kontrollen.

Ein selektiver Nachteil des HLA-Allels DQB1*03011 für eine Schwangerschaft ist bisher nicht bekannt, kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden. Dies sollte in weiteren Studien untersucht werden.

Die Analysen von HLA-Allelen bei CIN und deren Bedeutung für Verlauf und Vorhersage der Erkrankung sollten mit modernen Methoden, Sequenzierung der HLA-Allele, an großen Kollektiven im Rahmen von Beobachtungsstudien fortgesetzt werden. Eine sorgfältige Auswahl des Kontrollkollektives, HPV-negative Frauen mit unauffälliger Exfoliativzytologie, ermöglicht eine bessere Auswertung der Zusammenhänge.

4.2.2 HLA und Schweregrad der CIN

Entsprechend der histologischen Klassifikation nach Richart von 1973 unterscheiden wir CIN 1, CIN 2 und CIN 3. In einigen Studien wurden, wahrscheinlich aufgrund geringer Fallzahlen, CIN 1 und CIN 2 als eine Gruppe zusammengefaßt. Dies ist kritisch zu bewerten, da das Progressionsrisiko der CIN 2 deutlich höher einzuschätzen ist als das der CIN 1. Die neuere Nomenklatur von 1990 (Richart 1990) ordnet CIN 2 den schwergradigen Läsionen zu und unterscheidet nur noch low-grade CIN (CIN 1) von high-grade CIN (CIN 2 und CIN 3).

In unserem Patientinnenkollektiv ist die Anzahl von CIN 1 mit 17 Fällen und CIN 2 mit 22 Fällen zu gering, um statistische Vergleiche dieser Schweregrade mit CIN 3 zu berechnen. Die Zusammenfassung von CIN 1 und CIN 2 ist nicht sinnvoll. Desweiteren bleibt kritisch anzumerken, daß die Gruppe der CIN 2 des Patientinnenkollektives acht Fälle (36%) mit histologischer Diagnose CIN 1-2, also eher günstigerer Prognose, beinhaltet.

Unsere Ergebnisse erlauben keine Aussage zur Verteilung in unterschiedlichen Schweregraden der CIN.

Betrachtet man die Verteilungsmuster orientierend, so ergeben sich keine deutlichen Unterschiede.

4.2.3 HLA und Verlauf der CIN

4.2.3.1 HLA und Beobachtung von CIN 1 und CIN 2

Der Verlauf der Erkrankung wurde in acht Fällen, drei Patientinnen mit CIN 1 und fünf mit CIN 2, beobachtet. In drei Fällen zeigte sich eine komplette Remission, in vier Fällen eine persistierende Läsion und bei einer Patientin ein Progreß.

Interessant ist, daß alle Patientinnen mit persistierender CIN (n=4) HLA-DQB1*03011-positiv waren, davon zwei auch HLA-DQB1*0602-positiv. Bei Remission (n=3) war nur jeweils eine Patientin DQB1*03011 und *0602 positiv.

Von drei Patientinnen mit Remission trugen zwei das Allel DQB1*0201.

Nur im Rahmen großer prospektiver Studien kann die Bedeutung der HLA-Allele für den Verlauf der zervikalen Kanzerogenese geklärt werden.

4.2.3.2 HLA und rezidivierende CIN

Die Häufigkeitsverteilung der HLA-DQB1-Allele bei 14 Patientinnen mit Rezidiv wurde verglichen mit der von 29 Patientinnen ohne Rezidiv bei gleichem Beobachtungszeitraum.

Signifikant unterschiedlich nachweisbar war DQB1*05031, das deutlich häufiger bei Patientinnen mit Rezidiv nachweisbar war ($p=0,0256$).

Die Empfänglichkeitsgene DQB1*03011 und *0602 treten überraschenderweise weniger häufig bei Rezidiven auf. Das vermutlich protektiv wirkende DQB1*0302 zeigt bei Rezidiven eine erhöhte Frequenz.

DQB1*03032 ist häufiger bei Patientinnen mit Rezidiv nachweisbar mit 14% (2/14) gegenüber 7% (2/29) in der Gruppe ohne Rezidiv.

Mehrere Rezidive traten bei drei Patientinnen mit jeweils wenigstens einem Empfänglichkeitsallel in folgender HLA-DQB1-Kombination auf: *0602/*03032, *0602/*0603, *03011/*3032.

Möglicherweise wird insbesondere durch HLA-DQB1*05031 und *03032 die zervikale Kanzerogenese ungünstig beeinflusst.

Unter Berücksichtigung der anderen Ergebnisse der Empfänglichkeitsgene DQB1*03011 und *0602 erscheint deren umgekehrte Häufigkeitsverteilung bei Rezidiven nicht logisch.

Durch die retrospektive willkürliche Auswahl der Kollektive ist ein systematischer Fehler nicht auszuschließen.

4.2.4 HLA und HPV-Infektion

Im Patientinnenkollektiv wurde mit PCR und Hybrid Capture Assay der Nachweis einer HPV-Infektion bei 92% (97/106) der Patientinnen durchgeführt. Der positive Nachweis einer HPV-Infektion bei 78% der CIN (76/97), einer high-risk HPV-Infektion bei 71% (62/87) und einer HPV 16-Infektion bei 50% (38/76) der Fälle entspricht mit geringen Abweichungen den Daten aus der Literatur (s. Kap. 1.1.2.1).

Die Häufigkeitsverteilung der HLA-DQB1-Allele wurde im Vergleich der

- HPV-positiven mit HPV-negativen Patientinnen
- high-risk HPV-positiven mit high-risk HPV-negativen
- und HPV 16-positiven mit HPV 16-negativen Patientinnen durchgeführt.

Kritisch zu bewerten ist der Begriff der "HPV-negativen" Patientinnen, der sich auf negative Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungsmethoden bezieht. Nicht auszuschließen ist, daß mit anderen, zusätzlichen oder spezifischeren Verfahren, weitere HPV-Infektionen nachweisbar wären. Problematisch bei unserem Kollektiv ist auch die Tatsache, daß bei mehreren Patientinnen die spezifische PCR für HPV 16 (n=21), HPV 18 (n=51) und HPV 6/11 (n=50) an zytologischem Material durchgeführt wurde, das bis zu 5 Jahre in Kühltruhen bei -80°C asserviert wurde.

Eine signifikante Korrelation von DQB1-Allelen und HPV-Infektion ist im Patientinnenkollektiv nicht nachweisbar.

DQB1*03032 zeigt eine nicht signifikant reduzierte Frequenz bei HPV-positiven Patientinnen im Vergleich mit HPV-negativen (OR 0,60; CI: 0,18-1,98). In der Subgruppenanalyse der high-risk HPV-Infektion (OR 0,78; CI: 0,21-2,85) und HPV 16-Infektion (OR 0,81; CI: 0,22-2,91) zeigt sich hingegen kein Unterschied der Häufigkeit bei Patientinnen mit positivem und negativem Nachweis der entsprechenden HPV-Infektion. Die relativ niedrige Frequenz bei HPV-positiven Fällen könnte auf eine besondere Assoziation von DQB1*03032 mit high-risk HPV-Infektionen hinweisen. In

unserem Kollektiv sind von zehn HPV-positiven Patientinnen mit HLA-DQB1*03032 acht high-risk HPV-positiv und davon 5 HPV 16-positiv.

Im Vergleich von HPV-positiven CIN mit HPV-negativen Kontrollen zeigte sich auch in der britischen Studie kein Unterschied der Häufigkeit (3% vs. 2,5%) von DQB1*0303 (Odunsi et al. 1995).

In anderen Arbeiten wurde eine Assoziation von DQB1*03032 mit high-risk HPV-positiven invasiven Zervixkarzinomen (Neumann et al. 2000) sowie mit HPV 16-positiven Karzinomen und CIN als Haplotyp in Kombination mit DRB1*07 beschrieben (Apple et al. 1994; Bontkes et al. 1998).

Eine positive Assoziation von DQB1*03032 mit high-risk HPV oder HPV 16-Infektion läßt sich bei der bisherigen Datenanalyse nur vermuten.

DQB1*0602 ist deutlich positiv assoziiert mit dem Nachweis einer HPV 16-Infektion. Es zeigt sich eine annähernd signifikant erhöhte Frequenz ($p=0,088$; OR 2,34; CI 0,87-6,29) mit 42% (16/38) der Fälle bei HPV 16-positiven CIN im Gegensatz zu 24% (09/38) bei HPV 16-negativen. Die Häufigkeitsverteilung in den Subgruppen mit HPV-Infektion oder high-risk HPV-Infektion ergibt keine Unterschiede. Auch in anderen Arbeiten ist für DQB1*0602, teilweise untersucht als Haplotyp, eine erhöhte Assoziation mit HPV 16 und HPV 18-Infektion sowohl beim invasiven Zervixkarzinom (Wank et al. 1993; Apple et al. 1994; Cuzick et al. 2000) als auch bei CIN (Sanjeevi et al. 1994; Helland et al. 1998; Apple et al. 1995) beschrieben.

Von fünf HPV 18-positiven Patientinnen mit CIN 2 und CIN 3 war eine DQB1*0602-positiv.

Das seltene Allel **DQB1*06041** (n=6) ist interessanterweise ausschließlich bei HPV-positiven CIN 3 nachweisbar. Bei norwegischen Patientinnen mit HPV-negativer CIN ist für den Haplotyp DQA1*0102-DQB1*0604 eine nicht signifikant verminderte Häufigkeit beschrieben (Helland et al. 1998). In einer Untersuchung bei amerikanischen Patientinnen afrikanischer Abstammung mit invasivem Zervixkarzinom ist DQB1*0604 signifikant erhöht (Gregoire et al. 1994). Eventuell trägt DQB1*0604 eine besondere Bedeutung für die zervikale Kanzerogenese bei vorliegender HPV-Infektion.

DQB1*03011 ist bei HPV 16-positiven CIN mit 47% (18/38) der Fälle deutlich häufiger nachweisbar als bei HPV 16-negativen CIN mit 32% (12/38). In der Literatur ist bisher erst in einer Arbeit eine besondere Assoziation mit HPV-Infektion, nämlich beim

Zervixkarzinom mit Nachweis anderer HPV-Typen als HPV 16, beschrieben (Cuzick et al. 2000).

HLA-**DQB1*0603** ist bei HPV 16-negativen CIN deutlich vermindert nachweisbar mit 5% (02/38) im Gegensatz zu 16% (06/38) bei HPV 16-positiven CIN ($p=0,135$; OR 0,29). Dies entspricht einem protektiven Mechanismus gegenüber HPV 16-induzierten Dysplasien. DQB1*0603 steht in Kopplungsungleichgewicht mit DR13, das ebenfalls als protektiv wirkend bei HPV-positiven Zervixkarzinomen (Apple et al. 1994; Sastre-Garau 1996; Krul et al. 1999) und HPV 16-positiven CIN (Hildesheim et al. 1998; Bontkes et al. 1998) beschrieben ist.

Das vermutlich protektive Allel **DQB1*0201** tritt interessanterweise bei high-risk HPV-positiven CIN häufiger auf (36%, 22/65) als bei high-risk HPV-negativen (24%, 06/25). Bei HPV 16-positiven CIN zeigt es hingegen eine deutlich reduzierte Frequenz mit 26% (10/38) gegenüber 40% (15/38) bei HPV 16-negativen CIN. Möglicherweise schützt DQB1*0201 besonders vor einer Infektion mit HPV 16, aber nicht vor anderen high-risk HPV. In der Literatur ist eine Assoziation von DQB1*0201 mit HPV-Infektion bislang nicht erwähnt.

Bisher ohne besondere Assoziation mit HPV-Infektion beschrieben, tritt **DQB1*05011** reduziert bei HPV-positiven CIN ($p=0,182$; OR 0,51) und high-risk HPV-positiven CIN ($p=0,322$; OR 0,61) auf. Im Vergleich von HPV 16-positiven mit HPV 16-negativen CIN ergibt sich kein Unterschied der Verteilung. Möglicherweise schützt DQB1*05011 vor HPV-Infektionen mit anderen Typen als HPV 16.

Bemerkenswerte Ergebnisse bringt eine Analyse der Häufigkeitsverteilung von HLA-DQB1-Allelen bei **HPV 16-positiven CIN** im Vergleich mit dem Kontrollkollektiv.

Die signifikante Assoziation von HLA-DQB1*03011 als Empfänglichkeitsgen ($p=0,0086$; OR 3,63) und DQB1*0302 mit wahrscheinlich protektivem Mechanismus ($p=0,022$; OR 0,20) bleibt bestehen, allerdings etwas weniger deutlich.

Die positive Assoziation mit DQB1*0602 erreicht bei diesem Vergleich für HPV 16-positive CIN Signifikanz ($p=0,018$; OR 2,51). Der protektive Mechanismus von DQB1*0201 ($p=0,066$; OR 0,47) erreicht im Vergleich der HPV 16-positiven CIN mit Kontrollen annähernd Signifikanz.

HLA-DQB1*0602 und *0201 sind anscheinend von besonderer Bedeutung bei Nachweis einer HPV 16-Infektion.

Offen bleibt die Frage, wie der Vergleich mit unterschiedlichem Nachweis einer HPV-Infektion bei den Kontrollpatientinnen ausfällt.

Möglicherweise übernimmt die HLA-DQB1-Allel-Konstellation je nach Infektion mit spezifischen HPV-Typen eine entscheidende Rolle. Bei Betrachtung der Immunmechanismen ist dies durchaus vorstellbar, da bereits geringfügige Unterschiede der HPV-Typen und ihrer Antigene die Präsentation durch HLA an immunkompetente Zellen beeinflussen können.

4.3 BEDEUTUNG DER HLA-TYPISIERUNG IN DER KLINISCHEN PRAXIS

Die HLA-Typisierung kann in zwei Bereichen der klinischen Anwendung besonderen Stellenwert gewinnen. Bei Kenntnis von Empfänglichkeits- und Resistenzgenen kann die Progressionstendenz der zervikalen intraepithelialen Neoplasien besser eingeschätzt und dadurch die Therapie optimiert werden. Im Bereich der Entwicklung von Impfstoffen ist eine Steigerung der Effektivität durch Kopplung von Virusantigenen an besonders immunogene HLA-Moleküle vorstellbar.

Das mittlere Lebensalter bei Erkrankung an einer Epitheldysplasie liegt bei 34 Jahren. Frauen im gebärfähigen Alter wünschen eine möglichst konservative Therapie, um die Risiken für folgende Schwangerschaften zu minimieren. Die operative Therapie ist seit Einführung der LLETZ statt der Konisation deutlich gewebeschonender geworden. Bei Frauen mit CIN 1 und CIN 2 ist die Wahrscheinlichkeit einer spontanen Regression groß, allerdings ist es zur Zeit noch nicht möglich den Verlauf im Einzelfall vorherzusagen. Durch Sequenzierung der HLA-Allele und Differenzierung von Empfänglichkeitsgenen einerseits, sowie protektiven Allelen andererseits, könnte die Progressionstendenz der CIN besser beurteilt werden. Dadurch kann die individuelle Therapie optimiert werden. Frauen mit Empfänglichkeitsgenen könnte zu einer operativen Sanierung der Läsion geraten werden. Im Unterschied dazu wäre bei Frauen mit protektiven Allelen ein beobachtendes Verhalten sinnvoll und die Kontrollintervalle könnten verlängert werden, da die empfohlenen dreimonatlichen Untersuchungsabstände von vielen Frauen als belastend empfunden werden.

Der Bereich der Immuntherapie bei zervikalen Neoplasien ist Schwerpunkt zahlreicher wissenschaftlicher Studien. Zur Zeit werden erste Vakzinationsstudien mit sogenannten VLP ("virus like particle")-Impfstoffen durchgeführt (Osen et al. 2000). Hierbei handelt es sich um virusähnliche Partikel, nämlich reproduzierte Virushüllen (späte Proteine L1 und L2), in die E6- oder E7-Proteine eingefügt werden. Solche Impfstoffe induzieren vor allem die humorale Immunantwort und sollen prophylaktisch und therapeutisch wirken. Bei Kenntnis von protektiven Allelen und der durch sie präsentierten HPV-Peptide könnten weitere, vielleicht effektivere, Impfstoffe entwickelt werden. Für die Abwehr der HPV-Infektion ist die zelluläre Immunantwort entscheidend. HLA-gekoppelte Virus-Peptid-Komplexe, die eine ausgeprägte spezifische zelluläre Immunantwort auslösen, sind als Impfstoffe auch für andere virus-induzierte Erkrankungen vorstellbar (Laumbacher und Wank 1998).

5 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Arbeit war, die Assoziation von HLA-DQB1-Allelen mit zervikalen intraepithelialen Neoplasien, deren unterschiedlichen Verlauf und HPV-Infektion in einem norddeutschen Patientinnenkollektiv zu untersuchen.

106 Patientinnen mit histologisch gesicherter CIN (17 CIN 1, 22 CIN 2 und 67 CIN 3) wurden 116 Kontrollen mit unauffälliger Exfoliativzytologie gegenübergestellt. Die Sequenzierung der HLA-DQB1-Allele erfolgte an DNA, die aus peripheren Lymphozyten extrahiert wurde. Im Anschluß an eine PCR mit spezifischen Primern für HLA-DQB1 wurde eine automatische Sequenzierung durchgeführt. Der HPV-Nachweis erfolgte durch Hybrid Capture Assay und PCR, so daß Infektionen mit high-risk HPV, HPV 16, 18 und 6/11 differenziert werden konnten.

Eine statistisch signifikant positive Korrelation erwies sich für HLA-**DQB1*03011** ($p=0,00073$; OR 2,75) mit einer Häufigkeit von 41% (43/106) im Patientinnenkollektiv und 20% (23/116) in der Kontrollgruppe. Das als zweithäufigstes Empfänglichkeitsgen beschriebene **DQB1*0602** ist nicht signifikant erhöht nachweisbar bei Patientinnen mit CIN (32%, 34/106) im Vergleich mit der Kontrollgruppe (22%, 26/116). Wahrscheinlich gewinnt DQB1*0602 besondere Bedeutung bei HPV 16-Infektionen, da die positive Assoziation signifikant wird beim Vergleich der HPV 16-positiven CIN mit dem Kontrollkollektiv ($p=0,018$; OR 2,52).

Die Häufigkeit von **DQB1*0302** ist signifikant reduziert ($p=0,00025$; OR 0,18) bei Patientinnen mit CIN (5%, 5/106) im Vergleich zur Kontrollgruppe (22%, 25/116).

Als weiteres, anscheinend protektives Allel ist **DQB1*0201** reduziert nachweisbar ($p=0,09$; OR 0,62) bei CIN (32%, 34/106) im Unterschied zu Kontrollen (43%, 50/116).

Die Analysen von HLA-Allelen bei CIN und deren Bedeutung für Verlauf und Vorhersage der Erkrankung sollten mit modernen Methoden, Sequenzierung der HLA-Allele, an großen Kollektiven im Rahmen von Beobachtungsstudien fortgesetzt werden. Eine sorgfältige Auswahl des Kontrollkollektives, HPV-negative Frauen mit unauffälliger Exfoliativzytologie, ermöglicht eine bessere Auswertung der Zusammenhänge.

In der klinischen Praxis könnte durch Kenntnis der Assoziation der HLA-Allele mit CIN die Progressionstendenz besser eingeschätzt und das therapeutische Vorgehen dementsprechend ausgerichtet werden. Darüber hinaus öffnen sich neue Wege der Immunmodulation und Vakzination mit HLA-gekoppelten Antigenen.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- **Apple RJ**, Erlich HA, Klitz W, Manos MM, Becker TM, Wheeler CM (1994) HLA DR-DQ associations with cervical carcinoma show papillomavirus-type specificity. *Nature Genetics* 6: 157-162
- **Apple RJ**, Becker TM, Wheeler CM, Erlich HA (1995) Comparison of human leukocyte antigen DR-DQ disease associations found with cervical dysplasia and invasive cervical carcinoma. *J Natl Canc Inst* 87: 427-436
- **Beasley RP** (1988) Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 61: 1942-1956
- **Benton C**, Shahidulla H, Hunter JAA (1992) Human papillomavirus in the immunopressed. *Papillomavirus Rep* 3: 23-26
- **Boecking A** (1998) Abklärung plattenepithelialer Dysplasien mittels DNA-Bildzytometrie. *Dtsch Ärztebl* 95: 658-663
- **Boecking A**, Hilgarth M, Auffermann W, Hack-Werdler 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
- **Bontkes HJ**, van Duin M, de Gruijl TD, Duggan-Keen MF, Walboomers JM, Stukart MJ, Verheijen RH, Helmerhorst TJ, Meijer CJ, Scheper RJ, Stevens FR, Dyer PA, Sinnott P, Stern PL (1998) HPV 16 infection and progression of cervical intra-epithelial neoplasia: analysis of HLA polymorphism and HPV 16 E6 sequence variants. *Int J Cancer* 78: 166-171
- **Bosch FX**, Munoz N, de Sanjose S, Izarzugaza I, Gili M, Viladiu P, Tormo MJ, Moreo P, Ascunce N, Gonzalez LC, Tafur L, Klador JM, Guerrero E, Aristizabal N, Santamaria M, Alfonso de Ruiz P, Shah K (1992) Risk factors for cervical cancer in Columbia and Spain. *Int J Cancer* 52: 750-758
- **Bosch FX**, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV (1995) Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* Vol 87: 796-802
- **Brinton LA und Hoover RN** (1992) Epidemiology of gynecologic cancers. In: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC (eds) *Principles and practice of gynecologic oncology*. Lippincott, Philadelphia, 3-16
- **Burger MPM**, Hollema H, Pieters WJLM, Quint WG (1995) Predictive value of human papillomavirus type for histological diagnosis of women with cervical abnormalities. *BMJ* 310: 94-95

- **Butz K und Hoppe-Seyler F** (1995) Viren und Krebs: molekulare Pathomechanismen der viralen Karzinogenese. *Immun Infekt* 23: 179-184
- **Campbell RD und Trowsdale** (1993) Map of the human MHC. *Immunol Today* 14: 349-352
- **Campion MJ, Mc Cance DJ, Cuzick J, Singer AI** (1986) Progressive potential of mild cervical atypia: prospective cytological, colposcopic and virological study. *Lancet* 2: 237-240
- **Coleman N, Birley HD, Renton AM, Hanna NF, Ryaite BK, Byrne M, Taylor-Robinson MA** (1994) Immunological events in regressing genital warts. *Am J Clin Pathol*, 102: 768-774
- **Cromme FJ, Meijer CJLM, Snijder PJF, Uytendaele A, Kenemans P, Helmerhorst T, Stern PL, Van den Brule AJC, Walboomers JMM** (1993) Analysis of MHC class I and II expression in relation to presence of HPV genotypes in premalignant and malignant cervical lesions. *Br J Cancer* 67: 1372-1380
- **Cullen AP, Reid R, Campion M, Lorincz AT** (1991) Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasia. *J Virol* 65: 606-612
- **Cuzick J, Terry G, Ho L, Hilling-Worth A, Anderson M** (1992) HPV 16 in cervical smears as a predictor for high grade disease. *Lancet* 339: 959-960
- **Cuzick J, Terry G, Ho L** (1994) Type specific human papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of highgrade cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 69: 167-177
- **Cuzick J, Terry G, Ho L, Monaghan J, Lopes A, Clarkson P, Duncan I** (2000) Association between high-risk HPV types, HLA DRB1* and DQB1* alleles and cervical cancer in British women. *Br J Cancer* 82: 1348-1352
- **Dausset J** (1954) *Vox Sang* 4: 190
- **David ALM, Taylor GM, Gokhale D, Aplin JD, Seif MW, Tindall VR** (1992) HLA-DQB1*03 and cervical intraepithelial neoplasia type III. *Lancet* 340: 52
- **De Roda Husman AM, Walboomers JMM, van den Brule AJC, Meijer CJLM, Snijders PJF** (1996) 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
- **De Villiers EM** (1989) Heterogeneity of the human papillomavirus group. *J Virol* 63: 4898-4903
- **Duggan-Keen M und Lacey C** (1998) Papillomavirus reviews. University Press, Leeds, 141-150

- **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
- **Ferrera A**, Olivo A, Alaez C, Melchers WJ, Gorodezky C (1999) HLA DQA and DQB loci in honduran women with cervical dysplasia and invasive cervical carcinoma and their relationship to human papillomavirus infection. *Hum Biol* 71: 367-379
- **Franke U und Pellegrino MA** (1977) Assignment of the major histocompatibility complex to the region of the short arm of human chromosome 6. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 1147-1151
- **Galloway DA und Jenison SA** (1990) Characterization of the human humoral immune response to genital papillomaviruses. *Mol Biol Med* 7: 59-67
- **Glew SS**, Stern PL, Davidson JA, Dyer PA (1992) HLA antigens and cervical carcinoma. *Nature* 356: 22
- **Glew SS**, Duggan-Keen M, Ghosh AK, Ivanson A, Sinnott P, Davidson J, Dyer PA, Stern PL (1993) Lack of association of HLA polymorphisms with human papillomavirus-related cervical cancer. *Human Immunol* 37: 157-164
- **Greenberg MD**, Sedlacek TV, Campion MJ (1995) Cervical neoplasia: are adjunctive tests to cervical cytology worthwhile? *Clin Obstet and Gynaecol* 38: 600-609
- **Gregoire L**, Lawrence WD, Kukuruga D, Eisenbrey AB, Lancaster WD (1994) Association between HLA-DQB1 alleles and risk for cervical cancer in african-american women. *Int J Cancer* 57: 504-507
- **Halpert R**, Frutcher RG, Sedlis A, Butt K, Boyce JG, Sillman FH (1986) Human papillomavirus and lower genital neoplasia in renal transplant patients. *Obstet Gynecol* 68: 251-258
- **Han R**, Breitburd F, Marche PN, Orth G (1992) Linkage of regression and malignant conversion of rabbit viral papillomas to MHC class II genes. *Nature* 356: 66-68
- **Hamsikova E**, Sramkova I, Loudova M, Ludvikova V, Rob L, Vonka V (1999) The frequency of HLA-DRB1 and -DQB1 alleles in cervical cancer cases in the Czech Republic. *Folia Biol Praha* 45: 31-34
- **Hawley-Nelson P**, Voudsen KH, Hubbert NL, Lowy DR, Schiller JT (1989) HPV 16 E6 and E7 proteins cooperate to immortalize human foreskin keratinocytes. *EMBO J* 8: 3905-3910

- **Heinrich J** (1998) Leitlinien der AG Zervixpathologie und Kolposkopie: Intraepitheliale Neoplasien und frühinvasive Karzinome des unteren Genitaltraktes der Frau (Cervix uteri, Vulva, Vagina). *Zentralbl Gynäkol* 120: 200-202
- **Heinzel PA**, Chan S-Y, Ho I, O'Connor M, Balaram P, Campo MS, Fujinaga K, Kiviat N, Kuypers J, Pfister H, Steinberg BM, Tay S-K, Villa LL, Bernard H-U (1995) Variation of human papillomavirus type 6 (HPV-6) and HPV-11 genomes sampled throughout the world. *J Clin Microbiol* 33: 1746-1754
- **Helland A**, Borresen AL, Kaern S, Ronningen KS, Thorsby E (1992) HLA antigens and cervical carcinoma. *Nature* 356: 23
- **Helland A**, Borresen AL, Kristensen G, Ronningen KS (1994) DQA1 and DQB1 genes in patients with squamous cell carcinoma of the cervix: relationship to human papillomavirus infection and prognosis. *Can Epid Biom Prev* 3: 479-486
- **Helland A**, Olsen AO, Gjoen K, Akselsen HE, Sauer T, Magnus P, Borresen-Dale AL, Ronningen KS (1998) An increased risk of cervical intra-epithelial neoplasia grade II-III among human papillomavirus positive patients with HLA-DQA1*0102-DQB1*0602 haplotype: a population-based case-control study of norwegian women. *Int J Cancer* 76: 19-24
- **Herrington CS**, Evans MF, Hallam NF, Charnock FM, Gray W, McGee JO (1995) Human papillomavirus status in the prediction of highgrade cervical intraepithelial neoplasia in patients with persistent low-grade cervical cytological abnormalities. *Br J Cancer* 71: 206-209
- **Herrero R**, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, Balmaceda I, Greenberg MD, Alfar M, Burk RD, Wacholder S, Plummer M, Schiffman M (2000) Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 92: 464-474
- **Hildesheim A**, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T, Scott DR, Rusch BB, Lawler P, Sherman ME, Kurman RJ, Manos MM (1994) Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J Infect Dis* 169: 235-240
- **Hildesheim A**, Schiffman M, Scott DR, Marti D, Kissner T, Sherman ME, Glass AG, Manos MM, Lorincz AT, Kurman RJ, Buckland J, Rush BB, Carrington M (1998) Human leukocyte antigen class I/II alleles and development of human papillomavirus-related cervical neoplasia: results from a case-control study conducted in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7: 1035-1041

- **Ho GYF**, Burk RD, Fleming I, Klein RS (1994) Risk of genital human papillomavirus infection in women with immunodeficiency virus-induced immunosuppression. *Int J Cancer* 56: 788-792
- **Ho GYF**, Beardsley L, Lempa M, Qu W, Jiang G, Biermann R, Burk RD (1995) Duration and risk factors of type specific persistent genital HPV infection. 14th Intern. Papillomavirus Conf, Quebec, July 23-28: 38
- **Ho GYF**, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD (1998) Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 338: 423-428
- **IARC**, Monograph 1995, IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human papillomaviruses, IARC, Lyon, France: 64
- **Jenson AB**, Kurman RJ, Lancaster WD (1991) Tissue effects of and host response to human papillomavirus infection. *Dermatol Clin* 9: 203-209
- **Jochmus I** (1997) Molecular Biology Intelligence Unit, Landes Bioscience: 137-165
- **Kadish A**, Ho GYF, Burk RD, Wang Y, Romney SL, Ledwidge R, Angeletti RH (1997) Lymphoproliferative cell-mediated immune response to human papillomavirus (HPV) type 16 proteins E6 and E7: outcome of HPV infection and associated neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 89: 1285-1293
- **Kahn T**, Turazza E, Ojeda R, Bercovich B, Stremlau A, Lichter P, Poustka A, Grinstein S, zur Hausen H (1994) Integration of human papillomavirus type 6a DNA in a tonsillar carcinoma: Chromosomal localization and nucleotide sequence of the genomic target region. *Cancer Res* 54: 1305-1312
- **Kasher MS und Roman A** (1988) Characterization of human papillomavirus type 6b DNA isolated from an invasive carcinoma of the vulva. *Virology* 165: 225-233
- **Kataja V**, Syrjänen K, Mäntyjärvi R, Väyrynen M, Syrjänen S, Saarikoski S, Parkikinen S, Yliskoski M, Salonen JT, Carsten O (1989) Prospective follow-up of cervical HPV infections: life table analysis of histopathological, cytological and colposcopic data. *Eur J Epidemiol* 5: 1-7
- **Kataja V**, Syrjänen S, Mäntyjärvi R, Yliskoski M, Saarikoski S, Syrjänen K (1992) Prognostic factors in cervical human papillomavirus infections. *Sex Trans Dis* 19: 154-160
- **Keating PJ**, Cromme FV, Duggan-Keen M, Snijders PJF, Walboomers JMM, Hunter RD, Dyer PA, Stern PL (1995) Frequency of down regulation of individual HLA-A and -B alleles in cervical carcinomas in relation to TAP-1 expression. *Brit J Cancer* 72: 405-411

- **Kessler II** (1987) Etiological concepts in cervical carcinogenesis. *Appl Pathol* 5: 57-75
- **Kirchner H** (1986) Immunbiology of human warts. *Prog Med Virol* 33: 1-14
- **Kiviat NB und Koutsky LA** (1993) Specific human papillomavirus types as the causal agents of most cervical intraepithelial neoplasias: implications for current views and treatment. *J Natl Cancer Inst* 85: 934-935
- **Kjaer SK**, van den Brule AJ, Bock JE, Poll PA, Engholm G, Sherman ME, Walboomers JMM, Meijer CJLM (1996) Human papillomavirus - the most significant risk determinant of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 65: 601-606
- **Klaes R**, Woerner SM, Ridder R, Wentzensen N, Duerst M, Schneider A, Lotz B, Melsheimer P, von Knebel Doeberitz M (1999) Detection of high-risk cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer by amplification of transcripts derived from integrated papillomavirus oncogenes. *Cancer Res* 59: 6132-6136
- **Kleter B**, van Doorn LJ, Schrauwen L, Molijn A, Sastrowijoto S, ter Schegget J, Lindeman J, ter Harmsel B, Burger M, Quint W (1999) Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human papillomavirus. *J Clin Microbiol* 37: 2508-2517
- **Klingelutz AJ**, Foster SA, McDougall JK (1996) Telomerase activation by E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature* 380: 79-81
- **Klitz W**, Aldrich CA, Fildes N, Horning SJ, Begovich AB (1994) Localization of predisposition to Hodgkin disease in the HLA class II region. *Am J Hum Genet* 54: 497-505
- **Knowles G**, O'Neil BW, Campo MS (1996) Phenotypical characterization of lymphocytes infiltrating regressing papillomas. *J Virol* 70: 8451-8458
- **Koss LG** (1989) The Papanicolaou test for cervical cancer detection. A triumph and a tragedy. *JAMA* 261: 737-743
- **Koutsky LA**, Galloway DA, Holmes KK (1988) Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Epid Rev* 10: 122-163
- **Koutsky LA**, Holmes KK, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM (1992) A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *New Engl J Med* 327: 1272-1278
- **Koutsky LA**, Kuypers J, Hughes JP, Holmes KK, Starling A, Krone MR, Kiviat NB (1995) Molecular and microscopic evidence of cervical HPV infection disappears over time despite continued exposure to new sexual partners. 14th Intern Papillomavirus Conf, Quebec, July 23-28: 9

- **Krüger S**, van den Brule AJC, Engholm G, Bock J, Poll PA, Walboomers JMM, Meijer CJLM (1994) Risk factors for HPV detection in 1000 random chosen women with normal Pap smear from Copenhagen/Denmark. 13th Intern Papillomavirus Conf, Amsterdam, October 8-12: 221
- **Krul EJT**, Schipper RF, Schreuder GMTh, Fleuren GJ, Kenter GG, Melief CJM (1999) HLA and susceptibility to cervical neoplasia. *Hum Immunol* 23: 337-342
- **Kurman RJ und Solomon D** (1994) The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. Springer, Berlin Heidelberg New York
- **Labeit D**, Labeit S, Berger M, Gallati H, Rosenberg R, Friese K (1995) Interferon-alpha kontrolliert die HPV-Infektion im Zervixepithel. *Zentralbl Gynakol* 117: 566-577
- **Laga M**, Icenogle JP, Marsella R, Mankova AT, Nzila N, Ryder RW, Vermund SH, Heyward WL, Nelson A, Reeves WC (1992) Genital papillomavirus infection and cervical dysplasia-opportunistic complications of HIV infection. *Int J Cancer* 50: 45-48
- **Laumbacher B und Wank R** (1998) Recruiting HLA to fight HIV. *Nat Med* 4 (5 Suppl): 505
- **Levine AJ** (1993) The tumor suppressor genes. *Annu Rev Biochem* 62: 623-651
- **Ley C**, Bauer HM, Reingold A, Schiffman MH, Chambers JC, Tashiro CJ, Manos MM (1991) Detection of genital human papillomavirus infection in young women. *J Natl Cancer Inst* 83: 997-1003
- **Liebowitz D** (1994) Nasopharyngeal carcinoma: Epstein-Barr virus association. *Semin Oncol* 21: 376-381
- **Lu S**, Day NE, Degos L, LePage V, Wang P-C, Chan S-H, Simons M, MacKnight B, Easton DF, Zeng Y, de-The G (1990) Linkage of a nasopharyngeal carcinoma susceptibility gene to the HLA-locus. *Nature* 346: 470-471
- **Londesborough P**, Ho L, Terry G, Cuzick J, Wheeler C, Singer A (1996) Human papillomavirus genotype as a predictor of persistence and development of high-grade lesions in women with minor cervical abnormalities. *Int J Cancer* 69: 364-368
- **Löning T** (2001) Dysplasien und Neoplasien des Plattenepithels der Zervix. In: Löning T und Riethdorf L: *Pathologie des Uterus, der Vagina und Vulva*. Springer, Berlin, 283
- **Lörincz AT** (1992) Diagnosis of human papillomavirus infection by the new generation of molecular DNA assays. *Clin Immunol* 12: 123-128

- **Lörincz AT**, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ (1992) Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 79: 328-337
- **May M**, Dong X-P, Beyer-Finkler E, Stubenrauch F, Fuchs PG, Pfister H (1994) The E6/E7 promoter of extrachromosomal HPV 16 DNA in cervical cancers escapes from cellular repression by mutation of target sequences for YY1. *EMBOJ* 13: 1460-1466
- **Malejczyk J und M** (1991) Constitutive release of IL6 by human papillomavirus type 16 (HPV16)-harboring keratinocytes: a mechanism augmenting the NK-cell-mediated lysis of HPV-bearing neoplastic cells. In: *Cell Immunol* 136: 155-164
- **Malejczyk J**, Majewski S, Jablonska S, Rogozinski TT, Orth G (1988) Abrogated NK cell lysis of HPV 16 bearing keratinocytes in patients with precancerous and cancerous HPV induced anogenital lesions. *Int J Cancer* 43: 209-214
- **McIndoe WA**, McLean MR, Jones RW, Mullins PR (1984) The invasive potential of carcinoma in situ of the cervix. *Obstet Gynecol* 64: 451-458
- **Mehal WZ**, Lo Y-MD, Herrington CS, Evans MF, Papadopoulos, Odunsi K, Ganesan TS, McGee JOD, Bell JI, Fleming KA (1994) Role of human papillomavirus in determining the HLA associated risk of cervical carcinogenesis. *J Clin Pathol* 47: 1077-1081
- **Melkert PWJ**, Bleker OP, Helmerhorst ThJM, Mopman EH, Meijer CJLM, Risse EKJ, Schippert MEI, van den Brule AJC, van Diest PJ, Walboomers JMM (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
- **Milde-Langosch K**, Riethdorf S, Park TW (1999) Natürlicher Verlauf der HPV-Infektion. Nutzen der HPV-Analytik in der Zervixdiagnostik. *Pathologie* 10: 15-24
- **Montoya L**, Saiz I, Rey G, Vela F, Clerici-Larradet N (1998) Cervical carcinoma: human papillomavirus infection and HLA-associated risk factors in the spanish population. *Eur J Immunogenet* 25: 329-337
- **Mota FF**, Rayment NB, Kanan JH, Singer A, Chain BM (1998) Differential regulation of HLA-DQ expression by keratinocytes and Langerhans cells in normal and premalignant cervical epithelium. *Tissue Antigens* 52: 286-293
- **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: 4417-21
- **Nasiell K**, Nasiell M, Vaclavinkov V (1983) Behavior of moderate cervical dysplasia during long-term follow-up. *Obstet Gynecol* 61: 609-614

- **Nawa A**, Nishiyama Y, Kobayashi T, Wakahara Y, Okamoto T, Kikkawa F, Suganuma N, Goto S, Kuzuya K, Tomoda Y (1995) Association of human leukocyte antigen-B1*03 with cervical cancer in Japanese women aged 35 years and younger. *Cancer* 75: 518-521
- **Nees M**, van Wijngaarden E, Bakos E, Schneider A, Duerst M (1998) Identification of novel molecular markers which correlate with HPV-induced tumor progression. *Oncogene* 16: 2447-2458
- **Neumann RJ**, Huettner PC, Li L, Mardis ER, Duffy BF, Wilson RK, Rader JS (2000) Association between DQB1 and cervical cancer patients with human papillomavirus and family controls. *Obstet Gynecol* 95: 134-140
- **Nilsson CH**, 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
- **Nindl I**, Lotz B, Kühne-Heid R, Endisch U, Schneider A (1999) Distribution of 14 high risk HPV types in cervical intraepithelial neoplasia detected by a non-radioactive general primer PCR mediated enzyme immunoassay. *J Clin Pathol* 52: 17-22
- **Nobbenhuis MAE**, Walboomers JMM, Helmerhorst TJM, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EKJ, van der Linden HC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meijer CJLM (1999) Relation of human papillomavirus status to cervical lesion and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet* 354: 20-25
- **Odunsi K und Ganesan TS** (1997) The roles of the human major histocompatibility complex and human papillomavirus infection in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Clin Oncol* 9: 4-13
- **Odunsi K**, Terry G, Ho L, Bell J, Cuzick J, Ganesan TS (1995) Association between HLA DQB1*03 and cervical intraepithelial neoplasia. *Mol Med* 1: 161-171
- **Odunsi K**, Terry G, Ho L, Bell J, Cuzick J, Ganesan TS (1996) Susceptibility to human papillomavirus-associated cervical intraepithelial neoplasia is determined by specific HLA DR-DQ alleles. *Int J Cancer* 67: 595-602
- **Östor AG** (1993) Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 12: 186-192
- **Olsen AO**, Gjoen K, Sauer T, Orstavik I, Ness O, Kierulf K, Sponland G, Magnus P (1995) Human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia grade II-III: A population-based case-control study. *Int J Cancer* 61: 312-315

- **Osen W**, Jochmus I, Muller M, Gissmann L (2000) Immunization against human papillomavirus infection and associated neoplasia. *J Clin Virol* 19: 75-78
- **Pagano M**, Duerst M, Joswig S, Daetta G, Jansen-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
- **Park TW**, Fujiwara H, Wright TC (1995) Molecular biology of cervical cancer and its precursors. *Cancer* 76: 902-913
- **Perez CA**, Kurman RJ, Stehman FB, Thigpen JT (1992) Uterine cervix. In: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC (eds) Principles and practice of gynecologic oncology. Lippincott, Philadelphia: 591-662
- **Pyrhönen S** (1978) Antibodies response against human papillomaviruses. Helsinki: University of Helsinki 1-4. Doctoral thesis
- **Rammensee HG**, Falk K, Rötzschke O (1993) MHC molecules as peptide receptors. *Curr Opin Immunol* 5: 35-44
- **Reid R**, Greenberg M, Jenson AB, Husain M, Willett J, Daoud Y, Temple G, Stanhope CR, Sherman AI, Phibbs GD, Lorincz AT (1987) Sexually transmitted papillomaviral infections: I. The anatomic distribution and pathologic grade of neoplastic lesions associated with different viral types. *Am J Obstet Gynecol* 156: 212-222
- **Remmink AJ**, Walboomers JMM, Helmerhorst ThJM, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Risse EKJ, Meijer CJLM, Kenemans P (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
- **Richart RM** (1973) Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Annu* 8: 301-328
- **Richart RM** (1990) A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 75: 131-133
- **Riethdorf L**, Ramirez-Ponas J, Kühler-Obbarius C (1999) Diagnostik und Therapie zervikaler Plattenepitheldysplasien. *Pathologe* 20: 34-41
- **Riethdorf S**, Riethdorf L, Milde-Langosch K, Park TW, Löning T (2000) Differences in HPV 16- and HPV 18 E6/E7 oncogene expression between in situ and invasive adenocarcinomas of the cervix. *Virchows Arch* 437: 491-500
- **Riethdorf S**, Riethdorf L, Schulz G, Ikenberg H, Jänicke F, Löning T, Park TW (2001) Relationship between telomerase activation and HPV 16/18 oncogene expression in squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinomas of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol* 20: 177-185

- **Roche JK und Crum CP** (1991) Local immunity and the uterine cervix: Implications for cancer associated viruses. *Cancer Immunol Immunother* 33: 203-209
- **Sandmire HF**, Austin SD, Bechtel RC (1976) Experience with 40.000 Papanicolaou smears. *Obstet Gynecol* 48: 56-60
- **Sanjeevi CB**, Hjelmstrom P, Hallmans G, Wiklund F, Lenner P, Angstrom T, Dillner J, Lernmark A (1996) Different HLA-DR-DQ haplotypes are associated with cervical intraepithelial neoplasia among human papillomavirus type-16 seropositive and seronegative Swedish women. *Int J Cancer* 68: 409-414
- **Sastre-Garau X**, Loste MN, Vincent-Salomon A, Favre M, Mouret E, de la Rochefordiere A, Durand JC, Tartour E, Lepage V, Charron D (1996) Decreased frequency of HLA-DRB1*13 alleles in frenchwomen with HPV-positive carcinoma of the cervix. *Int J Cancer* 69: 159-164
- **Scheffner M**, Huibregste JM, Vierstra RD, Howley PM (1993) The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 75: 495-505
- **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
- **Schiffman MH**, Bauer HM, Hoover RN, Glass AG, Cadell DM, Rush BB, Scott DR, Sherman ME, Kurman RJ, Wacholder S, Stanton CK, Manos MM (1993) Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 85: 958-964
- **Schiffman MH**, Manos MM, Rusch BB, Lawler P, Scott DR, Sherman ME, Kurman RJ, Corrigan A, Greer CE, Zhang T, Glass AG, Lorincz A (1994) A prospective study of HPV-infection and incident CIN. 13th Intern Papillomavirus Conf, Amsterdam, October 8-12: 31
- **Schiffman MH und Brinton LA** (1995) The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Cancer* 76: 1888-1901
- **Schwarz E**, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, zur Hausen H (1985) Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 314: 111-114
- **Selvakumar R**, Schmitt A, Iftner T, Ahmed R, Wettstein FO (1997) Regression of papillomas induced by cottontail rabbit papillomavirus is associated with infiltraton of CD8+cells and persistance of viral DNA after regression. *J Virol* 71: 5540-5548

- **Sherman L**, Alloul N, Golan I, Duerst M, Baram A (1992) Expression and splicing patterns of human papillomavirus type-16 mRNAs in precancerous 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
- **Silva B**, Vargas-Alarcon G, Zuniga-Ramos J, Rodriguez-Reyna TS, Hernandez-Martinez B, Osnaya N, Kofman S, Torres-Lobaton A, Granados J (1999) Genetic features of mexican women predisposing to cancer of the uterine cervix. *Hum Pathol* 30: 626-628
- **Tabrizi SN**, Fairley CK, Chen S, Borg AJ, Baghurst P, Qiunn MA, Garland SM (1999) Epidemiological characteristics of women with high grade CIN who do and do not have human papillomavirus. *Br J Obstet Gynaecol* 106: 252-257
- **Tay SK**, Jenkins D, Maddox P, Campion M, Singer A (1987) Subpopulation of Langerhans`cells in cervical neoplasia. *Br J Obstet Gynaecol* 94: 10-15
- **Tendler A**, Ho GYF, Kadish AS (1999) Do « high-risk » human papillomavirus (HPV) types lead to cancer by evading the immune system? *Gynecol Oncol* 73: 169-170
- **Thursz MR**, Kwiatkowski D, Allsopp CE, Greenwood B, Thomas HC, Hill AV (1995) Association between an MHC class II allele and clearance of hepatitis B virus in the Gambia. *New Engl J Med* 332: 1065-1069
- **Van den Brule AJ**, Walboomers JMM, Du Maine M, Kenemans P, Meijer CJ (1991) Difference in prevalence of human papillomavirus genotypes in cytologically normal cervical smears is associated with a history of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 48: 404-408
- **Van Ranst M**, Kaplan JB, Burk RD (1992) Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. *J Gen Virol* 73: 2653-2660
- **Vandenvelde C**, De Foor M, Van Beers D (1993) HLA-DQB1*03 and cervical intraepithelial neoplasia grades I-III. *Lancet* 341: 442-443
- **Villa LL**, Caballero OL, Simpson AJ, Franco EL (1995) Types associated with high viral copy frequencies in asymptomatic women with cervical HPV infection 14th Intern Papillomavirus Conf, Quebec, July 23-28: 10
- **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. *Int J Cancer* 51: 831-834
- **Walboomers JMM und Meijer CJLM** (1997) Do HPV-negativ cervical carcinomas exist? *J Pathol* 181: 253-254

- **Walboomers JMM**, de Roda Husman AM, van den Brule AJ, Snijders PJ, Meijer CJLM (1994) Detection of genital human papillomavirus infections: critical review of methods and prevalence studies in relation to cervical cancer. In: PL Stern and MA Stanley (eds) Human papillomavirus and cervical cancer: biology and immunology. Oxford University Press, Oxford: 41-71
- **Walboomers JMM**, Jakobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJF, Peto J, Meijer CJLM, Munoz N (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189: 12-19
- **Wank R und Thomssen C** (1991) High risk of squamous cell carcinoma of the cervix for women with HLA-DQw3. *Nature* 352: 723-725
- **Wank R**, Schendel DJ, Thomssen C (1992) HLA antigens and cervical carcinoma. *Nature* 356: 22-23
- **Wank R**, Meulen JT, Luande J, Eberhardt HC, Pawlita M (1993) Cervical intraepithelial neoplasia, cervical carcinoma, and risk for patients with HLA-DQB1*0602, *0301, *0303 alleles. *Lancet* 34: 1215
- **White AE**, Livanos EM, Tlsty TD (1994) Differential disruption of genomic integrity and cell cycle regulation in normal human fibroblasts by HPV oncoproteins. *Genes Dev* 8: 666-677
- **Wright TC und Richart RM** (1992) Pathogenesis and diagnosis of preinvasive lesions of the lower genital tract. In: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC (eds) Principles and practice of gynecologic oncology. Lippincott, Philadelphia: 509-536
- **Wright TC**, Lorincz A, Ferris DG, Richart RM, Ferency A, Mielzynska I, Borgotta L (1998) Reflex human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing in women with abnormal Papanicolaou smears. *Am J Obstet Gynecol* 178: 962-966
- **zur Hausen H** (1977) Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol Immunol* 78: 1-30
- **zur Hausen H** (1988) Papillomaviruses in human cancers. *Molecular carcinogen* 1: 147-150
- **zur Hausen H** (1991) Viruses in human cancers. *Science* 254: 1167
- **zur Hausen H** (1994a) Disrupted dichotomous intracellular control of human papillomavirus infection in cancer of the cervix. *Lancet* 343: 955-957
- **zur Hausen H** (1994) Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific HPV-types. *Curr Top Microbiol Immunol* 186: 131-156

7 ANHANG

7.1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

↑, ↑↑	erhöht, signifikant erhöht
↓, ↓↓	erniedrigt, signifikant erniedrigt
AL	Afterloading
AdCa	invasives adenomatöses Karzinom der Cervix uteri
bes	besonders
Blutsp.	Blutspender
Ca	invasives Karzinom
CI	95% Konfidenz Intervall
CIN	zervikale intraepitheliale Neoplasie
Cis	Carcinoma in situ
HE	Hysterektomie
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HPV	Humanes Papillomavirus
HPVand16,18	HPV-Infektion mit anderen Typen als HPV 16 und 18
HPVneg	HPV-negativ
HPVpos, HPV16pos	HPV-positiv, HPV 16-positiv
hrHPV	high risk HPV
HSIL	high grade squamous intraepithelial lesion
K	Kontrollen
LLETZ	large-loop-exzision of the transformation zone
LSIL	low grade squamous intraepithelial lesion
n	Anzahl der untersuchten Fälle
n.d.	nicht durchgeführt
ntherob	nach Therapie unauffälliger Verlauf
nor.	normal
OR	Odds ratio
PCR	Polymerasekettenreaktion
SCC	invasives squamöses Karzinom der Cervix uteri
SIL	squamous intraepithelial lesion
WE	weite Exzision
Zyto	Zytologie

Idnr.	Alter	DQB1*1	DQB1*2	Dysplasie	Verlauf	Therapie	HPV	hrHPV	HPV16	HPV18	HPV6/11	and. HPV	and. EK
138	32	3011	3011	CIN 1	unbek.	keine	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
165	40	3032	603	CIN 1	unbek.	Beobachtung	neg.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
124	23	3011	5011	CIN 1	ntherob	LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
136	28	201	201	CIN 1	ntherob	Laser	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
151	39	3032	602	CIN 1	ntherob	LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
179	28	3011	5011	CIN 1	ntherob	Laser	neg.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
182	21	3011	5011	CIN 1	ntherob	Laser	neg.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
10	30	6011	3011	CIN 1	Regress	Beobachtung	pos.	neg.	neg.	neg.	pos.	0	keine
117	19	3011	5031	CIN 1	ntherob	Laser	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
131	27	5031	3011	CIN 1	ntherob	Laser	pos.	pos.	pos.	n.d.	n.d.	0	keine
118	32	602	3011	CIN 1	Rezidiv	Konisation+LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
178	33	201	5011	CIN 1	Rezidiv	Laser	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
189	28	201	602	CIN 1	unbek.	Beobachtung	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
175	29	201	5032	CIN 1	Progress	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
191	28	3011	5011	CIN 1	unbek.	keine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
104	45	201	3032	CIN 1	ntherob	LLETZ	neg.	n.d.	neg.	neg.	neg.	0	keine
97	21	402	3011	CIN 1	Persistenz	Beobachtung	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
101	48	3011	201	CIN 2	unbek.	Beobachtung	neg.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
159	35	3011	602	CIN 2	ntherob	LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	MammaCa
161	39	3032	5032	CIN 2	ntherob	LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
164	27	201	5011	CIN 2	ntherob	Laser+LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
188	30	3011	602	CIN 2	ntherob	LLETZ	pos.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
1	28	5011	603	CIN 2	Rezidiv	Konisation+Beobachtung	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
113	47	3032	5011	CIN 2	Rezidiv	Konisation, 2x+LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
105	22	602	3011	CIN 2	unbek.	Beobachtung	neg.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
163	24	201	602	CIN 2	Regress	Beobachtung	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
7	21	201	5011	CIN 2	unbek.	Beobachtung	pos.	pos.	pos.	pos.	n.d.	0	keine
8	28	602	603	CIN 2	unbek.	Beobachtung	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	56	keine
9	26	5011	3032	CIN 2	unbek.	Beobachtung	pos.	pos.	neg.	pos.	neg.	0	keine
70	23	402	201	CIN 2	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	33	keine
154	24	304	603	CIN 2	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	0	keine
156	20	201	5031	CIN 2	Rezidiv	Konisation+LLETZ	pos.	pos.	neg.	pos.	pos.	0	keine
123	24	3011	5011	CIN 2	Persistenz	Beobachtung	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
142	30	3011	602	CIN 2	Persistenz	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
150	32	3011	602	CIN 2	Persistenz	Beobachtung, LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
158	30	201	5011	CIN 2	Regress	Beobachtung	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	33	keine

Tabelle 3.3 Übersicht des Patientinnen- und Kontrollkollektivs

Idnr.	Alter	DQB1*1	DQB1*2	Dysplasie	Verlauf	Therapie	HPV	hrHPV	HPV16	HPV18	HPV6/11	and. HPV	and. EK
176	35	302	603	CIN 2	ntherob	Laser	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
192	22	201	602	CIN 2	ntherob	Konisation	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	M.Crohn
193	42	5011	5011	CIN 2	Rezidiv	Laser	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
110	34	3011	304	CIN 3	ntherob	Konisation, 3x+LLETZ+Laser	neg.	neg.	neg.	n.d.	n.d.	0	keine
116	28	602	5031	CIN 3	ntherob	LLETZ	neg.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
155	27	304	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
167	22	304	5011	CIN 3	ntherob	LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
170	26	3011	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	0	keine
133	28	201	5011	CIN 3	Rezidiv		neg.	neg.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
157	34	302	5011	CIN 3	Rezidiv	Konisation+LLETZ	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
153	35	201	5011	CIN 3	unbek.	LLETZ, 2x	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	0	keine
121	30	604	3011	CIN 3	unbek.	Beobachtung	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
14	35	602	3011	CIN 3	ntherob	LLETZ+Konisation	pos.	pos.	pos.	n.d.	n.d.	0	keine
18	30	5011	3011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.	0	keine
60	28	6012	3011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.	33	keine
76	25	502	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.	33	keine
88	43	502	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
89	28	5011	3011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
96	33	3032	3011	CIN 3	ntherob	LLETZ+HE	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
106	33	602	201	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	33	keine
109	22	3011	5031	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	0	keine
115	32	201	603	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	n.d.	31	keine
120	35	5011	3032	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
122	30	602	3011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
125	21	201	5011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	0	keine
127	31	3032	5011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
128	35	201	201	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
134	31	201	603	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	0	keine
141	36	201	6041	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	n.d.	n.d.	0	keine
145	29	602	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
147	34	3011	502	CIN 3	ntherob	HE	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
149	37	302	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
160	25	201	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	n.d.	n.d.	0	keine
162	34	3011	607	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	pos.	0	keine
169	23	201	201	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
171	33	3032	3011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.	0	keine
172	43	3011	604	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	0	keine

Tabelle 3.3 Übersicht des Patientinnen- und Kontrollkollektivs

Idnr.	Alter	DQB1*1	DQB1*2	Dysplasie	Verlauf	Therapie	HPV	hrHPV	HPV16	HPV18	HPV6/11	and. HPV	and. EK
173	24	3011	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
181	31	3011	5011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
184	52	201	6041	CIN 3	ntherob	Laser	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
185	30	3032	5011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
187	29	3032	603	CIN 3	ntherob	Laser	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
190	25	3011	6041	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
194	31	602	602	CIN 3	ntherob	Laser	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
195	48	201	602	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
557	32	5011	603	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
618	38	201	5011	CIN 3	ntherob	Konisation+HE	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	0	keine
6	35	201	603	CIN 3	Rezidiv	Konisation,2x+ HE+Laser,7x	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
42	27	602	201	CIN 3	Rezidiv	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
61	34	5011	201	CIN 3	Rezidiv	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.	0	keine
87	29	602	3032	CIN 3	Rezidiv	Konisation+HE+WE+Laser+AL	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	35	keine
103	26	5011	3011	CIN 3	Rezidiv	LLETZ, 2x +Laser	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
146	31	302	5011	CIN 3	Rezidiv	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
152	30	201	5011	CIN 3	Rezidiv	Konisation+LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
28	26	602	3011	CIN 3	unbek.	LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
43	23	602	3011	CIN 3	unbek.	Laser+LLETZ	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.	35	keine
143	34	617	602	CIN 3	unbek.	Beobachtung, LLETZ	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	0	keine
40	40	302	3032	CIN 3	ntherob	Konisation	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
41	26	602	603	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	n.d.	neg.	neg.	neg.	0	keine
77	32	604	201	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	n.d.	neg.	neg.	neg.	0	keine
102	27	3011	201	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
119	30	5031	5011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	n.d.	neg.	neg.	pos.	0	keine
126	30	3011	5011	CIN 3	ntherob	LLETZ	pos.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
130	27	3011	602	CIN 3	ntherob	Konisation	pos.	n.d.	neg.	neg.	neg.	0	keine
180	28	201	5011	CIN 3	ntherob	LLETZ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	Hyperprolak.
186	24	3032	305	CIN 3	ntherob	LLETZ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
579	29	3011	602	CIN 3	ntherob	Konisation	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
111	34	3011	3032	CIN 3	Rezidiv	Konisation+Laser	pos.	n.d.	neg.	neg.	neg.	0	keine
506	23	602	603	CIN 3	Rezidiv	Konisation, 3x	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0	keine
99	34	3011	201	CIN 3	unbek.	Konisation+HE	pos.	n.d.	neg.	neg.	neg.	0	keine

Tabelle 3.3 Übersicht des Patientinnen- und Kontrollkollektivs

Idnr.	Alter	DQB1*1	DQB1*2	Dysplasie	Verlauf	Therapie	HPV	hrHPV	HPV16	HPV18	HPV6/11	and. HPV	and. EK
2	29	5031	602	keine									keine
15	32	201	5011	keine									keine
17	72	602	201	keine									keine
21	30	302	3011	keine									keine
22	21	201	201	keine									keine
25	37	602	201	keine									keine
30	30	201	3032	keine									keine
31	29	201	201	keine									keine
32	32	302	5011	keine									keine
33	32	5011	602	keine									keine
34	35	304	5031	keine									keine
35	31	201	603	keine									keine
36	32	304	602	keine									keine
37	37	302	3032	keine									keine
38	33	602	201	keine									keine
44	39	3032	602	keine									keine
47	38	603	3011	keine									keine
49	34	201	5011	keine									keine
52	38	302	5011	keine									FNH
53	33	302	402	keine									keine
54	35	201	5011	keine									keine
55	32	201	3011	keine									keine
56	31	602	302	keine									keine
57	30	604	202	keine									Neuroderm.
58	30	5011	304	keine									keine
59	21	5011	402	keine									Neuroderm.
62	32	602	3032	keine									keine
63	30	604	302	keine									keine
64	23	201	5011	keine									keine
65	28	5011	602	keine									keine
66	30	604	302	keine									keine
67	33	302	5011	keine									keine
68	34	5011	202	keine									keine
71	34	602	202	keine									keine
72	29	201	602	keine									keine
73	36	201	3011	keine									keine
74	33	604	302	keine									keine
75	31	201	602	keine									keine
78	33	5011	201	keine									keine

Tabelle 3.3 Übersicht des Patientinnen- und Kontrollkollektivs

Idnr.	Alter	DQB1*1	DQB1*2	Dysplasie	Verlauf	Therapie	HPV	hrHPV	HPV16	HPV18	HPV6/11	and. HPV	and. EK
79	17	302	5011	keine									keine
80	32	5011	201	keine									keine
81	27	201	603	keine									keine
83	26	201	603	keine									keine
84	33	201	201	keine									keine
85	31	5011	302	keine									keine
86	29	302	3011	keine									keine
90	31	3011	3032	keine									keine
91	34	602	3032	keine									keine
92	28	3032	3011	keine									keine
93	31	302	607	keine									keine
94	29	5011	5011	keine									keine
95	31	5011	201	keine									keine
177	28	201	602	keine									keine
500	27	201	603	keine									keine
501	22	5011	3011	keine									keine
502	36	201	3011	keine									keine
503	35	602	3011	keine									keine
507	34	3032	3032	keine									keine
508	33	201	6011	keine									keine
509	35	3011	603	keine									keine
510	35	302	304	keine									keine
511	32	602	302	keine									keine
512	29	3011	3011	keine									keine
514	33	201	602	keine									keine
515	42	3011	201	keine									keine
516	29	5011	602	keine									keine
517	31	5011	402	keine									keine
518	32	3011	602	keine									keine
519	34	201	602	keine									keine
520	29	502	3011	keine									keine
521	25	302	3011	keine									keine
522	36	603	201	keine									keine
524	29	302	604	keine									keine
525	30	5011	3032	keine									keine
526	32	5031	402	keine									keine
527	35	302	502	keine									keine
528	31	5032	603	keine									keine

Tabelle 3.3 Übersicht des Patientinnen- und Kontrollkollektivs

Idnr.	Alter	DQB1*1	DQB1*2	Dysplasie	Verlauf	Therapie	HPV	hrHPV	HPV16	HPV18	HPV6/11	and. HPV	and. EK
529	28	603	602	keine									keine
530	31	201	3011	keine									keine
531	33	302	5032	keine									keine
532	22	3011	603	keine									keine
533	35	5031	201	keine									keine
534	19	604	201	keine									keine
535	29	602	5011	keine									keine
536	33	305	6041	keine									keine
541	32	3011	603	keine									keine
542	35	201	201	keine									keine
545	28	304	3011	keine									keine
546	28	201	201	keine									keine
547	29	302	3032	keine									keine
548	32	5031	201	keine									keine
549	40	603	3032	keine									keine
550	37	201	201	keine									keine
551	28	201	201	keine									keine
554	37	3032	603	keine									keine
555	26	6011	302	keine									keine
556	19	302	201	keine									keine
558	39	604	201	keine									keine
559	33	3011	5031	keine									keine
567	37	201	5011	keine									keine
568	35	201	5011	keine									keine
569	37	302	302	keine									keine
570	33	201	5011	keine									keine
571	30	201	5011	keine									keine
572	28	201	5011	keine									keine
574	24	201	5011	keine									keine
576	31	201	5011	keine									keine
577	35	201	602	keine									keine
580	41	201	5011	keine									keine
582	41	402	602	keine									keine
584	34	3011	602	keine									keine
585	25	202	202	keine									keine
586	33	3011	3011	keine									keine
587	32	201	201	keine									keine
588	28	201	5011	keine									keine
589	25	302	302	keine									keine

Tabelle 3.3 Übersicht des Patientinnen- und Kontrollkollektivs

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, ohne deren Bemühungen diese Arbeit nie zustande gekommen wäre:

Prof. Dr. med. Fritz Jänicke, dem Direktor meiner Klinik, für die Möglichkeit und die wissenschaftliche Unterstützung,

Prof. Dr. med. Christoph Thomssen für die Anleitung, Betreuung, konstruktive Kritik und stete Motivation in allen wissenschaftlichen Fragen und bei "üblichen" Problemen,

Prof. Dr. med. Rudolf Wank für die Unterstützung und die Inspiration die komplexen Zusammenhänge der Immungenetik (zu versuchen) zu verstehen,

Prof. Dr. med. Thomas Löning für die wissenschaftliche Unterstützung und Diskussion "aller" Fragen zur Pathologie der Cervix uteri,

Dr. med. Christina Kühler-Obbarius für die wissenschaftliche Betreuung und versierte Einarbeitung in die Dysplasie-Sprechstunde.

Außerdem möchte ich meinen Dank aussprechen bei:

Diplombiologe Songhai Gu und seinen Kolleginnen aus dem Labor von Prof. Wank für die Durchführung der HLA-Sequenzierung,

Dr. rer. nat. Sabine Riethdorf für ihre wissenschaftliche Beratung und Unterstützung bei der Durchführung der HPV-Typisierung,

den "MTAs" Frauke Winckler, Cornelia Coith, Kathrin Baack und Antje Andreas sowie Tanja Karstens und Sonja Petersen

und "last but not least" möchte ich meinem Ehemann Gerhard danken, der in einigen Phasen unter Vernachlässigung, Abwesenheit und Anfällen schlechter Laune leiden mußte, aber trotz allem mit Nachsicht und Geduld diese Arbeit unterstützte.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Katja Behrens, geb. Will
Geburtsdatum: 26. März 1970
Geburtsort: Marburg an der Lahn
Familienstand: verheiratet

Schulbildung

Aug 76 Otto-Ubbelohde-Schule, Marburg
Mai 89 Allg. Hochschulreife Gymnasium Elisabethschule, Marburg

Studium

Okt 89 Humanbiologie in Marburg
Apr 90 bis Mär 92 Humanmedizin in Heidelberg
Apr 92 bis Sep 96 Humanmedizin in Hamburg

Praktisches Jahr

Okt 96 bis Nov 97
Gyn. u. Geburtshilfe Universitätsklinikum Eppendorf, Prof. Dr. med. F. Jänicke
Chirurgie Universitätsklinikum Eppendorf, Prof. Dr. med. C. Broelsch
Innere Medizin Universitätsklinikum Eppendorf, Prof. Dr. med. T. Meinertz

Ärztin im Praktikum

März 98 bis Sep 99 Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Universitätsklinikum Eppendorf, Prof. Dr. med. F. Jänicke

Ärztin in Weiterbildung

Seit Sep 99 Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Universitätsklinikum Eppendorf, Prof. Dr. med. F. Jänicke

Erklärung:

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.