

29. Februar 2004

HPV-Impfung und Zervixkarzinom – aktueller Stand

Die onkogenen Humanen Papillomviren (HPV) sind seit langem als wichtigster pathogenetischer Faktor bei der Entstehung des Zervixkarzinoms, weiterer anogenitaler Karzinome (Penis-, Vulvakarzinome) und deren Vorläufer bekannt. Diese virale Genese einer Tumorerkrankung stellt die Grundlage für den prophylaktisch/therapeutischen Ansatz einer Impfung dar.

„Der Anfang des Endes des Zervixkarzinoms?“ So enthusiastisch kommentiert C. Crum (1) im November 2002 im New England Journal of Medicine die in der selben Ausgabe veröffentlichte Studie von Koutsky et al. (2), die eine 100%ige Impfwirkung einer prophylaktischen Vakzine gegen HPV 16 zeigte.

Seit mehreren Jahren läuft die Entwicklung sowohl prophylaktischer als auch therapeutischer Impfstoffe gegen HPV, wovon einige bereits in fortgeschrittener klinischer Erprobung sind. Hierbei wurden verschiedene Impfansätze verfolgt, die sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunreaktion berücksichtigen. Bis zur endgültigen Zulassung werden noch einige Jahre vergehen, ein Einsatz dieser Impfstoffe ist jedoch realistisch geworden.

HPV und Zervixkarzinom

Jährlich erkranken ca. 500.000 Frauen weltweit am Zervixkarzinom, der zweithäufigsten Todesursache krebserkrankter Frauen. Aufgrund zahlreicher epidemiologischer und experimenteller Studien der letzten 15 Jahre wurde HPV als ursächlich bei der Entstehung des Zervixkarzinoms identifiziert (3,4). Mehr als 99% der Zervixkarzinome und ihrer Vorläufer enthalten HPV-DNA (5). Mehr als 100 HPV-Genotypen konnten bisher identifiziert werden. 80% aller Zervixkarzinome sind mit den 4 „high-risk“ HPV assoziiert (16,18,31,45), wobei HPV 16 allein in ca. 50% der Zervixkarzinome nachweisbar ist (6). Daher konzentriert sich die Impfstoffentwicklung vor allem auf diesen Typ.

Prophylaktische Impfung

„virus-like-particles“ (VLP)

Aufgrund der speziellen Eigenschaften der Papillomaviren und der durch sie entstehenden Infektion mit der ausgeprägten Affinität zum Epithel sowie die lokale Begrenztheit machen eine Gewinnung von Viruspartikeln sehr schwierig. Erst die Erzeugung synthetischer leerer Virushüllen, sogenannter „virus-like-particles“ (VLP), die das L1 Strukturprotein exprimieren, ermöglichte eine weitere Erforschung der durch HPV ausgelösten humoralen Immunreaktionen. Dabei fand man, dass eine HPV-Infektion auch zu einer HPV-typenspezifischen Antikörperbildung führt (7). Diese Antikörper haben auf den Verlauf der Erkrankung nur einen geringen Einfluss,

scheinen jedoch vor einer erneuten Ansteckung mit dem gleichen Virustyp zu schützen (8). Die VLP stellen momentan das attraktivste Agens bei der Entwicklung eines prophylaktischen Impfstoffs dar. Verschiedene Tiermodelle zeigten, dass sowohl die parenterale als auch die orale Applikation von VLP hohe Titer neutralisierender Antikörper hervorruft (9,10) und experimentell einen Schutz vor einer Virusinfektion gewährleistet.

In einer Phase-I-Studie zur Sicherheit und Effektivität einer VLP-Impfung wurden gesunde Probandinnen mit HPV-16-L1-VLP-Vakzine immunisiert. Alle tolerierten die Gabe ohne Nebenwirkungen und alle Geimpften zeigten eine Serokonversion mit AK-Titern, die bis zu 40 mal höher waren als bei einer natürlichen HPV-Infektion. Serologische Untersuchungen ergaben eine neutralisierende Wirkung der erzeugten Antikörper, was bedeutet, dass diese einen Schutz vor Virusinfektion bieten (11).

Die im November 2002 veröffentlichte Studie von Koutsky et al. (2) zeigte in einer doppelblinden, multizentrischen Untersuchung an 2.392 gesunden Frauen zwischen 18 und 23 Jahren nach Verabreichung entweder von HPV-16-VLP-Vakzine oder Placebo eine 100%ige Impfeffizienz: Nach einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 17,4 Monaten wurde bei 41 Frauen eine persistierende HPV-Infektion nachgewiesen und bei 9 Frauen HPV-assoziierte intraepitheliale Neoplasien. Alle gehörten der Placebogruppe an. Auch hier wurde eine gute Verträglichkeit des Impfstoffes gezeigt.

Eine derzeit laufende Phase-III-Studie untersucht nach gleichem Studiendesign die Wirkung eines quadrivalenten VLP-Impfstoffes gegen HPV 16, 18, 6 und 11 als der am häufigsten vorkommenden onkogenen und kondylomauslösenden HPV. Eine Auswertung ist nicht vor 2006 zu erwarten, da eine Nachbeobachtungszeit von 4 Jahren anberaunt ist (12). Insgesamt wird man abwarten müssen, ob die Impfung auch tatsächlich die Inzidenz des Zervixkarzinoms senkt. Dies wird aufgrund der zeitlichen Entwicklung der Erkrankung erst in einigen Jahren klar werden.

Therapeutische Impfung

CVLP

Ein weiterer interessanter Ansatz ergibt sich durch die sogenannten chimären VLP (CVLP), die neben dem Strukturprotein L1 auch nicht strukturelle Proteine wie die HPV-spezifischen Onkogene E6 und E7 enthalten. Aufgrund des Auslösens einer protektiven humoralen und einer zytotoxischen Immunantwort bieten sie die Möglichkeit sowohl einer prophylaktischen als auch einer therapeutischen Impfung. Der entsprechende Wirkmechanismus konnte in verschiedenen tierexperimentellen Studien und in-vitro-Impfungen beim Menschen nachgewiesen werden (13,14,15).

Noch nicht veröffentlicht sind Ergebnisse einer deutschen multizentrischen Phase-I/II-Studie mit einer CVLP-Vakzine (HPV 16 L1/E7), die deren Sicherheit, Immunantworten und klinische Ergebnisse untersucht. (Medigene homepage: [www. medigene.com/englisch/index_e.php](http://www.medigene.com/englisch/index_e.php)). Mit diesen chimären VLPs wurde in einer anderen Untersuchung die Möglichkeit erprobt, mit einem Impfstoff gegen verschiedene sexuell übertragbare Krankheiten zu impfen (hier: HIV/ HPV). Man sah im Tierversuch mit Makaken zumindest einen Effekt im Sinne einer Immunantwort und eines partiellen Schutzes vor einer HIV-Infektion (14).

Peptide

Die Onkogene E6 und E7 werden von der Mehrzahl der (HPV-positiven) Zervixkarzinomzellen exprimiert. Immunogene Peptide, die den Onkogenen E6 und E7 entstammen und an HLA-A*0201 - dem häufigsten MHC-Komplex beim Menschen - binden, lösen eine Reaktion

zytotoxischer T-Lymphozyten (CTL) aus, die in vitro in der Lage sind, Tumorzellen zu lysieren (16).

In einer klinischen Phase-I/II-Studie konnte bei keiner der beobachteten Patientinnen mit fortgeschrittenem HPV-16-positivem Zervixkarzinom durch Gabe eines HPV-16/E7-Peptids eine klinische Regression des Tumors festgestellt werden. Ebenso waren keine CTL-Reaktionen auf das HPV-16/E7-Peptid nachzuweisen. Allerdings bestand bei 11/19 Patientinnen bereits vor der Impfung eine Lymphopenie, sodass aufgrund der immungeschwächten Ausgangssituation nicht mit deutlichen Effekten gerechnet werden konnte (17).

In einer klinischen Phase-I-Untersuchung an Patientinnen mit CIN-II/III- oder VIN-Läsionen konnte man nach Gabe von HPV-16/E7-Peptid bei 3 von 18 Patientinnen eine komplette Regression der Dysplasie beobachten, bei 6 eine partielle. Allerdings waren die T-Zellantworten nicht ausreichend, um das Virus zu eliminieren (18).

Die derzeit getesteten E7-Impfstoffe sind aufgrund der spezifischen Bindung des Peptids nur bei Patienten möglich, die HLA-A*0201 exprimieren.

Proteine

Komplette gereinigte Proteine hätten im Gegensatz zu den Peptiden den Vorteil, dass ihr Einsatz nicht auf bestimmte MHC-Typen beschränkt wäre und alle möglichen Epitope dem Immunsystem präsentiert werden könnten.

In einer derzeit laufenden Studie wird die Sicherheit und Immunogenität eines E6/E7-Fusionsproteinimpfstoffs bei Patientinnen mit zervikaler Dysplasie getestet (19).

Um die Immunogenität der Proteine zu erhöhen wurden sogenannte Fusionsproteine kreiert, die E7, gebunden an das BCG Hitzeschockprotein 65 (hsp65) enthalten. In klinischen Studien konnte ein guter Effekt dieses Impfstoffes bei analen Dysplasien und anogenitalen Warzen nachgewiesen werden (20). Es wurde außerdem ein HPV-16-L2E6E7-Fusionsprotein gestaltet, dessen Sicherheit und Immunogenität bereits untersucht sind (21). Klinische Untersuchungen an Patienten mit persistierenden CIN/VIN sind in Arbeit.

Rekombinante Viren

In einer ersten Phase-I/II-Studie (1996) zeigte sich bei Anwendung eines rekombinanten Vaccinia-Stammes, der die E6- und E7-Proteine von HPV 16 und 18 enthält, bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Zervixkarzinom bei einer von 3 Patientinnen die Bildung spezifischer zytotoxischer T-Zellen und eine verlängerte Überlebenszeit (22). In einer europäischen multizentrischen Phase-I/II-Studie konnte bei Patientinnen mit Zervixkarzinomen der Stadien Ib-IIa bei 8 von 17 Patientinnen eine Bildung HPV-spezifischer Antikörper beobachtet werden, bei 4 von 29 spezifische zytotoxische T-Zellen (23).

Weitere Impfansätze

Dendritische Zellen bieten als antigenpräsentierende Zellen die Möglichkeit mit Tumorantigenen (z.B. E6/E7) beladen zu werden und so eine spezifische Immunreaktion (E6/E7-spezifische CTLs) auszulösen (24). In einem Fallbericht wurde durch Gabe von mit HPV 18/E7 beladenen autologen dendritischen Zellen eine ungewöhnlich lange Stabilisierung des Krankheitsstadiums bei einer Patientin mit HPV-18-positivem metastasierten Zervixkarzinom erreicht (25).

DNA-Vakzine, z.B. Applikation der E7-Sequenz mit nachfolgender Präsentation im antigenpräsentierenden System, sind ebenfalls erfolgreich im Tiermodell untersucht worden (26). Zur Wirksamkeit am Menschen existiert eine Phase-I-Studie mit Patienten mit analen Dysplasien, die mit DNA in Plasmidform (HPV 16/E7) behandelt wurden. 10 von 12 Patienten zeigten eine

verstärkte Immunantwort, 3 eine partielle histologische Antwort (27).

Erwähnt sei noch die Möglichkeit einer Impfung mit genetisch modifizierten Tumorzellen, deren Gene für immunstimulatorische Zytokine verändert werden können (28). Hierzu gibt es derzeit lediglich Tiermodelle.

Im Tierversuch wurden auch rekombinante Bakterien (z.B. *Listeria monocytogenes*) erfolgreich zur therapeutischen Impfung genutzt (29).

Zusammenfassung:

Die Fortschritte in der prophylaktischen und therapeutischen Impfung gegen HPV und HPV-assoziierte Erkrankungen sind durchaus ermutigend. Am weitesten ist die Entwicklung der prophylaktischen Impfung mit VLP; bis zur Marktreife eines monovalenten HPV-16-Impfstoffes werden nach Grubert (30) noch ca. 1-2 Jahre vergehen.

Therapeutische Impfungen stellen die noch größere Herausforderung dar, da man bei der Entwicklung einer suffizienten Immuntherapie die supprimierte Immunlage fortgeschrittener Zervixkarzinompatientinnen mit berücksichtigen muss. Nichtsdestotrotz sind die Ergebnisse auch hier sehr positiv, was die Provokation adäquater T-Zellantworten auf HPV-Onkogene anbelangt. Die Auswirkungen der HPV-Impfung werden sich erst in einigen Jahren zeigen, wenn absehbar ist, ob tatsächlich die Inzidenz des Zervixkarzinoms gesenkt werden kann.

Die bisherigen Impfstoffe beinhalten maximal 4 HPV-Typen. Die Entwicklung eines polyvalenten Impfstoffes muss das Ziel sein, um nicht anderen HPV-Typen, als denen die bisher die Hauptanzahl der HPV-assoziierten Erkrankungen verursachen, das Feld zu überlassen. Außerdem sollte der Impfstoff bezahlbar und einfach in der Aufbewahrung und im Transport sein, um ihn den Dritte-Welt-Ländern, wo die Inzidenz des Zervixkarzinoms am höchsten ist, zugänglich zu machen.

Schließlich werden auch die Fragen zu klären sein, in welchem Alter eine prophylaktische Impfung vorzunehmen ist, ob diese vor Aufnahme der sexuellen Aktivität akzeptiert wird, und ob Jungen und Männer ebenfalls geimpft werden sollen.

Quelle: Literatur:

1 Crum CP (2002) *The beginning of the end for cervical cancer?* *N Engl J Med* 347: 1703-1705

2 Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM et al. (2002) *A controlled trial of human papillomavirus type 16 vaccine.* *N Engl J Med* 347: 1645-1651

3 zu Hausen H (2002) *Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application.* *Nat Rev Cancer* 2: 342-350

4 Bosch FX, Lorincz A, Munoz N et al. (2002) *The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer.* *J Clin Pathol* 55: 244-265

5 Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM et al. (1999) *Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide.* *J Pathol* 189: 12-19

6 Lorincz AT, Reid R, Jenson AB et al. (1992) *Human papillomavirus infection of the cervix: Relative risk associations of 15 common anogenital types.* *Obstet Gynecol* 79: 328-337

7 Marais DJ, Rose RC, Lane C et al. (2000) *Seroresponses to human papillomavirus types 16, 18, 31, 33, and 45 virus-like-particles in South African women with cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia.* *J Med Virol* 2000 60(4): 403-410

8 Wideroff L, Schiffmann MH, Hoover R et al. (1996) *Epidemiologic determinants of seroreactivity to human*

papillomavirus (HPV) type 16 virus-like-particles in cervical HPV-16-positive and -negative women

9 Breitburd F, Kirnbauer R, Hubbert NL et al. (1995) Immunization with virus-like particles from cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) can protect against experimental CRPV infection. *J Virol* 69: 3959-3963

10 Rose RC, Lance C, Wilson S et al. (1999) Oral vaccinations of mice with human papillomavirus virus-like particles induces systemic virus-neutralizing antibodies. *Vaccine* 17: 2129-2135

11 Harro CD, Pang YY, Roden RB et al. (2001) Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J Nat Cancer Inst* 93: 284-292

12 Villa L, Costa C, Petta et al. (2002) A dose-ranging safety and immunogenicity study of a quadrivalent HPV (types 6/11/16/18) L1 VLP vaccine in women. Presented at the 20th International Papillomavirus Conference, Paris

13 Schäfer K, Müller M, Faath S et al. (1999) Immune response to human papillomavirus 16 L1 E7 chimeric virus-like particles: induction of cytotoxic T cells and specific tumor protection. *Int J Cancer* 81: 881-888

14 Dale CJ, Liu XS, De Rose R et al. (2002) Chimeric human papilloma virus-simian/human immunodeficiency virus virus-like-particle vaccines: immunogenicity and protective efficacy in macaques. *Virology* 301: 176-187

15 Kaufmann AM, Nieland J, Schinz M et al. (2001) HPV 16/L1/E7 chimeric virus-like particles induce specific HLA-restricted T Cells in humans after in vitro vaccination. *Int J Cancer* 92:285-293

16 Kaufman AM, Gissmann L, Street D et al. (1996) Expression of CD80 enhances immunogenicity of cervical carcinoma cells in vitro. *Cellular immunology* 169: 246-251

17 van Driel WJ, Rensing ME, Kentner GG et al. (1999) Vaccination with HPV 16 peptides of patients with advanced cervical carcinoma: clinical evaluation of a phase I-II trial. *Eur J Cancer* 35: 946-952

18 Munderspach L, Wilczynski S, Roman L et al. (2000) A phase I trial of a human papillomavirus (HPV) peptide vaccine for women with high-grade cervical and vulvar intraepithelial neoplasia who are HPV 16 positive. *Clin Cancer Res* 6: 3406-3416

19 Steller MA (2002) Cervical cancer vaccines: progress and prospects. *J Soc Gynecol Invest* 9: 254-264

20 Goldstone SE, Palefsky JM, Neefe JR (2002) Activity of hsp E7, a novel immunotherapy in patients with anogenital warts. *Dis Colon Rectum* 45: 502-507

21 De Jong A, O'Neil T, Khan AY et al. (2002) Enhancement of human papillomavirus (HPV) type 16 E6 and E7-specific T-cell immunity in healthy volunteers through vaccination with TA-CIN, an HPV 16 L2E6E7 fusion protein vaccine. *Vaccine* 20: 3456-3464

22 Borysiewicz LK, Fiander A, Nimako M et al. (1996) A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. *Lancet* 347: 1523-1527

23 Kaufmann AM, Stern PL, Rankin EM (2002) Safety and immunogenicity of TA-HPV, a recombinant Vaccinia Virus expressing modified human Papillomavirus (HPV)-16 and

24 Murakami M, Gurki KJ, Marincola FM (1999) Induction of specific CD8+ T-lymphocyte responses using a human papillomavirus-16 E6/E7 fusion protein and autologous dendritic cells. *Cancer Res* 59: 1184-1187

25 Santin AD, Bellone S, Gokden M et al. (2002) Vaccination with HPV-18 E7-pulsed dendritic cells in a patient with metastatic cervical cancer. *N Engl J Med* 346: 1752-1753

26 Ji H, Wang TL, Chen CH et al. (1999) Targeting human papillomavirus Type 16 E7 to the endosomal/lysosomal compartment enhances the antitumor immunity of DNA vaccines against murine human papillomavirus type 16 E7-expressing tumors. *Hum Gene Ther* 10: 2727-2740

27 Klencke B, Matijevic M, Urban RG et al. (2002) Encapsulated plasmid DNA treatment for human papillomavirus 16-associated anal dysplasia: a phase I study of ZYK101. *Clin Cancer Res* 8: 1028-1037

28 Chen CH, Wu TC (1998) Experimental vaccine strategies for cancer immunotherapy. *J Biomed Sci* 5: 231-252

29 Gunn GR, Zubair A, Peter C et al (2002) Two *Listeria monocytogenes* vaccine vectors that express different molecular forms of human papilloma virus-16 (HPV-16) E7 induce qualitatively different T cell immunity that

correlates with their ability to induce regression of established tumors immortalized by HPV-16. J Immunol 167: 6471-6479

30 Grubert TA, Friese K (2003) Impfung gegen HPV. Aktueller Stand und neue Perspektiven zur Vakzinierung gegen humanpathogen Papillomviren. Gynäkologe 36: 313-322