

Livmoderhalscancer

Nytt test för ökad säkerhet

Björn Jacobsson, Medicinsk chef
Klinisk patologi/cytologi och
Emma Lindbäck, Medicinsk chef
Klinisk mikrobiologi, Capio Diagnostik

Capio Diagnostik är först i Sverige med mRNA-baserat HPV-test för tidig detektion av livmoderhalscancer.

Humant papillomvirus (HPV) är ett sexuellt överförbart DNA-virus som anses orsaka nästan samtliga fall av livmoderhalscancer. Dock finns fler än 100 varianter av viruset och endast ett 30-tal av dessa kan infektera slidan och livmoderhalsen. Några av dessa papillomvirus t ex typ 6 och 11 orsakar vårtor (kondylom). Andra virusvarianter framför allt typ 16, 18, 31, 33 och 45 är cancerframkallande och kan med tiden ge upphov till livmoderhalscancer.

Capio Diagnostik först

DNA-baserade HPV-test har funnits på marknaden sedan många år. Dessa test kan dock inte skilja mellan vilande eller aktiv virusinfektion. För att livmoderhalscancer ska utvecklas måste viruset uttrycka de cancerframkallande proteinerna E6 och E7.

På senare tid har därför ett mRNA-baserat HPV-test tagits fram av det norska företaget Norchip. Detta test kan påvisa aktiv infektion med E6/E7-uttryck och synes vara mer specifikt än de äldre DNA-baserade metoderna. Capio Diagnostik är först i landet att erbjuda detta nya mRNA-test.

Dagens cytologiska screeningverksamhet för livmoderhalscancer baseras



Björn Jacobsson är medicinsk chef för klinisk patologi/cytologi inom Capio Diagnostik och tror mycket på de nya diagnostiska möjligheterna med mRNA-baserat HPV-test.

på förekomst av ljusmikroskopiskt påvisbara förändringar i cellprov från livmoderhalsen.

Flertalet cellförändringar lindriga

Alla kvinnor mellan 23 och 49 år kallas vart tredje år till provtagning. Kvinnor mellan 50 och 60 år kallas vart femte år. De allra flesta prov är normala, men varje år får cirka 30 000 kvinnor besked om att de har någon form av cellförändringar. I flertalet fall är dessa cellförändringar lindriga och försvinner eller kan behandlas bort med enkla medel.

I en minoritet av fallen är cellerna mer påtagligt förändrade vilket föranleder gynekologisk undersökning. Därvid används ett instrument (kolposkop) med vars hjälp man kan granska livmoderhalsens yta i förstoring. Vävnadsprov från avvikande ytstruk-

turer tillvaratages för mikroskopisk undersökning och om förstadium till cancer därvid konstateras så opereras patienten med bortagande av hela det förändrade området (konisering).

Behov av kompletterande test

Den cytologiska screeningverksamheten i Sverige har pågått sedan slutet av 1960-talet och både insjuknande och dödlighet i livmoderhalscancer har sedan dess halverats.

Under de sista 10 åren har denna positiva utveckling dock stannat av och fortfarande drabbas närmare 450 kvinnor i Sverige varje år av denna cancerform. Det finns således ett behov av kompletterande metoder såsom HPV-test och mycket tyder på att Socialstyrelsen kommer att rekommendera detta test vid sekundärscreening. Våra grannländer har redan infört rutin- ▶

► mässig testning för HPV.

En annan spännande utvecklingslinje inom den cancerförebyggande verksamheten är lanseringen av HPV-vaccin. I Sverige finns för närvarande två godkända vacciner som innehåller virusliknande partiklar med förmåga att stimulera människans immunsystem till antikroppssvar.

Båda vaccinerna ger gott skydd mot infektioner orsakade av HPV typ 16 och 18 vilka tillsammans anses stå för cirka 70% av cancerfallen. Det ena vaccinet ger dessutom skydd mot HPV typ 6 och 8 som orsakar kondylom.

Godkänt HPV-vaccin

Vid ett konsensusmöte i maj 2006 anordnat av Smittskyddsinstitutet och Svensk förening för gynekologi och obstetrik deltog 38 delegater med bred förankring inom gynekologi, onkologi och smittskydd i Sverige. Man enades om visionen att långsiktigt försöka utrota förekomsten av de cancerframkallande HPV-typerna 16 och 18 i befolkningen.

Tanken är att införa ett allmänt vaccinationsprogram omfattande alla flickor redan i grundskolan. Dock torde det ta flera decennier att slutligt visa i vilken utsträckning vaccineringen reducerar förekomsten av livmoderhalscancer.

Fortsatt debatt

Det är idag oklart hur Socialstyrelsen kommer att ställa sig till massvaccinering. En viktig fråga i sammanhanget är ju även kostnaderna som för närvarande synes närmast oöverstigliga. Med en nationellt enad profession som har visionen att utrota de mest cancerframkallande HPV-typerna förväntas dock debatten fortsätta såväl i media som på politisk nivå.



Emma Lindbäck,
Medicinska chef Klinisk
mikrobiologi,
Capio Diagnostik



Björn Jacobsson,
Medicinsk chef Klinisk
patologi/cytologi,
Capio Diagnostik

Molekylärbiologisk diagnostik av HPV

Helena Enroth,
Molekylärbiolog,
Capio Diagnostik

Papillomvirus ger ett dåligt antikroppssvar vid infektion och är mycket svåra att odla på laboratoriet.

Visualisering av HPV-infekterade celler genom in situ hybridisering är en metod som använts trots att känsligheten är begränsad, men metoden har en fördel eftersom man samtidigt kan avläsa andra histopatologiska fynd i vävnaden.

Hög känslighet

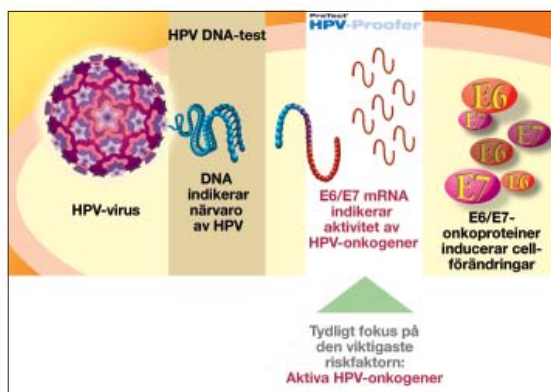
Flera olika metoder baserade på nukleinsyra, DNA, används idag för detektion av pågående HPV-infektion i cervix. PCR-metoderna har en mycket hög känslighet, ger möjlighet för typning och är icke-invasiva då det är celler från cervix som analyseras.

För molekylärbiologisk diagnostik extraheras arvsmassan från cellerna och därefter används det utvunna DNA:t för vidare analys. DNA-metoderna baseras oftast på PCR-amplifiering med HPV-specifika komplementära startsekvenser (primers), men även andra molekylärbiologiska metoder används idag.

Detektionen kan ske på olika sätt, t ex med hybridisering, probedetektion, smältpunktsanalys eller sekvensering av de amplifierade PCR-produkterna. Flera olika kommersiella test finns på marknaden, de två mest använda är AMPLICOR Human Papilloma Virus (HPV) Test från Roche baserad på PCR-teknik följt av hybridisering på mikrotiterplatta, samt Digene HPV-test som använder sig av "hybrid-capture 2 teknik" baserad på signal-amplifiering. Båda testerna detekterar 13 kliniskt relevanta högrisk-HPV-typer, genotyp 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 och 68.

Onkogen avslöjar

För att livmoderhalscancer skall utvecklas måste onkoprotein E6/E7 uttryckas i de HPV-infekterade cellerna. Detta förekommer bara vid aktiv,



eller pågående, infektion av de onkogen HPV-typerna. Dessa proteiner deltar i cellcykeln i systemen för Rb och p53.

De DNA-baserade testerna kan inte skilja mellan latent eller aktiv infektion, utan ger information om någon av HPV-typerna finns i vävnaden eller inte. För att detektera aktiv infektion med pågående uttryck av onkoproteiner kan mRNA-baserade test användas.

Testet PreTect HPV-Proofer (Norchip) som är mRNA baserat kan urskilja onkogent uttryck från fem av högrisk typerna av humana papillomvirus i prover från gynekologisk cellprovtagning. Testet kan därmed användas för att finna de kvinnor med högst risk för cervixcancer.

Används av Capio Diagnostik

En molekylärbiologisk mRNA-baserad analys, "real-tids NASBA", för detektion av uttrycket av HPV-onkoprotein E6/E7 används nu inom Capio Diagnostik. Totalt RNA från cellerna i cervixproverna extraheras med robot eller manuellt och testas därefter med ett analyskit baserat på kopiering av mRNA med NASBA amplifieringsteknik. Kopiering av mRNA:t, först till DNA som sedan avläses till antisense-RNA, sker kontinuerligt vid en enda temperatur, (isothermal reaktion) med hjälp av tre olika enzym. RNA-kopiorerna som produceras i provet detekteras med specifika fluorescerande prober, så kallade molecular beacons. Testet påvisar specifikt uttryck av de onkogen proteinerna E6/E7 från fem av högrisk-HPV-typerna, genotyp 16, 18, 31, 33 och 45 i cytologiska prover.

Provtagningsanvisningen för **HPV E6/E7 mRNA** finns på vår hemsida (www.anvisning.se).