

Oorzakelijke HPV-typen van anuscarcinoom

K.C.M. Gosens¹, O. Richel², J.M. Prins³, H.J.C. de Vries⁴, M.N.C. de Koning⁵, H.A.M. van den Munckhof⁶, C.J.M. van Noesel⁷, K.D. Quint⁸

- ^{1.} Arts-onderzoeker, afdeling Dermatologie en Afdeling Inwendige Geneeskunde, AMC, Amsterdam
- ^{2.} Aios, afdeling Inwendige Geneeskunde, AMC, Amsterdam
- ^{3.} Internist-infectioloog, afdeling Inwendige Geneeskunde, AMC, Amsterdam

- ^{4.} Dermatoloog, afdeling Dermatologie , AMC, Amsterdam en GGD (soa-polikliniek), Amsterdam
- ^{5.} Manager Development and Diagnostic Services (DDS), DDL Diagnostic Laboratory, Rijswijk
- ^{6.} Senior Technician, DDL Diagnostic Laboratory, Rijswijk

- ⁷ Patholoog, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam
- ⁸ Dermatoloog, afdeling Dermatologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden en Roosevelt Kliniek, Leiden

Correspondentieadres:

Karien Gosens

E-mail: k.c.gosens@amc.uva.nl

Plaveiselcelcarcinoom van de anus is een zeldzame aandoening, met jaarlijks ongeveer tweehonderd nieuwe gevallen in Nederland.¹ Opvallend is dat de incidentie van anuskanker de laatste decennia aanzienlijk is toegenomen, met een stijging van 84% tussen 1989 en 2010.² Hoewel anuskanker bij zowel hiv-negatieve als hiv-positieve patiënten voorkomt, vormen hiv-positieve mannen die seks hebben met mannen (MSM) veruit de belangrijkste risicogroep.³ In figuur 1 ziet u een perianaal anuscarcinoom. De prognose bij de diagnose anuscarcinoom varieert uiteraard per stadium. De driejaarsoverleving bij een stadium I-carcinoom is 95%, terwijl deze bij een stadium IV-carcinoom slechts 10% is. Ter vergelijking: bij een stadium I- en IV- melanoom is dit respectievelijk 100% en 20%.¹

Gelukkig ontwikkelt een anuscarcinoom zich niet van de ene op de andere dag en wordt deze vooraf gegaan door voorstadia, anale intra-epitheliale neoplasie (AIN) genaamd.

Daarom wordt sinds 2007 controle op voorstadia van anuscarcinoom aangeboden aan alle hiv-positieve MSM onder behandeling in het AMC, in



Figuur 1. Perianaal anuscarcinoom. De stadiering was T2N2Mo, patiënt werd verwezen voor chemoradiatie.

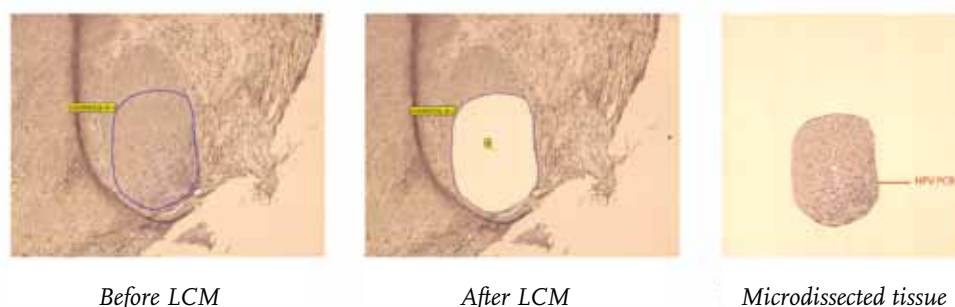
een multidisciplinair initiatief van de afdelingen Inwendige Geneeskunde en Dermatologie. Deze AIN-controle vindt verder plaats bij de afdeling Dermatologie van het Erasmus MC in Rotterdam, en van recentere datum in het OLVG, de DC klinieken Oud Zuid, het Slotervaart Ziekenhuis, alle in Amsterdam, het Medisch Centrum Haaglanden in Den Haag, en het Flevoziekenhuis in Almere. Qua behandeling is de huidige stand van zaken in Nederland dat bij laaggradige AIN (AIN 1) een expectatief beleid wordt gevoerd. Voor hooggradige AIN (AIN 2 en 3) bestaat een behandelindicatie, waarbij de eerste keuze behandeling elektrocoagulatie is. Deze behandeling is echter belastend voor de patiënt, heeft een matige slagingskans en bovendien is de recidiefkans groot.^{4,5}

Ongeveer 90% van de anale plaveiselcelcarcinomen wordt veroorzaakt door een infectie met het Humaan Papillomavirus (HPV).⁶ Er zijn meer dan tweehonderd verschillende HPV-genotypen bekend, waarvan de hoogrisico-HPV-typen als oncogeen worden beschouwd. Voor de detectie van oncogene HPV-genotypen wordt gebruikgemaakt van de PCR gebaseerd op *Reverse Hybridization Assay* (PCR-RHA), die de meest voorkomende oncogene HPV-typen detecteert. In een anuskankerbiopt of excisiepreparaat worden vaak multipole HPV-infecties gedetecteerd. Het is dan onduidelijk welk HPV-type de anuskanker veroorzaakt. Eerder onderzoek in AIN laesies toonde aan dat maar één HPV-type de afwijking veroorzaakt en de andere HPV-typen vaak op het oppervlak van de mucosa aanwezig zijn, maar niet daadwerkelijk een productieve infectie vormen.⁷ Daarom is het ook belangrijk bij anuscarcinomen om daadwerkelijk in het tumorweefsel te kijken welk HPV-type daarin aanwezig is. Dit gebeurt door middel van *Laser Capture Microdissection* (LCM) waarbij het tumorweefsel geselecteerd wordt voor HPV-genotypering.

In dit onderzoek willen wij de HPV-genotypedistributie in anuscarcinomen van hiv-positieve personen vergelijken met de HPV-genotypedistributie in anuscarcinomen van hiv-negatieve personen. Inzicht in deze HPV-genotypedistributie is van belang wanneer men mogelijk ook jonge mannen wil gaan vaccineren met het profylactische HPV-vaccin. Daarnaast zou HPV-typering van voorstadia in de toekomst kunnen bijdragen aan de triage van voorstadia die behandeling behoeven. Ook hier is eerst weer inzicht nodig welke HPV-typen uiteindelijk anuscarcinoom veroorzaken.

METHODEN

Voor deze studie werden de anuscarcinoombioten uit de periode 1986-2010 van de afdeling Pathologie in het Academisch Medisch Centrum geanalyseerd. De biotopen werden opnieuw beoordeeld door een patholoog om te bevestigen dat het anale plaveiselcelcarcinomen betreft. Biotopen met enkel hooggradige dysplasie of adenocarcinoom werden geëxcludeerd. De HPV-genotypering werd uitgevoerd middels PCR-RHA op *whole tissue sections* (WTS), in



Figuur 2. 'Laser Capture Microdissection'-methode op bipten met hooggradige dysplasie, zwakke hematoxylinekleuring. Bij multipale HPV-infecties worden met een laser regio's met hooggradige dysplasie uit de bipten gesneden waarna opnieuw HPV PCR verricht wordt op deze specifieke regio's.

samenwerking met DDL Diagnostic Laboratory te Rijswijk. Wanneer er meerdere HPV-typen gevonden werden, werd gebruikgemaakt van LCM, hetgeen in figuur 2 wordt geïllustreerd. Deze methode maakt gebruik van een laser om regio's met invasieve groei uit het biopt te snijden. De PCR-RHA werd dan opnieuw verricht op meerdere regio's met invasieve groei. Met behulp van deze methode, kon bij voorstadia van anus- en cervixcarcinoom steeds een uniek oorzakelijk HPV-type worden aangetoond.^{7,8}

RESULTATEN

Er werden 57 bipten geïncludeerd; 18 van 10 hiv-negatieve mannen en vrouwen, en 39 van 20 hiv-positieve mannelijke patiënten. 78% van de bipten van de hiv-negatieve patiënten toonde een single HPV 16-infectie. Bij 22% toonde de PCR een dubbele HPV-infectie. De extra analyse na LCM toonde HPV 16 aan als oorzakelijke infectie bij deze bipten. Daarentegen toonde slechts 44% van de bipten van de hiv-positieve patiënten een single HPV-infectie, namelijk HPV 6, 11 en 16. In de overige bipten werden tot 6 verschillende HPV-typen per biopt gedetecteerd. De extra analyses na LCM toonden uiteindelijk voor ieder biopt een uniek oorzakelijk HPV-type aan, waaronder HPV 16, 18, 45, 51 en 52. HPV 16 was het causatieve type bij maar 61% van de bipten van hiv-positieve patiënten.

DISCUSSIE

Bovenstaande resultaten tonen aan dat er binnen de geanalyseerde anuscarcinomen een groot verschil bestaat in HPV-distributie tussen hiv-positieve en hiv-negatieve patiënten. In beide groepen is HPV 16 het meest voorkomende HPV-type. Bij hiv-negatieve patiënten is HPV 16 verantwoordelijk voor alle geanalyseerde anuscarcinomen, terwijl bij hiv-positieve patiënten meerdere HPV-typen (6, 11, 18, 45, 51, 52) de anuscarcinomen veroorzaken, waaronder zelfs de laagrisico HPV-typen 6 en 11. Mogelijk dat de immuunsuppressie door hiv, het laagrisico HPV-type de mogelijkheid geeft toch te ontwikkelen tot anuskanker.

De eerstekeusbehandeling van intra-anaale hooggradige dysplasie (AIN 2 en 3) is elektrocoagulatie. Deze behandeling is zowel fysiek als psychisch belastend voor de patiënt, heeft een matige slagingskans (39% complete remissie), en bovendien is er

bij 70% van de adequaat behandelde patiënten na 1,5 jaar sprake van een recidief.^{4,5} Hierbij komt de vraag naar boven of het noodzakelijk is om al deze voorstadia van anuskanker te behandelen om uiteindelijk invasieve groei te voorkomen. Indien op basis van oorzakelijke HPV-typen een voorspelling zou kunnen worden gedaan over het al dan niet onco-gen zijn van de AIN-laesies zou dit veel patiënten ontzien, aangezien bij ruim 30% van de hiv-positieve MSM hooggradige AIN gevonden wordt.⁹ Deze studie laat evidente verschillen zien in de HPV-distributie tussen hiv-positieve en hiv-negatieve patiënten, hoewel het aantal geanalyseerde bipten in dit onderzoek laag is. Binnenkort zullen op grotere schaal HPV-typeringen op anuscarcinoombipten worden uitgevoerd in samenwerking met de University of California te San Francisco. Mogelijk dat in de toekomst HPV-typeringen zinvol blijken om het risico op doorgroei tot anuscarcinoom te voorspellen.

Op dit moment zijn er drie verschillende HPV-vaccinaties op de markt. Cervarix® is een bivalent vaccin dat beschermt tegen HPV 16 en 18. In Nederland worden sinds 2009 12-13-jarige meisjes met dit middel gevaccineerd binnen het Rijksvaccinatieprogramma (RVP). Daarnaast bestaat er het quadrivalente vaccin, Gardasil®, dat naast bescherming tegen HPV 16 en 18 ook beschermt tegen HPV 6 en 11, de HPV-typen die condylomata accuminata veroorzaken. Het nieuwste HPV-vaccin is Gardasil 9®, een nonavalent vaccin dat bescherming biedt tegen HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 en 58. In juni 2015 is dit vaccin door de EMA (European Medicines Agency) goedgekeurd voor marketingautorisatie binnen Europa. Het vaccin is in Nederland momenteel nog niet beschikbaar. Wanneer je de oorzakelijke HPV-genotypen uit onze studie uitzet tegen de beschikbare HPV-vaccinaties, zou de groep hiv-positieve patiënten baat hebben bij een nonavalent vaccin. 89% van deze anuscarcinomen werd namelijk veroorzaakt door een HPV-type uit dit vaccin. Daarentegen zou, op basis van onze resultaten, voor hiv-negatieve patiënten het bivalente vaccin Cervarix afdoende bescherming bieden omdat HPV 16 in deze groep als enige oorzakelijk type gevonden werd. Omdat hiv-positieve MSM het vaakst getroffen worden door anuskanker en niet meeprofiten van de HPV-immuniteit vanuit de via het RVP gevaccineerde meisjes, zou het vaccineren van jongens en mannen een uitkomst kunnen bieden in het voorkomen van anuscarcinoom.



LITERATUUR

1. www.kanker.nl
2. Zee RP van der, Richel O, Vries HJ de, et al. The increasing incidence of anal cancer: can it be explained by trends in risk groups? *Neth J Med* 2013;71:401-11.
3. Silverberg MJ, Lau B, Justice AC, et al. Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America. *Clin Infect Dis* 2012;54:1026-34.
4. Richel O, Vries HJC de, Noesel CJM van, et al. Comparison of imiquimod, topical fluorouracil, and electrocautery for the treatment of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men who have sex with men: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2013;14:346-53.
5. Siegenbeek van Heukelom ML, Richel O, Nieuwkerk PT, et al. Health-Related Quality of Life and Sexual Functioning of HIV-Positive Men Who Have Sex With Men Who are Treated for Anal Intraepithelial Neoplasia. *Dis Colon Rectum* 2016; 59:42-7.
6. Alemany L, Saunier M, Alvarado-Cabrero I, et al. Human papillomavirus DNA prevalence and type distribution in anal carcinomas worldwide. *IJC* 2015;136:98-107.
7. Richel O, Quint KD, Lindeman J et al. One lesion, one virus: individual components of high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men contain a single HPV type. *J Infect Dis* 2014;210:111-20.
8. Quint W, Jenkins D, Molijn A, et al. One virus, one lesion: individual components of CIN lesions contain a specific HPV type. *J Pathol* 2012;227:62-71.
9. Richel O, Vries HJ de, Dijkgraaf MG, et al. Risk Factors for the presence of anal intraepithelial neoplasia in HIV+ men who have sex with men. *PLoS One* 2013;8(12).

SAMENVATTING

De incidentie van anuscarcinoom is sterk verhoogd onder hiv-positieve mannen die seks hebben met mannen (MSM). Het gros van deze plaveiselcelcarcinomen wordt veroorzaakt door het Humaan Papillomavirus (HPV). Doorgaans is echter niet bekend welk oorzakelijk HPV-genotype verantwoordelijk is voor het ontstaan van het anuscarcinoom en vaak worden meerdere HPV-typen gevonden in één bipt. Het uitvoeren van een lesionale HPV-genotyperingstest verschaft inzicht in deze oorzakelijke HPV-typen. Onze studie laat een groot verschil zien in HPV-distributie in anuskanker bij hiv-negatieve en hiv-positieve patiënten. Bij hiv-positieve patiënten is een brede range aan HPV-typen verantwoordelijk voor de anuscarcinomen, terwijl bij hiv-negatieve patiënten enkel HPV-16 als oorzakelijk type gevonden werd. HPV-genotypering in precursor laesies zou van betekenis kunnen zijn in het voorspellen van het ontwikkelen van anuskanker. Daarnaast kan HPV-genotypering zinvol zijn bij het implementeren van HPV-vaccinaties bij de verschillende risicogroepen.

TREFWOORDEN

anuscarcinoom – HPV – hiv – plaveiselcelcarcinoom

SUMMARY

Anal cancer incidence has strongly increased in men who have sex with men (MSM). The vast majority of these squamous cell cancers is caused by the Human Papilloma Virus (HPV). However, the causative HPV-genotype responsible for the anal cancer is generally not known, and one biopsy often shows multiple HPV-infections. By means of a lesional HPV-genotyping method these causative genotypes can be detected. Our study shows a big difference in HPV-distribution in anal cancers from HIV-negative and HIV-positive patients. In HIV-negative patients, HPV-16 was the genotype responsible for all anal cancers. In contrast, in biopsies of HIV-positive patients a broad range of causative HPV-genotypes was found. HPV-genotyping in precursor lesions could be useful in the prediction of the development of anal cancer. Besides, HPV-genotyping can also be useful in the implementation process of HPV-vaccines in different risk groups.

KEYWORDS

anal cancer – HPV – HIV - squamous cell cancer

GEMELDE (FINANCIËLE) BELANGENVERSTRENGELING

Geen