

Virus og cancer

II. Humant papillomvirus

Henning Lindeberg og Troels Bundgaard

Forestillingen om viral årsag til i hvert fald nogle kræftformer er ikke ny, og mange kan sikkert huske den betydelige mistanke der for et kvart århundrede siden var til herpes simplex, ikke kun i relation til oral cancer, men også til cervixcancer. Selvom der fortsat kan findes videnskabelige rapporter der tager tanken om herpes simplex og cancer op igen, er det i disse år dog først og fremmest humant papillomvirus (HPV) der sættes i forbindelse med såvel cervixcancer som hoved-hals-cancer. Mens sammenhængen mellem HPV og anogenital cancer forekommer overbevisende og er alment accepteret, er forholdene omkring cancer i hoved-hals-regionen og HPV imidlertid forvirrende og kontroversielle.

Både DNA- og RNA-virus kan tænkes at forårsage cancer – som eksempler kan nævnes hepatitis-virus (primær levercancer), og Rous's sarcoma-virus (sarkomer hos høns). En direkte kausal sammenhæng mellem et virus og en cancerform er imidlertid vanskelig at bevise, og der kan endvidere tænkes at optræde helt ukendte virustyper – fundet af humant herpesvirus type 8 i Kaposi sarkom er et nyligt eksempel.

Ingen har dog hidtil følt sig fristet til at kalde cancer for en infektionssygdom; sammenhængen er meget mere kompleks end blot at påstå at »virus giver kræft«, fordi der utvivlsomt altid optræder andre faktorer. Det er de færreste cigaretrygere der får lungecancer, og det er de færreste kvinder med en genital HPV type 16-infektion der får cervixcancer. Omvendt kan man sige at »alle« med bronkiogent karcinom er rygere, og alle kvinder med cervixcancer bærer på DNA fra HPV type 16 (eller andre HPV-typer) – tilstedeværelse af HPV-DNA er således en nødvendig, men ikke tilstrækkelig, betingelse for at udvikle cervixcancer. Såfremt man kunne vaccinere mod de aktuelle HPV-typer, ville man derfor kunne forhindre cervixcancer. Denne diskussion hører naturligvis ikke hjemme her, men det principielle er at påvisning af en sammenhæng mellem virus og cancer ville åbne for nye perspektiver for forebyggelse.

Humant papillomvirus (HPV, »vortevirus«) er udbredt på alle kontinenter, og vorter har været kendt siden oldtiden. I 1970'erne indledte *Harald zur Hausen* sit omfattende pionerarbejde omkring HPV og påviste at der fandtes flere forskellige humane vortevirus-typer (1). Med udviklingen i molekylærbiologiske metoder fik man redskaber til med stadig større følsomhed at undersøge en lang række benigne og maligne tumorer for HPV, hvilket førte til opdagelsen af stadig nye HPV-typer. Nummereringen af HPV-typer afspejler således den rækkefølge hvori de blev opdaget og karakteriserede. Der findes i dag 80 HPV-typer (<http://www.stdgen.lanl.gov>), hvortil kommer et stort antal subtyper samt en del typer der er under udredning, i alt omkring 120 forskellige. Disse kan groft sagt opdeles i typer der fortrinsvis inficerer hud (fx HPV-typerne 1, 2 og 4), mens andre hovedsagelig inficerer slimhinder (fx typerne 6, 11, 13, 16, 18, 31, 32, 33, 35 og 45). I cavitas oris har man i forskellige læsioner påvist typerne 1-7,11,13,16,18,32,57, mens man i larynx har truffet HPV-typerne 6,11,16,18,30 og enkelte andre. Af disse er HPV 30 fundet i et enkelt larynxcarcinom i 1986 og siden kun i to genitale papillomer/kondylomer (2), mens typerne 13 og 32 synes at være næsten udelukkende korrelerede med oral fokal epitelial hyperplasi (3).

Karakteriseringen af HPV type 16 og påvisningen heraf i cervixcancer samt i penile karcinomer (4) var startsignalet til

en voldsom interesse i papillomvirus, og også orale karcinomer blev undersøgt med henblik herpå.

En ny epoke indledtes med opdagelsen af PCR og termostabile DNA-polymeraser, hvormed man fik en meget sensitiv teknik, der gjorde det muligt at amplificere DNA i en enkelt prøve med en faktor på op mod 240, hvilket indebar at HPV-DNA i utroligt små koncentrationer efter amplificering nåede op over detektionsgrænsen. PCR er derfor den mest sensitive metode til påvisning af bl.a. HPV-DNA – teknikken har tidligere været omtalt i *Tandlægebladet* (5,6).

I dag deles de mest almindelige mucosatropiske HPV-typer i tre grupper:

- *Low risk* HPV: 6,11
- *Medium risk*: 31,33,35,45
- *High risk*: 16,18.

Denne inddeling er baseret på hvilke HPV-typer man finder i anogenitale cancere.

HPV er et lille dobbeltstrengt cirkulært DNA-virus, omfattende ca. 7900 basepar. De områder der koder for virale proteiner, kaldes læserammer (ORF (*Open Reading Frames*)). De inddeles i »early reading frames« (E1-E7) og »late reading frames« (L1 og L2, der koder for de to kapsidproteiner). Genprodukterne fra læserammerne E6 og E7 har en stor rolle i malignitetsudvikling (7), og specielt har man hæftet sig ved E6-proteinets evne til kompleksbinding med og (for nogle HPV-typers vedkommende) degradering af p53-proteinet. Dette protein har betydning for apoptosen (programmeret celledød).

HPV og larynx

HPV type 6 og 11 forårsager larynxpapillomer. De samme HPV-typer findes i kondylomer, og en igangværende undersøgelse i Danmark viser at diagnosticerede kønsvorter hos gravide medfører en ca. 100 gange forøgelse af risikoen for at børnene udvikler larynxpapillomer. Patienter med larynxpapillomer har måske en forøget risiko for at udvikle cancer laryngis, og i de tilfælde findes de samme HPV-typer i tumor, til trods for at HPV 6 og 11 regnes for »low-risk«-typer (8,9). Karcinomer fra stemmebåndene hos patienter uden forudgående papillomatose indeholder derimod tilsyneladende næsten udelukkende HPV type 16. Imidlertid varierer frekvensen af HPV i larynxkarcinomer, bestemt ved PCR-teknik, ganske betydeligt i de forskellige publicerede undersøgelser.

I to danske undersøgelser, hvor man undersøgte dysplastiske laryngeale forandringer og larynxkarcinomer for HPV ved en kombination af flere metoder, fandtes kun HPV i 3% af læsionerne (10,11). Da variationen i de publicerede arbejder varierer mellem 3% og 85%, er der et betydeligt forkla-

ringsproblem. Da denne variation imidlertid til forveksling ligner forholdene omkring HPV og oral cancer, som omtales senere, vil den ikke blive nærmere berørt her.

HPV og næse/bihuler

HPV blev oprindeligt påvist i langt de fleste tilfælde af (præmaligne) inverterede papillomer i næse og bihuler. Da WHO-klassifikationen af sinonasale papillomer forelå i 1991 (12) og vandt indpas i de efterfølgende undersøgelser, viste det sig imidlertid at hovedparten af de inverterede papillomer alligevel ikke var HPV-relaterede, mens der kunne påvises HPV-DNA i næsten alle de fungiforme papillomer (13). En dansk undersøgelse over sinonasale karcinomer relateret til papillomer gav ikke overbevisende holdepunkter for at karcinomerne var kausalt relaterede til HPV (14)).

Sammenhængen mellem sinonasale karcinomer og HPV er således ikke overbevisende, men der foreligger kun ganske få undersøgelser på området.

HPV og hud

Der er enkelte rapporter om HPV-DNA i basalcellekarcinomer. Der foreligger imidlertid kun få undersøgelser, og indtil videre er det tvivlsomt om HPV har nogen kausal sammenhæng med basaliomer. En sammenhæng mellem HPV og kutane pladeepitelcellekarcinomer er ikke påvist, bortset fra hos patienter med den sjældne hudsygdom epidermodysplasia verruciformis.

HPV og conjunctiva

Konjunktivale papillomer synes at indeholde de samme HPV-typer som kondylomer, dvs. type 6 og 11, der ikke regnes for kancerogene (15). Konjunktivale papillomer anses ikke for at have noget malignt potentiale, og HPV type 6 og 11 regnes for at høre til lavrisikogruppen. Karcinomer i conjunctiva er os bekendt ikke undersøgt for HPV.

HPV og mundslimhinde

Der foreligger en del undersøgelser over frekvensen af HPV i normal mundslimhinde. Selvom resultaterne varierer en del, synes der at være en tendens til at man kun sjældent finder HPV i normale orale slimhinder (16).

Orale papillomer er i et vist omfang undersøgt for HPV, og der er fundet HPV i omkring halvdelen af papillomerne. Det betyder imidlertid ikke at der ikke er HPV-DNA i alle orale papillomer, men afspejler snarere de tekniske vanskeligheder som påvisning af ca. 120 forskellige HPV-typer frembyder, og større undersøgelser bør givetvis udføres.

Forfatterne er meget tilbageholdende med at anvende udtrykket kondylom om orale papillomer, medmindre at en

genito-oral smittevej kan påvises. Selvom kønsvorter og orale papillomer ikke histologisk afviger fra hinanden og kan indeholde de samme HPV-typer, gælder dette også for konjunktivale papillomer og larynxpapillomer. Både kondylomer og larynxpapillomer kan være medfødte, og det antages at virusinfektionen kan være til stede latent i mange år, før den giver anledning til papillomdannelse. Vi mener ikke at

man klinisk kan skelne mellem papillomer og kondylomer og afstår derfor herfra.

Fokal epitelial hyperplasi (FEH, *Hecks disease*) er velkendt i den odontologiske litteratur. Klinisk adskiller hyperplasierne sig fra egentlige papillomer ved at overfladen er glat, og ved at hyperplasierne er bløde og »forsvinder« når slimhinden udstrækkes. Hyperplasierne synes alle at indeholde en-

Tabel 1. Publicerede resultater over frekvensen af HPV-DNA i orale karcinomer, bestemt ved PCR. Bemærk at frekvensen varierer frit mellem 0 og 100%.

Forfatter	Primer	Target	N	% pos
Maitland et al. 1989 (21)	16	E6, L1, L2	?	50
Kiyabu et al. 1989 (22)	16,18	E6	15	33
Chang et al. 1990 (23)	6,11,16,18		40	28
Shroyer & Greer 1991 (24)	16	E6	10	10
Watts et al. 1991 (25)	6,11,16,18	E6	23	61
Shindoh et al. 1992 (26)	16,18,33	E6	24	33
Brachman et al. 1992 (27)	MY+16,18	L1, E6	12	8
Woods et al. 1993 (28)	MY	L1	18	78
Holladay & Gerald 1993 (29)	MY	L1	39	18
Tyan et al. 1993 (30)	6,11,16,18,33	E6	9	11
Lewensohn-Fuchs et al. 1994 (31)	MY	L1	9	0
Ostwald et al. 1994 (32)	MY, 6,11,16,18 (E6)	L1	26	62
Miller et al. 1994 (33)	16,18	E6	30	67
Mao 1995 (34)	16	E6	26	31
Balaram et al. 1995 (35)	MY,GP5/GP6	L1	91	83
Shindoh et al. 1995 (36)	16,18,33	E6	77	31
Palefsky et al. 1995 (37)	MY	L1	24	33
Mao et al. 1996 (38)	MY, 6,11,16,18	L1, E6/7	41	29
Van Rensburg et al. 1996 (39)	6,11,16,18	E6	146	1
Cruz et al. 1996 (40)	GP, CPI/CPII	L1, E1	35	54
Chiba et al. 1996 (41)	consensus primers	?	38	21
Snijders et al. 1996 (42)	GP5/GP6		25	20
Gonzales-Moles et al. 1996 (43)	18	E6	37	19
Portugal et al. 1997 (44)	MY+16,18,31,33	L1, E6	58	7
Wen et al. 1997 (45)	16,18	E6	45	31
Gopalakrishnan et al. 1997 (46)	MY	L1	10	3
Paz et al. 1997 (47)	MY, IU/WDO	L1, E1	64	13
Smith et al. 1998 (48)	MY09/11	L1	93	15
Mineta et al. 1998 (49)	16,18	E7	14	21
Elamin et al. 1998 (50)	MY+GP5/GP6 (nested)	L1	16	63
D'Costa et al. 1998 (51)	MY	L1	100	15
Aggelopoulou et al. 1999 (52)	Univesial and Hpv16 and18	L1, E7	81	49
Badaracco et al. 2000 (53)	MY	L1	27	37
Badaracco et al. 2000 (54)	MY	L1	38	26
Niv et al. 2000 (55)	?	?	19	16
Gillison et al. 2000 (56)	MY, 16, 18, sekventering	L1, E6, E7	Oral:84 Tonsil: 60	12 34
Uobe et al. 2001 (57)	MY in situ PCR and RT-PCR	L1	20	100

ten HPV type 13 eller type 32 (17), som med en enkelt undtagelse udelukkende forekommer i mundslimhinden. HPV 13 og 32 tillægges indtil videre ikke noget malignt potentiale.

Desuden skal det nævnes at HPV er fundet i leukoplakier og oral lichen planus med vekslende frekvens (18,19).

Karcinomer

Til trods for at der foreligger et ikke helt ringe antal publicerede undersøgelser, er forholdene omkring HPV og oral cancer end ikke blot nogenlunde afklarede, idet der er en betydelig variation i frekvensen af rapporterede HPV i mundhulecancer. Det fremgår af Tabel 1 at variationen i påvisning af HPV-DNA i orale karcinomer varierer frit mellem 0 og 100%. Årsager til en så stor variation kan være regionale forskelle, eller forskelle i den anvendte teknik, men vi finder det vanskeligt at tro at disse forhold alene kan give så stor divergens i de rapporterede resultater.

Derimod kan forklaringen tænkes at ligge i PCR-teknikkens meget store sensitivitet: Et enkelt HPV-molekyle, der ved en fejltagelse tilblandes en ellers HPV-negativ prøve, kan betyde at der efter amplificering er sket en forøgelse af det forurenende DNA med en faktor på $\sim 2^{40}$ — derved får man altså et falsk positivt resultat. At dette er en reel fare er særdeles velkendt, og meget anerkendte forskere har måttet trække resultater tilbage, fordi de formentlig skyldtes HPV-kontaminering af prøver i laboratoriet (20).

Risiko for *in lab*-kontaminering af indsamlet materiale er

betydelig, og så godt som alle der arbejder med PCR, får lejlighedsvis falsk positive resultater, grundet teknikens ekstreme sensitivitet. En opdeling af DNA-laboratoriet i adskilte enheder på 4-5 rum er helt nødvendig for at mindske kontamineringsrisikoen (Fig. 1). Det er vigtigt at udstyr (pipetter, centrifuger) ikke transporteres mellem rummene; der skal således i hvert rum være passende udstyr til stede hvis man skal gardere sig mod falsk positive resultater. En restriktiv holdning til hvem der må færdes i de enkelte laboratorieenheder, er også tilrådelig; restriktionerne bør også omfatte rengøringspersonale, vinduespuddere mv. Forsyndelser mod ovennævnte, samt andre tekniske forhold, kan formodentlig forklare den meget store variation i de rapporterede resultater.

Forfatterens holdning er at HPV næppe spiller nogen større rolle i udviklingen af orale karcinomer. Vi støtter dette på at undersøgere vi har tillid til, kun har fundet ganske lave frekvenser af HPV i orale karcinomer. En måde at komme videre på ville være påvisning af HPV *messenger*-RNA i HPV-positive tumorer — såfremt HPV-DNA i en tumor skyldes kontaminering, vil det ikke være transkriptionelt aktivt.

Konklusion

Vores viden om HPV i hoved-hals-regionen er bedst funderet for benigne tilstande, først og fremmest sinonasale papillomer og fokal epitelial hyperplasi. Forholdene omkring konjunktivale papillomer og HPV er under udredning, og

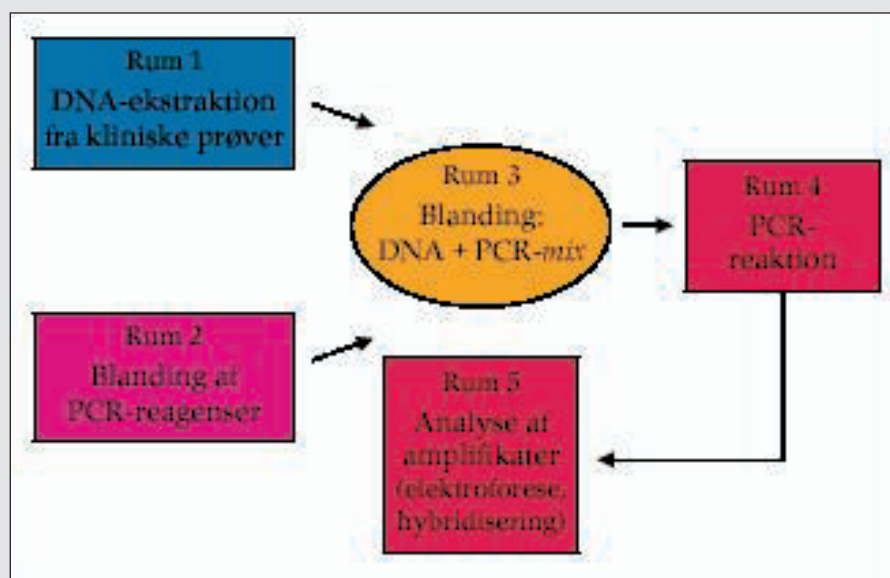


Fig. 1. For at undgå at kontaminere DNA-prøver med allerede amplificeret DNA skal et DNA-laboratorium bestå af flere rum med adskilte funktioner, og der skal være faste forskrifter for trafikken imellem rummene. Eventuelt kan PCR-reaktion (rum 4) og analyse af amplificerede prøver (rum 5) dog foregå i samme rum.

Fig. 1. In order to avoid contamination, a DNA lab should consist of several separated rooms, and the traffic between the individual rooms should follow strict rules. However, the PCR reaction (room 4) and the analysis of amplified DNA (room 5) may be carried out in a common room.

der synes at være tale om en klar relation. Derimod er orale papillomer ikke tilfredsstillende undersøgt, idet de fleste forfattere kun finder HPV i ca. halvdelen af papillomerne, til trods for histologiske tegn til HPV-infektion. Disse forhold vil kunne forklares ved at der forekommer mange forskellige HPV-typer i orale papillomer, og at en del af disse måske ikke kan påvises ved brug af primere der har de genitale HPV-typer som *target*.

Mht. maligne tumorer i hoved-hals-regionen er konjunktivale karcinomer endnu ikke undersøgt systematisk for HPV, og for cancer i struben og i munden (og i oesophagus) er forholdene aldeles uklare pga. den store variation i publicerede resultater om frekvensen af HPV-DNA i tumorerne. Det er tænkeligt at en del af de rapporterede høje frekvenser af HPV i orale og laryngeale karcinomer skyldes kontaminering, og indtil videre tror forfatterne ikke på at HPV kan spille nogen større ætiologisk rolle ved disse cancerformer. Dette i modsætning til anogenitale cancere, først og fremmest cervixcancer, hvor korrelationen med HPV nu er almindeligt accepteret og dokumenteret ved et meget stort antal undersøgelser der ikke præges af samme variation i resultaterne.

English summary

Virus and cancer. II. Human papilloma virus

Human papilloma virus (HPV) are considered oncogenic in regards to anogenital carcinomas, and a causative role in some head and neck cancers has been proposed. The authors summarize the present knowledge on the distribution of HPV DNA in benign and in malignant tumours of the head and neck. Concerning HPV and oral carcinomas the authors stress that the published results on HPV in oral carcinomas, as determined by PCR, show an extreme variation in the reported frequencies of 0-100% (Table 1). Geographic differences as well as differences in the techniques employed may account for some of this incredible variation, but in our opinion in-lab procedures leading to false positive results may explain the differences in the reported results. It is of extreme importance that PCR-analysis should be performed only in laboratories that are designed for it in order to avoid contamination of samples (Fig. 1). The authors favour an opinion that HPV does not play any major role in oral carcinogenesis, but efforts to search HPV-positive oral carcinomas for evidence of transcription of the viral DNA should be performed in order to rule out the putative role of HPV in oral cancer.

Litteratur

- zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol* 1977; 78: 1-30.
- Kahn T, Schwarz E, zur Hausen H. Molecular cloning and characterization of the DNA of a new human papillomavirus (HPV 30) from a laryngeal carcinoma. *Int J Cancer* 1986; 37: 61-5.
- Rolighed J, Sørensen IM, Jacobsen NO, Lindeberg H. The presence of HPV types 6/11, 13, 16 and 33 in Bowenoid papulosis in a HIV-positive male, demonstrated by DNA in situ hybridization. *APMIS* 1991; 99: 583-5.
- McCance DJ, Kalache A, Ashdown K, Andrade L, Menezes F, Smith P, et al. Human papillomavirus type 16 and 18 in carcinomas of the penis from Brazil. *Int J Cancer* 1986; 37: 55-9.
- Lindeberg H. Påvisning af humant papillomvirus. *Tandlægebladet* 1997; 101: 186-91.
- Gregers G, Stage I, Lindeberg H. Humant herpesvirus type 8 i orale Kaposi sarkomer. Anvendt molekylær patologi. *Tandlægebladet* 1998; 102: 416-20.
- Scheffner M, Romanczuk H, Munger K, Huibregtse JM, Mietz JA, Howley PM. Functions of human papilloma proteins. In: zur Hausen H, editor. *Human pathogenic papillomaviruses*. Berlin: Springer, 1994, p. 83-156.
- Lindeberg H, Syrjänen S, Kärjä J, Syrjänen K. Human papillomavirus (HPV) type 11 DNA in squamous cell carcinomas and pre-existing multiple laryngeal papillomas demonstrated by in situ hybridization. *Acta Otolaryngol* 1989; 107: 141-9.
- Lindeberg H, Elbrønd O. Malignant tumours in patients with a history of multiple laryngeal papillomas. The significance of irradiation. *Clin Otolaryngol* 1991; 16: 149-51.
- Lindeberg H, Krogdahl A. Laryngeal cancer and human papillomavirus: HPV is absent in the majority of laryngeal carcinomas. *Cancer Letters* 1999; 146: 9-13.
- Lindeberg H, Krogdahl A. Laryngeal dysplasia and the human papillomavirus. *Clin Otolaryngol* 1997; 22: 382-6.
- Shanmugaratnam K, Sobin LH. *Histological typing of tumours of the upper respiratory tract and ear*. WHO. Berlin: Springer; 1991.
- Buchwald C, Franzmann M-B, Jacobsen GK, Lindeberg H. Human papillomavirus (HPV) in benign and malignant sinonasal papillomas: A study of 78 cases using in-situ hybridization and polymerase chain reaction. *Laryngoscope* 1995; 105: 66-70.
- Buchwald C, Lindeberg H, Pedersen BL, Franzmann M-B. Human papilloma virus and p53 expression in carcinomas associated with sinonasal carcinomas. A Danish epidemiologic study 1980-1998. *Laryngoscope* 2000; 111: 1104-10.
- Sjö N, Lindeberg H, Heegaard S, Buchwald C. Human papillomavirus in conjunctival papillomas. *Br J Ophthalmol* (i tryk).
- Eike A, Buchwald C, Rolighed J, Lindeberg H. HPV is rarely present in normal oral and nasal mucosa. *Clin Otolaryngol* 1995; 20: 171-3.
- Beaudenon S, Praetorius F, Kremsdorf D, Lutzner M, Worsaae N, Pehau-Arnaudet G, et al. A new type of human papillomavirus associated with oral focal epithelial hyperplasia. *J Invest Dermatol* 1987; 88: 130-5.
- Nielsen H, Norrild B, Vedtofte P, Praetorius P, Reibel J, Holmstrup P. Human papillomavirus in oral premalignant lesions. *Eur J Cancer* 1996; 32B: 264-70.
- Jontell M, Watts S, Wallström M, Levin L, Sloberg K. Human papillomavirus in erosive oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 273-7.
- Tidy J, Farrell PJ. Retraction: Human papillomavirus subtype 16b. *Lancet* 1989; ii: 1535.

21. Maitland N, Bromidge T, Cox M, Crane I, Prime S, Scully C. Detection of human papillomavirus genes in human oral tissue biopsies and cultures by polymerase chain reaction. *Br J Cancer* 1989; 9: 698-703.
22. Kiyabu M, Shibata D, Arnheim N, Martin W, Fitzgibbons P. Detection of human papillomavirus in formalin-fixed, invasive squamous carcinomas using the polymerase chain reaction. *Am J Surg Pathol* 1989; 13: 221-4.
23. Chang F, Syrjänen S, Nuutinen J, Kärjä J, Syrjänen K. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA in oral squamous cell carcinomas by in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Arch Dermatol Res* 1990; 282: 493-7.
24. Shroyer K, Greer R. Detection of human papillomavirus DNA by in situ DNA hybridization and polymerase chain reaction in pre-malignant and malignant oral lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71: 708-13.
25. Watts S, Brewer E, Fry T. Human papillomavirus DNA types in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71: 701-7.
26. Shindoh M, Sawada Y, Kohgo T, Amemiya A, Fujinaga K. Detection of human papillomavirus DNA sequences in tongue squamous-cell carcinoma utilizing the polymerase chain reaction method. *Int J Cancer* 1992; 50: 167-71.
27. Brachman D, Graves D, Vokes E, Beckett M, Haraf D, Montag A, et al. Occurrence of p53 gene deletions and human papillomavirus infection in human head and neck cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 4832-36.
28. Woods K, Shillitoe E, Spitz M, Adler-Storthz K. Analysis of human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 101-8.
29. Holladay E, Gerald W. Viral gene detection in oral neoplasms using the polymerase chain reaction. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 36-40.
30. Tyan Y-S, Liu S-T, Ong W-R, Chen M-L, Shu C-H, Chang Y-S. Detection of Epstein-Barr virus and human papillomavirus in head and neck tumors. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 53-6.
31. Lewenson-Fuchs I, Munck-Wikland E, Berke Z, Magnusson K, Pallesen G, Auer G, et al. Involvement of aberrant p53 expression and human papillomavirus in carcinoma of the head, neck and esophagus. *Anticancer Res* 1994; 14: 1281-6.
32. Ostwald C, Müller P, Barten M, Rutsatz K, Sonnenburg M, Milde-Lanosch K, et al. Human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinomas and normal mucosa. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 220-5.
33. Miller C, Zeuss M, White D. Detection of HPV DNA in oral carcinoma using polymerase chain reaction together with in situ hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 77: 480-6.
34. Mao E-J. Prevalence of human papillomavirus 16 and nuclear organizer region counts in oral exfoliated cells from normal and malignant epithelia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 80: 320-9.
35. Balam P, Nalinakumari KR, Abraham E, Balan A, Hareendran NK, Bernard H-U, et al. Human papillomaviruses in 91 oral cancers from Indian betel quid chewers — high prevalence and multiplicity of infection. *Int J Cancer* 1995; 91: 450-4.
36. Shindoh M, Chiba I, Yasuda M, Saito T, Funaoka K, Kohgo T, et al. Detection of human papillomavirus DNA sequences in oral squamous cell carcinomas and their relation to p53 and proliferating cell nuclear antigen expression. *Cancer* 1995; 76: 1513-21.
37. Palefsky J, Silverman Jr S, Abdel-Salaam M, Daniels T, Greenspan J. Association between proliferative verrucous leukoplakia and infection with human papillomavirus type 16. *J Oral Pathol Med* 1995; 24: 193-7.
38. Mao E-J, Schwartz S, Daling J, Oda D, Tickman L, Beckmann A. Human papilloma viruses and p53 mutations in normal, pre-malignant and malignant oral epithelia. *Int J Cancer* 1996; 69: 152-8.
39. Van Rensburg E, Engelbrecht S, van Heerden W, Raubennheimer E, Schoub B. Human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinomas from an African population sample. *Anticancer Res* 1996; 16: 969-74.
40. Cruz I, Snijders P, Steenberg R, Meijer C, Snow G, Walboomers J, et al. Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinomas. *Eur J Cancer* 1996; 32B: 55-62.
41. Chiba I, Shindoh M, Yasuda M, Yamazaki Y, Amemiya A, Sato Y, et al. Mutations in the p53 gene and human papillomavirus infection as significant prognostic factors in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *Oncogene* 1996; 12: 1663-8.
42. Snijders P, Scholes A, Hart C, Jones A, Vaughan E, Woolgar J, et al. Prevalence of mucosotropic human papillomaviruses in squamous-cell carcinomas of the head and neck. *Int J Cancer* 1996; 66: 464-9.
43. Gonzales-Moles M, Rodriguez-Archillaa A, Ruiz-Avila I, Gonzales-Moles S, Marfil-Alvarez R. Increase of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression in HPV-18 positive oral squamous cell carcinomas. *Acta Stomatol Belg* 1996; 93: 113-8.
44. Portugal LG, Goldenberg JD, Wenig BL, Ferrer KT, Nodzenski E, Sabnani JB, et al. Human papillomavirus expression and p53 gene mutations in squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123: 1230-4.
45. Wen S, Tsuji T, Li X, Mizugaki Y, Hayatsu Y, Shinozaki F. Detection and analysis of human papillomavirus 16 and 18 homologous DNA sequences in oral lesions. *Anticancer Res* 1997; 17: 307-12.
46. Gopalakrishnan R, Weghorst C, Lehman T, Calvert R, Bihur G, Sabourin C, et al. Mutated and wild-type p53 expression and HPV integration in proliferative verrucous leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83: 471-7.
47. Paz I, Cook N, Odom-Maryon T, Xie Y, Wilczynski S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *Cancer* 1997; 79: 595-604.
48. Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, Kirchner HL, Turek LP, Haugen TH. Human Papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope* 1998; 108: 1198-203.
49. Mineta H, Ogino T, Me H, Ohkawa Y, Araki K, Takebayashi S, et al. Human papillomavirus (HPV) type 16 and 18 detected in head and neck squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 1998; 18: 4765-8.
50. Elamin F, Steingrimsdottir H, Wanakulasuriya S, Johnson N, Tavassoli M. Prevalence of human papillomavirus infection in

- pre-malignant and malignant lesions of the oral cavity in U.K. subjects: a novel method of detection. *Oral Oncology* 1998; 34: 191-7.
51. D'Costa J, Saranath D, Dedhia P, Sanghvi V, Mehta A. Detection of HPV-16 genome in human oral cancers and potentially malignant lesions from India. *Oral Oncol* 1998; 34: 413-20.
52. Aggelopoulou E, Skarlos D, Papadimitriou C, Kittas C, Troungos C. Human papilloma virus DNA detection in oral lesions in the Greek population. *Anticancer Res* 1999; 19: 1391-6.
53. Badaracco G, Venuti A, Bartolazzi A, Morello R, Marzetti F, Marcante M. Overexpression of p53 and bc1-2 proteins and the presence of HPV infection are independent events in head and neck cancer. *J Oral Pathol Med* 2000; 29: 173-9.
54. Badaracco G, Venuti A, Morello R, Muller A, Macante M. Human papillomavirus in head and neck carcinomas: Prevalence, physical status and relationship with clinical/pathological parameters. *Anticancer Res* 2000; 20: 1301-6.
55. Niv A, Sion-Vardi N, Gatot A, Nash M, Fliss DM. Identification and typing of human papillomavirus (HPV) in squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Laryngol Otol* 2000; 114: 41-6.
56. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra W, Wu L, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Nat Cancer Inst* 2000; 92: 709-20.
57. Uobe K, Masuno K, Fang Y-R, Li L-J, Wen Y-M, Ueda Y, et al. Detection of HPV in Japanese and Chinese oral carcinomas by in situ PCR. *Oral Oncol* 2001; 37: 146-52.

Forfattere

Henning Lindeberg, specialtandlæge, speciallæge, Ph.D., dr.med.
Afdeling for Kæbekirurgi og Oral Patologi, Odontologisk Institut,
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet

Troels Bundgaard, overlæge, cand.odont., dr.med.
Øre-næse-halskirurgisk Afdeling, Århus Kommunehospital