

HPV e câncer de próstata: Análise crítica do envolvimento na carcinogênese da célula prostática

(HPV and prostate cancer)

Autores: Marcos Tobias Machado**, Guilherme Tommasi Kappáz***, Iara Debert***, Patricia Taschner Goldenstein***, Ana Paula Santos Aldrighi***, Lucila Heloísa Simardi****, Eric Roger Wroclawski*****

RESUMO

Câncer de próstata é o terceiro mais comum e a quinta causa de morte por câncer no estado de São Paulo, Brasil. Sua elevada incidência e seu grande potencial de cura quando diagnosticado em estágios iniciais torna extremamente importante a compreensão dos seus mecanismos de carcinogênese e a identificação dos indivíduos pertencentes ao grupo de risco para o desenvolvimento da doença. O papilomavirus humano (HPV) é comprovadamente carcinogênico em alguns tecidos, mas sua atividade na próstata é incerta e controversa. Baseados em técnicas de biologia molecular, diversos autores vêm tentando correlacionar a presença e atividade do HPV em pacientes portadores de adenocarcinoma prostático. Há grande discrepância entre os resultados encontrados na literatura; os estudos são inconclusivos, sendo que a presença do HPV na próstata de pacientes portadores de câncer prostático varia entre 0 e 75%. Portanto, à luz dos conhecimentos atuais, não há evidências significativas de que o HPV participe ativamente da carcinogênese da célula prostática. Porém, a totalidade dos autores acredita que a próstata seja um importante reservatório para o HPV no sexo masculino. As novas tecnologias de detecção, como medidas seriadas de anticorpos, e informações de estudos populacionais para a demonstração de risco relativo, poderão ser capazes de, no futuro, estabelecer se realmente há relação entre o HPV e a carcinogênese da célula

prostática.

Unitermos: HPV, câncer de próstata, biologia molecular

ABSTRACT

Prostate cancer is the third most common cancer and the fifth cause of death by cancer in the state of Sao Paulo, Brazil. Its high incidence and great potential of cure when diagnosed in early stages makes extremely important the comprehension of its carcinogenic mechanisms and the identification of the individuals who belong to the risk group of developing the disease. The human papillomavirus (HPV) has been proved carcinogenic in some tissues, but its activity in the prostate is uncertain and controversial. Through techniques of molecular biology, several authors have been trying to correlate the presence and activity of HPV in patients with prostatic cancer. The results found in literature are not consistent; the presence of HPV in the prostate of patients with cancer ranges from 0 to 75%. Therefore, considering the studies described so far, there are no significant evidences that HPV has an active role in the carcinogenesis of the prostatic cell. However, all of the authors believe that the prostate is an important reservoir for HPV in the male population. The new technologies of detection, like the measurement of antibodies, and the information

** Médico - Assistente da Disciplina de Urologia da Faculdade de Medicina do ABC (FMABC) – Grupo de Tumores

*** Acadêmicos de Medicina da FMABC

**** Prof^a da Disciplina de Patologia da FMABC

***** Prof^o Regente da Disc. de Urologia da FMABC e chefe do Serviço de Urologia do Hospital de Ensino Padre Anchieta

Autor para contato: Marcos Tobias Machado - Telefone: 3081-8674/ Fax: 76774011

of populational studies for the demonstration of relative risk, might be capable of, in future, establishing if there is any relation between HPV and the carcinogenesis of the prostatic cell.

keywords: HPV, prostate cancer, molecular biology

INTRODUÇÃO

Câncer de próstata (CaP) é a neoplasia maligna não-cutânea mais freqüentemente diagnosticada em homens americanos e a segunda causa de morte relacionada a câncer na população masculina dos Estados Unidos¹. No Brasil, estatística recente da Fundação Oncocentro mostrou que, no estado de São Paulo, o câncer de próstata é o 3º câncer mais comum nos homens, sendo também a 5ª causa de morte por câncer². É potencialmente curável em estágios iniciais, mas em nosso meio, ainda é significativa a incidência de casos diagnosticados em estágios avançados, quando não há mais possibilidades de cura. A incidência do CAP aumenta mais rapidamente com a idade do que outros tipos de câncer e, assim, com o aumento da expectativa de vida da população mundial, existe uma tendência ao aumento de sua incidência³. Apesar da morbidade e do aumento na incidência verificada a partir da década de 80 (data que marcou a introdução do antígeno prostático específico na rotina diagnóstica), pouco se conhece sobre sua patogênese⁴. Possíveis fatores etiológicos para o câncer de próstata incluem história familiar⁵, fatores hormonais⁶, dieta⁷, raça⁸ e infecção por vírus⁹. Para os mais variados tumores tem se tentado, através de métodos de biologia molecular, traçar modelos que permitam um melhor entendimento da carcinogênese no ser humano.

Não há dúvidas que determinados vírus podem ser responsáveis diretos por eventos que induzem a carcinogênese. São exemplos clássicos o linfoma de Burkitt africano causado pelo Epstein-Barr, a leucemia induzida pelo retrovírus HTLV-1 e o câncer de colo uterino causado pelo papilomavirus humano (HPV)^{10, 11, 12, 13}.

Sabe-se que o homem muitas vezes é portador assintomático do HPV, o que representa um importante foco de interesse no entendimento do câncer como doença sexualmente transmissível¹⁴.

Tivemos por objetivo revisar a literatura no sentido de concluir de maneira crítica a real possibilidade da participação do HPV na gênese do câncer de próstata.

TÉCNICAS DE DETECÇÃO DO HPV

O papilomavirus humano determina alterações microscópicas nas células dos tecidos invadidos. A atipia colicitótica, expressão citológica do efeito citopático do papilomavírus na célula (colócitos), é caracterizada

pelo aumento de volume nuclear, com elevação da relação núcleo/citoplasma. A hipercromia nuclear é evidente e a cromatina pode estar fina ou grosseiramente granulosa, com distribuição uniforme. As membranas nucleares são irregulares e os nucléolos estão geralmente ausentes; é comum a binucleação, sendo menos freqüente a multinucleação. As células demonstram uma cavidade perinuclear opticamente clara, grande, com bordo denso e bem definido¹⁵ (figura 1).

O método ideal de detecção do HPV deve se basear na presença de DNA de HPV, já que o vírus não precisa estar intacto para induzir doença. A utilidade clínica desses métodos ainda precisa ser determinada, mas seu uso em pesquisas básicas é crucial. A detecção molecular inicial de HPV foi efetuada através do uso de técnicas de hibridização de ácido nucleico¹⁶, como a hibridização Southern. Esse foi o método original de primeira escolha para a detecção de DNA de HPV, devido a seu elevado grau de especificidade e sensibilidade. Esse método permite uma diferenciação precisa dos diferentes tipos de HPV. A desvantagem é o fato de ser caro, intensivo em trabalho, e de requerer quantidades relativamente grandes de tecido, que precisa ser congelado imediatamente após a excisão do espécime. Através de uma técnica modificada, conhecida como hibridização in situ, é possível identificar DNA de HPV nas células, com a garantia de que o HPV detectado não é um contaminante extracelular que se encontra na superfície epitelial¹⁷. A reação em cadeia de polimerase (PCR) tem permitido aos pesquisadores maior facilidade na busca de DNA de HPV. Com o PCR, segmentos específicos de DNA podem ser amplificados até um milhão de vezes, transformando minúsculas quantidades de DNA de HPV em quantidades que podem ser facilmente detectáveis. Além da sua maior sensibilidade em comparação ao Southern blotting, o PCR tem o benefício de uma sensibilidade excelente na detecção do HPV com quase a mesma especificidade¹⁸. Devido a sua simplicidade, custo e sensibilidade, o PCR é o método preferido para a detecção de HPV. Entretanto, a sua maior vantagem pode representar uma importante desvantagem. Como milhões de cópias de um segmento genético selecionado são produzidas pelo PCR, há um grande potencial de disseminação dessas moléculas pelo laboratório. As moléculas contaminantes podem introduzir-se em subseqüentes reações PCR e dar lugar a resultados falsos positivos¹⁹ (tabela 1).

HPV - ESTRUTURA VIRAL

Os papilomavirus humano fazem parte da família Papovaviridae e apresentam DNA circular de dupla fita de aproximadamente 8000 pares de bases²⁰. Mais

de 80 tipos de HPV já foram isolados, sendo que alguns são considerados carcinogênicos^{21, 22}. Os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56, 58 e 59 são freqüentemente encontrados em carcinoma cervical²³ ou em suas lesões precursoras²⁴, sendo denominados de HPV de alto risco. Os tipos 6, 11, 44 e 55 são encontrados em lesões benignas como condiloma acuminado e são denominados de HPV de baixo risco²⁵.

HPV – MECANISMOS DE CARCINOGENESE

A análise molecular do genoma do vírus mostra que o estado físico do DNA de HPV que se encontra em lesões genitais malignas é diferente daquele encontrado em proliferações benignas. HPV 6 e 11 encontram-se freqüentemente sob forma epissômica (não integrada) em condiloma e na maioria das neoplasias intraepiteliais de baixo grau enquanto que HPV 16 e 18 estão freqüentemente integrados no genoma da célula hospedeira em carcinomas cervicais de células escamosas. Essas diferenças podem ser pertinentes à atividade transformante desse vírus, sugerindo que a integração do DNA viral é importante na transformação maligna. É provável que a ruptura do DNA viral circular na integração altere a expressão de produtos oncogênicos do HPV codificados pelos genes E6 e E7, permitindo a sua interação específica com proteínas celulares reguladoras²⁶. A proteína E6 aumenta a degradação do produto do gene supressor de tumor p53²⁷, enquanto que a proteína E7 interfere na função do produto do gene supressor de tumor relacionado ao retinoblastoma (Rb)^{28, 29}. Mutações somáticas nos genes p53 e Rb também foram observadas em espécimes de câncer de próstata^{30, 31, 32}. Assim, interferências na função normal dos genes p53 e Rb, por infecção viral ou mutação somática, podem ser mecanismos importantes da tumorigênese da próstata (figura 2).

Além da sua interferência na ação antiproliferativa dos genes supressores de tumor, algumas evidências sugerem sua participação como ativador de proto-oncogenes. A via do oncogene ras ativado pode ter alguma importância na origem do câncer prostático. O aumento da expressão da proteína p21, o produto proteico da transcrição deste gene, está associado ao aumento do grau histológico em câncer prostático humano^{33, 34, 35}. Foi demonstrado também expressão de altos níveis de mutação do gene H-ras em linhagens celulares de câncer de próstata³⁶. Além disso, mutações do ras foram relatadas em adenocarcinoma prostático humano^{37, 38, 39, 40}. Uma análise através de PCR, realizada por Tobias-Machado e cols. (resultados não publicados), em 30 espécimes de tecido prostático de pacientes brasileiros, revelou que aproximadamente 13% dos casos de câncer tinham mutação no códon 12 do K-ras. Nenhum caso de hiperplasia prostática apresentava esta mutação.

EVIDÊNCIAS CLÍNICAS DO ENVOLVIMENTO DO HPV NA GÊNESE DO CÂNCER DE PRÓS-TATA

Os dados da literatura têm mostrado resultados controversos quanto a interpretação dos achados da presença de HPV em tecido prostático. A frequência de positividade em HPB ocorreu entre 0 e 61%, e a positividade do vírus em CaP ocorreu entre 0 e 75% (tabela 2). A discrepância destes achados pode ser explicada em parte devido aos diferentes métodos empregados para a detecção, a pesquisa de diferentes tipos virais e a técnica utilizada na coleta do material. Sabe-se que devido a alta sensibilidade dos métodos de PCR, amostras de tecido prostático obtidas através de ressecção transuretral tem alta possibilidade de contaminação, uma vez que a uretra é um reservatório do HPV em pacientes assintomáticos¹⁹.

McNicol & Dodd revelaram que 52% dos CaP, em um estudo para a detecção dos HPVs 16 e 18, eram positivos para a detecção do vírus²⁰. Em outro estudo os mesmos autores procuraram no tecido prostático sinais de atividade transcricional do HPV 16 (genes E6 e E7), já que estes genes são fundamentais para a replicação do vírus. Em 7 CaP apenas 3 (43%) apresentaram atividade transcricional, sendo que o HPV 16 estava presente em todas as amostras⁴¹. Porém, o número de amostras analisadas foi muito pequeno para que os resultados possam ser considerados de grande significância.

Moyret-Lalle et al analisaram 27 amostras de CaP e encontraram a presença do HPV 16 em 53% delas, e não encontraram a presença do HPV 18 em nenhuma amostra de tecido prostático⁴.

Rotola et al encontraram HPVs 6, 11 ou 16 em seis (75%) de oito amostras de CaP⁴². Apesar da grande positividade encontrada nesse estudo, foram analisadas apenas oito amostras de tecido, e o autor não comparou essa positividade com amostras de tecido prostático normal e nem com amostras de hiperplasia prostática benigna.

Anwar et al, examinando 68 amostras de CaP à procura do DNA de HPVs de alto risco (16, 18 e 33), detectaram a presença do vírus em 41% dos casos³⁷.

Ibrahim et al encontraram o HPV 16 em apenas 25% de 24 amostras de CaP através do método de PCR. Essas mesmas amostras foram analisadas através de hibridização in situ, e apenas uma (4%) delas foi positiva para DNA de HPV 16⁴³.

Noda et al, em estudo recente (1998), analisou 38 amostras de CaP e não encontrou a presença de HPV 16 em nenhuma delas⁴⁴.

Foi relatada recentemente, por Hisada et al, uma nova metodologia diagnóstica para a detecção do HPV,

através da pesquisa de anticorpos para HPV 16. Vinte (42%) dos 48 casos de câncer e 19 (30%) dos 63 controles eram positivos para anticorpo do HPV 16. A positividade foi associada ao aumento do risco para câncer de próstata⁴⁵. Os resultados desses estudos prospectivos conflitam com os resultados dos estudos de caso controle que falharam na detecção de associação. O papel da infecção por HPV na etiologia do câncer de próstata requer mais investigação, com medidas seriadas de níveis de anticorpo em estudos prospectivos.

CONCLUSÃO

À luz dos conhecimentos atuais, não há evidências significativas de que o HPV participe ativamente da carcinogênese da célula prostática. É, no entanto,

notório e indubitável que os papilomavírus de alto risco tem um potencial carcinogênico demonstrado através de estudos moleculares.

A totalidade dos autores acredita que a próstata seja um importante reservatório para o HPV no sexo masculino.

Novas tecnologias de detecção, como medidas seriadas de anticorpos, são promissoras e permitirão que estudos epidemiológicos sejam realizados possibilitando uma análise mais completa, uma vez que os estudos até aqui obtidos foram baseados em material histológico.

Até que informações de estudos populacionais para a demonstração de risco relativo sejam obtidas, a relação entre infecção pelo HPV e o câncer de próstata não poderá ser totalmente esclarecida.

Figura 1

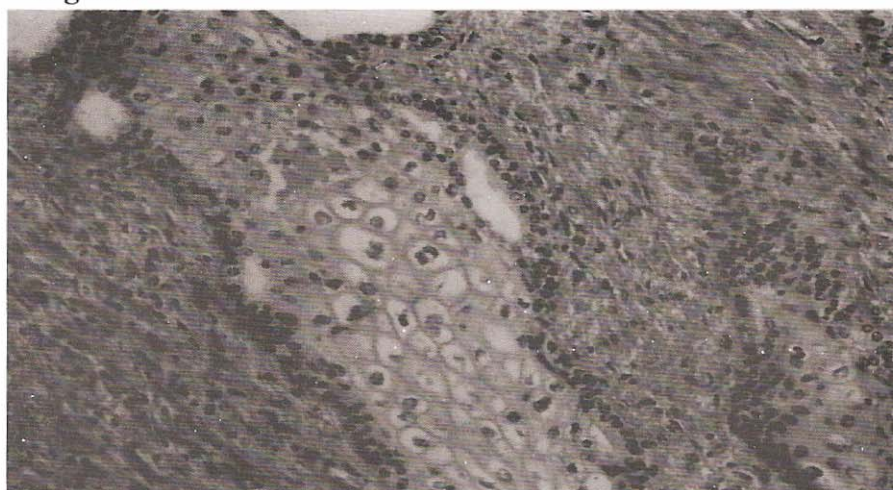


Figura 1 – Imagem microscópica de tecido prostático com metaplasia escamosa, apresentando atipia coliocitótica. Observar células binucleadas, cariomegalia e halo perinuclear, características da atipia coliocitótica, efeito citopático do papilomavirus humano.

Tabela 1 – Técnicas mais comuns de detecção do HPV e suas características funcionais

Técnica	Requerimentos de tecido	Grau de dificuldade	Sensibilidade	Especificidade de tipo de HPV
HIBRIDIZAÇÃO SOUTHERN	SOMENTE FRESCO	MUITO ALTO	ALTA	MUITO ALTA
HIBRIDIZAÇÃO IN SITU	FRESCO OU EMBEBIDO EM PARAFINA	MODERADO	MODERADA	MODERADA
PCR	FRESCO OU EMBEBIDO EM PARAFINA	MODERADO	MUITO ALTA	MUITO ALTA

Carcinogênese

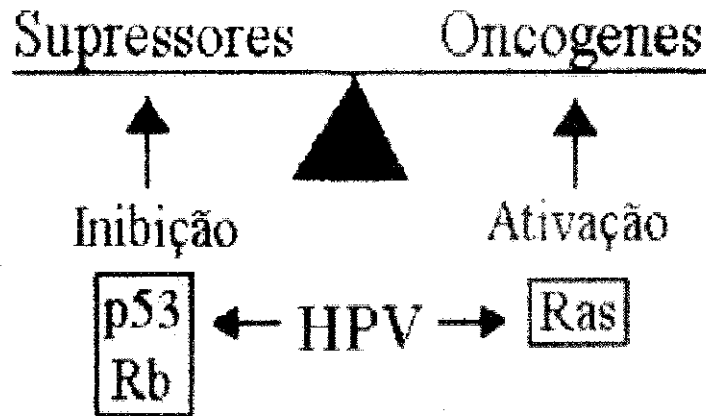


Figura 2 – Equilíbrio entre a expressão de fatores carcinogênicos e fatores supressores da carcinogênese, e os genes sobre os quais possivelmente o HPV atua

Tabela 2 – Análise dos principais trabalhos encontrados na literatura e os resultados obtidos na detecção de HPV em tecidos com câncer de próstata.

Autor	Próstata Normal	HPB	Câncer	Método	Positividade em Câncer n° (%)
Rotola et al, 1992	0	0	8	PCR (amplificação de sequências específicas do vírus)	6 (75)
Moyret-Lalle et al, 1996	0	22	16	PCR e hibridização in situ	9 (53)
McNicol & Dodd, 1991	5	56	27	PCR (amplificação de sequências específicas do vírus)	14 (52)
Dodd et al, 1993	0	10	7	PCR (detecção de produtos de transcrição do gene viral E6/E7)	3 (43)
Anwar et al, 1992	10	10	68	PCR (detecção de primers)	28 (41)
Ibrahim et al, 1992	20	16	24	PCR e hibridização in situ	6 (25) – PCR 1 (4) - hibridização
Noda et al, 1998	0	71	38	PCR (detecção de primers de HPVs de alto risco)	0

Referências Bibliográficas

1. Rhim JS, Webber MM, Bello D et al. Stepwise immortalization and transformation of adult human prostate epithelial cells by a combination of HPV-18 and v-Ki-ras. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91: 11874-8.
2. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo - Fundação Oncocentro. Mortalidade por câncer no estado de São Paulo / 1988-1998. Imprensa Oficial do Estado 2000.
3. Tobias-Machado M, Simardi LH, Pinto MA et al. I Campanha de Saúde Prostática da Faculdade de Medicina do ABC. Resultados anátomo-patológicos das biópsias prostáticas por agulha. *Arq Med ABC* 2000; 23: 12-17.
4. Moyret-Lalle C, Marçais C, Jacquemier J et al. Ras, p53 and HPV status in benign and malignant prostate tumors. *Int J Cancer* 1995; 64: 124-9.
5. Schuman LM, Mandel J, Blackard C et al. Epidemiologic study of prostatic cancer: preliminary report. *Cancer Treat Rep* 1977; 61: 181-6.
6. Kozłowski JM, Grayhack JT. Carcinoma of the prostate. In: Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckett JW eds. *Adult and Pediatric Urology*, Vol 2. Chicago, Year Book Medical Publishers Inc, 1987; 1126-1219.
7. Blair A, Fraumeni JF. Geographic patterns of prostate cancer in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61: 1379-84.
8. Levine RL, Wilchinsky M. Adenocarcinoma of the prostate: a comparison of the disease in blacks versus whites. *J Urol* 1979; 121: 761-2.
9. Zeigel RF, Arya SK, Horoszewicz JS, Carter WA. A status report: human prostatic carcinoma, with emphasis on potential for viral etiology. *Oncology* 1977; 34: 29-44.
10. McLachlin CM. Human papillomavirus in cervical neoplasia. Role, risk factors, and implications. *Clin Lab Med* 2000; 20: 257-70.
11. Sasieni PD. Human papillomavirus screening and cervical cancer prevention. *J Am Med Womens Assoc* 2000; 55: 216-9.
12. Bible JM, Mant C, Best JM et al. Cervical lesions are associated with human papillomavirus type 16 intratypic variants that have high transcriptional activity and increased usage of common mammalian codons. *J Gen Virol* 2000; 81: 1517-27.
13. Tyring SK. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: S18-26.
14. Gil, Perez MC, Wroclawski ER et al. HPV no homem. In: I Consenso Brasileiro de HPV. Sociedade Brasileira de Urologia, 2000.
15. zur Hausen H. Papillomavirus infections – a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1288: F55-78.
16. Gissmann L, Gross G. Association of HPV with human genital tumors. *Clin Dermatol* 1985; 3: 124-9.
17. Zehbe I, Rylander E, Strand A, Wilander E. In situ hybridization for the detection of human papillomavirus (HPV) in gynaecological biopsies. A study of two commercial kits. *Anticancer Res* 1992; 12: 1383-8.
18. Donaldson YK, Arends MJ, Duvall E, Bird CC. A PCR approach to discriminate between integrated and episomal HPV DNA in small clinical specimens. *Mol Cell Probes* 1993; 7: 285-92.
19. Teo IA, Shaunak S. PCR in situ: aspects which reduce amplification and generate false-positive results. *Histochem J* 1995; 27: 660-9.
20. McNicol PJ, Dodd JG. High prevalence of human papillomavirus in prostate tissues. *J Urol* 1991; 145: 850-3.
21. Bernard HU, Chan SY, Manos MM. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis* 1994; 170: 1077-85.
22. zur Hausen H. Papillomavirus in anogenital cancer as a model to understand the role of viruses in human cancer. *Cancer Res* 1989; 49: 4677-81.
23. Bosch FX, Manos M, Munoz N et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) study group. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
24. Matsukura T, Sugase M. Identification of genital human papillomaviruses in cervical biopsy specimens: segregation of specific virus types in specific clinicopathological lesion. *Int J Cancer* 1995; 61: 13-22.
25. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB et al. Human papillomavirus infection of the cervix: Relative risk associations of fifteen common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 328-37.
26. Scheffner M, Munger K, Byrne JC, Howley PM. The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:5523-7.
27. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63: 1129-36.
28. Barbosa MS, Edmonds C, Fisher C et al. The region of the HPV E7 oncoprotein homologous to adenovirus E1a and SV40 large T antigen contains separate domains for Rb binding and casein kinase II phosphorylation. *EMBO J* 1990; 9: 153-60.
29. Munger K, Werness BA, Dyson N et al. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO J* 1989; 8: 4099-105.
30. Konishi N, Hiasa Y, Matsuda H et al. Intratumor cellular heterogeneity and alterations in ras oncogene and p53 tumor suppressor gene in human prostate carcinoma. *Am J Pathol* 1995; 147: 1112-22.
31. Berner A, Geitvik G, Karlsen F et al. TP53 mutations in prostatic cancer. Analysis of pre- and post-treatment archival formalin-fixed tumour tissue. *J Pathol* 1995; 176: 299-308.
32. Bookstein R, Rio P, Madreperla AS et al. Promoter deletion and loss of retinoblastoma gene expression in human prostate carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7762-6.
33. Viola MV, Fromowitz F, Oravez S et al. Expression of ras oncogene p21 in prostate cancer. *N Engl J Med* 1986; 314: 133-7.
34. Davies P, Eaton CL, Franco TD, Phillips EA. Growth factor receptors and oncogene expression in prostate cells. *Am J Clin Oncol* 1988; 11 suppl 2: S1-S7.
35. Sumiya H, Masai M, Akimoto S, Yatani R, Shimazaki J. Histochemical examination of expression of ras p21 protein and R 1881-binding protein in human prostatic cancers. *Eur J Cancer* 1990; 26: 786-9.
36. Rijnders AW, van der Korput JA, van Steenbrugge GJ, Romijn JC, Trapman J. Expression of cellular oncogenes in human prostatic carcinoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 132: 548-54.
37. Anwar K, Nakakuki K, Shiraishi T et al. Presence of ras oncogene mutations and human papillomavirus DNA in human prostate carcinomas. *Cancer Res* 1992; 52: 5991-96.
38. Carter BS, Epstein JE, Isaacs WB. Ras gene mutations in human prostate cancer. *Cancer Res* 1990; 50: 6830-2.
39. Konishi N, Enomoto T, Buzard G et al. K-ras activation and ras p21 expression in latent prostate carcinoma in Japanese men. *Cancer* 1992; 69: 2293-99.
40. Gumerlook PH, Poonamallee UR, Meyers FJ, White RW. Activated ras alleles in human carcinoma of the prostate are rare. *Cancer Res* 1991; 51: 1632-37.
41. Dodd JG, Paraskevas M, McNicol PJ. Detection of human papillomavirus 16 transcription in human prostate tissue. *J Urol* 1993; 149: 400-2.
42. Rotola A, Monini P, Di Luca D et al. Presence and physical state of HPV DNA in prostate and urinary-tract tissues. *Int. J. Cancer* 1992; 52: 359-65.
43. Ibrahim GK, Gravitt PE, Dittrich KL et al. Detection of human papillomavirus in the prostate by polymerase chain reaction and in situ hybridization. *J Urol* 1992; 148: 1822-6.
44. Noda T, Sasagawa T, Dong Y et al. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA in archival specimens of benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer using a highly sensitive nested PCR method. *Urol Res* 1998; 26: 165-9.
- Hisada M, Rabkin CS, Strickler HD et al. Human papillomavirus antibody and risk of prostate cancer (letter). *JAMA* 2000; 283: