

ÚLOHA VIROVÉ INFEKCE V ETIOPATOGENEZI KARCINOMU PROSTATY: PŘEHLED PUBLIKOVANÝCH STUDIÍ

MUDr. Jan Hrbáček, ml.¹, MUDr. Jiří Heráček^{1,2}, MUDr. Tomáš Novotný¹, doc. MUDr. Michael Urban^{1,2}

¹Urologická klinika 3. LF UK a FN KV, Praha

²Androgeos – soukromé urologické a andrologické centrum, Praha

Autor se v přehledném článku zabývá úlohou virové infekce v etiopatogenezi karcinomu prostaty.

Klíčová slova: karcinom prostaty, etiopatogeneze, virové infekce.

VIRAL INFECTIONS IN THE ETIOPATHOGENESIS OF PROSTATE CANCER: A REVIEW

In this review, the author summarizes the main studies published dealing with the possible correlation between viral infection and prostate carcinogenesis.

Key words: prostate cancer, etiopathogenesis, viral infections.

Urolog. pro Praxi, 2008; 9(3): 116–119

Úvod

Již v 50. letech byla vyslovena domněnka, že ke vzniku rakoviny prostaty může přispět pohlavní přenos infekčního karcinogenního činitele. Souvislost s proběhlou či perzistující virovou infekcí předstojné žlázy zkoumalo v uplynulých letech několik desítek studií. Na základě rešerše provedené v databázi Medline přinášíme jejich výsledky.

Metody virologické diagnostiky

Hybridizací in situ (HIS) je možné prokázat přítomnost DNA nebo RNA přímo ve vzorku tkáně navázáním fluorescenčně nebo radioaktivně značené próby. Imunofluorescence (IF) je schopna vizualizovat přítomnost konkrétní molekuly (antigeny), imunohistochemie prokazuje přítomnost hledaného proteinu.

Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) je možné enzymatickou replikací „namnožit“ prakticky libovolný fragment deoxyribonukleové kyseliny ve vyšetřovaném vzorku, který pak můžeme detekovat dalšími postupy. Southern blot je metoda, kterou lze prokázat přítomnost konkrétní sekvence DNA. Ty se nejdříve rozdělí podle velikosti elektroforézou na agarovém gelu a přenesou na nitrocelulózovou membránu. Tzv. hybridizační próba – radioaktivně značený komplementární fragment DNA či RNA – se potom naváže na hledanou DNA a vizualizuje ji.

ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) slouží k detekci konkrétního antigeny ve zkoumaném vzorku. Na hledanou molekulu se naváže protilátka spojená s enzymem, který po aplikaci určitého substrátu vyprodukuje měřitelný signál, např. fluorescenční. Mezi méně používané postupy patří elektronová mikroskopie a kulturační metody.

Sérologické studie

Sérologickým testováním lze zjistit přítomnost protilátek v séru pacienta, tedy infekci, která proběhla dlouho před stanovením diagnózy rakoviny prostaty. V centru zájmu výzkumníků stály především lidský papilomavirus (HPV), herpes simplex virus (HSV) a lidský herpesvirus 8 (HHV-8).

Prakticky jediná studie, která sérologickými metodami dospěla k závěru, že HPV a karcinom prostaty (CaP) spolu souvisejí, byla švédská prospektivní studie případů a kontrol z r. 1998. Zdravým finským mužům odebrali více než 20 tisíc vzorků sér. Pro studii bylo vybráno 165 z nich, kteří během 24letého sledování onemocněli CaP. Ke každému z nich byly podle věku a místa bydliště přiřazeny 2 kontroly. Přítomnost protilátek proti HPV-18 byla spojena s 2,6krát vyšším rizikem CaP ($p < 0,005$). U HPV-16 tato korelace potvrzena nebyla ($p = 0,6$) (3).

Všechny další výzkumy vycházejí jako jednoznačně negativní nebo rozpačité. Strickler et al. nepozorovali metodou ELISA statisticky významný rozdíl ve výskytu HPV-16 a HPV-11 ($p = 0,54$, $p = 0,64$) v séru pacientů s CaP a s BHP (17). Souvislost mezi sérologickým průkazem prodělané infekce HPV-16 či HPV-18 a karcinomem prostaty neprokázala ani recentní studie 642 případů CaP a 570 kontrol (11). Podíl šancí v případě HPV-16 byl $OR = 1,06$, u HPV-18 $OR = 1,36$. V loňském roce se publikovaná studie s téměř 700 případy karcinomu prostaty a stejným počtem kontrol zabývala vztahem HPV-16, 18 a 33 a CaP. Metodou ELISA nepotvrdila korelaci mezi CaP a zmíněnými subtypy lidského papilomaviru (18). Stejnými subtypy HPV se zabývala skandinávská studie případů a kontrol z r. 2005 (7). Nejenže také nepotvrdila propojení

HPV a CaP, ale naopak přítomnost protilátek IgG proti HPV-18 byla spojena s nižším rizikem onemocnění ($OR = 0,49$), což je v příkrém rozporu s Dillnerovým výzkumem z r. 1998 (viz výše). Jiná švédská skupina se na HPV-16, 18 a 33 soustředila v roce 2003 ve velmi podobné studii, v níž HPV 16 a 18 nebyly spojovány se zvýšeným rizikem, zatímco subtyp 33 ano. Toto riziko dále rostlo se zvyšováním hladin protilátek v séru. Široce zaměřený výzkum Sitase et al., publikovaný v loňském roce, se zabýval vztahem IgG protilátek proti HPV-16 a celé řady nádorových onemocnění u černého obyvatelstva Jihoafrické republiky. Zatímco v případě neoplazií cervixu, esofagu nebo anogenitální oblasti byla úloha HPV statisticky potvrzena, u nádorů prostaty tento vztah neplatil (16).

Baker et al. zkoumali na populaci 305 pacientů (224 s BHP, 81 s CaP) prostatickou tkáň získanou transuretrální resekcí a výskyt protilátek proti HSV-2 v séru. Séra byla testována nepřímým hemaglutinačním inhibičním testem. Byl odhalen vyšší výskyt protilátek proti HSV-2 u pacientů s CaP oproti skupině s BHP ($p < 0,05$). Jiná, taktéž poněkud starší studie k tomuto závěru nedospěla. Pomocí samotné nepřímé fluorescence anebo v kombinaci s metodou ELISA byl ve srovnání se zdravými jedinci nedávno zjištěn častější výskyt séropozitivity protilátek proti lidskému herpesviru 8 u mužů s rakovinou prostaty. Studie se zúčastnilo na 278 mužů z Tobaga a 277 obyvatel USA (5). Sutcliffe et al. dospěli ve svém výzkumu naopak k opačnému vztahu HHV-8 a CaP. Podíl šancí (OR) u séropozitivních osob byl 0,70 (18). Ke stejnému závěru vedla i jiná loňská studie, i když rozdíl mezi zkoumanou a kontrolní skupinou nedosáhl hladiny statistické významnosti (6).

Tkáňové rozbor

Pokud jde o HPV, některé studie našly pozitivní korelaci mezi přítomností viru v prostatě a karcinomem, jiné nikoli. Serth et al. vyšetřovali na přítomnost HPV-16 metodou PCR 47 tkáňových vzorků z prostat získaných při RRP u lokalizovaného CaP a 37 prostat s BHP získaných transvezikální prostatektomií. Vyšší výskyt virových nukleových kyselin u CaP byl statisticky signifikantní (21 % oproti 3%, $p = 0,02$) (14). Studie Ibrahim et al. pátrala po nukleových kyselinách lidského papilomaviru v 84 vzorcích prostatické tkáně s CaP, BHP, nebo i bez patologie metodou PCR a hybridizace in situ. U CaP byl konstatován o něco vyšší výskyt HPV. O krok dále došly dvě studie, které taktéž prokázaly určitým způsobem pozitivní korelaci mezi virovými nukleovými kyselinami v prostatické tkáni a karcinomem prostaty. Kuczyk et al. provedli nejen kvalitativní, ale i kvantitativní analýzu 47 čerstvě zmrazených prostat s CaP získaných při RAPE a stejného počtu vzorků s BHP. Kvantitativní PCR zjistili významně vyšší počty kopií sekvence E6 (jež kóduje onkoprotein degradující protein p53) HPV-16 u 21 % prostatických tumorů (8). Druhá ze zmiňovaných studií, uskutečněná nedávno v Argentině, hledala na 41 případech CaP a 30 BHP nukleové kyseliny papilomaviru a polymorfismus kodonu 72 genu p53 v prostatických buňkách. HPV DNA byla nalezena v 42 % karcinomů, avšak v žádné prostatě s benigní hyperplazií, genový polymorfismus p53 nebyl pozorován ani mezi HPV pozitivními vs. negativními vzorky, ani mezi karcinomy vs. benigní hyperplazií (9).

Řada dalších prací dospěla k odlišným závěrům. Metodou PCR a southern blot byla odhalena přítomnost HPV v prostatě pouze v 1 ze 43 adenokarcinomů a v 1 ze 17 pánevních lymfatických uzlin. Výše citovaná studie, vedená Stricklerem, vyšetřovala prostaty s CaP a BHP třemi různými sety PCR, aniž by odhalila virovou DNA v kterémkoli z vyšetřovaných vzorků (17). Ani jeden pozitivní výsledek v celém vyšetřovaném souboru 40 čerstvých resekátů z RRP nezaznamenala kanadská studie při použití PCR a southern blotu (12). Zcela shodný osud potkal pokus izolovat DNA HPV-16 a 18 ze 30 parafinových řezů prokazatelně nádorové prostatické tkáně. Navzdory vysoké senzitivitě zvolené metody se virové nukleové kyseliny nepodařilo prokázat ani v jednom z nich. Naprosto opačný, avšak stejně hodnotný výsledek publikovali Rotola et al.: podrobili analýze vzorky nádorové i nenádorové tkáně z ledvin, ureteru, močového měchýře a prostaty metodami PCR, southern blot a 2D-elektroforézy. Malá množství DNA HPV 16, 6 či 11 byla nalezena jak v nádorových, tak v nenádorových vzorcích. Došli k závěru, že močopohlavní ústrojí je důležitým rezervoárem pro další přenos infekce, aniž by nutně musela inici-

ovat karcinogenezi. Prostatu považuje za přetrvávající zdroj infekce i McNicol. Podařilo se mu za pomoci PCR detekovat HPV-16 ve 14 z 15 vzorků prostatické tkáně s BHP a ve všech 4 vzorcích s CaP. Naopak HPV-18 našel jen ve třech řezech s BHP. Suzuki detekoval DNA HPV-16 v 16 % z 51 případů CaP metodou PCR (19). Statisticky významnějších výsledků nedosáhla ani nepřilíš rozsáhlá italská studie 51 bi-optických vzorků prostaty s karcinomem či bez něj (2). Jedna z posledních publikovaných prací, které se zabývaly detekcí HPV v prostatické tkáni, našla nukleové kyseliny lidského papilomaviru v 5 % případů karcinomu prostaty (1).

U pacientů s PIN a rakovinou prostaty byly zjištěny nukleové kyseliny a genové produkty lidského cytomegaloviru. Vzorky byly vyšetřeny imunohistochemicky, hybridizací in situ, PCR a sekvencováním DNA; jako pozitivní se ukázalo všech 22 vzorků tkáně (13).

Grinstein et al. se zaměřili na kauzální spojitost EBV a nádorů prsu, plic, tlustého střeva a prostaty a pomocí imunohistochemických metod, PCR a hybridizace in situ prokázali přítomnost viru v různých velkých podílech jednotlivých skupin neoplazií. V případech prostaty našli virus v 7 z 19 vzorků nádorové tkáně, ale v žádném z 10 zdravých kontrol. Prostaty s BHP nicméně také vykazovaly pozitivitu na EBV (4).

Tkáňové analýzy zaměřené na HSV-2 nevedly k žádným výsledkům. Studie provedená Haidem dospěla k závěru, že infekce HSV-2 je běžná, avšak pravděpodobně nemá vztah k CaP. Nepřímou imunofluorescencí nebyl zjištěn rozdíl mezi skupinou s CaP a kontrolami s BHP, $p > 0,8$. Přítomnost RNA HSV-2 v nádorech urogenitálního traktu, zjišťovali již v 80. letech Eizuru et al. V prostatické tumorózní tkáni za pomoci in situ hybridizace nicméně žádnou nenašli, na rozdíl od prekanceróz a neoplazií cervixu uteru. Boldogh et al. prokázali in situ hybridizací výskyt HSV-2 RNA pouze v 1 z 8 vzorků nádorové prostatické tkáně. Nukleové kyseliny lidského cytomegaloviru byly nalezeny bez statisticky významného rozdílu jak v CaP, tak ve tkáni s BHP.

Diskuze

Ze 32 nalezených studií bylo pět věnováno problematice herpes simplex viru typu 2. Dvě z nich používaly sérologickou diagnostiku, čtyři pracovaly s prostatickou tkáni. Poslední z nich však byla provedena v r. 1984 a vzhledem k pokroku, jaký metody virologické diagnostiky v posledních desetiletích prodělávaly, by si tento patogen jistě zasloužil renezanci zájmu výzkumníků. Vztahu CaP a lidského cytomegaloviru se týkají tři publikované práce. Dvě z nich souvislost infekce CMV a CaP nepotvrdily, třetí ano (13), i když 100 % záchyt všemi čtyřmi pou-

žitými metodami může u skeptičtějších povah budit mírné rozpaky. Stejný počet publikací se zabývá lidským herpesvirem 8. Všechny jsou sérologické povahy a pocházejí z posledních tří let. Zatímco jedna z nich konstatovala u karcinomu prostaty zvýšené titry protilátek proti HHV-8 (5), dvě zbývající dospěly k opačnému závěru; v jednom případě byl rozdíl statisticky významný (18), zatímco ve druhém nikoli (6).

Nejčastějším virem, který byl ve spojitosti s karcinomem prostaty zkoumán, je lidský papilomavirus. V naší rešerši jsme našli 21 relevantních studií, které se zabývaly jeho možnou úlohou v etiopatogenezi CaP. Zhruba ve 3/4 případů se práce týkaly subtypů 16 a 18, což je vzhledem k jejich prokazatelnému onkogennímu potenciálu pochopitelné. Jen několik se zabývalo i dalšími subtypy, zejména 6, 11 a 33. V případech HPV také narážíme na nejfrapantnější rozdíly v závěrech, ke kterým jednotlivé studie dospěly, včetně bezmála 100 % záchytu virové DNA v pozitivních i negativních preparátech nebo 100 % negativních výsledků ve všech zkoumaných vzorcích (12). Pozoruhodné je, že v citovaných případech byl zkoumán stejný virus HPV-16 a 18 shodnými metodami – PCR a southern blot. Nejjednodušší vysvětlení takovýchto diskrepancí, jaké se nabízí, je rozdílná metodologie v manipulaci se vzorky počínaje odběrem, přes skladování, zpracování a různé metody jejich vyšetřování až po rozdílné postupy v rámci jediné diagnostické metody.

Zatímco některé studie pracovaly s čerstvými vzorky tkáně (12) nebo resekáty bezprostředně po odběru zmrazenými (8, 14, 17), jiné přistupovaly citlivými metodami ke vzorkům uloženým ve formaldehydu, příp. zpracovaným v parafinových bločcích (2, 10). Vyskytly se i případy, kdy byly v rámci jediné studie k analýze použity vzorky skladované a zpracované různými metodami. Existují práce, jež dokazují, že pro PCR a hybridizaci in situ je nezbytné používat čerstvě zmrazené vzorky tkáně, neboť výsledky zjišťované z parafinových řezů jsou nespolehlivé (22). Jiní autoři uvádějí, že detekce HPV je ve zmrazených a parafinových řezech srovnatelná. Dalším zdrojem diskrepancí může být způsob odběru. Zatímco při radikální prostatektomii, transvezikální prostatektomii, pitvě a snad i jehlové biopsii nedochází k takovému poškození tkáně, aby nebylo možné podrobit ji moderním metodám tkáňové diagnostiky, je otázka, nakolik ve stejné situaci obstojí např. termicky změněné řízky z transuretrální resekce.

Dnešní virologická diagnostika disponuje vysoce senzitivními a specifickými metodami detekce virových nukleových kyselin a proteinů. Obrácenou stranou mince je ovšem nutnost úzkostlivě dodržovat předepsané postupy. Použití stejného primeru při dvou rozdílných teplotách může v jednom z případů

Tabuka 1. Přehled publikovaných studií

Rok	Studie	Virus	Sérum/ tkáň	Souvisí s CaP	Metody	Soubor
2007	Sutcliffe	HPV-16, 18, 33; HHV-8	sérum	ne	ELISA u HPV, IF u HHV	691 případů, 691 kontrol
2007	Sitas	HPV-16	sérum	ne	ELISA	205 pacientů s CaP, 205 kontrol s vaskulárním onemocněním anebo nádorem bez vztahu k HPV
2007	Balis	HPV, BKV, JCV	tkáň	ne	PCR	42 vzorků CaP
2007	Jenkins	HHV-8	sérum	ne	IF, ELISA	
2005	Korodi	HPV-16, 18, 33	sérum	ne	ELISA	804 případů, 2416 kontrol (4 kontroly ke každému případu)
2005	Leiros	HPV	tkáň	ano	PCR, Southern blot	41 pacientů s CaP, 30 s BHP
2004	Carozzi	HPV	tkáň	ne	PCR	26 bioptických vzorků CaP, 25 kontrol s benigní histologií
2004	Hoffman	HHV-8	sérum	ano	nepřímá IF, ELISA	238 pacientů, 317 kontrol
2003	Adami	HPV-16, 18, 33	sérum	ano/ne	ELISA	238 případů, 210 kontrol
2003	Rosenblatt	HPV-16, 18	sérum	ne	ELISA	642 prostat s CaP, 570 zdravých kontrol
2003	Samanta	CMV	tkáň	ano	imunohistochemie, HIS, PCR, DNA sekvenování	22 vzorků z biopsie s PIN a CaP
2002	Grinstein	EBV	tkáň	ano	imunohistochemie, HIS, PCR	19 pacientů s CaP, 10 kontrol
2000	Kuczyk	HPV-16	tkáň	ano	PCR	47 pacientů s CaP, 47 kontrol s BHP
1999	Saad	HPV	tkáň	ne	PCR, Southern blot	40 pacientů s CaP
1998	Noda	HPV-16, 18, aj.	tkáň	ne	PCR	38 pacientů CaP, 71 kontrol s BHP
1998	Dillner	HPV-16, 18	sérum	ano	ELISA	165 pacientů s CaP, 330 kontrol
1998	Serth	HPV-16	tkáň	ano	PCR	47 prostat s CaP z RAPE, 37 BHP z TVPE
1998	Strickler	HPV-16	tkáň, sérum	ne	PCR, ELISA	63 pacientů s CaP a 144 kontrol s BHP na sérologické vyšetření, z čehož 63 CaP a 61 kontrol na rozbor tkáně
1996	Wideroff	HPV-16, 18, aj.	tkáň	ne	PCR	56 pacientů s CaP, 42 kontrol s BHP
1996	Suzuki	HPV-16	tkáň	ano	PCR	51 vzorků z RAPE a pitvy
1994	Tu	HPV-16, 18	tkáň	ne	PCR, Southern blot	43 prostat s CaP, 17 pozitivních pánevních uzlin a 1 prostata nádoru prostá
1993	Sinclair	HPV	tkáň		PCR	23 vzorků s nádorem prostaty nebo močového měchýře
1992	Rotola	HPV-16, 6, 11	tkáň	ne	PCR, elektroforéza, Southern blot	vzorky tkání ledviny, ureteru, močového měchýře, prostaty
1992	Effert	HPV-16, 18	tkáň	ne	PCR, Southern blot	30 vzorků CaP
1992	Ibrahim	HPV-16	tkáň	ne	PCR, HIS	84 vzorků z RAPE, TURP či biopsie (24 CaP, 16 BHP, 20 zdravých)
1990	McNicol	HPV-16, 18	tkáň	ne	PCR	4 vzorky s CaP, 15 s BHP
1984	Haid	HSV-2	tkáň	ne	nepřímá IF	27 vzorků CaP, 33 BHP z operace či pitvy
1983	Eizuru	HSV-2, CMV	tkáň	ne	HIS	
1983	Boldogh	CMV, HSV-2	tkáň	ne	HIS, sekvenování DNA, IF	bioptické vzorky z CaP, BHP a zdravých kontrol
1981	Baker	HSV-2	tkáň, sérum	ano	nepřímý hemaglutinační inhibiční test, IF, el.mikroskopie	81 vzorků CaP, 224 BHP z TURP
1976	Herbert	HSV-2	sérum	ne	sérologie	neurč. počet CaP a BHP

přinést nespolehlivé, falešně pozitivní, či falešně negativní výsledky (15). Naopak použití různých prumerů, byť pro jeden fragment HPV-16, vedlo při zkoumání shodných vzorků tkáně ke zcela odlišným výsledkům (20).

Mezi další zdroje rozdílných závěrů můžeme zařadit možnost kontaminace vzorku při kolonizaci prostatické uretry (20), různou míru citlivosti testů používaných pro detekci virové DNA nebo histologickou a genetickou heterogenitu nádorů prostaty (14). Je pochopitelné, že takováto různorodost zkoumaných souborů a metodických přístupů ztěžuje,

ne-li znemožňuje provádět pozdější metaanalýzy publikovaných prací.

Závěr

Studii, které se zabývají CMV, HSV-2 a HHV-8 v souvislosti s etiopatogenezi karcinomu prostaty, zatím není mnoho a jistě je prostor pro další výzkum v této oblasti. I když se rolí HPV při vzniku a vývoji prostatických neoplazií zabývala celá řada studií, tvrzení z předchozí věty zde platí beze zbytku. Především by bylo vhodné sjednotit metodiku prováděných výzkumů, což se však vzhledem k různorodosti

dostupných metod a jejich modifikací těžko podaří. Proto je nutné alespoň v rámci jednotlivých prací striktně definovat používané postupy, stanovit jasnou metodiku, té se v celé studii pečlivě držet a výsledky předkládat v transparentní formě. Jedině tak mohou být odborné veřejnosti a dalším badatelům ku prospěchu.

MUDr. Jan Hrbáček, ml.
Urologická klinika 3. LF UK a FN KV
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10
e-mail: honzahrback@seznam.cz

Literatura

- Balis V. Prevalence of BK virus and human papillomavirus in human prostate cancer. *Int J Biol Markers* 2007; 22(4): 245–251.
- Carozzi F. Association of human papillomavirus with prostate cancer: analysis of a consecutive series of prostate biopsies. *Int J Biol Markers* 2004; 19(4): 257–261.
- Dillner J. Sero-epidemiological association between human-papillomavirus infection and risk of prostate cancer. *Int J Cancer* 1998; 75: 564–567.
- Grinstein S. Demonstration of Epstein-Barr virus in carcinomas of various sites. *Cancer Res* 2002; 62: 4876–4878.
- Hoffman LJ. Elevated seroprevalence of human herpesvirus-8 among men with prostate cancer. *J. Infect. Dis* 2004; 189: 15–20.
- Jenkins F. Human herpesvirus-8 seroprevalence among prostate cancer case patients and control subjects. *J Infect Dis* 2007; 196(2): 208–211.
- Korodi Z. Human papillomavirus 16, 18, and 33 infections and risk of prostate cancer: a Nordic nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(12): 2952–2955.
- Kuczyk M. Detection of viral HPV 16 DNA in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia by quantitative PCR-directed analysis. *Prost Canc Prost Dis* 2000; 3 (Suppl 1): S23.

9. Leiros GJ. Detection of human papillomavirus DNA and p53 codon 72 polymorphism in prostate carcinomas of patients from Argentina. *BMC Urol* 2005; 5: 15.
10. Noda T. 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(3): 165–169.
11. Rosenblatt KA. Serologic evidence of human papillomavirus 16 and 18 infections and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 2003; 12: 763–768.
12. Saad F. Absence of human papillomavirus sequences in early stage prostate cancer. *Can J Urol* 1999; 6(4): 834–838.
13. Samanta M. High prevalence of human cytomegalovirus in prostatic intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma. *J. Urol* 2003; 170: 998–1002.
14. Serth J. Increased levels of human papillomavirus type 16 DNA in a subset of prostate cancers. *Cancer Res* 1999; 59: 823–825.
15. Sinclair AL. Bladder and prostate cancer screening for human papillomavirus by polymerase chain reaction: conflicting results using different annealing temperatures. *Br J Biomed Sci* 1993; 50(4): 350–354.
16. Sitas F. The relationship between anti-HPV-16 IgG seropositivity and cancer of the cervix, anogenital organs, oral cavity and pharynx, oesophagus and prostate in a black South African population. *Infect Agent Cancer* 2007; 2(2): 6.
17. Strickler HD. A multifaceted study of human papillomavirus and prostate carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1118–1125.
18. Sutcliffe S, et al. Plasma antibodies against Chlamydia trachomatis, human papillomavirus, and human herpesvirus type 8 in relation to prostate cancer: a prospective study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16(8): 1573–1580.
19. Suzuki H. Detection of human papillomavirus DNA and p53 gene mutations in human prostate cancer. *Prostate* 1996; 28: 318–324.
20. Terris MK. Human papillomavirus detection by polymerase chain reaction in benign and malignant tissue is dependent on the primer set utilized. *Urology* 1997; 50(1): 150–156.
21. Wideroff L. Human papillomavirus DNA in malignant and hyperplastic prostate tissue of black and white males. *Prostate* 1996; 28(2): 117–123.
22. Zambrano A. Detection of human polyomaviruses and papillomaviruses in prostatic tissue reveals the prostate as a habitat for multiple viral infections. *Prostate* 2002; 53: 263–276.