

ЗНАЧЕНИЕ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА В ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Е.В. Фросина, С.В. Петров, Н.А. Габитов

*Кафедра патологической анатомии (зав. — проф. Н.Ш. Шамсутдинов),
кафедра акушерства и гинекологии № 1 (зав. — доц. Ю.И. Бородин)
Казанского государственного медицинского университета,
НПО "Онкология" (главврач — Ф.М. Хайруллин), г. Казань*

В 1917 г. научному миру была представлена женщина-доброволец, у которой на предплечье в месте введения взвеси клеток из остроконечной кондиломы развилась пигментированная плоская бородавка. Причиной, вызвавшей бородавку, как было установлено впоследствии, стал вирус папилломы человека, или HPV (human papillomavirus). В конце 70-х годов при тщательном изучении биоптатов шейки матки, пораженных инвазивным раком, во всех случаях был обнаружен тот же HPV. Необходимо было выяснить, не является ли вирус папилломы человека причиной возникновения рака шейки матки. В последующие годы многочисленными исследованиями *in vivo* и *in vitro* была доказана причинная связь между HPV и озлокачествлением эпителиальных клеток [5].

Цель наших исследований — выявление типичных последовательностей онкогенных штаммов HPV 16 и 18-го типов у женщин Татарстана, леченных по поводу рака шейки матки в НПО "Онкология" г. Казани [3, 4]. Оказалось, что во всех изученных 22 раковых опухолях содержится главным образом HPV 16-го типа, в одном случае — только 18-го типа и в 2 — сочетание 16 и 18-го типов.

Какова молекулярная структура HPV? Геном HPV представлен циркулярной ДНК размером 8 т.п.н. [1, 48, 51]. Геном HPV функционально разделяется на 2 основных фрагмента: поздний (L) и ранний (E). Ранний участок составляет около 70% генома и контролирует реализацию двух его основных функций: репродукцию вируса и трансформацию пораженных клеток.

В зараженных клетках вирусный геном может существовать в двух формах: в эпизомальной (вне хромосом) и интегрированной в клеточный геном. Для доброкачественных опухолей и для некоторых злокачественных новообразований характерна эпизомальная форма, а для карцином — интеграция в геном раковой клетки [1, 51].

В настоящее время присутствие HPV в биоптатах шейки матки можно определить по наличию ДНК HPV. Для этой цели применяются следующие методы [36, 37]: Sout-

hern blot, PCR (цепная полимеразная реакция), Dot-blot, Hybrid Capture.

Сейчас известно около 70 типов HPV. Для проведения скрининговых исследований применяются более дешевые, но менее чувствительные тесты. Забор материала с шейки матки производится путем мазков, соскобов, цервико-вагинального лаважа [17]. Серологические же методы определения антител (АТ) к HPV в крови женщин-носителей HPV не являются достаточно чувствительными [16]. Наличие HPV в эпителиальных клетках может быть установлено путем цитологического исследования. Изменения, вызываемые HPV в клетках несороговевшего плоского эпителия шейки матки, были названы койлоцитарной атипией, или дисплазией легкой степени (cervical intraepithelial neoplasia 1 или CIN 1), которая, по мнению многих исследователей, является предшественником рака [38, 51]. При анализе эпителия шейки матки женщин с инвазивным раком на предмет нахождения ДНК HPV особенно часто встречались HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 58, 68-го типов. Эти серотипы HPV получили название типов, ассоциированных с раком [11].

Установлено, что HPV передается половым путем [15, 20, 25], однако обнаружение HPV в смывах с гинекологических кресел и белья дало основание предположить контактно-бытовой путь передачи. Это подтверждается выявлением HPV у девочек и девственниц [14, 16]. Путь передачи двусторонний, что было предположено при обнаружении у мужчин на половом члене повреждений, имеющих HPV-гenez, которые являлись партнерами женщин с CIN [6].

При исследовании эпителия шейки матки женщин с дисплазией (или CIN) любой степени наличие ДНК HPV зафиксировано в 100% случаях. Исходя из этого был сделан вывод, что универсальным фактором, вызывающим дисплазию шейки матки, является HPV [51]. В наших исследованиях, выполненных методом цепной полимеразной реакции (PCR), HPV обнаружен лишь у 50% больных с диспластическим поражением эпителия шейки матки [3, 4].

При цитологическом обследовании здоровых женщин в шейке матки выявлен HPV неизвестного типа, не ведущий к раку шейки матки, а также HPV 6 и 11-го типов, неассоциированных с раком [24, 39]. Правомочен вывод, что возможно латентное носительство HPV, не ведущее к образованию дисплазии эпителия. Факторы, провоцирующие активацию вируса, до конца не выявлены. Между тем найдена корреляция между частотой обнаружения CIN различных степеней и беременностью [41], сменой половых партнеров за короткий промежуток времени, низким социально-экономическим статусом [7, 20], применением оральных контрацептивов [20, 27]. Динамическое наблюдение за носительством HPV в течение 1-2 лет показало, что женщины, у которых обнаружен HPV, позже избавлялись от него, а бывшие HPV-негативными приобретали вирус. Также отмечено существование группы HPV-позитивных женщин [39, 41, 42], которые сохраняли носительство, но лишь меняли тип HPV. Поэтому можно предположить, что при HPV-инфекции возможна реконвалесценция, вероятнее всего, из-за активации иммунных сил организма.

Частое приобретение и потеря HPV без клинических проявлений являются чертой, присущей молодым женщинам. При попадании нового вируса HPV в организм молодой женщины существует вероятность того, что он будет персистировать более долгое время, чем в случае попадания в молодой организм [37]. Исходя из этого было установлено транзитное и постоянное носительство HPV инфекции [41, 42]. Последнее впоследствии ведет к дисплазии сначала легкой степени, затем средней и тяжелой, которая заканчивается развитием инвазивного рака шейки матки [24, 26, 27]. На трансформацию латентного носительства HPV в дисплазию эпителия шейки матки влияют следующие факторы: 1) вирусный фактор — тип вируса, или состояние транскрипции (установлено, например, что 16, 18, 35-й и другие типы HPV, ассоциированные с раком, персистируют в организме дольше, чем неассоциированные с раком 6 и 8-й типы [39]; 2) иммунологическая реакция организма женщины на внедрение вируса, которая может быть генетически детерминирована или приобретена под влиянием факторов окружающей среды [39]; 3) кофакторы окружающей среды — гормональный фон и курение [19, 30]. Что касается возрастных тенденций в распространенности HPV, то пик заболеваемости приходится на 15-25-летних сексуально активных женщин, причем передача HPV на эпителий шейки матки случается сразу после начала половой жизни [25, 37].

Интересно, что выраженное распространение HPV на шейке матки у женщин, имеющих очень большое количество сексуальных партнеров, графически представляет, скорее всего, плато, а не поднимающуюся вверх прямую линию, что, возможно объясняется развитием иммунитета к инфекции [20].

Согласно результатам проведенных исследований, женщины с CIN низкой степени подвержены риску заболеть CIN высокой степени и раком шейки матки [24]. Однако CIN 1 не всегда прогрессирует в CIN 2-3. Была предложена на рассмотрение теория, что CIN высокой степени развивается из заново появляющегося эпителия на внутреннем крае пораженного участка при CIN 1 [21]. То, что возраст женщин с CIN высокой степени на 5-10 лет старше, чем с CIN низкой степени предполагает, скорее, постепенную прогрессию в CIN высокой степени и противоречит предыдущему предположению [37]. В пользу непосредственного развития CIN высокой степени, сразу возникшей после инфицирования HPV, свидетельствуют результаты цитологического обследования нормальных женщин с HPV 16 и 18-го типов, у которых чрезвычайно быстро развилась CIN 2-3 степени. Но независимо от того, возникает ли CIN высокой степени из CIN низкой степени, вероятно, именно тип HPV, поражающий шейку матки, определяет риск развития у женщин цервикальной неоплазии высокой степени [26, 27].

Что же еще оказывает влияние на повышение риска развития CIN высокой степени? В качестве возможных кофакторов, вызывающих прогрессию CIN у HPV-позитивных женщин, выделяют применение оральных контрацептивов [8], раннюю первую беременность [24], недостаток витаминов С в продуктах питания, каротиноидов, фолиатов [30] и иммунологический фактор, очень плохо изученный в настоящее время [37, 38, 39]. Данные о курении как о кофакторе противоречивы. В дальнейшем изучении нуждается и роль сопутствующих конурентных заболеваний, передающихся половым путем [40].

В настоящее время молекулярные механизмы, ведущие к усиленной транскрипции ДНК HPV и как результат к дисплазии шейки матки, являются хорошо исследованными на культуре клеток, зараженных HPV. Было установлено существование определенных генов в геноме HPV, которые вызывали пролиферацию клеток культуры ткани и их озлокачествление. Эти два гена ДНК вируса папилломы человека были названы E6- и E7-генами [47]. Но несмотря на то что E6- и E7-гены присутствуют в геноме HPV всех

типов, в том числе и HPV 6, 11-го типов, ведущих к развитию генитальных бородавок, провоцировать раковую трансформацию клетки способны лишь Е6- и Е7-гены HPV 16, 18-го типов, то есть типов высокого риска [18, 29].

Не так давно в геноме человека был выявлен класс генов, в норме ответственных за дифференцировку и рост клеток определенной ткани, которые, будучи мутированными или поврежденными, превращаются в онкогены, вызывающие бесконтрольную пролиферацию клеток. Представителем этого класса генов является р53-ген. Другой класс генов нормального генома человека — гены, подавляющие онкогенез. Их функция заключается в предотвращении развития неоплазии. Этот класс генов представляют Rb-ген [12, 50, 51] и ген р53 (его “дикий”, *wilde*, тип). Механизм действия вирусных генов Е6 и Е7 стал понятен после того, как была открыта их связывающая способность по отношению к р53 и Rb-гену [13]. Когда происходит блокирование Rb-гена вирусным геном Е7, образуется комплекс, состоящий из белка Е7 и Rb-протеина. При связывании Rb-протеина комплекс рRb/Е2F диссоциирует, освобождается активный фактор транскрипции Е2F, который активизирует гены, действующие в фазе перехода G1 в S-фазу клеточного цикла и впоследствии вызывающие бурную пролиферацию клеток.

Аналогичное связывание Е6-протеином точного протеина р53 стимулирует деградацию р53, что вызывает уничтожение контролирующего действия р53 на соответствующие механизмы во время процессов транскрипции ДНК. Однако, чтобы вызвать не только пролиферацию клеток, но и их озлокачествление, одной лишь экспрессии Е6/Е7-генов недостаточно. Ведь пролиферация клеток наблюдается как при развитии генитальных бородавок, вызываемых HPV низкого риска, так и при раке шейки матки, провоцируемом HPV высокого риска, в то время как злокачественные клетки присутствуют лишь во втором случае [49].

HPV типы высокого риска, внедряясь в клетку хозяина, индуцируют хромосомные aberrации и мутации генов хозяина. Мутационные изменения накапливаются в клетках латентно персистирующим вирусом и впоследствии будут служить эндогенным фактором прогрессии опухолевых клеток. Вирусы HPV низкого риска, несмотря на их высокую активность в стимуляции клеточной пролиферации, не могут вызывать хромосомных изменений в остроконечных кондиломах, где инфицированные клетки остаются диплоидными и тетраплоидными.

В здоровой клетке, которая содержит HPV, существуют клеточные факторы, контролирующие экспрессию Е6- и Е7-генов,

не позволяя им проявлять своих патогенных свойств и тормозя их транскрипцию [50]. Эти факторы защиты делятся на следующие три группы.

1. Цитокины — вещества, секретируемые здоровыми клетками цервикального эпителия, вызывающие лизис поврежденных клеток и участвующие в непосредственном подавлении транскрипции Е6/Е7-генов [9, 31, 32, 44, 45, 46].

2. Внутриклеточные сигнальные медиаторы — фактор защиты, действующий (в отличие от цитокинов) внутри клетки. Эксперименты [23, 33] с культурой раковых клеток Hela по переносу в нее индвидуальной человеческой 11 хромосомы выявили подавление злокачественного фенотипа. Это навело на мысль о том, что существует некий ген, находящийся в 11 хромосоме, способный подавлять развитие опухоли по крайней мере в данной культуре тканей, названный C1F (клеточным фактором внедрения). В ходе опытов была установлена зависимость между экспрессией гена C1F и фосфатазной активностью протеин-фосфатазы PP2A. Протеин-фосфатаза PP2A состоит из нескольких субъединиц, одна из которых — субъединица В — трансактивирует стимулятор HPV 16-го типа. Иными словами, когда гипотетический C1F-ген активируется в организме, он вызывает увеличение фосфатазной активности протеин-фосфатазы PP2A, которая коррелирует с ингибированием транскрипции HPV [31, 48, 50].

3. Третьим фактором, участвующим в контроле за экспрессией Е6/Е7-генов, является фактор транскрипции YY1 [28].

Врожденный дефект или приобретенные нарушения в одном из этих трех факторов защиты являются основополагающим моментом в инициации бурной транскрипции ДНК HPV, что ведет к возникновению дисплазии шейки матки. Вероятнее всего, мутация или наследственный дефект гена C1F 11 хромосомы и служит местом нарушения стройной системы блокирования транскрипции ДНК чужеродного вируса [5].

Важным этапом опухолевой трансформации клеток в культуре ткани является кооперированное действие Е6- и Е7-генов HPV и активированных онкогенов, например RAS, MYC и др. [2]. В настоящее время активно изучается роль кооперации генов HPV и ряда клеточных онкогенов в механизме трансформации клеток эпителия шейки матки человека [3, 51].

К важнейшим направлениям, которые предстоит изучить в ближайшем будущем, относятся определение иммунного ответа на HPV инфекцию и возможность его стимуляции введением вакцины [39].

Выражаем благодарность ведущему научному сотруднику лаборатории молекулярной биологии вирусов (зав. — проф. Ф.Л. Киселев) Института экспериментального канцерогенеза Онкологического научного центра РАМН (Москва) доктору биологических наук Н.Н. Мазуренко, сотруднику этой же лаборатории Э.А. Самойловой за полезное обсуждение рукописи данной работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Габитов Н.А., Самойлова Э.А., Фросина Е.В., Петров С.В. Тезисы республиканской конференции — Казань, 1995. — С. 79—81.
2. Киселев Ф.Л., Павлиш О.А., Татосян А.Г. Молекулярные основы канцерогенеза у человека. — М., 1990.
3. (Мазуренко Н.Н.) Mazurenko N.N., Nesterova I.V., Petrov S.V. In: 2-nd International Congress of HPV in human pathology. — 1994, Paris, Abstr. book.
4. (Самойлова Э.А.) Samoylova E.A., Shaikhayev G.O., Petrov S.V., Kisselyov F.L.// HPV infection in cervical cancer in Russia. Intern J. of Cancer. — 1995. — Vol. 61. — P. 337—341.
5. Aktin N.B., Baker M.C.// Cancer Gen. Cytogen. — 1984. — Vol. 7. — P. 2209—2221.
6. Barrasso R. The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. — 1992. — Lyon, France.
7. Bauer H.M., Hildesheim A. et al.// Sex Transm. Dis. — 1993. — Vol. 20. — P. 274—278.
8. Bosch F.X., Munos N. et al.// Int J. Cancer. — 1992. — Vol. 52. — P. 750—758.
9. Braun L., Durst M. et al.// Cancer Res. — 1990. — Vol. 50. — P. 7324—7322.
10. Campion M.J., McCance D.J. et al.// Lancet. — 1986. — Vol. 2. — P. 273—240.
11. Chan S.-Y., Ho L. et al.// J. Virol. — 1992. — Vol. 66. — P. 2057—2066.
12. Crook T., Vousden K.H.// EMBO J. — 1992. — Vol. 11. — P. 3935—3940.
13. Drews R.E., Chan VT-W., Schnipper L.E.// Mol Cell Biol. — 1992. — Vol. 12. — P. 198—206.
14. Ferenczy A., Bergeron C., Richart R.M.// Obstet Gynecol. — 1989. — Vol. 74. — P. 950—954.
15. Franco E.L.// Epidemiology. — 1991. — Vol. 2. — P. 98—106.
16. Galloway D.A. The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. — Lyon, France, 1992.
17. Goldberg G.L., Vermund S.H. et al.// Am J. Obstet Gynecol. — 1989. — Vol. 161. — P. 1669—1672.
18. Hawley-Nelson P., Vousden K.H. et al.// EMBO J. — 1989. — Vol. 8. — P. 3905—3910.
19. Herrero R., Brinton L.A. et al.// J. Natl. Cancer. Invest. — 1989. — Vol. 81. — P. 205—211.
20. Hildesheim A., Gravitt P. et al.// Sex Transm. Dis. — 1993. — Vol. 20. — P. 279—285.
21. Kiviat N.B., Citichlow C.W. et al.// The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. — Lyon, France, 1992.
22. Kaelin W.G., Pallas D.C. et al.// Cell. — 1992. — Vol. 64. — P. 521—532.
23. Koi M., Morita H. et al.// Mol. Carcinog. — 1989. — Vol. 2. — P. 12—21.
24. Koutsky L.A., Holmes K.K. et al.// N. Engl. J. Med. — 1992. — Vol. 327. — P. 1272—1278.
25. Ley C., Bauer H.M. et al.// J. Natl. Cancer. — 1991. — Vol. 83. — P. 997—1003.
26. Lorinez A.T., Reid R. et al.// Obstet. Gynecol. — 1992. — Vol. 79. — P. 328.
27. Lorinez A.T. The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. — Lyon, France, 1992.
28. Leid M., Kastner P., Chambon P.// TIBS. — 1992. — Vol. 17. — P. 427—433.
29. Munger K., Phelps W.C. et al.// J. Virol. — 1989. — Vol. 63. — P. 4417—4421.
30. Potischman N., Herrero R. et al.// Am. J. Epidemiol. — 1991. — Vol. 134. — P. 1347—1355.
31. Rost F., Durst M., zur Hausen H.// EMBO J. — 1988. — Vol. 7. — P. 1321—1328.
32. Rost F., Arab A. et al.// J. Gen. Virol. — 1993. — Vol. 74. — P. 791—801.
33. Saxon P.J., Srivatsan E.S., Stanbridge J.// EMBO J. — 1986. — Vol. 5. — P. 3461—3466.
34. Schwars E. In: Syrjanen K., Gissmann L., Koss L.G. (eds). Papillomaviruses and human disease. Springer, Berlin Heidelberg, N.-Y., 1987.
35. Schwars E., Freese U.K. et al.// Nature. — 1985. — Vol. 314. — P. 111—114.
36. Schiffman M.N. The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. — Lyon, France, 1992.
37. Schiffman M.H.// J. Natl. cancer Inst. — 1992. — Vol. 84. — P. 394—398.
38. Schiffman M.H., Kurman R.J. et al. Papillomaviruses. — Wiley-Liss, N.-Y., 1990.
39. Schiffman M.H., Bauer H.M. et al.// J. Natl. Cancer Inst. — 1993. — Vol. 85. — P. 958—964.
40. Schmauz R., Okong P. et al.// Int. J. Cancer. — 1989. — Vol. 43. — P. 805—809.
41. Schneider A., Koutsky L.A. The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. — Lyon, France, 1992.
42. Schneider A., Kirchhoff T. et al.// Obstet Gynecol. — 1992. — Vol. 79. — P. 683—688.
43. Strekantaiah C., de Braekeleer M., Haas O.// Cancer Genet. Cytogenet. — 1981. — Vol. 51. — P. 75—81.
44. Woodworth C.D., Simpson S.// Am. J. Pathol. — 1993. — Vol. 142. — P. 1544—1555.
45. Woodworth C.D., Waggoner S. et al.// Cancer Res. — 1990. — Vol. 50. — P. 3709—3715.
46. Yasumoto S., Taniguchi A., Sohma K.// J. Virol. — 1991. — Vol. 65. — P. 2000—2009.
47. Yee C., Krishnan-Newlatt I. et al.// Am. J. Pathol. — 1985. — Vol. 119. — P. 361—366.
48. zur Hausen H. Current topics in microbiology and immunology. — 1977. — Vol. 78. — P. 1—30.
49. zur Hausen H. Viruses and Cancer. — Cambridge University Press, Cambridge, 1986.
50. zur Hausen H.// Cancer Res. — 1989. — Vol. 49. — P. 4677—4681.
51. zur Hausen H. Origins of human cancer. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1991.

Поступила 12.03.96.