

ОГЛАВЛЕНИЕ

Участники издания	6
Предисловие	7
Список сокращений и условных обозначений	9
Глава 1. Биология вирусов папилломы человека	12
Структура вириона вируса папилломы человека	12
Транскрипция вирусного генома вируса папилломы человека	16
Структура многослойного эпителия	17
Жизненный цикл вируса папилломы человека	20
Злокачественная трансформация вируса папилломы человека	24
Глава 2. Классификация вирусов папилломы человека	25
Глава 3. Иммунология вируса папилломы человека	31
Физические барьеры	31
Распознавание вируса папилломы человека и индукция врожденного иммунного ответа	32
Врожденный иммунный ответ	35
Адаптивный иммунный ответ	40
Гуморальный иммунный ответ	45
Глава 4. Механизмы уклонения от иммунного надзора	47
Изменение экспрессии генов	48
Формирование иммуносупрессивной среды в очаге инфицирования	50
Влияние на киллерные клетки	53
Влияние на презентацию антигена антигенпрезентирующими клетками	53
Влияние на Т-клеточный иммунный ответ	54
Глава 5. Папилломавирусная инфекция кожи	56
Вульгарные (обыкновенные) бородавки (<i>verrucae vulgaris</i>)	58
Плоские бородавки (<i>verrucae planae</i>)	63
Ладонно-подошвенные бородавки (<i>verrucae plantaris/palmaris</i>)	66

ВERRUЦИФОРМНАЯ ЭПИДЕРМОДИСПЛАЗИЯ (<i>epidermodysplasia verruciformis</i>)	70
ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫЙ ВЕРРУКОЗ (<i>generalized verrucosis</i>)	84
Глава 6. Папилломавирусная инфекция аногенитальной области	92
Классификация интраэпителиальных поражений	93
Остроконечные кондиломы (<i>condyloma acuminatum</i>)	98
Обыкновенные (вульгарные) бородавки (<i>verrucae vulgaris</i>)	102
Бовеноидный папулез	103
Гигантская остроконечная кондилома (Бушке–Левенштейна)	107
Глава 7. Рецидивирующий респираторный папилломатоз	113
Эпидемиология	114
Классификация	116
Клиническая картина	117
Диагностика	118
Дифференциальный диагноз	123
Приложение 7.1. Индекс нарушения голоса (Voice Handicap Index)	124
Приложение 7.2. Определение стадии рецидива папилломатоза гортани (Derkey C.S. et al., 1998)	125
Глава 8. Папилломавирусная инфекция слизистой полости рта	127
Вульгарная (обыкновенная) бородавка (<i>verruca vulgaris</i>)	128
Плоскоклеточная папиллома (<i>squamous papilloma</i>)	131
Остроконечные кондиломы (<i>condyloma acuminatum</i>)	134
Мультифокальная гиперплазия эпителия (болезнь Хека)	136
Глава 9. Диагностика папилломавирусной инфекции	142
Сигнальные амплификационные методы	143
Качественные методы ПЦР-диагностики	145
Количественные методы ПЦР-диагностики (генотипирование ВПЧ)	147
Определение экспрессии онкогенов E6/E7	149
Гибридизация <i>in situ</i>	151
Иммуногистохимия	152
Серологические исследования	153

Глава 10. Лечение папилломавирусной инфекции	157
Лечение папилломавирусной инфекции кожи	157
Лечение веррукозной эпидермодисплазии.	162
Лечение папилломавирусной инфекции аногенитальной области.	163
Лечение рецидивирующего респираторного папилломатоза	166
Лечение папилломавирусной инфекции ротоглотки	171
Глава 11. Иммунотерапия папилломавирусной инфекции	173
Инозин пранобекс.	179
Галавит [▲]	182
Картофеля побегов сумма полисахаридов.	185
Суперлимф [▲]	189
Ликопид [▲]	193
Аллокин-альфа [▲]	195
Препараты интерферонов.	199
Неовир [▲]	204
Иммуномакс [▲]	207
Имиквимод [▲]	209
Заключение.	211

Глава 1

Биология вирусов папилломы человека

Вирусы папилломы человека (ВПЧ) представляют собой небольшие ДНК-вирусы с преимущественным тропизмом к плоскому эпителию. Характерной особенностью ВПЧ является зависимость жизненного цикла вируса от статуса дифференцировки эпителиальной клетки.

СТРУКТУРА ВИРИОНА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Вирион ВПЧ, размером 50–60 нм, состоит из вирусного генома и капсида, икосаэдральной формы, без оболочки. Икосаэдрический капсид содержит 360 копий позднего белка L1, сгруппированных в 72 пентамера с одним минорным белком L2 в центре (~12 молекул) (**рис. 1.1**). Каждый капсид содержит одну кольцевую двухцепочечную дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК), состоящую из 5000–8000 пар оснований.

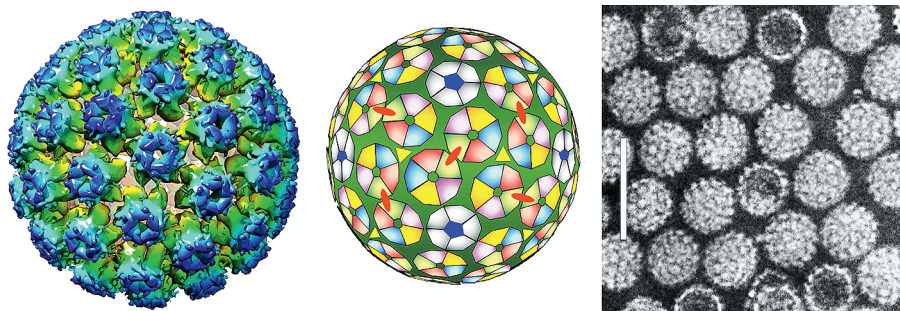


Рис. 1.1. *Papillomaviridae*. Слева — атомарный рендеринг капсида вируса папилломы; в центре — схематическое изображение вирусного капсида; справа — электронная микрофотография с отрицательным контрастированием вирионов вируса папилломы человека 1-го типа. Полоса равна 100 нм [10]

Основные структурные и организационные особенности генома являются общими, с некоторыми вариациями для различных типов ВПЧ.

В качестве матрицы для транскрипции используется только одна цепь двухцепочечной ДНК, которая содержит четыре области генома: две кодирующие и две некодирующие. Области генома разделены двумя сайтами полиаденилирования (рА): раннего (рА_Е) и позднего (рА_Л), где обрываются вирусные транскрипты. Основными вирусными промоторами являются ранний (Р_Е), поздний (Р_Л) и промотор Е8 (Р_{Е8}). Ранний вирусный промотор (Р_Е) расположен выше открытых рамок считывания (ORF; англ. open read frames) Е6, активен в недифференцированных базальных кератиноцитах, отвечает почти за всю раннюю экспрессию генов. Р_Л находится в области ORF Е7, становится активным в дифференцированных кератиноцитах, отвечает за позднюю экспрессию генов. Промотор Р_{Е8} присутствует в ORF Е1, контролирует экспрессию белка Е8^Е2, который регулирует вирусную транскрипцию и репликацию вирусной ДНК.

Кодирующие области вирусного генома организованы в раннюю (early, Е) и позднюю (late, L).

Ранняя область (Е) занимает более 50% вирусного генома и содержит 6–8 ORF. ORF — это последовательность нуклеотидов, потенциально способная кодировать белок. ORF ранней области кодируют *регуляторные* белки Е1, Е2, Е6, Е7, Е4 и Е5. Некоторые типы ВПЧ могут также экспрессировать Е3 и Е8.

Поздняя область (L) составляет почти 40% всего генома, кодирует основные и минорные капсидные (структурные) белки L1 и L2. ORF L2 содержит группоспецифичные эпитопы, ORF L1 — типоспецифичные белковые домены.

Некодирующая область — вышестоящая регуляторная область (URR; англ. upstream regulatory region), ранее известная как длинная контрольная область (LCR; long control region), составляет около 10% генома. Расположена между концом ORF L1 и стартовым кодоном Е6. URR содержит Р_Е, точку начала репликации ДНК (ori), сайт рА_Л и множество цис-регуляторных элементов, необходимых для транскрипции. Регулирует раннюю транскрипцию генов, вирусную амплификацию и клеточный тропизм.

Меньшая некодирующая область (NCR; англ. noncoding region) расположена между стоп-кодонами Е5 и L2, содержит сайт рА_Е (**рис. 1.2**).

Альтернативный сплайсинг рибонуклеиновой кислоты (РНК) [процесс, позволяющий одному гену производить несколько матричных рибонуклеиновых кислот (мРНК) и, соответственно, белков] приводит к образованию мультицистронных вирусных РНК-мессенджеров,

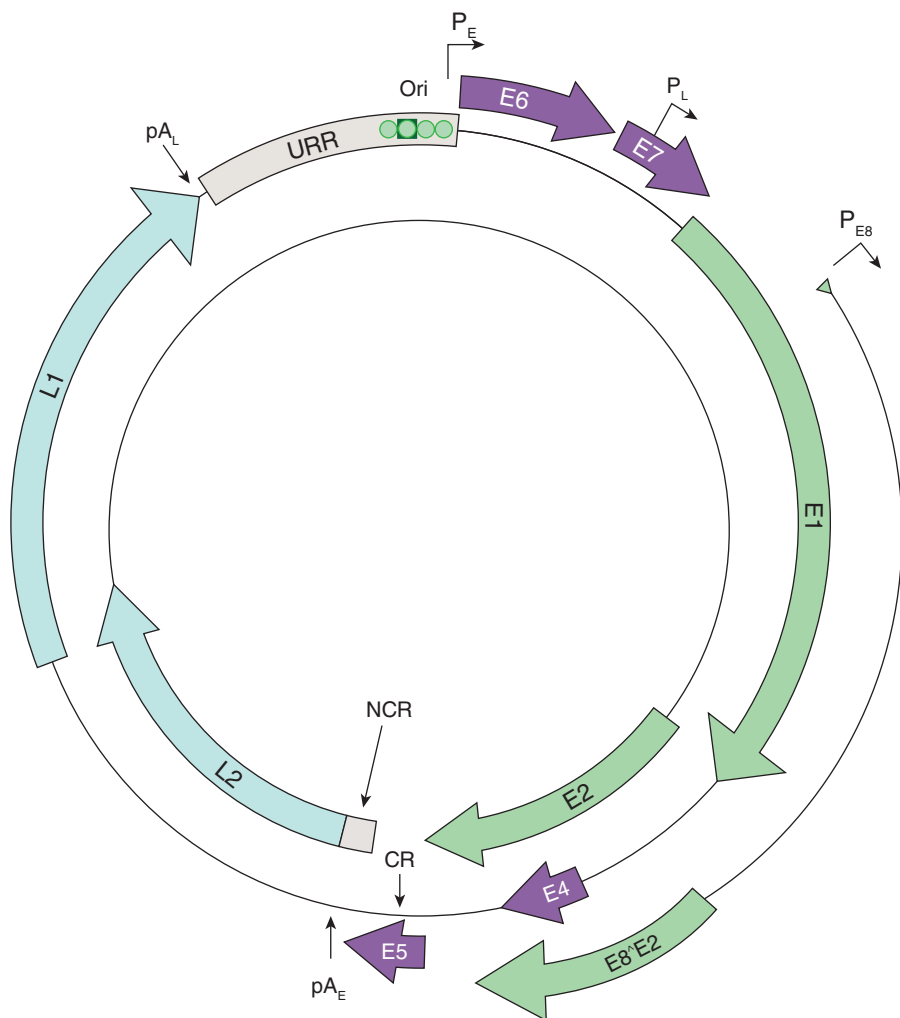


Рис. 1.2. Структура генома вируса папилломы человека (на примере α -вируса папилломы человека). Зеленая, фиолетовая и синяя стрелки представляют ранние, вспомогательные и поздние открытые рамки считывания соответственно. Вышестоящая регуляторная область, показанная серым цветом, содержит регуляторные элементы, включая источник репликации (Ori), который содержит сайты связывания для белков репликации E1 и E2 (обозначены зеленым квадратом и кружками соответственно). Указаны вирусные промоторы ранние (P_E), поздние (P_L) и E8 (P_{E8}), а также сайты раннего (pA_E) и позднего (pA_L) полиаденилирования [3]

транскрибируемых из одной цепи генома. Ранние транскрипты иницируются из P_E и заканчиваются в сайте ra_E , расположенном в конце ORF E5. Транскрипты из регулируемого дифференцировки P_L также используют ra_E , но те, которые кодируют структурные белки, заканчиваются на позднем мотиве ra_L , присутствующем в URR. Промотор P_{E8} активен на протяжении всего инфекционного цикла и, в отличие от P_E и P_L , его конститутивная активация не контролируется вирусными энхансерными элементами, расположенными в URR.

ВПЧ генетически стабильны. E1, E2, L1 и L2 несут консервативные последовательности, играют ключевую роль в течение всего жизненного цикла вируса. Остальные гены демонстрируют большую вариабельность, что приводит к клиническим различиям, наблюдаемым при инфицировании разными типами ВПЧ.

Белок E1 функционирует как геликаза, способен разделять нити двухцепочечной ДНК перед полимеризацией и обладает активностью аденозинтрифосфатазы. Играет ключевую роль в репликации и амплификации (процесс образования дополнительных копий участков ДНК) вирусного генома в ядре инфицированных клеток.

Белок E2 регулирует жизненный цикл вируса, является коактиватором репликации вирусного генома, рекрутируя белок E1. E2 способен активировать или подавлять транскрипцию вирусных генов: обладает регулирующей сплайсинг-активностью, которая контролирует процессинг вирусной пре-мРНК. Также E2 способен интегрироваться в геном хозяина, что приводит к потере E2-зависимой регуляции раннего промотора, следствием чего может быть сверхэкспрессия E6 и E7.

Белок E4 экспрессируется на поздних стадиях вирусного цикла; он связывается с цитокератиновыми филаментами, нарушая их структуру и способствуя высвобождению вирионов из верхних слоев эпителия.

Белок E5 представляет собой гидрофобный трансмембранный белок, обеспечивает уклонение от иммунного ответа [активирует митогенные сигнальные пути, ингибирует экспрессию МНС-I, подавляет интерферон- κ (ИФН- κ)] и апоптоз, усиливает трансформирующие способности E6 и E7, предотвращает дифференцировку кератиноцитов.

Белки E6 и E7 нарушают регуляцию клеточного цикла, обеспечивают амплификацию генома в верхних слоях эпителия, играют роль в инактивации опухолевых генов-супрессоров и онкогенной прогрессии.

Белок L1 — основной структурный капсидный белок, обладающий высокой иммуногенностью, является основой для вакцин.

Белок L2 — минорный капсидный белок, помимо образования капсида, участвует в инкапсидации вирусной ДНК, а также во внедрении и перемещении вируса в ядре клетки.

E1, E2, E6 и E7 являются наиболее ранними белками и обнаруживаются в базальном слое эпителия, в то время как E5 и E4 впервые экспрессируются только в супрабазальных слоях.

ТРАНСКРИПЦИЯ ВИРУСНОГО ГЕНОМА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Транскрипция вирусного генома происходит в три фазы (ранняя, промежуточная и поздняя) и неразрывно связана с программой дифференцировки эпителия.

Ранняя транскрипция вирусного гена инициируется из раннего вирусного промотора P_E в недифференцированных базальных кератиноцитах и прекращается в зоне rA_E . Ранний промотор отвечает за экспрессию ранних генов E1 и E2. Вирусные онкопротеины E6 и E7 также экспрессируются на ранних стадиях инфекции, но на очень низких уровнях, что ограничивает их онкогенную активность. В дифференцирующихся эпителиальных клетках, где деление обычно подавляется, они стимулируют прогрессирование клеточного цикла. E6 и E7 ингибируют опухолевые супрессоры p53 и pRb путем деградации, опосредованной протеасомами, что позволяет инфицированным клеткам выживать и поддерживать репликацию вируса.

В супрабазальных клетках *промежуточная транскрипция* инициируется из P_L и также терминируется в зоне rA_E . Это приводит к усиленной репликации белков E1 и E2, необходимых для вегетативной амплификации вирусного генома, при которой ~100 первоначально реплицированных копий вирусного генома амплифицируются до сотен или тысяч. В этом процессе также участвуют $E8^{\wedge}E2$ (антагонист вирусного фактора репликации и транскрипции E2), E4 (реконструирует дифференцированные кератиноциты, высвобождая вирионы, регулирует клеточный цикл) и E5 (участвует в передаче сигналов кератиноцитам и уклонении от иммунного ответа). мРНК, кодирующие эти белки, экспрессируются как ранними, так и поздними вирусными промоторами, таким образом, они могут играть роль как на ранних, так и на поздних стадиях жизненного цикла вируса.

Наконец, *поздняя вирусная транскрипция* инициируется из позднего промотора P_L и прекращается в зоне rA_L , что приводит к экспрессии структурных белков вирусного капсида L1 и L2. Экспрессия основных и минорных капсидных белков L1 и L2 всегда следует за экспрессией E4. Однако каждый генотип ВПЧ может демонстрировать отдельную программу поздней экспрессии генов.

СТРУКТУРА МНОГОСЛОЙНОГО ЭПИТЕЛИЯ

ВПЧ инфицирует многослойный плоский ороговевающий (кожа) и неороговевающий (слизистая оболочка полости ротоглотки, аногенитального тракта) эпителий. Как уже упоминалось, отличительной чертой жизненного цикла ВПЧ является его тесная связь с программой дифференцировки кератиноцитов.

Многослойный эпителий характеризуется дифференционной организацией. Дифферон — это гистогенетический ряд родственных клеток, составляющих преемственную линию дифференцировки от наименее зрелых (стволовых) до высокоспециализированных (функционирующих) клеток.

Многослойный плоский неороговевающий эпителий покрывает роговицу глаза, выстилает полость ротоглотки, пищевода, влагалища. Состоит из трех слоев: базального, промежуточного, поверхностного (**рис. 1.3**).

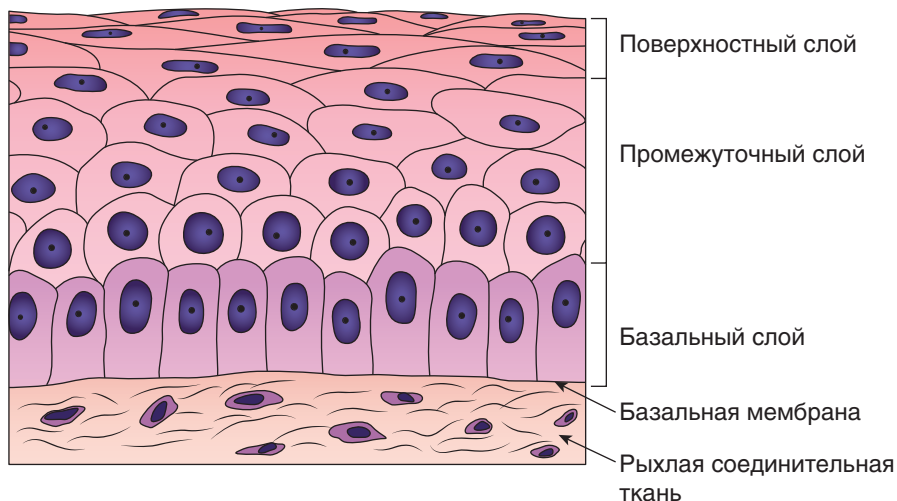


Рис. 1.3. Многослойный плоский неороговевающий эпителий [2]

Нижний (базальный) слой. Основными клетками базального слоя являются базальные кератиноциты — клетки кубической и/или призматической формы, расположенные на базальной мембране (белково-полисахаридный слой), под которой находится рыхлая соединительная ткань. Среди клеток базального слоя расположены наименее дифференцированные *стволовые клетки* с низкой митотической активностью, являющиеся источником развития всех клеток данного дифферона. Здесь также находятся митотически более активные *камбиальные клетки* (потомки стволовых), способные к пролиферации и дифференцировке, осу-