REVIEW ARTICLE

Human Papillomaviruses and Cancer

Farzaneh Fakhraei[1],
Mohammad Reza Haghshenas[2]

[1] Student in Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Department of Microbiology, Molecular and Cell-Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 14, 2012 ; Accepted March 9, 2012)

Abstract

Papillomaviruses are small tumor viruses with a genome of approximately 8000 base pairs. They are found in many different types and infect a wide range of animals (from birds to rabbits, dogs, sheep and cattle) and several primates including humans. So far, over 100 different types of human papillomavirus (HPV) have been identified, among which one-third infect epithelial cells in the genital tract. Certain strains of HPV are associated with different risk levels of the transformation into cervical tumors. The HPV types that infect the genital tract are divided into two categories: high risk and low risk. The low-risk HPVs types such as HPV-6 and HPV-11, commonly cause benign warts and low-grade premalignant lesion that regress and do not progress to cancer while the high-risk types of HPV including HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33, and HPV-45 are associated with the development of anogenital cancers and are found in more than 99% of all cervical carcinomas, with HPV16 occurring most frequently. Infection by high-risk HPVs is not limited to the genital tract, since approximately 20% of cancers of the oropharynx contain DNA from these HPV types. HPV 16, 18, and 31 are constantly associated with moderate to severe cases of cervical dysplasia and are less associated with invasive cancers of the vulva, penis, and anus. It has been demonstrated that the presence of even minimal amounts of HPV DNA is associated with an increased risk in the development of cervical cancer. HPV DNA is found in up to 100% of cervical tumors, while in cervical tissue of healthy women the figure is typically below 10%. In this study we tried to investigate the role of HPV in human cancer.

Keywords: Human papillomavirus, cancer, malignancy, anogenital intraepithelial neoplasias

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(98): 458-480 (Persian).

مروری

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۸ اسفند سال ۱۳۹۱ (۳۴۰-۳۶۰)

پاپیلوما ویروس و سرطان

فرزانه فخرایی[۱]
محمدرضا حق شناس[۲]

چکیده

پاپیلوما ویروس دارای کوچک‌ترین DNA ویروسی می‌باشد، که می‌تواند ایجاد تومور نماید. این ویروس‌ها دارای انواع مختلفی بوده که محدوده عظیمی از حیوانات و انسان‌ها را آلوده می‌کنند. تاکنون بیش از صد نوع از پاپیلوما ویروس های انسانی شناسایی شده‌اند که حدود ⅓ آن‌ها سلول‌های اپی‌تلیال ناحیه تناسلی را آلوده می‌کنند. پاپیلوما ویروس‌های انسانی که در ناحیه ژنیتال ایجاد عارضه می‌کنند به دو گروه تقسیم می‌شوند. گروه اول پاپیلوما ویروس‌های کم خطر (Low-risk) شامل انواع HPV-11 و HPV-6 که باعث ایجاد زگیل در ناحیه ژنیتال می‌شوند و گروه دوم پاپیلوما ویروس‌های پرخطر (High-risk) مانند انواع HPV-18 و HPV-16 که باعث ایجاد سرطان در ناحیه دهانه رحم می‌شوند. پاپیلوما ویروس‌های انسانی بافت اپی تلیال جلدی و مخاطی ناحیه تناسلی، دست‌ها و یا پاها را آلوده می‌کنند و عامل بیماری‌های گوناگونی از قبیل زگیل‌های پوستی، زگیل‌های ناحیه تناسلی، زگیل‌های حنجره و نئوپلازی‌های درون اپی‌تلیالی ناحیه تناسلی می‌باشند که معمولاً به سمت بدخیم شدن پیشرفت می‌کنند. HPV-18 به میزان زیادی از سرطان‌های دهانه رحم جدا شده است و در اغلب کشورهای جهان حدود ⅔ از سرطان‌های دهانه رحم را به خود اختصاص می‌دهد. انواع HPV-16، HPV-18 و HPV-31 به طور مداوم با دیس پلازی های متوسط تا شدید دهانه رحم در ارتباط می‌باشند و به میزان کم‌تر با سرطان تهاجمی vulva ، penis و anus مرتبط هستند. همچنین HPV DNA در نمونه‌های سرطان‌های دهانه رحم تا ۱۰۰ درصد یافت شده است در حالی‌که در زنانی که دارای بافت دهانه رحم سالم می‌باشند در کم‌تر از ۱۰ درصد موارد یافت شده است. در این مطالعه ما قصد داریم نقش پاپیلوما ویروس ها را در سرطان‌های انسانی بررسی کنیم.

واژه های کلیدی: پاپیلوماویروس انسانی، سرطان، بدخیمی، نئوپلازی درون اپی تلیالی دهانه رحم

مقدمه

سرطان عارضه‌ای است که در اثر تکثیر بی رویه سلول‌ها ناشی می‌شود. برای ایجاد سرطان، یک سیگنال اولیه لازم است که طی آن سلول متحمل تغییرات ژنتیکی می‌شود. در سلول‌های سرطانی موتاژن‌های متنوع، ویروس‌های انکوژن و خطاهای همانندسازی، تنظیم چرخه سلولی را بر هم زده‌اند. تغییرات ژنتیکی و تغییر در متیلاسیون DNA، ممکن است ژن‌های گوناگونی از جمله ژن های پروتوانکوژن و تومورساپرسور ژن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد(۲،۱). چرخه سلولی به خودی خود توسط فاکتورهای رشد تنظیم می‌شود و این فاکتورهای

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۹۶- ۹۰ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مؤلف مسئول: محمدرضا حق شناس- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم(ص)، دانشکده پزشکی E-mail: haghshenas2001@yahoo.com
۱. دانشجوی میکروب شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. گروه میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۱۰/۲۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۱/۱۱/۱۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۱/۱۲/۱۹

رشد باعث هماهنگ بودن تقسیم هر سلول می‌شوند. زمانی که کنترل تنظیم سلولی مهار شود، سلول‌های سرطانی رشد کرده و تکثیر خواهند شد و نهایتاً می‌توانند در سراسر بدن پخش شوند و در عملکرد بافت‌ها و ارگان‌ها مداخله کنند. طی ایجاد سرطان، ژن‌های تنظیم کننده آسیب می‌بینند و منجر به تولید سلول‌های بیش‌تری می‌شوند و یا باعث کاهش نسبت مرگ طبیعی سلول‌ها شوند(۱، ۳). سرطان نتیجه تغییرات عمده در ژن‌های تنظیم‌کننده‌ای می‌باشد که تکثیر و تمایز و بقای سلولی را کنترل می‌کنند می‌باشد، عقیده بر این است که توسعه سرطان، شامل یک سری میانکنش پیچیده بین چندین فاکتور محیطی و فاکتور ژنتیکی می‌باشد. فاکتورهای محیطی که فاکتورهای خارجی نامیده می‌شوند، شامل عوامل فیزیکی یا تشعشعات (مثل اشعه UV و اشعه X)، عوامل شیمیایی (مثل موتاژن‌ها و کارسینوژن‌ها) و عوامل عفونی (مثل باکتری‌ها و ویروس ها) می‌باشند. شواهد بسیاری نشان می‌دهد که آلودگی با گروه‌های پر خطر ویروس پاپیلومای انسانی نظیرانواع HPV ۱۶ و HPV ۱۸ ، باعث سرطان دهانه رحم می‌شود و سرطان دهانه رحم دومین بدخیمی شایع در جهان و سومین علت مرگ ناشی از سرطان در بین زنان می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی ویروس پاپیلوما، رابطه آن با سرطان‌های مختلف و چگونگی ایجاد سرطان توسط این ویروس می‌باشد. مقاله حاضر یک مقاله مروری و کتابخانه‌ای است که پس از جستجو از جمله سایت‌های مدلاین و گوگل اسکولار و با استفاده از کلمات کلیدی Human papillomavirus، Cancer، Malignancy و anogenital interaepithelial neoplasias تدوین شده است.

ارتباط ویروس‌ها و سرطان‌ها

ویروس ها عامل بسیاری از سرطان ها می باشند به طوری که با ۲۰-۱۵ درصد سرطان‌های انسان در ارتباط بوده و ۸۰ درصد سرطان‌ها مربوط به سرطان سرویکس و کبد می باشد(۴). ویروس‌ها چندین استراتژی را برای ترانسفورم کردن سلول میزبان به کار می‌برند. اولین مسیر معمولاً تغییر بیان ژن های سلولی توسط وارد کردن ژنوم ویروسی به داخل DNA سلولی می‌باشد. همچنین ویروس‌ها با بیان انکوژن‌های خود در تنظیم تقسیم سلولی اختلال ایجاد کرده و به پیشرفت بدخیمی کمک می‌کنند(۵). ویروس‌های سرطان زا که عامل سرطان در انسان می‌باشند به دو گروه تقسیم می‌شوند: گروه اول ویروس‌هایی که دارای ژنوم DNA می‌باشند و گروه دوم ویروس‌هایی هستند که دارای ژنوم RNA می‌باشند. ویروس‌هایی مثل ویروس هپاتیت C و HTLV، ویروس‌های RNA دارا می‌باشند. ویروس هپاتیت C باعث ایجاد کارسینومای هپاتوسلولار در انسان می‌شود(۶) و ویروس HTLV-1 که یک رتروویروس است، با لوسمی T Cell در بزرگ‌سالان و لنفوم در ارتباط است(۷). ویروس هایی مانند هرپس ویروس، ویروس هپاتیت B و پاپیلوما ویروس اپشتین بار ویروس (EBV)، ویروس‌های DNA دار می‌باشند . در این بین EBV عامل سرطان‌هایی از جمله لنفوم بورکیت، لنفوم هوچکین و کارسینومای نازوفارنکس در انسان است و از سرطان مری نیز جدا شده است(۸)، ویروس هپاتیت B عامل کارسینوم هپاتوسلولار در انسان می باشد(۹،۱۰). هرپس ویروس نیز مرتبط با سارکوم کاپوسی می‌باشد(۱۱) و در نهایت پاپیلوماویروس انسانی که عامل سرطان‌های متعددی در انسان می‌باشد(۱۲).

پاپیلوماویروس ها

پاپیلوما ویروس‌ها، ویروس‌هایی هستند دارای ژنوم DNA دو رشته‌ای حلقوی، با حدود ۸۰۰۰ نوکلئوتید و به شکل آیکوساهدرال، که در خانواده پاپیلوما ویریده طبقه‌بندی می‌شوند(۱۳). ژنوم پاپیلوما ویروس‌ها به سه منطقه تقسیم می‌شود : ۱- ناحیه اولیه E (Early region)، ۲- ناحیه تاخیری (ثانویه) L (Late region)، ۳- ناحیه کنترل‌کننده و غیر کد شونده LCR یا URR

(upper regulation region)(۱۵،۱۴). این ویروس انواع مختلفی دارد که قادر به عفونت محدوده‌ی عظیمی از حیوانات (پرنده، خرگوش، سگ، گوسفند، گاو) و چندین گونه از پریمات‌ها از جمله انسان می‌باشد(۱۶). پاپیلوما ویروس‌ها گروهی از ویروس‌های هتروژن هستند که هر نوع از آن‌ها با ضایعه خاصی در ارتباط می‌باشد. آن‌ها از طریق تماس با زخم‌های کوچک پوست وارد بدن می‌شوند و باعث القای هایپرپرولیفراسیون سلول‌های اپی‌تلیال پوست ومخاط می شوند (ایجاد پاپیلوما می‌کنند). پاپیلوما یا زگیل اغلب خوش خیم می‌باشد اما ممکن است با وجود فاکتورهای محیطی و ژنتیکی، برخی از آن ها در انسان و حیوانات به شکل بدخیم تغییر پیدا کنند. ماهیت ویروسی زگیل های انسانی در اوایل ۱۹۰۰ میلادی و زمانی که از محلول صاف شده‌ی عاری از سلول به دست آمده از ضایعات، برای انتقال این بیماری استفاده می شد، نشان داده شد و پاپیلوماویروس حیوانی برای اولین بار در ۱۹۳۰ توسط ریچارد شاپ در هنگام مطالعه بر روی چگونگی انتقال زگیل های پوستی در خرگوش وحشی شناخته شد(۱۷). نئوپلازی های وابسته به پاپیلوما ویروس‌ها شامل سرطان آنوژنیتال، سرطان سلول سنگفرشی پوست در انسان‌ها، سرطان پوست در خرگوش و سرطان دستگاه گوارش فوقانی و دستگاه ادراری و مثانه در گاو می باشند(۱۶، ۱۸). بیش‌تر عفونت‌های انسان‌ها و حیوانات بعد از چند ماه با فعال‌سازی سیستم ایمنی میزبان علیه آنتی ژن های ویروسی پاکسازی می شوند(۱۹). اما گاهی زخم های ایجاد شده بهبود نمی‌یابند و به سمت سرطان پیشرفت می‌کنند. پاپیلوماویروس‌ها را بر اساس میزبان اصلی به سه گروه تقسیم می‌کنند، پاپیلوماویروس خرگوش (CRPV)، پاپیلوما ویروس گاوی (BPV) و پاپیلوما ویروس انسانی (HPV).

پاپیلوما ویروس خرگوش (Cottontail Rabbit Papillomavirus):

CRPV عامل القای زگیل در خرگوش‌های اهلی و وحشی و اولین مدل برای بررسی سرطان زایی پاپیلوماویروس‌ها می‌باشد که در سال ۱۹۳۳ توسط Shope به اثبات رسید. زگیل‌های حاصل از CPRV اکثراً به میزان زیادی به سمت ایجاد سرطان پیشرفت می‌کنند(۲۱،۲۰). آلودگی خرگوش اهلی توسط DNA ویروسی، منجر به توسعه تومورهای موضعی در طول ۳ تا ۶ هفته بعد از عفونت می‌شود. این پاپیلوماها طی ۶ تا ۱۲ ماه در بیش از ۸۰ درصد موارد، رشد تهاجمی داشته و سرانجام سرطان متاستاتیک را موجب می‌شوند(۲۲). این وقایع مشابه نتیجه حاصل شده از آلودگی با پاپیلوماویروس نوع ۱۶ در جمعیت های انسانی می‌باشد(۲۳).

پاپیلوماویروس گاوی (Bovine Papillomavirus)

BPV عامل ایجاد پاپیلومای پوستی یا مخاطی در گاوها می‌باشند. ۶ نوع مختلف از این ویروس تا امروز شناسایی شده‌اند که هر یک با بیماری خاصی مرتبط می‌باشند(۱۳). بعضی از انواع BPV با سرطان هایی در احشام در ارتباط می‌باشند. BPV-1 و BPV-2 که عامل زگیل‌های پوستی هستند عامل سرطان دستگاه ادراری نیز می‌باشند و BPV-4 عامل سرطان دستگاه گوارش فوقانی شناخته شده است. هم‌چنین BPV-1 در سرطان پنیس دخیل می‌باشد(۱۸،۱۶). پاپیلوما ویروس گاوی (BPV) به عنوان مدلی برای مطالعه بیولوژی ویروس، واکنش ویروس با میزان طبیعی و کوفاکتورهای محیطی و پاسخ سیستم ایمنی میزبان علیه ویروس استفاده شده است.

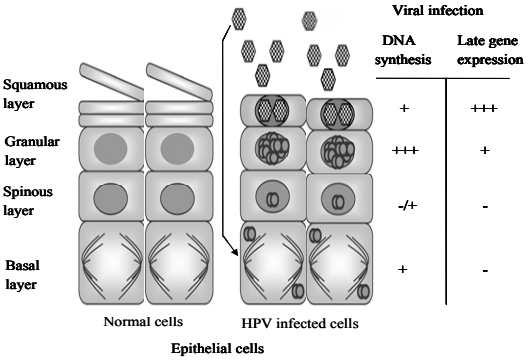
پاپیلوماویروس انسانی (Human Papillomavirus)

پاپیلوماویروس‌های انسانی (HPV)، عامل زگیل بوده و در همه جمعیت‌های انسانی مشاهده می‌شوند و گاهی عفونت ایجاد شده توسط آن‌ها، به سرطان منتهی می‌شود. این ویروس‌ها بافت اپی تلیال جلدی و مخاطی نواحی آناتومیکی متفاوتی را آلوده می‌کنند(۲۴،۲۵) تا به امروز، بیش از صد نوع مختلف پاپیلوماویروس انسانی

شناسایی شده است که ⅓ آن‌ها، سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه تناسلی را آلوده می‌کنند. انواع HPV که دستگاه تناسلی را آلوده می‌کنند به دو دسته تقسیم می شوند: انواع کم خطر مانند HPV-6 و HPV-11 عامل زگیل‌های خوش خیم می‌باشند و به سمت سرطانی شدن پیشرفت نمی‌کنند و معمولاً بهبود می‌یابند و انواع پرخطر شامل ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۴۵ HPV بوده و با توسعه سرطان دستگاه تناسلی در ارتباط می‌باشند و در ۹۹ درصد سرطان‌های دهانه رحم یافت شده‌اند(۲۳،۱۲) که در این بین HPV-16 شیوع بیش‌تری داشته است(۲۶،۱۲). قابل ذکر است که آلودگی با انواع پرخطر HPV فقط محدود به دستگاه تناسلی نمی‌باشد و به عنوان مثال حدود ۲۰ درصد سرطان‌های اوروفارنکس حاوی انواع ویروس های پاپیلومای پرخطر می باشند(۲۷).

راه انتقال پاپیلوما ویروس

چرخه سلولی پاپیلوماویروس‌ها مستقیما به تمایز سلول‌های اپی‌تلیال بستگی دارد. اعتقاد بر این است که عفونت با پاپیلوماویروس‌ها از طریق زخم های میکروسکوپی که در اپی تلیوم وجود دارد رخ می‌دهد و سلول‌های بازال در معرض ویروس قرار می‌گیرند(۲۸). پاپیلوما ویروس ابتدا سلول‌های اپی‌تلیال لایه بازال، (تنها لایه‌ای که فعالانه در اپی‌تلیوم تقسیم می‌شود)، را آلوده می‌کنند(۱۴). گیرنده پاپیلوما ویروس برای ورود به سلول‌های اپی‌تلیال از نظر عملکردی مشخص نشده است، اما پروتئین کمپلکس اینتگرین $\alpha_6\beta_4$ به عنوان رسپتور در نظر گرفته شده است. این اینتگرین به طور اولیه در هنگام التیام زخم بیان می‌شود و این موضوع دلیل بر اثبات دخالت این مولکول در ورود ویروس می‌باشد اما مطالعات گوناگون واسطه‌گری این مولکول را در ورود ویروس را نشان نداده‌اند، به دنبال ورود ویروس به کراتینوسیت‌های لایه بازال، هم زمان با همانندسازی DNA سلولی ژنوم پاپیلوماویروس به عنوان یک اپی‌زوم در حدود ۱۰۰-۵۰ کپی در هر سلول، تکثیر پیدا می‌کند(۲۹). هنگامی که سلول‌های آلوده تقسیم می‌شوند، DNA ویروسی بین همه سلول‌های دختری تقسیم می‌شود. یکی از سلول‌های دختری از لایه بازال مهاجرت کرده و تمایز را آغاز می‌کند. بقیه سلول های دختری به تقسیم خود در لایه بازال ادامه می‌دهند و مخزنی از DNA ویروسی برای هر تقسیم سلولی ایجاد می‌کنند. سلول‌های لایه بازال با تولید ویریون‌های بیش‌تر لیز نمی‌شوند و همچنان به تکثیر خود ادامه می‌دهند و این امر اجازه می‌دهد که سلول‌های آلوده برای مدت زمانی طولانی- چندین سال- در لایه بازال باقی بمانند(۳۰). سلول‌های آلوده به ویروس پاپیلوما بعد از رسیدن به لایه بازال فوقانی، وارد فاز S می‌شوند و ورود به فاز S، باعث تکثیر ژنوم ویروسی به هزاران نسخه در هر سلول می‌شود(۳۱).



خصوصیات ژنتیکی HPV

ژنوم HPV از نظر عملکرد به سه منطقه تقسیم می‌شود: اولین ناحیه، ناحیه غیر کد شونده به نام ناحیه کنترلی طولانی (LCR) یا ناحیه تنظیمی می باشد. این منطقه شامل پروموتر اصلی اولیه به نام p97 و سکانس‌های تنظیم کننده همانندسازی DNA می‌باشد. همچنین بیش ترین شیوع ژنوم ویروسی در این منطقه وجود دارد(۳۲). دومین ناحیه، منطقه زودرس بوده که شامل E_1، E_2، E_4، E_5، E_6 و E_7 می‌باشد و در همانندسازی و سرطان زایی ویروسی دخالت دارد. سومین ناحیه، منطقه تأخیری می‌باشد که پروتیین‌های ساختاری L_1 و L_2 را برای کپسید ویروسی کد می کند. HPV ها در

طول سیکل سلولی خود، رونوشت‌های پلی‌سیسترونیک مختلفی را بیان می‌کنند، بنابراین بیان محصولات ژنی ویروس، با تمایز سلول میزبان هماهنگ می‌باشد. علاوه بر این، در طول تمایز کراتینوسیت‌ها، رونویسی از چندین پروموتر مختلف شروع می‌شود(۳۳). رونویسی ویروسی توسط فاکتورهای رونویسی سلولی کنترل می‌شود، این فاکتورهای سلولی به وسیله پروتئین‌های کد شونده توسط E_2 به LCR متصل می‌شوند(۳۵،۳۴). تصور بر این است که اختصاصیت عفونت HPV به اپی تلیال، مربوط به عناصر کنترلی در Enhancer و پروموتر در ناحیه LCR ویروسی می‌باشد(۳۵). همانندسازی ویروسی از یک ناحیه، به نام ناحیه آغاز همانندسازی (ori) شروع می‌شود و به فاکتورهای همانندسازی کد شونده توسط ویروس E_1 و E_2 وابسته است(۳۶). HPV دو پروتئین اصلی E_6 و E_7 را نیز کد می‌کند، که این دو پروتیین با یکدیگر الگوی بیان و فعالیت بسیاری از ژن‌ها و پروتئین‌های سلولی را تغییر می‌دهند. این ژن‌ها، در رده سلولی مشتق شده از سرطان باقی مانده و بیان می‌شوند و برای نامیرا کردن سلول میزبان کافی می‌باشند. همچنین این ویروس، پروتئین E_5 را کد می‌کند که این پروتئین، پروتئین فرعی ترانسفورم کننده در HPV و پروتئین اصلی ترانسفورم کننده در BPV است.

چرخه تکثیر HPV:

در مواردی که عفونت با انواع کم خطر HPV نظیر انواع ۶ و ۱۱ اتفاق بیافتد، ژنوم ویروسی به صورت اپی‌زومال باقی مانده و این DNA خارج کروموزومی به بیان ژن می پردازد. اما در مورد انواع پر خطر HPV، نظیر انواع ۱۶ و ۱۸ که در ارتباط با دیس پلازی ناحیه تناسلی و سرطان هستند، این موضوع متفاوت می‌باشد. HPV ، اپی تلیوم سنگ‌فرشی را، از طریق زخم های میکروسکوپی آلوده می‌کند و چرخه سلولی آن وابسته به وضعیت تمایز بافت اپی تلیال میزبان می‌باشد(۳۷) زمانی که ژنوم ویروسی به صورت اپی زوم به تعداد ۱۰۰-۵۰ کپی در هسته سلول‌های لایه بازال اپی تلیوم وجود دارد، همانندسازی ویروسی هم زمان با DNA کروموزومی و به دنبال تقسیم سلولی رخ می‌دهد(۲۹،۳۸). استقرار و بقای ژنوم HPV در ارتباط با بیان پروتئین‌های اولیه (E_1 , E_2 , E_4 , E_5 , E_6 , E_7) می‌باشد که در همانندسازی و رونویسی DNA در سلول میزبان دخیل هستند، می‌باشد. هم زمان با حرکت سلول‌های آلوده، بیان ژن‌های تأخیری اتفاق می‌افتد و پروتئین‌های L_1 و L_2 کپسید تولید می‌کنند و در لایه‌های فوقانی، ویریون تشکیل می‌شود(۳۰). همانندسازی ژنوم HPV به E_1 و E_2 و دستگاه همانندسازی بستگی دارد، E_2 هم‌چنین رونویسی ویروسی را کنترل می‌کند(۲۸). علاوه بر این، نشان داده شده است که E_6 و E_7 نقش مهمی در سیکل سلولی HPV ایفا می‌کنند(۴۰،۳۹). و برای نگهداری شکل خارج کروموزومی لازم و ضروری هستند زمانی که تکثیر سلول‌های آلوده رخ می‌دهد و وارد فاز S می‌شوند، این دو پروتئین اجازه همانندسازی به ژنوم ویروسی را می‌دهند و باعث تفکیک آن به سلول‌های دختری می‌شوند(۳۱). حضور پروتئین E_7 باعث حفظ خصوصیات هسته در تمام لایه های عفونی سلول‌های اپی تلیال می‌شود(۴۱). به دنبال تقسیم سلول‌های آلوده، DNA ویروسی بین هر دو سلول دختری تقسیم می شود، یکی از سلول‌های دختری آلوده از لایه بازال مهاجرت کرده و تمایز را آغاز می‌کند و سلول دیگر شروع به تقسیم شدن در لایه‌های بازال کرده و مخزنی از DNA ویروسی را برای تقسیمات بعدی سلولی فراهم می‌کند. کراتینوسیت‌های غیر آلوده، به محض این‌که از غشای زیرین جدا شوند از سیکل سلولی خارج می‌شوند اما سلول‌های آلوده به HPV از سیکل سلولی خارج نمی‌شوند(۴۲). در سلول‌های لایه بازال فوقانی که با HPV-16 آلوده شده‌اند، ژنوم ویروسی قبل از کپسید دار شدن به میزان زیادی تکثیر پیدا می‌کند و این تکثیر با تولید پروتئین E_1 ^ E_4 همراه می‌باشد و در نتیجه با

تولید پروتئین‌های کپسید (L_1 و L_2) مونتاژ ویریون‌های آلوده شکل می‌گیرد. زمانی که لایه اپی تلیوم فوقانی پوسته ریزی می‌کند، ویریون‌های آلوده به محیط آزاد شده و قادر به آلوده کردن افراد و یا آلوده کردن دیگر جایگاه جدید در همان فرد می‌باشد(۴۳). پروتئین E_1^ E_4 ، به خنثی نمودن اثر پروتئین E_7 کمک کرده و سیکل سلولی را تسهیل می‌کنند(۳۹).

مکانیسم ایجاد سرطان توسط HPV:

HPV با تغییر پروتوانکوژن و تومور ساپرسور ژن‌ها، باعث ایجاد تغییر شکل سلول شده و ایجاد سرطان می‌شود. انکوژن‌ها، فعال کننده‌های پروتوانکوژن‌های سلولی هستند. این ژن‌ها، کد کننده پروتئین‌هایی هستند که مستقیماً در تنظیم رشد و تکثیر سلولی دخالت دارند. انکوژن‌ها یا از موتاسیون پروتوانکوژن‌ها و یا از بیان غیر نرمال آن‌ها حاصل می‌شوند، در نتیجه‌ی این تغییرات، انکوژن ها، باعث تکثیر غیرنرمال سلول‌ها و توسعه تومور می‌شوند. انکوژن‌های ویروسی و سلولی یک گروه بزرگ از ژن‌ها هستند که در غیر نرمال نمودن و یا بدخیمی سلول‌ها شرکت دارند. تومور ساپرسور ژن‌ها، گروهی از ژن هایی هستند که نقش مهمی در تنظیم زمان تقسیم سلول‌ها و افزایش تعداد آن‌ها ایفا می‌کنند. از جمله‌ی این پروتئین‌ها می‌توان به رتینوبلاستوما (Rb) و p53 اشاره کرد. انکوپروتئین‌های E_6 و E_7 با اختلال در عملکرد این پروتئین‌های سلولی باعث تکثیر غیر طبیعی سلول‌ها می‌شوند(۴۵،۴۴). عفونت اولیه با HPV-16 منجر به بیماری خفیف‌تری می‌شود که در آن DNA ویروسی، در فرم اپی‌زومال در هسته سلول وجود دارد. در اکثر سرطان‌های وابسته به HPV ، DNA ویروسی به صورت تصادفی شکسته و به فرم خطی تغییر شکل پیدا می‌کند و در داخل ژنوم میزبان ادغام می‌شود(۴۶). ظاهراً جایگاه ورود ژنوم ویروسی به درون ژنوم سلول میزبان، اختصاصی نیست و گاهی اوقات ورود ژنوم، در غیاب انکوژن‌های سلولی رخ می‌دهد(۴۷). گفته شده است که ورود DNA ویروسی به داخل DNA میزبان، یک رویداد مهم در گسترش سرطان سرویکس می‌باشد که این امر اغلب از طریق شکسته شدن ژنوم از ناحیه E_2 اتفاق می‌افتد(۲۸،۴۶،۵۰-۴۸). ادغام شدن نه تنها به انکوپروتئین‌های E_6 و E_7 اجازه بیان شدن می‌دهد، بلکه به علت از دست رفتن خاصیت تنظیمی ژن E_2 باعث افزایش بیان آن‌ها می‌شود(۴۶).

پروتئین های ویروس و نقش آن‌ها :

پروتئین‌هایی که توسط HPV کد می‌شوند شامل ۱) پروتئین‌های اولیه (E_1-E_8) می‌باشد که توسط ژن‌های اولیه کد می‌شوند و شامل پروتئین‌های شرکت کننده در همانندسازی می‌باشند و تغییر شکل دهنده سلول هستند ۲) پروتئین‌های ثانویه (L_1-L_2) که توسط ژن‌های ثانویه کد می‌شوند و نقش ساختمانی دارند.

پروتئین های اولیه که در همانندسازی نقش دارند :

پروتئین E_1:

پروتئین E_1 در HPV ، یک فسفوپروتئین هسته‌ای با ۶۴۹ اسید آمینه می‌باشد که چندین فعالیت را برای شروع همانندسازی DNA انجام می‌دهد. این پروتئین، عملکرد ATPase و فعالیت هلیکازی وابسته به ATP دارد که این دو ویژگی، برای شروع همانندسازی و طویل‌سازی DNA ویروسی لازم هستند(۵۱). زمانی که پروتئین E_1 ، به صورت هگزامر است، توانایی اتصال به ناحیه آغاز همانندسازی و میانکنش با پروتئین E_2 را دارد(۵۳،۵۲). در این حالت پروتئین E_1 ، ATP را هیدرولیز کرده و پیچش DNA را باز می‌کند(۵۴). انتهای آمینی E_1 به P68 پلیمراز آغازگر آلفا، متصل می‌شود. این پلیمراز تنها پلیمرازی است که توانایی شروع سنتز DNA را دارد و برای چنگال همانندسازی DNA ضروری است(۵۶،۵۵). دومین متصل شونده به P68، در انتهای کربوکسیل E_1 (جایگاه اتصال E_2) قرار دارد، بنابراین این‌طور به نظر می‌رسد که شروع سنتز DNA توسط E_1 ،

بعداز عملکرد E_2 اتفاق می افتد و همانندسازی کامل می‌شود. بنابراین هر دو پروتئین E_1 و E_2 برای همانندسازی انواع مختلف پاپیلوماویروس ضروری هستند(۵۷). همان‌طور که گفته شد علاوه بر اتصال به سکانس‌های اختصاصی در ناحیه آغاز همانندسازی پروتئین‌های E_1 و E_2 نیز به یکدیگر متصل می‌شوند. اتصال E_1 به این ناحیه، با میل ترکیبی پایینی همراه است اما اضافه شدن E_2 میل ترکیبی را افزایش می‌دهد. جایگاه اتصال E_1، ناحیه‌ای غنی از AT می‌باشد و تغییرپذیری بیش‌تری نسبت به جایگاه اتصال E_2 دارد(۵۸، ۵۹). همان‌طور که در بالا ذکر شد، هر دو پروتئین برای همانندسازی اپی زومال ژنوم در کراتینوسیت‌های انسان مورد نیاز هستند و زمانی که این ORF (Open reading frame) شکسته شود، ژنوم درون کروموزوم میزبان اینتگره می شود.

پروتئین E_2:

ORF E_2، پروتئینی با وزن ۴۸ – ۴۲ کیلودالتون را کد می‌کند که در چند پروسه بیولوژیکی، مثل همانندسازی و رونویسی ویروسی نقش دارد و برای کامل شدن چرخه زندگی ویروسی ضروری می‌باشد. پروتئین E_2، سه دومین عملکردی دارد: ۱- دومین اسیدی انتهای N در تنظیم رونویسی، همانندسازی و آپوپتوزیس نقش دارد و مستقیماً با پروتئین E_1 ارتباط دارد(۶۴، ۶۵) (transactivation domain)، ۲- دومین انتهای C که به DNA متصل می شود، ۳- دومین لولا (hing) که در مرکز واقع شده؛ انعطاف پذیر بوده و غنی از جایگاه فسفریلاسیون می‌باشد و در وارد کردن DNA حلقوی اپی زومال HPV به درون DNA کروموزومی دخالت دارد(۶۳). E_2 به صورت همودایمر از طریق انتهای کربوکسیل خود به سکانس پالیندرومی ۱۲ جفت بازی ($5'$-ACCGN$_4$CGGT-$3'$) در LCR ویروسی متصل می‌شود(۶۲). میانکنش بین E_1 و E_2 برای همانندسازی ژنوم ویروسی ضروری است، E_2 به جایگاه اتصال به DNA که در مجاورت جایگاه اتصال E_1 قرار دارد، متصل شده و انتهای آمینی E_2 با E_1 واکنش می‌دهد و E_1 را برای همانندسازی با کار می‌گیرد(۶۶،۶۷). پروتئین E_2 در انواع پرخطر مثل HPV-16 به عنوان سرکوب کننده پروموتر اولیه عمل می‌کند. به دلیل شکستن تصادفی، ژنوم HPV به فرم خطی در ژنوم میزبان اینتگره می‌شود. رویداد مهمی که در سرطان‌های مرتبط با HPV رخ می‌دهد، حذف سکانس کد کننده E_2: هنگام ورود ژنوم ویروسی می‌باشد. در نتیجه این فرآیند، بیان بسیار بالایی از انکوژن‌های ویروسی E_6 و E_7، اتفاق می‌افتد. بیان E_2 در HPV-16 و HPV-18 سلول‌های سرطانی، از بیان E_6 و E_7 ممانعت کرده و باعث القای آپوپتوزیس می‌شود(۶۸،۶۹).

پروتئین E_4:

ترجمه پروتئین E_4 نتیجه رونویسی و اتصال ۵ اسیدآمینه اول E_1، با پروتئین کد شونده توسط ORF E_4 می‌باشد، از این رو E_1^E_4 نامیده می‌شود. پروتئین E_1^E_4 به راحتی در زگیل‌های HPV-16 مثبت، قابل شناسایی می‌باشد. در زگیل‌های ناحیه ژنیتال، بیان E_1^E_4 در لایه های بازال فوقانی روی می‌دهد(۴۲)، در حالی‌که بیان آن‌ها در زگیل‌های جلدی حاوی HPV-1، در لایه‌های زیرین اپی تلیال رخ داده و سریع تر قابل شناسایی می‌باشند(۷۰). در بعضی از عفونت‌های HPV، بیان پروتئین E_1^E_4 در فاز تاخیری سیکل سلولی رخ می‌دهد و وابسته به تکثیر رویشی DNA ویروسی، قبل از بیان پروتئین‌های ساختاری ویروسی است(۷۱،۴۲). همچنین این پروتئین در سلول‌های سطحی که پروتئین‌های ساختاری L_1 و L_2 را حاوی HPV-16، بیان می‌کنند، حضور دارد(۷۲،۷۰). درکشت سلول‌های اپی‌تلیال، بیان پروتئین E_1^E_4 در HPV-16 باعث سازمان‌دهی مجدد شبکه فیلامنتی با واسطه کراتن می‌گردد که این شبکه متشکل از میانکنش E_1^E_4 با کراتین، پروتئین اصلی ساختاری در سلول‌های اپی‌تلیال، می‌باشد. پروتئین E_1^E_4 با تخریب

ماتریکس کراتین باعث تسهیل خروج ویروسی می‌شود. همچنین مشاهده شده که این پروتئین در HPV-16 به پروتئین RNA هلیکاز DEAD-box (تتراپپتید Asp-Gla-Ala-Asp) متصل شده(۷۳) و باعث تنظیم بیان ژن های ویروسی در سطوح مختلف می‌شود(۷۵،۷۴). اگرچه نقش دقیق پروتئین E_1^E_4 در سیکل سلولی ویروسی مشخص نشده است اما مطالعات زیادی پیشنهاد می‌کنند که این پروتئین قابلیت افزایش قابل توجهی در همانندسازی ویروسی ایفا می‌کند(۷۸). پروتئین E_1^E_4 در HPV-16 باعث توقف سیکل سلولی در مرز G_2/M می‌شود(۷۶). گفته شده است که این پروتیین در سیکل سلولی ویروسی، قادر به خنثی نمودن اثر E_7 می‌باشد (E_7 باعث راندن سلول‌ها به فاز S می‌شود)(۷۷).

پروتئین های اولیه ترانسفورم کننده :

انواع پرخطر HPV مثل HPV-16 ، سه پروتئین ترانسفورم کننده را کد می‌کنند: E_5 , E_6 , E_7 . E_6 و E_7 مسئول اصلی خصوصیات ترانسفورم کننده ویروس هستند(۷۹). E_5 فعالیت ترانسفورم کنندگی ضعیفی داشته اما باعث افزایش خاصیت انکوژنیک پروتئین E_7 می‌شود(۸۰،۸۱).

پروتئین E_6:

در انواع پر خطر HPV، فعالیت اصلی پروتئین E_6 تحریک تخریب پروتئین p53 با واسطه ubiquinization می‌باشد. اتصال E_6 به p53 و یوبیکوئیتینه شدن آن به E_6-AP (پروتئین وابسته به E_6 سلولی) وابسته است(۸۳،۸۲). P53 یک فاکتور رونویسی است که بیان ژن‌های دخیل در توقف چرخه سلولی و آپوپتوزیس مثل cyclin dependent kinase inhibitor p21، را تحریک می‌کند. ممانعت از ترانس لوکاسیون و تخریب p53 به وسیله E_6، باعث جلوگیری از فعال کردن و یا سرکوب کردن رونویسی ژن‌ها توسط P53 می‌شود(۸۵). پروتئین E_6 در انواع کم خطر در invitro قابلیت میانکنش با p53 را دارد اما در invivo نمی‌تواند p53 را هدف قرار داده و پروتئولیز کند(۸۴). در صورت عدم فعالیت E_6، p53 افزایش یافته و باعث القای آپوپتوزیس وابسته به p53 می‌شود و قبل از تکثیر ویروس منجر به از بین رفتن سلول آلوده می‌گردد. در نتیجه توانایی E_6 در تعدیل سطوح p53، منجر به عفونت ویروسی کامل می‌گردد. نشان داده شده است که E_6 می‌تواند باعث افزایش تنظیم فعالیت کمپلکس تلومراز سلولی گردد. این آنزیم، DNA تلومریک را در انتهای کروموزوم‌ها حفظ می‌کند(۸۶). فقدان آنزیم تلومراز، باعث می‌شود با هر بار تقسیم سلولی، تلومرها به تدریج کوتاه شده تا به یک طول بحرانی برسد. کوتاه شدن تلومر به عنوان ساعت مولکولی عمل می‌کند و تعداد تقسیمات سلولی را کنترل می‌کند.

پروتئین E_7:

پروتیین E_7، تغییرات بیولوژیکی قابل توجهی را در رشد سلولی القا می‌کند(۸۷). این پروتئین، به پروتئین سرکوب کننده تومور (رتینوبلاستوما (Rb)) و دو پروتئین مرتبط به pRb، یعنی p106 و p130 را غیرفعال می‌کند(۸۸). اعضای خانواده رتینوبلاستوما، نقش اصلی را در تنظیم چرخه سلولی یوکاریوتی ایفا می‌کند. در حالت هایپوفسفریله، ریتنوبلاستوما به فاکتورهای رونویسی مثل اعضای خانواده E_2F متصل شده و رونویسی از ژن های خاصی را سرکوب می‌کند. همان‌طور که سلول‌ها از G_0 به G_1 و سپس به فاز S پیشرفت می‌کنند، اعضای خانواده ریتنوبلاستوما به‌صورت تصاعدی توسط G_1 cyclin-cyclin-dependent kinase (cdks) هایپرفسفریله می‌شوند. در نتیجه فاکتور رونویسی E_2F رها شده و ژن‌های دخیل در سنتز DNA فعال می‌شوند و چرخه سلولی پیشرفت می‌کند(۸۹). از آن‌جایی که E_7 قادر است به رتینوپلاستومای (Rb) غیر فسفریله وصل شود، باور بر این است که E_7 می‌تواند با در هم گسیختن کمپلکس Rb-E_2F سلول را در خارج از زمان اصلی وارد فاز S کند(۹۱،۹۰). علاوه بر این E_7 قادر است بعد از

تمایز سلول‌ها به فاکتور رونویسی AP-1 متصل شود و آن را فعال کند.

پروتئین E_5:

عملکرد ژن E_5 ناشناخته است اما مشاهده شده است که این ژن قادر است یک پروتئین غشایی با فعالیت ترانسفورماسیون ضعیف و پروتئین های هیدروفوب کوچک را کد کند. این فرضیه بیان شده است که ممکن است E_5 با کاهش فاکتورهای رشد مورد نیاز برای سلول‌های آلوده به پاپیلوماویروس، در ترانسفورماسیون سلولی نقش داشته باشد، همچنین این پروتئین باعث کاهش بیان مولکول‌های HLA-I سطحی می‌شود(۹۲،۹۳). پروتئین E_5 به همراه E_6 ، در تشکیل کوئیلوسایت ها- سلولی که در تشخیص عفونت های HPV حائز اهمیت است- نقش دارد. لازم به ذکر است، با وجود این‌که انکوپروتئین E_5 در مراحل اولیه ترانسفورماسیون سلولی نقش دارد اما در پیشرفت بدخیمی‌ها و یا نگهداری فنوتایپ ترانسفورم شده ضروری نبوده و در سرطان دهانه رحم بیان نمی‌شود(۹۴).

۲- پروتئین های ساختمانی:

HPV ها دو پروتئین کپسیدی به نام‌های L_1 و L_2 را کد می‌کنند. پروتئین L_1 ، پروتئین اصلی کپسید و L_2 پروتئین فرعی کپسید در ویریون بوده و یک پوسته محافظتی اطراف ژنوم ویروسی تشکیل می‌دهند(۹۵). عمدتاً پروتئین L_2 در داخل ویریون یافت می‌شود، برای تشکیل ویریون‌های عفونت زا لازم می‌باشد و مشخص شده است که با رسپتورهای سطحی سلول واکنش انجام می‌دهد(۹۶). همچنین L_2 با ارائه DNA ویروس به داخل ذرات ویروسی تشکیل شده توسط پروتئین ساختاری L_1، نقش اصلی را در مونتاژ کپسید پاپیلوماویروس ایفا می‌کند(۹۷) مشخص شده است که آنتی‌بادی علیه پروتئین L_2، پاپیلوماویروس را بدون جلوگیری از اتصال ویریون به سطح سلول، خنثی می‌کند(۹۸). زمانی که پروتئین L_1 در یوکاریوت بیان می‌شود، قادر به مونتاژ خودبه خودی ذرات شبه ویروس (VLP) می‌باشد(۹۹). در کپسید دار شدن ژنوم حلقوی دو رشته‌ای ویروسی، ویریون از لحاظ ساختاری به ساختار ایکوزاهدرال با ۷۲ پنتامر از L_1 تغییر پیدا می‌کند.

جدول شماره ۱: نمای کلی از عملکرد پروتئین های پاپیلوماویروس (۱۰۰, ۱۰۱)

E_1	عملکرد هلیکازی – عملکرد ATPase – ضروری برای همانندسازی ویروسی و کنترل رونویسی ژن ها
E_2	فاکتور رونویسی سلولی –ضروری برای همانندسازی ویروسی و کنترل رونویسی ژن ها
E_4	واکنش با پروتئین های اسکلت سلولی –مونتاژ ویروسی
E_5	تحریک رشد از طریق واکنش با رسپتورهای فاکتور رشد – کاهش مولکول های HLA کلاس I سطحی
E_6	نامیرا کردن سلول – کاهش p53 –فعالسازی تلومراز –اثر ضد آپوپتوتیک –القای ناپایداری ژنومی
E_7	نامیرا کردن سلول – واکنش با pRB و پروتئین های مرتبط با pRB – فعال سازی پروموترهای وابسته به E_2F –القای ناپایداری ژنومی
L_1	پروتئین اصلی کپسید
L_2	پروتئین فرعی کپسید –نقش در به کارگیری ژنوم ویروسی برای کپسید گذاری –دخالت در انتقال هسته ای DNA ویروسی

سرطان‌های شایع که در اثر آلودگی به HPV ایجاد می‌شود:

با این که برخی از پاپیلوماویروس‌ها پتانسیل سرطان‌زایی ندارند، اما مجموعه‌ای از آن‌ها در توسعه بدخیمی در انسان و حیوانات دخالت دارند(۱۰۳،۱۰۲،۱۴). بدخیمی در انسان، شامل چندین سرطان اپی‌تلیال مخاطی است و سرطان دهانه رحم مهم‌ترین سرطان از نظر سلامت عمومی می‌باشد. همچنین HPV می‌تواند در سرطان‌های ناحیه تناسلی مثل anal cancer, vulvar cancer, penile cancer ، و سرطان‌های دهان وحنجره نقش داشته باشد. (اگرچه می‌توان تقریباً همه موارد سرطان دهانه رحم را به عفونت HPV نسبت داد، اما این ویروس تنها بخشی از سرطان‌های دیگر به شمار می‌رود). در جمعیت‌هایی که در معرض خطر بالا قرار دارند ممکن است عفونت HPV به طور هماهنگ در مکان‌های مختلف مخاطی وجود داشته باشد(۱۰۴). همچنین پاپیلوماویروس انسانی در سرطان سلول سنگفرشی پوست که به سمت EV

(Epidermodysplasia verruciformis) پیشرفت می‌کند، دخیل می‌باشد. در برخی مطالعات، به رابطه بین HPV با دیگر سرطان‌ها، مثل سرطان ریه، پستان، مری، کولون، رکتوم و پروستات اشاره شده است، اما رابطه سببی مکرری بین این سرطان‌ها با این ویروس نشان داده نشده است(۱۰۵). در نمونه‌های مورد مطالعه سرطان‌های انسانی مرتبط با HPV توسعه تومورهای ایجاد شده در اپی‌تلیوم شاخی تا سال‌ها بعد از عفونت اولیه اتفاق نمی‌افتد. برای پیشرفت به سمت سرطانی شدن عفونت پایدار لازم است و معمولاً بقای فنوتایپ ترانسفورم شده به بیان مداوم تعدادی از ژن‌های ویروسی بستگی دارد. فاصله زمانی بین عفونت اولیه و سرطانی شدن، بیان کننده این است که برای پیشرفت به سمت بدخیمی، علاوه بر عفونت مداوم با یک نوع HPV مناسب، عوامل زیست محیطی یا عوامل میزبان هم در آن سهیم هستند. وضعیت ایمنی میزبان یک پارامتر مهم است، به طوری که افرادی که در ایمنی سلولی دچار اختلال هستند، در معرض خطر بیش‌تری برای ابتلا به عفونت مزمن و سرطان قرار دارند(۱۰۶،۱۰۷). گاهی اوقات ایجاد ضایعات HPV، نشان‌دهنده وجود مکانیسم‌های محیطی نیز می‌باشد، به عنوان مثال بیش‌تر سرطان‌های پوست در پوست‌هایی رخ می‌دهد که در معرض نور خورشید قرار دارند و این بر کارسینوژن بودن نور uv دلالت دارد. اگرچه بیش‌تر سرطان‌های مرتبط با HPV به بیان مداوم ژن‌های ویروسی (مثل E_6 و E_7) بستگی دارد، اما ممکن است در تمام مراحل سرطان‌های مرتبط با HPV بیان ژن‌های ویروسی ضروری نباشد. به نظر می‌رسد در بعضی از تومورهای انسانی که حاوی HPV DNA هستند، بیان ژن های ویروسی سرکوب شده‌اند(۱۰۸).

سرطان دهانه رحم

سرطان دهانه رحم متداول‌ترین عامل مرگ به علت سرطان در بین زنان در دنیا می‌باشد. شیوع و مرگ و میر سرطان دهانه رحم بعد از سرطان پستان، دومین جایگاه را در کشورهای در حال توسعه به خود اختصاص داده است. در سن باروری، سرطان دهانه رحم مهم‌ترین عامل مرگ در زنان می‌باشد(۱۰۹). نئوپلازی داخل اپی تلیال گردن رحم (CIN) که یک واقعه اولیه در سرطان دهانه رحم است، از نظر شدت بافت شناسی به سه رده طبقه‌بندی می‌شود: CIN I , CIN II, CIN III درجه تغییرات سلولی از نظر هیستوپاتولوژی و میکروسکوپی توسط پاپ اسمیر مشخص می‌شود. عفونت دستگاه تناسلی توسط HPV، می‌تواند به وسیله ضایعات خفیف دیس پلازی و یا نئوپلازی داخل اپی تلیال گردن رحم درجه ۱ شروع شود(۱۱۰). این ضایعات تغییرات متوسطی را از خود نشان می‌دهند و بسیاری از آن‌ها کم تر از یک سال توسط سیتم ایمنی پاکسازی می‌شوند(۱۱۱). آن دسته از ضایعاتی که توسط سیستم ایمنی پاک‌سازی نمی‌شوند می‌توانند برای دوره‌هایی بیش از چندین دهه باقی بمانند. عفونت مداوم با انواع پرخطر HPV، بزرگ‌ترین فاکتور خطر برای توسعه بدخیمی‌های دستگاه تناسلی می‌باشد(۱۱۲،۴). سویه‌های خاصی از HPV، که درجات مختلفی از ترانسفورماسیون دارند با تومورهای سرویکس در ارتباط می‌باشند. انواع ۱۶ و ۱۸ پاپیلوماویروس انسانی به بالاترین از سرطان دهانه رحم جداسازی شده‌اند و تقریباً عامل ⅔ تمام سرطان‌های دهانه رحم در دنیا به شمار می‌آیند(۱۱۳،۱۱۲). HPV-16، HPV-18 و HPV-31 به‌طور دائم با دیس‌پلازی متوسط تا شدید دهانه رحم در ارتباط می‌باشند و به مقدار کم‌تر با سرطان‌های تهاجمی vulva, penis, anus در ارتباط می‌باشند. ثابت شده است که حتی حضور مقدار کمی از HPV DNA با افزایش خطر سرطان دهانه رحم در ارتباط می‌باشد(۱۱۴). گزارشات نشان می‌دهند که حدود ۷۰ درصد بیوپسی‌های سرطان دهانه رحم از انواع ۱۶ و ۱۸ پاپیلوماویروس انسانی جداسازی شده‌اند، نوع ۱۶ (۵۰ درصد)، نوع ۱۸ (۱۴ درصد)، نوع ۳۱ (۵ درصد) و دیگر انواع بیش از ۲۳ درصد موارد را به خود اختصاص می‌دهند(۱۱۵).

بدخیمی‌های Vulvar, Vaginal, Penile:

عموماً HPV هایی که دستگاه تناسلی را آلوده می‌کنند قادر به آلوده کردن دیگر مکان‌های تناسلی (از قبیل اپی‌تلیوم سنگفرشی) می‌باشند. خطری که در ارتباط با عفونت در این مکان‌ها وجود دارد، مشابه خطر عفونت دهانه رحم می‌باشد. اغلب HPV-16 از سرطان‌های این نواحی جداسازی می‌شوند. کوندیلوما آکومیناتای غول آسا، که Buschke-Lowenstein tumor نامیده می‌شود، سرطان سلول سنگفرشی موضعی مهاجم می‌باشد که دستگاه تناسلی خارجی و اغلب penis را آلوده می‌کند. عامل این عفونت، انواع کم خطر HPV یعنی انواع ۶ و ۱۱ می‌باشند(۱۱۶). تهاجمی‌ترین تومور به فرم مورفولوژیک زگیلی یا basaloid در زنان جوان‌تر و در کارسینوم سلول سنگفرشی vulva، رخ می‌دهد و معمولاً حاوی HPV DNA نوع ۱۶ می‌باشد(۱۰۵).

سرطان مقعد:

در ایالات متحده، سرطان مقعد حدود ۲/۲ درصد از بدخیمی‌های دستگاه گوارش را به خود اختصاص می‌دهد، به طوری که سالانه ۶۲۳۰ مورد جدید تشخیص داده می‌شوند(۱۱۷). چندین مطالعه اپیدمیولوژیک و کلینیکی، رابطه بین HPV و سرطان مقعد را مشخص کرده‌اند. پاپیلوما ویروس‌هایی که ناحیه تناسلی را آلوده می‌کنند و از طریق رابطه جنسی منتقل می‌شوند، مشابه چیزی که راجع به نئوپلازی داخل اپی‌تلیال گردن رحم (CIN) شرح داده شد، در نئوپلازی داخل اپی تلیال مقعد (AIN) نیز دخیل هستند(۱۱۸). اگرچه سرطان مقعد نادر است، اما هرساله شیوع آن حدود ۲ درصد در بین زنان و مردان افزایش پیدا می‌کند. با این حال نسبت این سرطان در زنان بالاتر از مردان می‌باشد(۱۱۹). مطالعات گسترده‌ای مشخص کرده‌اند که ۸۵ درصد بیماران مبتلا به سرطان مقعد از نظر HPV-16 مثبت گزارش شده‌اند و به مقدار کم‌تر (۷ درصد) HPV-18 جداسازی شده است و دیگر انواع جدا شده شامل انواع ۳۱، ۳۳ و ۴۵ می‌باشند(۱۲۰).

سرطان سر و گردن:

سرطان سلول سنگفرشی سر و گردن (HNSCC)، در حفره دهانی، نازوفارنکس، اوروفارنکس، حنجره و هایپوفارنکس رخ می‌دهد. در حالی‌که مصرف سیگار و الکل جزء فاکتورهای خطر ساز این سرطان به شمار می‌آیند، Syrjanen و همکاران با جداسازی پروتئین‌های ساختاری HPV از سرطان های سلول سنگ‌فرشی دهانی به نقش اتیولوژیک این ویروس در HNSCC پی بردند و این امر شروعی برای مطالعات امروزی بود(۱۳۳). HPV در ۳۵-۲۳ درصد از کل HNSCC ها یافت می‌شود که اکثر سرطان‌ها مربوط به ناحیه اوروفارنکس می‌باشد، به طوری که ۹۰-۴۵ درصد موارد در زبان، لوزه ها یا انتهای زبان رخ می‌دهند: مشابه سرطان دهانه رحم، HPV-16 عامل اغلب موارد بوده و این تایپ در ۸۷-۶۸ درصد از کل سرطان های سر و گردن در دنیا جداسازی شده است(۱۰۵).

سرطان مری:

اکثر سرطان های مری، سرطان سلول سنگفرشی (SCC) و آدنوکارسینوما می‌باشند. سالانه حدود ۵۰۰/۰۰۰ مورد تشخیص و تقریباً ۴۰۰/۰۰۰ مورد مرگ، در سراسر دنیا رخ می‌دهد. نسبت شیوع کاملاً به منطقه جغرافیایی وابسته است و بالاترین نسبت در شمال ایران در مرکزآسیا، تا شمال مرکزی چین که به کمربند سرطان‌مری معروف است، مشاهده می‌شود. علاوه بر فاکتورهای خطرسازی که برای سرطان مری وجود دارد، مطالعات مختلف رابطه‌ای بین سرطان مری و وجود پاپیلوما ویروس را شرح داده‌اند. با این حال اثبات این نتیجه هنوز کاملاً قطعی نشده است. در مطالعه‌ای در چین، ۷۰۰ نمونه سرطان مری برای تشخیص HPV DNA مورد آزمایش قرار گرفتند و از این میان تقریباً ۱۷ درصد موارد، حاوی سکانس‌های ژنوم HPV بودند. اکثر موارد جدا شده شامل انواع HPV-6, 11, 16, 18, 30 بودند و در این میان شیوع HPV-16, 18 ، ۲۷ درصد گزارش شد(۱۰۵).

سرطان پستان:

سـرطان پـستان در خـانم‌هـا جـزء سـرطان هـای پیـشرونده بـوده و سـومین علـت شـایع مـرگ ناشـی از سرطان در سراسر جهـان مـی‌باشـد. بـسیاری از مطالعـات رابطه ای احتمالی بین وجود عفونت ویروسـی و پـاتوژنز سـرطان پـستان را نـشان داده‌انـد کـه از جملـه‌ی ایـن ویروس‌ها، مـی‌تـوان بـه پاپیلومـاویروس‌هـا اشـاره کـرد. تعداد قابل توجهی از مطالعات اخیـر گـزارش کـرده انـد که حـدود ۲۹ درصـد از سـرطان هـای پـستان در انـسان مربوط به انواع پرخطر پاپیلوماویروس به ویژه انواع ۱۶ و ۱۸ و ۳۳ بـوده اسـت. در مقابـل، تحقیقـات دیگـر هـیچ رابطـه‌ای بـین وجـود پاپیلومـاویروس و سـرطان پـستان گزارش نکرده‌اند. برای تعیین وجود رابطـه بـین پاپیلومـا ویروس وسرطان پستان ، نیاز به مطالعـات بـیش تـری در این زمینه را نشان می‌دهد(۱۲۱).

تشخیص عفونت HPV:

تـشخیص عفونـت HPV مـی توانـد شـامل اهـداف خاصی باشد، از جمله می تـوان بـه تـشخیص حـضور یـا عدم حضور HPV ، فعال بودن عفونـت ، تـشخیص نـوع ویروسی مرتبط با عفونـت و درجـه تغییـرات سـلولی در عفونت حاضر اشاره کرد. بـرای ایـن منظـور روش هـای مولکولی حساس، و قدرتمندی برای شناسایی HPV DNA و RNA از سواب‌های سـرویکس و نمونـه‌هـای بیوپـسی وجود دارد. این روش‌ها شـامل PCR ، Real Time PCR و میکروآرای می‌باشند. در اغلـب آزمایـشات، سـکانس L_1 DNA شناسایی می‌شود و در برخی دیگـر E_6 ، E_7 و RNA مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. به طور کلی بـیش‌تـر جداسازی DNA انجام گرفته است، امـا شناسـایی RNA هم می‌تواند حـساس و اختـصاصی باشـد. گـسترش ایـن تـست‌هـای مبتنـی بـر HPV، تـأثیر زیـادی روی درک تاریخچه طبیعی عفونت دارد. به علاوه این روش‌ها برای عملکردهای بالینی نیز به کار می‌روند(۱۲۲،۱۲۳).

یکی از روش‌های شناسایی اولیه برای جلـوگیری از سرطان گردن رحم، پاپ اسمیر می‌باشد که از سـال ۱۹۵۰، غربالگری به این روش، منجر به کـاهش چـشمگیری در شیوع سرطان‌های گردن رحم شده است(۱۲۴). به علاوه، بیومارکرهـای دیگـری نیـز ممکـن اسـت در تـشخیص عفونـت HPV کمـک کننـده باشـند. از جملـه آن‌هـا می‌توان به p16 اشاره کرد که در انـواع پرخطـر پاپیلومـا ویروس‌ها در پاسخ به غیـر فعـال شـدن PRb توسـط E_7، افـزایش پیـدا مـی‌کنـد(۱۲۵). مارکرهـای دیگـر شـامل پروتئین‌های کد شونده توسط سلول و DNA متیله شـده می‌باشد که افزایش این دو هم قابل بررسـی اسـت(۱۲۶). به‌طور کلی اگر آزمایشات مبتنی بر تـشخیص HPV ارزان و در دسترس باشند، می‌توان با یک یا دوبـار غربـالگری در طول زندگی، کاهش قابل توجه‌ای در شیوع سـرطان دهانه رحم به وجود آورد(۱۲۷).

واکسیناسیون :

غربـالگری دهانـه رحـم افـراد، منجـر بـه کـاهش چشمگیری در بروز سـرطان دهانـه رحـم در کـشورهای توسعه یافته شده است. با این حال در این کشورها سالانه تقریباً ۲۷۰۰ زن مبتلا به سرطان دهانـه رحـم وجـود دارد که از این تعداد، مرگ و میری در حدود بـیش از ۱۰۰۰ مورد در هر سال رخ می‌دهد. شناخت رابطه بین انواع پـر خطر HPV و سرطان دهانه رحم در سراسر دنیا، منجر بـه تولید و توسعه واکسن‌های مؤثری شده است کـه قـادر بـه جلوگیری از عفونت‌های HPV می‌باشند(۲۴). واکسن‌هـای مجـاز رایـج شـامل Gardasil و Cervarix هـستند کـه حاوی ذرات شبه ویروس (VLP) می‌باشـند و از پـروتئین L_1 کپسید ویروس‌های HPV-16 و HPV-18 تهیه شده‌اند و از نظر ایمونولوژیکی شبیه ویروس واقعی بوده و یـک پاسخ آنتی بادی قوی را القاء می‌کنند(۱۲۸).

واکسن Gardasil مـی‌توانـد علیـه انـواع HPV-11، HPV-6 ، HPV-18 و HPV-16 مـؤثر باشـد. نـشان داده شده است کـه HPV-18 و HPV-16 عامـل بـیش از ۷۰ درصد سرطان‌های سرویکس بوده و انـواع ۳۱، ۳۳، ۴۵،

۵۲، ۵۸ مسئول بیش از ۲۰ درصد آن‌ها در جهان می‌باشند(۱۲۹).

ایمنی افزایش یافته توسط افزایش بیش‌تر تیتر آنتی‌بادی اختصاصی نوع HPV و پاسخ سلول‌های B خاطره، در مقایسه با ادجوانت alum کاملاً مشهود است(۱۳۰).

به نظر می‌رسد این واکسن‌ها تأثیرات پیشگیرانه بسیار مؤثری دارند، به طوری که نشان داده شده است واکسن در پاک‌سازی عفونت استقرار یافته نقشی نداشته بنابراین اثر درمانی ندارند(۱۳۱). در نتیجه اثر بخشی واکسن در زنانی که هیچ‌گونه رابطه جنسی نداشته‌اند بسیار بیش‌تر خواهد بود.

در پایان می توان نتیجه‌گیری کرد که به دلیل شیوع HPV در سرطان دهانه رحم، سرطان های ناحیه تناسلی، سرطان سروگردن، حنجره، مری، دهان و پستان و با توجه به این موضوع که در مناطق جغرافیایی مختلف، انواع متفاوت HPV در ایجاد سرطان های مختلف نقش داشته‌اند، بنابراین بررسی رابطه بین حضور پاپیلوماویروس و سرطان‌های نام برده در منطقه ضروری به نظر می‌رسد، همچنین واکسنی که امروزه برای مصونیت افراد استفاده می‌شود علیه انواع 11، HPV-6 ، HPV-18 و HPV-16 کارایی دارد ولی در مطالعات اخیر ثابت شده است که انواع دیگر ویروس از جمله HPV-39 و HPV-45 (۱۳۲) به میزان قابل توجهی در توسعه سرطان دهانه رحم نقش داشته‌اند، بنابراین شناخت انواع پاپیلوما ویروس عامل سرطان و شیوع آن می‌تواند در طراحی واکسن کمک کرده تا با استفاده از واکسن مناسب بتوان پوشش ایمنی بالاتری در جامعه ایجاد کرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد میکروب شناسی خانم فرزانه فخرایی می‌باشد.

References

1. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. Nature 1998; 396(6712): 643-649.
2. Ponder BA. Cancer genetics. Nature 2001; 411(6835): 336-341.
3. Krontiris TG, Cooper GM. Transforming activity of human tumor DNAs. Proc Nat Acad Sci USA 1981;78(2 II):1181-1184.
4. zur Hausen H. Viruses in human cancers. Science 1991; 254(5035): 1167-1173.
5. DiMaio D, Lai CC, Klein O. Virocrine transformation: the intersection between viral transforming proteins and cellular signal transduction pathways. Annu Rev Microbiol 1998; 52: 397-421.
6. Haghshenas MR, Babamahmoodi F, Rafiei AR, Vahedi V. The Correlation between HCV Genotypes and Liver Damage in HCV Patients. J Mazandaran Univ Med Sci. 2011; 21(85): 76-83.
7. zur Hausen H. Oncogenic DNA viruses. Oncogene 2001; 20(54): 7820-7823.
8. Haghshenas M, Rafiei Alir, Zabihian F, Naghshvar F. Frequency of epstein barr virus in esophageal squamous cell carcinoma biopsies in mazandaran and golestan provinces in 2008. Iran J Microbiol 2009; 3(1): 43-48.
9. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology. 2000; 118(3): 554-559.
10. Babamahmoodi F, Farokhee M, Delavarian L, Babamahmoodi A, Khalilian A, Haghshenas MR. Association between Serum Concentrations of HBV-DNA and HBeAg

with Liver Enzymes in Hepatitis B Patients. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(95): 2-8.

11. Moore PS, Gao SJ, Dominguez G, Cesarman E, Lungu O, Knowles DM, et al. Primary characterization of a herpesvirus agent associated with Kaposi's sarcomae. J Virol 1996; 70(1): 549-558.
12. Muñoz N, Bosch FX, De Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003; 348(6): 518-527.
13. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. Virology 2004; 324(1): 17-27.
14. Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, et al. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. J Virol 2004; 78(21): 11451-11460.
15. Burk RD, Chen Z, Van Doorslaer K. Human papillomaviruses: Genetic basis of carcinogenicity. Public Health Genomics. 2009; 12(5-6): 281-290.
16. Campo MS. Bovine papillomavirus and cancer. Vet J 1997; 154(3): 175-188.
17. Syverton JT. The pathogenesis of the rabbit papilloma-to-carcinoma sequence. Ann N Y Acad Sci 1952; 54(6): 1126-1140.
18. Campo MS. Animal models of papillomavirus pathogenesis. Virus Res 2002; 89(2): 249-261.
19. Ashrafi GH, Tsirimonaki E, Marchetti B, O'Brien PM, Sibbet GJ, Andrew L, et al. Down-regulation of MHC class I by bovine papillomavirus E5 oncoproteins. Oncogene. 2002; 21(2): 248-259.
20. Kreider JW, Bartlett GL. The Shope Papilloma-Carcinoma Complex of Rabbits: A Model System of Neoplastic Progression and Spontaneous Regression. Adv Cancer Res 1981; 35: 81-110.
21. Phelps WC, Leary SL, Faras AJ. Shope papillomavirus transcription in benign and malignant rabbit tumors. Virology 1985; 146(1): 120-129.
22. Syverton JT. The pathogenesis of the rabbit papilloma-to-carcinoma sequence. Ann N Y Acad Sci 1952; 54(6): 1126-1140.
23. Hildesheim A. Human papillomavirus variants: implications for natural history studies and vaccine development efforts. J Natl Cancer Inst 1997; 89(11): 752-753.
24. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999; 189(1): 12-19.
25. Pim D, Thomas M, Banks L. The function of the human papillomavirus oncogenes. In: Viruses, Cell Transformation and Cancer Grand RJA (ed). Amsterdam: Elsevier; 2001. p. 145-192.
26. Munoz N, Bosch FX. Cervical cancer and human papillomavirus: epidemiological evidence and perspectives for prevention. Salud publica de Mexico. 1997; 39(4): 274-82.
27. Herrero R, Castellsague X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P, et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. J Natl Cancer Inst 2003; 95(23): 1772-1783.
28. Fehrmann F, Laimins LA. Human papillomaviruses: Targeting differentiating

epithelial cells for malignant transformation. Oncogene 2003; 22(33): 5201-5207.
29. Stubenrauch F, Laimins LA. Human papillomavirus life cycle: Active and latent phases. Semin Cancer Biol 1999; 9(6): 379-386.
30. Laimins LA. Human papillomaviruses target differentiating epithelia for virion production and malignant conversion. Seminars in Virology 1996; 7(5): 305-313.
31. Lambert PF. Papillomavirus DNA replication. J Virol 1991; 65(7): 3417-20.
32. Apt D, Watts RM, Suske G, Bernard HU. High Sp1/Sp3 ratios in epithelial cells during epithelial differentiation and cellular transformation correlate with the activation of the HPV-16 promoter. Virology 1996; 224(1): 281-291.
33. Doorbar J, Parton A, Hartley K, Banks L, Crook T, Stanley M, et al. Detection of novel splicing patterns in a HPV16-containing keratinocyte cell line. Virology 1990; 178(1): 254-262.
34. Bouvard V, Storey A, Pim D, Banks L. Characterization of the human papillomavirus E2 protein: evidence of trans-activation and trans-repression in cervical keratinocytes. The EMBO J. 1994; 13(22): 5451-5459.
35. Steger G, Corbach S. Dose-dependent regulation of the early promoter of human papillomavirus type 18 by the viral E2 protein. J Virol 1997; 71(1): 50-58.
36. Desaintes C, Demeret C. Control of papillomavirus DNA replication and transcription. Semin Cancer Biol 1996; 7(6): 339-347.
37. Laimins LA. The biology of human papillomaviruses: from warts to cancer. Infect Agent Dis 1993; 2(2): 74-86.
38. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society . J Clin Virol 2005; 32(Suppl 1): S7-15.
39. Flores ER, Allen-Hoffmann BL, Lee D, Lambert PF. The human papillomavirus type 16 E7 oncogene is required for the productive stage of the viral life cycle. J Virol 2000; 74(14): 6622-6631.
40. Thomas JT, Hubert WG, Ruesch MN, Laimins LA. Human papillomavirus type 31 oncoproteins E6 and E7 are required for the maintenance of episomes during the viral life cycle in normal human keratinocytes. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999; 96(15): 8449-8454.
41. Cheng S, Schmidt-Grimminger DC, Murant T, Broker TR, Chow LT. Differentiation-dependent up-regulation of the human papillomavirus E7 gene reactivates cellular DNA replication in suprabasal differentiated keratinocytes. Genes & Development 1995; 9(19): 2335-2349.
42. Doorbar J, Foo C, Coleman N, Medcalf L, Hartley O, Prospero T, et al. Characterization of events during the late stages of HPV16 infection in vivo using high-affinity synthetic Fabs to E4. Virology 1997; 238(1): 40-52.
43. Frattini MG, Lim HB, Laimins LA. In vitro synthesis of oncogenic human papillomaviruses requires episomal genomes for differentiation-dependent late expression. Proc Natl Acad Sci U S A 1996, 1996; 93(7): 3062-3067.
44. Lowe SW, Jacks T, Housman DE, Ruley HE. Abrogation of oncogene-associated apoptosis allows transformation of p53- deficient cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91(6): 2026-2030.
45. Vousden KH. Interactions between papillomavirus proteins and tumor

suppressor gene products. Adv Cancer Res 1994; 64: 1-24.

46. Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. Nature 1985; 314(6006): 111-114.
47. Lazo PA, Gallego MI, Ballester S, Feduchi E. Genetic alterations by human papillomaviruses in oncogenesis. FEBS letters 1992; 300(2): 109-113.
48. zur Hausen H. Papillomaviruses in human cancers.P Assoc Am Physician 1999; 111(6): 581-587.
49. Baker CC, Howley PM. Differential promoter utilization by the bovine papillomavirus in transformed cells and productively infected wart tissues. EMBO J 1987; 6(4): 1027-1035.
50. Baker CC, Phelps WC, Lindgren V, Braun MJ, Gonda MA, Howley PM. Structural and transcriptional analysis of human papillomavirus type 16 sequences in cervical carcinoma cell lines. J Virol 1987; 61(4): 962-971.
51. Hughes FJ, Romanos MA. E1 protein of human papillomavirus is a DNA helicase/ ATPase. Nucleic Acids Res 1993; 21(25): 5817-5823.
52. Liu JS, Kuo SR, Broker TR, Chow LT. The functions of human papillomavirus type 11 E1, E2, and E2C proteins in cell-free DNA replication. J Biol Chem 1995; 270(45): 27283-27291.
53. Benson JD, Howley PM. Amino-terminal domains of the bovine papillomavirus type 1 E1 and E2 proteins participate in complex formation. J Virol 1995; 69(7): 4364-4372.
54. Wilson VG, West M, Woytek K, Rangasamy D. Papillomavirus E1 proteins: form, function, and features. Virus Genes 2002; 24(3): 275-290.
55. Masterson PJ, Stanley MA, Lewis AP, Romanos MA. A C-terminal helicase domain of the human papillomavirus E1 protein binds E2 and the DNA polymerase alpha-primase p68 subunit. J Virol 1998; 72(9): 7407-7419.
56. Conger KL, Liu JS, Kuo SR, Chow LT, Wang TSF. Human papillomavirus DNA replication: Interactions between the viral E1 protein and two subunits of human DNA polymerase α/primase. J Biol Chem 1999; 274(5): 2696-2705.
57. Ustav M, Stenlund A. Transient replication of BPV-1 requires two viral polypeptides encoded by the E1 and E2 open reading frames. EMBO J 1991; 10(2): 449-457.
58. Frattini MG, Laimins LA. Binding of the human papillomavirus E1 origin-recognition protein is regulated through complex formation with the E2 enhancer-binding protein. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91(26): 12398-12402.
59. Sun YN, Lu JZ, McCance DJ. Mapping of HPV-11 E1 binding site and determination of other important cis elements for replication of the origin. Virology 1996; 216(1): 219-222.
60. Dell G, Gaston K. Human papillomaviruses and their role in cervical cancer. Cellular and molecular life sciences. Cell Mol Life Sci 2001; 58(12-13): 1923-1942.
61. Hegde RS. The papillomavirus E2 proteins: structure, function, and biology. Annu Rev Biophys Biomol Struct 2002; 31: 343-360.
62. Chin MT, Broker TR, Chow LT. Identification of a novel constitutive enhancer element and an associated binding protein: implications

for human papillomavirus type 11 enhancer regulation. J Virol 1989; 63(7): 2967-2976.

63. Gauthier JM, Dillner J, Yaniv M. Structural analysis of the human papillomavirus type 16-E2 transactivator with antipeptide antibodies reveals a high mobility region linking the transactivation and the DNA-binding domains. Nucleic Acids Res 1991; 19(25): 7073-7079.
64. Ferguson MK, Botchan MR. Genetic analysis of the activation domain of bovine papillomavirus protein E2: its role in transcription and replication. J Virol 1996; 70(7): 4193-4199.
65. Sakai H, Yasugi T, Benson JD, Dowhanick JJ, Howley PM. Targeted mutagenesis of the human papillomavirus type 16 E2 transactivation domain reveals separable transcriptional activation and DNA replication functions. J Virol 1996; 70(3): 1602-1611.
66. Chao SF, Rocque WJ, Daniel S, Czyzyk LE, Phelps WC, Alexander KA. Subunit affinities and stoichiometries of the human papillomavirus type 11 E1:E2:DNA complex. Biochemistry 1999; 38(14): 4586-4594.
67. Titolo S, Pelletier A, Sauve F, Brault K, Wardrop E, White PW, et al. Role of the ATP-binding domain of the human papillomavirus type 11 E1 helicase in E2-dependent binding to the origin. J Virol 1999; 73(7): 5282-5293.
68. Dowhanick JJ, McBride AA, Howley PM. Suppression of cellular proliferation by the papillomavirus E2 protein. J Virol 1995; 69(12): 7791-7799.
69. Desaintes C, Goyat S, Garbay S, Yaniv M, Thierry F. Papillomavirus E2 induces p53-independent apoptosis in HeLa cells. Oncogene 1999; 18(32): 4538-4545.
70. Chow LT, Reilly SS, Broker TR, Taichman LB. Identification and mapping of human papillomavirus type 1 RNA transcripts recovered from plantar warts and infected epithelial cell cultures. J Virol 1987; 61(6): 1913-1918.
71. Middleton K, Peh W, Southern S, Griffin H, Sotlar K, Nakahara T, et al. Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. J Virol 2003; 77(19): 10186-10201.
72. Crum CP, Barber S, Symbula M, Snyder K, Saleh AM, Roche JK. Coexpression of the human papillomavirus type 16 E4 and L1 open reading frames in early cervical neoplasia. Virology 1990; 178(1): 238-246.
73. Doorbar J, Ely S, Sterling J, McLean C, Crawford L. Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. Nature 1991; 352(6338): 824-827.
74. Doorbar J, Elston RC, Napthine S, Raj K, Medcalf E, Jackson D, et al. The E1E4 protein of human papillomavirus type 16 associates with a putative RNA helicase through sequences in its C terminus. J Virol 2000; 74(21): 10081-10095.
75. Yoshioka N, Inoue H, Nakanishi K, Oka K, Yutsudo M, Yamashita A, et al. Isolation of transformation suppressor genes by cDNA subtraction: lumican suppresses transformation induced by v-src and v-K-ras. J Virol 2000; 74(2): 1008-1013.
76. Nakahara T, Nishimura A, Tanaka M, Ueno T, Ishimoto A, Sakai H. Modulation of the cell division cycle by human papillomavirus type 18 E4. J Virol 2002; 76(21): 10914-10920.

77. Chang YE, Laimins LA. Microarray analysis identifies interferon-inducible genes and Stat-1 as major transcriptional targets of human papillomavirus type 31. J Virol 2000; 74(9): 4174-4182.
78. Wilson R, Fehrmann F, Laimins LA. Role of the E1--E4 protein in the differentiation-dependent life cycle of human papillomavirus type 31. J Virol 2005; 79(11): 6732-6740.
79. Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. Virus Res 2002; 89(2): 213-28.
80. Valle GF, Banks L. The human papillomavirus (HPV)-6 and HPV-16 E5 proteins co-operate with HPV-16 E7 in the transformation of primary rodent cells. J Gen Virol 1995; 76(Pt 5): 1239-1245.
81. DiMaio D, Mattoon D. Mechanisms of cell transformation by papillomavirus E5 proteins. Oncogene 2001; 20(54): 7866-7873.
82. Li X, Coffino P. High-risk human papillomavirus E6 protein has two distinct binding sites within p53, of which only one determines degradation. J Virol 1996; 70(7): 4509-4516.
83. Scheffner M, Whitaker NJ. Human papillomavirus-induced carcinogenesis and the ubiquitin-proteasome system. Semin Cancer Biol 2003; 13(1): 59-67.
84. Elbel M, Carl S, Spaderna S, Iftner T. A comparative analysis of the interactions of the E6 proteins from cutaneous and genital papillomaviruses with p53 and E6AP in correlation to their transforming potential. Virology 1997; 239(1): 132-149.
85. Mietz JA, Unger T, Huibregtse JM, Howley PM. The transcriptional transactivation function of wild-type p53 is inhibited by SV40 large T-antigen and by HPV-16 E6 oncoprotein. EMBO J 1992; 11(13): 5013-5020.
86. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. Cell 1985; 43(2 Pt 1): 405-413.
87. Edmonds C, Vousden KH. A point mutational analysis of human papillomavirus type 16 E7 protein. J Virol 1989; 63(6): 2650-2656.
88. Munger K, Basile JR, Duensing S, Eichten A, Gonzalez SL, Grace M, et al. Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein. Oncogene 2001; 20(54): 7888-7898.
89. Dyson N. The regulation of E2F by pRB-family proteins. Genes Dev 1998; 12(15): 2245-2262.
90. Huang PS, Patrick DR, Edwards G, Goodhart PJ, Huber HE, Miles L, et al. Protein domains governing interactions between E2F, the retinoblastoma gene product, and human papillomavirus type 16 E7 protein. Mol Cell Biol 1993; 13(2): 953-960.
91. Patrick DR, Oliff A, Heimbrook DC. Identification of a novel retinoblastoma gene product binding site on human papillomavirus type 16 E7 protein. J Biol Chem 1994; 269(9): 6842-6850.
92. Ashrafi GH, Haghshenas MR, Marchetti B, O'Brien PM, Campo MS. E5 protein of human papillomavirus type 16 selectively downregulates surface HLA class I. Int J Cancer 2005; 113(2): 276-283.
93. Ashrafi GH, Haghshenas M, Marchetti B, Campo MS. E5 protein of human papillomavirus 16 downregulates HLA class I and interacts with the heavy chain via its first hydrophobic domain. Int J Cancer 2006; 119(9): 2105-2112.

94. Hellner K, Münger K. Human papillomaviruses as therapeutic targets in human cancer. J Clin Oncol 2011; 29(13): 1785-1794.
95. Okun MM, Day PM, Greenstone HL, Booy FP, Lowy DR, Schiller JT, et al. L1 interaction domains of papillomavirus l2 necessary for viral genome encapsidation. J Virol 2001; 75(9): 4332-4342.
96. Kawana Y, Kawana K, Yoshikawa H, Taketani Y, Yoshiike K, Kanda T. Human papillomavirus type 16 minor capsid protein l2 N-terminal region containing a common neutralization epitope binds to the cell surface and enters the cytoplasm. J Virol 2001; 75(5): 2331-2336.
97. Zhou J, Sun XY, Louis K, Frazer IH. Interaction of human papillomavirus (HPV) type 16 capsid proteins with HPV DNA requires an intact L2 N-terminal sequence. J Virol 1994; 68(2): 619-625.
98. Roden RB, Weissinger EM, Henderson DW, Booy F, Kirnbauer R, Mushinski JF, et al. Neutralization of bovine papillomavirus by antibodies to L1 and L2 capsid proteins. J Virol 1994; 68(11): 7570-7574.
99. Kirnbauer R, Booy F, Cheng N, Lowy DR, Schiller JT. Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. Proc Natl Acad Sci U S A 1992; 89(24): 12180-12184.
100. Boulet G, Horvath C, Broeck DV, Sahebali S, Bogers J. Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. Int J Biochem Cell B 2007; 39(11): 2006-2011.
101. Liu J-S, Melendy T. Human papillomavirus DNA replication. In: Dennis JM, (ed). Perspectives in Medical Virology. Elsevier: Amesterdam; 2002. p. 53-70.
102. Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, Meijer CJ. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. J Pathol 2006; 208(2): 152-164.
103. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer 2002; 2(5): 342-350.
104. Arends MJ, Wyllie AH, Bird CC. Papillomaviruses and human cancer. Hum Pathol 1990; 21(7): 686-698.
105. Gillison ML, Shah KV. Chapter 9: Role of mucosal human papillomavirus in nongenital cancers. J Natl Cancer Inst Monogr 2003; (31): 57-65.
106. Sasagawa T, Takagi H, Makinoda S. Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer. J Infect Chemother 2012; 18(6): 807-815.
107. Roccio M, Dal Bello B, Gardella B, Carrara M, Gulminetti R, Mariani B, et al. HPV infection and intraepithelial lesions: comparison between HIV positive and negative women. Curr HIV Res 2012; 10(7): 614-619.
108. Grassmann K, Kratzer F, Petry KU, Iftner T. Functional characterization of naturally occurring mutants of human papillomavirus type 16 with large deletions in the non-coding region. International Journal of Cancer Journal International du Cancer 1996; 68(2): 265-269.
109. Boffetta P, Parkin DM. Cancer in developing countries. CA Cancer J Clin 1994; 44(2): 81-90.
110. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol 2002; 55(4): 244-265.

111. Jenson AB, Kurman RJ, Lancaster WD. Tissue effects of and host response to human papillomavirus infection. Dermatol Clin 1991; 9(2): 203-209.
112. Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: Evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. J Natl Cancer Inst 2000; 92(9): 690-698.
113. Munoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. J Clin Virol 2000; 19(1-2): 1-5.
114. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Tafur L, Izarzugaza I, Gili M, et al. The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a population-based case-control study in Colombia and Spain. Int J Cancer 1992; 52(5): 743-749.
115. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, 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(11): 796-802.
116. Grussendorf-Conen EI. Anogenital premalignant and malignant tumors (including Buschke-Lowenstein tumors). Clin Dermatol 1997; 15(3): 377-388.
117. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2012; 62(1): 10-29.
118. Palefsky JM, Holly EA, Gonzales J, Berline J, Ahn DK, Greenspan JS. Detection of human papillomavirus DNA in anal intraepithelial neoplasia and anal cancer. Cancer Res 1991; 51(3): 1014-1019.
119. Johnson LG, Madeleine MM, Newcomer LM, Schwartz SM, Daling JR. Anal cancer incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results experience, 1973-2000. Cancer 2004; 101(2): 281-288.
120. Hoots BE, Palefsky JM, Pimenta JM, Smith JS. Human papillomavirus type distribution in anal cancer and anal intraepithelial lesions. Int J Cancer 2009; 124(10): 2375-2383.
121. Wang T, Chang P, Wang L, Yao Q, Guo W, Chen J, et al. The role of human papillomavirus infection in breast cancer. Med Oncol 2012; 29(1): 48-55.
122. Iftner T, Villa LL. Chapter 12: Human papillomavirus technologies. J Nat Cancer Monogr 2003; (31):80-88.
123. Lie AK, Risberg B, Borge B, Sandstad B, Delabie J, Rimala R, et al. DNA- versus RNA-based methods for human papillomavirus detection in cervical neoplasia. Gynecol Oncol 2005; 97(3): 908-915.
124. Denny LA, Wright Jr TC. Human papillomavirus testing and screening. BEST PRACT RES CL OB 2005; 19(4): 501-515.
125. Klaes R, Benner A, Friedrich T, Ridder R, Herrington S, Jenkins D, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. Am J Surg Pathol 2002; 26(11): 1389-1399.
126. Gray LJ, Herrington CS. Molecular markers for the prediction of progression of CIN lesions. Int J Gynecol Pathol 2004; 23(2): 95-96.
127. Schiffman M, Castle PE. The promise of global cervical-cancer prevention. N Engl J Med 2005; 353(20): 2101-2104.
128. Adams M, Jasani B, Fiander A. Prophylactic HPV vaccination for women over 18 years of age. Vaccine 2009; 27(25-26): 3391-3394.
129. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the

International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. Lancet 2005; 366(9490): 991-998.

130. Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van Mechelen M, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only. Vaccine 2006; 24(33-34): 5937-5949.

131. Hildesheim A, Herrero R, Wacholder S, Rodriguez AC, Solomon D, Bratti MC, et al. Effect of human papillomavirus 16/18 L1 viruslike particle vaccine among young women with preexisting infection: a randomized trial. JAMA 2007; 298(7): 743-753.

132. Haghshenas M, Golini-Moghaddam T, Rafiei A, Emadeian O, Shykhpour A, Ashrafi GH. Prevalence and type distribution of high-risk human papillomavirus in patients with cervical cancer: a population-based study. Infect Agent Cancer 2013; 8(1): 20.