

人乳头瘤病毒感染与宿主免疫机制

孙 洋 李新宇 顾 恒

摘 要 人乳头瘤病毒(HPV)是小双链 DNA 病毒,其宿主细胞为人皮肤和黏膜的上皮细胞。HPV 感染是宫颈癌、尖锐湿疣、头颈部鳞癌等疾病的发病原因。HPV 感染后,宿主免疫系统可被激活,但却不能有效的清除病毒。病毒在宿主体内的免疫逃逸机制可能是导致宿主持续感染 HPV 的重要因素。本文就 HPV 感染与宿主细胞的免疫反应做一综述。

关键词 人乳头瘤病毒 免疫反应

中图分类号 R75 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.051

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)可以引起人体皮肤、黏膜部位的增殖,导致尖锐湿疣、宫颈癌等疾病的发生。本文就 HPV 病毒感染人体后的免疫反应概述如下。

一、HPV 概况

HPV 病毒属乳多空病毒科乳头瘤病毒属,为环状双链 DNA 病毒,其宿主细胞为人的皮肤和黏膜上皮细胞。根据其完整基因组的不同,目前已测得的 HPV 可分为 100 多种亚型。不同基因型的病毒其组织亲嗜性和致病谱不同,如 HPV-1 易感染掌跖部位,HPV16 易感染生殖器部位,而 HPV11 则易感染生殖器和咽喉部位。根据病毒致恶性程度的不同,通常又分为高危型 HPV(如 HPV16、HPV18 等)和低危型 HPV(如 HPV6、HPV11 等)。

1. HPV 病毒基因构成: HPV 病毒基因主要由上游调节区(URR)、早期基因区域(E)、晚期基因区域(L)组成^[1]。其中早期基因(E1、E2、E4、E5、E6、E7)编码的早期蛋白与病毒致病性密切相关。E1、E2 基因因为高度保守的基因序列,与病毒的复制密切相关。E1~E4 蛋白是表达量最高的病毒蛋白,E1~E4 可能与病毒基因组的扩增相关。E5 基因与病毒的复制相关,同时近年研究表明高危型 HPV 的 E5 基因亦有一定的致癌作用^[2]。E6、E7 基因因为病毒的原癌基因,E6 与抑癌基因 p53 的灭活密切相关,E7 可与视网膜母细胞瘤蛋白(pRb)结合引起宿主细胞周期的改变^[3,4]。晚期基因区域(L1、L2)主要编码病毒的衣壳

蛋白。

高危型 HPV 感染机体后,病毒基因组常整合于宿主细胞染色体内,病毒不再维持自身的生命周期,而是跟随宿主细胞的 DNA 复制传至子代细胞。高危型 HPV 基因组在整合过程发生多个早期基因的开放阅读框架缺失(如 E1、E2、E4、E5),导致 E6 和 E7 基因表达失调,宿主细胞向恶性表型发展。而低危型 HPV 感染宿主后,病毒基因组与宿主细胞染色体间不发生整合,而是以外源性 DNA 方式游离于宿主细胞染色体外。

2. HPV 病毒生命周期: HPV 的生命周期与其宿主——上皮细胞的分化状态密切相关^[1,5]。正常状态下,只有基底层细胞具有分裂能力,基底层细胞分裂后,部分细胞向上层移行,部分细胞仍停留在基底层。移行细胞一旦离开基底层,即开始分化,细胞核渐消失,细胞功能减退,并最终形成角质层。而在 HPV 病毒感染的上皮细胞中,病毒蛋白改变了正常上皮细胞的细胞周期,使其有利于病毒自身的复制。HPV 感染后,病毒基因组激活 HPV 早期启动子,开始低水平的 HPV DNA 复制。含有 HPV 基因的基底层细胞移行时,将 HPV 病毒带入上层细胞,并使上层细胞保持分裂能力,随即 HPV 晚期启动子被激活,病毒 DNA 复制出现高拷贝量扩增,表达晚期蛋白。病毒包被完成后,细胞释放病毒颗粒,引起持续感染。

二、HPV 感染与宿主免疫反应

与其他类型的病毒不同,HPV 感染的细胞中并不出现病毒诱导的细胞死亡,而是病毒从多方面影响宿主细胞的生物学特征以利于其自身的生存与繁衍。宿主免疫系统可以识别病毒,但并不能有效清除病毒,使宿主维持持续被感染状态。

1. HPV 与固有免疫:角质形成细胞既是 HPV 的

作者单位:210042 南京,中国医学科学院北京协和医学院皮肤病研究所

通讯作者:李新宇,电子信箱:xinyusli609@163.com;顾恒,电子信箱:guheng@aliyun.com

宿主细胞,亦是皮肤免疫系统中的关键细胞,它可表达 8 种 Toll 样受体(TLR),参与启动固有免疫应答,并可合成与释放多种细胞因子参与免疫调节(如 IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- β 等)。正常状态下,固有免疫系统所包含的细胞,如巨噬细胞、朗格汉斯细胞(Langerhan's cells, LCs)、树突状细胞(dendritic cells, DCs)、自然杀伤(natural killer, NK)细胞等,可以通过 TLR 识别非宿主成分,引起下游炎性细胞因子、趋化因子的表达,以及炎症相关信号通路的改变。而感染 HPV 后,角质形成细胞的固有免疫感受器整体下调,尤其是在病毒感染中发挥重要作用的 TLR9 水平下调,炎性因子 IL-8、IL-18 等表达均降低^[6]。

TLR 表达的改变亦引起 I 型干扰素(IFN- α 和 IFN- β)应答功能的改变^[7, 8]。I 型干扰素应答是固有免疫和获得性免疫之间的桥梁,它不仅参与调控细胞各项生理功能,抑制病毒感染周期中各时期的病毒复制,发挥抗病毒作用,同时 IFN 本身可以上调细胞因子、趋化因子表达,调节各种影响免疫细胞激活、生长、运输的信号分子,激活机体的适应性免疫应答^[9]。干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF)家族由 9 种转录因子组成,参与调节 I 型干扰素系统及宿主防御。Jak/STAT 通路是 I 型 IFN 介导的主要信号转导通路。I 型 IFN 与受体结合后,激活受体胞内部分的 Jak 激酶,磷酸化的 Jak 激活 STAT,后者形成异二聚体(STAT1/STAT2)或同二聚体(STAT1/STAT1)。STAT1/STAT2 可与 IRF9 结合,形成干扰素刺激基因因子 3(interferon stimulated gene factor 3, ISGF3),后者转移至胞核内并与干扰素刺激应答元件(interferon stimulate response element, ISRE)结合,促使相关蛋白的表达。而 STAT1/STAT1 二聚体则直接与胞核内 IFN- γ 刺激基因位点相互作用,调控包括 IRF1 在内的蛋白质表达。IRF1 可结合至 ISRE 特异位点,进一步调节包括抗病毒基因在内的基因转录。IRF2 还对 Jak/STAT 通路有调控作用,可竞争性抑制干扰素刺激基因(interferon stimulated genes, ISGs)的表达。当刺激发生后,IRF2 被活化的 IRF 蛋白取代(通常是 IRF3 或 IRF7,某些细胞内也可以是 IRF1 和 IRF5)。有证据表明,在病毒感染的细胞中,IRF2 被取代后发生降解^[9]。

HPV 感染后可出现 I 型干扰素应答下调。在高危型 HPV 感染的细胞中,E6、E7 蛋白可抑制 STAT1 表达,E7 基因通过与 p48/IRF9 结合,抑制 IFN- α 介

导的信号转导,阻止其向细胞核移行,进而抑制核内 ISGF-3 与 ISRE 结合形成的转录复合物^[7, 10]。HPV E5 蛋白可诱导 IRF1 的表达,IRF1 结合至 IFN- β 启动子,刺激后者转录,但同时 E7 可阻止 IRF1 介导的 IFN- β 启动子的激活^[11]。E6 可能结合至 IRF3 上,抑制其转录活化,进而阻止了 IFN- α mRNA 的转录。E6 还可与 TYK2 结合,阻碍 Jak/STAT 通路活化^[7]。IRF 亦可反向作用于 HPV 病毒基因。如 IRF1、IRF2 可结合至 HPV 病毒启动子的 IFN 应答元件,从而刺激 HPV 病毒基因转录,促进病毒早期蛋白的合成^[12]。

2. HPV 与获得性免疫:(1) HPV 与体液免疫:在大多数 HPV 感染患者的血清中可以检测到针对病毒蛋白的特异性抗体,如在早期感染阶段检测到 L1、E2、E4 抗体。对于高危型 HPV 感染者,病毒 DNA 整合至宿主细胞基因组后,E6、E7 蛋白表达增高,针对其的抗体表达亦增高^[13]。但是这些抗体并不能有效的清除感染者皮损处的病毒,亦不能控制感染的症状。在 HPV 感染者血清中,抗体可以在病毒清除后的数年内仍保持一定效价。(2) HPV 与细胞免疫:细胞介导的免疫反应在清除 HPV 感染皮损处的病毒中发挥重要作用。皮损处可产生 HPV 特异性的 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞,以清除被感染的细胞。长期使用免疫抑制剂的患者以及艾滋病患者的 HPV 感染率明显高于普通人群。组织学研究证实,尖锐湿疣患者皮损处缺乏免疫细胞。皮损处仅有少量 CD8⁺ T 细胞和单核细胞存在于组织间质,而疣体消退时,上皮可见大量 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞浸润,提示 Th1 型反应在控制 HPV 感染中有非常重要的作用^[14]。生殖器部位鳞癌组织病理学亦提示,HPV 感染组患者皮损处 CD4⁺、CD8⁺ 淋巴细胞数量明显高于非感染组,而 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞产生的多种细胞因子也参与了感染引起的免疫反应^[15]。在 HPV 感染相关的疾病,如头颈部鳞癌、宫颈及外阴部鳞癌的患者外周血中,均可检测到大量 HPV 特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)。以上均提示,宿主细胞对于 HPV 感染能产生特异性免疫应答,但是这种免疫应答有时并不能有效地清除感染,而病毒本身亦会干扰宿主免疫应答发挥正常作用,例如 HPV 感染部位 Treg 细胞数量明显增高的现象可能就与局部病毒免疫逃逸机制有关^[13]。

3. HPV 与免疫逃逸:病原体逃避免疫反应的最好途径是不被免疫系统发现。HPV 的复制发生在表皮细胞的基底层,而免疫细胞尤其是树突状细胞对基

底层的监控能力较弱。同时,由于病毒生命周期与表皮细胞分化状态密切相关,在病毒感染的早期,病毒基因在基底层细胞中仅少量复制,在基底层细胞向上移行分化的过程中,病毒基因组的拷贝量才逐渐增多。因此,病毒抗原性最强的晚期蛋白主要在皮肤的表层表达,而此处分布的巨噬细胞等很少,机体的免疫监控作用非常薄弱。

HPV E6、E7 蛋白因阻断 IFN 产生、降低 TLR9 表达和各种细胞因子的产生,而阻断干扰素免疫应答^[16]。高危型 HPV 还能阻碍单核细胞向朗格汉斯细胞分化,抑制 NK 细胞激活^[17]。病毒 E5、E6、E7 蛋白还可下调细胞表面 MHC I 类分子的表达,从而降低 NK 细胞和特异性 CTL 对 HPV 感染细胞的识别^[8]。另外,HPV 感染部位 Treg 细胞数量明显升高,而 Treg 细胞可以抑制 CD4⁺ 细胞和 CTL 的激活、以及细胞因子的产生^[5]。这些都使 HPV 感染部位的病毒得以逃避宿主的免疫监控,进而避免了被宿主免疫系统识别和清除,造成 HPV 感染的持续存在。

三、展 望

HPV 感染可以引起宫颈癌等恶性肿瘤的发生,同时也是引起尖锐湿疣等性传播疾病的发病原因,后者亦是国家疾病控制的重要公共卫生问题。目前已有两种 HPV 疫苗上市,分别为二联疫苗(抗 HPV16、18 型)及四联疫苗(抗 HPV6、11、16、18 型)。近期发表的一项回顾性队列研究表明,在 14~17 岁期间接种四联 HPV 疫苗的少女,其尖锐湿疣及宫颈上皮异性增生的发生率明显降低^[18]。尽管 HPV 疫苗的有效性被证实,但其尚未在全球大范围应用,在我国的上市也面临各种各样的问题。此外,HPV 疫苗在接种条件上亦有较大的限制性,而且因目前仅有 HPV 6、11、16、18 四联疫苗,而引起临床疾病的 HPV 病毒亚型远不止这 4 种基因型,因此疫苗在临床应用中的作用仍值得商榷。目前亦有多联 HPV 疫苗正在二期临床试验中。理解 HPV 感染与宿主免疫机制间的相互影响,将有助于未来在 HPV 相关的临床疾病治疗中开拓更多的新思路和新方法。

参考文献

- 1 Hebner CM, Laimins LA. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity[J]. *Reviews in Medical Virology*, 2006, 16(2): 83-97
- 2 Dimaio D, Petti LM. The E5 proteins[J]. *Virology*, 2013, 445(1-2): 99-114
- 3 Thomas MC, Chiang CM. E6 oncoprotein represses p53-dependent gene activation via inhibition of protein acetylation independently of inducing p53 degradation[J]. *Molecular Cell*, 2005, 17(2): 251-264

- 4 Duensing S, Lee LY, Duensing A, *et al.* The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centrosome duplication from the cell division cycle[J]. *PNAS USA*, 2000, 97(18): 10002-10007
- 5 Deligeorgiou E, Giannouli A, Athanasopoulos N, *et al.* HPV infection: immunological aspects and their utility in future therapy[J]. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2013, 2013: 540850
- 6 Amador-Molina A, Hernandez-Valencia JF, Lamoyi E, *et al.* Role of innate immunity against human papillomavirus (HPV) infections and effect of adjuvants in promoting specific immune response[J]. *Viruses*, 2013, 5(11): 2624-2642
- 7 Stanley MA. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2012, 25(2): 215-222
- 8 Sasagawa T, Takagi H, Makinoda S. Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer[J]. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2012, 18(6): 807-815
- 9 Levy DE, Marie IJ, Durbin J E. Induction and function of type I and III interferon in response to viral infection[J]. *Current Opinion in Virology*, 2011, 1(6): 476-486
- 10 Hong S, Mehta KP, Laimins LA. Suppression of STAT-1 expression by human papillomaviruses is necessary for differentiation-dependent genome amplification and plasmid maintenance[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(18): 9486-9494
- 11 Muto V, Stellacci E, Lamberti AG, *et al.* Human papillomavirus type 16 E5 protein induces expression of beta interferon through interferon regulatory factor 1 in human keratinocytes[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(10): 5070-5080
- 12 Lace MJ, Anson JR, Haugen TH, *et al.* Interferon regulatory factor (IRF)-2 activates the HPV-16 E6-E7 promoter in keratinocytes[J]. *Virology*, 2010, 399(2): 270-279
- 13 Rosales R, Rosales C. Immune therapy for human papillomaviruses-related cancers[J]. *World Journal of Clinical Oncology*, 2014, 5(5): 1002-1019
- 14 Stanley M, Gissmann L, Nardelli-Haeffliger D. Immunobiology of human papillomavirus infection and vaccination - implications for second generation vaccines[J]. *Vaccine*, 2008, 26(Suppl 10): 62-67
- 15 Lohneis P, Boral S, Kaufmann AM, *et al.* Human papilloma virus status of penile squamous cell carcinoma is associated with differences in tumour-infiltrating T lymphocytes[J]. *Virchows Arch*, 2015, 466(3): 323-331
- 16 Richards KH, Doble R, Wasson CW, *et al.* Human papillomavirus E7 oncoprotein increases production of the anti-inflammatory interleukin-18 binding protein in keratinocytes[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(8): 4173-4179
- 17 Iijima N, Goodwin EC, Dimaio D, *et al.* High-risk human papillomavirus E6 inhibits monocyte differentiation to Langerhans cells[J]. *Virology*, 2013, 444(1-2): 257-262
- 18 Smith LM, Strumpf EC, Kaufman JS, *et al.* The early benefits of human papillomavirus vaccination on cervical dysplasia and anogenital warts[J]. *Pediatrics*, 2015, 135(5): 1131-1140

(收稿日期:2015-04-28)

(修回日期:2015-05-20)