

# Papillomaviry — věrní průvodci lidstva

## Ruth Tachezy

Papillomaviry (PV) jsou společně s polyomaviry a adenoviry označovány jako malé DNA nádorové viry (viz Živa 2000, 6: 245–248). Jak už toto označení napovídá, jde o malé viry s kapsidou o velikosti 55 nm, jejichž genom tvoří dvouřetězcová molekula DNA. Tyto viry mají schopnost vyvolat tvorbu nádorů a mechanismus, jakým vyvolávají přeměnu normální buňky v nádorovou, je dnes jedním z nejlépe probádaných. Možná i z toho důvodu, že papillomaviry spolu s viry hepatitidy B a C, virem Epstein-Barrův a lidským T-lymfotropním virem-I a -II jsou příčinou 15–20 % všech nádorových onemocnění u lidí.

### Úvodem trochu historie

Genitální bradavice byly známé lékařům již za Hippokrata (460–377 př. n. l.). Tyto bradavice se v historii označovaly jako condyloma (= okrouhlé zduření) — slovo řeckého původu, nebo tymián (tento název vycházel z podobnosti povrchu bradavic s listem divoce rostoucího tymiánu) a fik. Pojem condyloma, na rozdíl od ostatních názvů, přetrval dodnes. Na konci 19. stol. k němu přibyl termín *accuminatum* a condyloma *accuminatum* je dnes běžně užívané označení pro genitální bradavice.

Bradavice byly vždy spojovány s něčím nečistým, zakázaným a exotickým. Ve starověkém Římě byly považovány za důsledek promiskuity a nepřírozeného (análního) sexu. Ve středověku převládal názor, že všechna genitální onemocnění jsou důsledkem infekce jediným agens a v této souvislosti se mluvívalo o existenci jakéhosi venereckého jedu. A to až do r. 1793, kdy lékař Benjamin Bell definoval syfilitické papulární léze, kapavku a genitální bradavice jako různá onemocnění. I když byl časem opuštěn názor, že genitální bradavice a syfilis je jedno a totéž onemocnění, stále přetrvávala teorie stejného agens vyvolávajícího příznaky kapavky a bradavice. Až objev původce kapavky *Neisseria gonorrhoea* v r. 1879 ukázal, že se genitální bradavice vyskytují u osob, které nejsou infikovány touto bakterií a tudíž musí jít o onemocnění vyvolané jiným agens.

Je s podivem, že ač se o existenci genitálních bradavic vědělo již v dávnověku, nikdy se o nich v lékařských kruzích jednoznačně nemluvívalo jako o sexuálně přenosném onemocnění. Až v 50. letech 20. stol. americký lékař T. J. Barrett ukázal, že se u žen a přítelkyň vojáků vracejících se z korejské války objevují za zhruba 4–6 týdnů po návratu vulvární bradavice a zjistil, že u jejich partnerů se recentně vyskytly bradavice na penisu. Trvalo však několik dalších let, než teorie genitálních bradavic jako sexuálně přenosného onemocnění začala být přijímána širokou lékařskou veřejností. V současnosti jsou genitální bradavice v celosvětovém měřítku nejčastějším virovým sexuálně přenosným onemocněním (STD — sexually transmitted diseases) a jsou uváděny na seznamu STD mnoha zemí.

### Vše se stále mění, jak přibývá údajů

PV byly řazeny původně do r. *Papillomavirus*, který společně s rodem *Polyomavirus*, o jehož zástupcích podrobně pojednával článek J. Forstové (Živa 2001, 5: 197–200), tvořil čel. *Papovaviridae*. Později byly oba rody překlasifikovány na podčeledi *Polyomavirinae* a *Papillomavirinae*. V r. 2000 došlo k rozdělení čeledi *Papovaviridae* na dvě samostatné čeledi: *Polyomaviridae* a *Papillomaviridae*.

### Od klinických projevů k infekčnímu agens

Za první pokus o identifikaci a charakterizaci papillomavirů lze považovat pokus lékaře G. Ciuffa z r. 1907, který si inokuloval na vlastní předloktí hrubý filtrát z bradavic a ukázal tak, že agens, které je vyvolává, je přenosné. Vlastní virová etiologie kožních bradavic byla potvrzena až v r. 1949, kdy byly pomocí elektronové mikroskopie zobrazeny virové částice (partikule) v extraktu z těchto bradavic. Průkaz virových partikulí v genitálních bradavicích byl poprvé proveden pomocí elektronové mikroskopie v r. 1969. Podle vzhledu partikulí se ale různé typy PV nedají odlišit, a proto až metody molekulární biologie, které umožňují analyzovat genom, ve skutečnosti zcela vyvrátily jednotnou virovou etiologii bradavic na různých částech lidského těla.

### Papillomaviry jsou všudypřítomné

PV infikují především vyšší obratlovce, včetně člověka. Dosud byly izolovány z lézí primátů, kopytníků, šelem, mořských savců, hlodavců, ale i z vačnatců a ptáků. U řady dalších živočichů byl nalezen antigen specifický pro PV. Papillomy byly pozorované i u plazů, obojživelníků a ryb, ale dosud z nich nebyly PV izolovány. Papillomatózní projevy však mohou vyvolat i jiná infekční agens (herpesviry, poxviry, spirochety) nebo chemické látky.

PV jsou druhově specifické a přenos mezi druhy nebyl dosud zaznamenán. Kromě toho se vyznačují i striktní tkáňovou specifitou, infikují pouze epitelální buňky kožních a slizničních povrchů. Vý-

sledky studia izolátů PV ze zvířat však napovídají, že ke specializaci PV ve smyslu tkáňového tropismu došlo relativně nedávno. Např. u psa se podařilo izolovat stejný typ PV z papillomů orofaryngu a z kožních bradavic.

Papillomaviry dělíme podle jejich onkogenního potenciálu na nízko (LR) a vysoko (HR) rizikové typy. U lidí vyvolávají tvorbu papillomů a zhoubných nádorů — karcinomů. U zvířat jsou nejčastějším projevem infekce PV kožní papillomy, ale byl zaznamenán i výskyt karcinomu v genitální oblasti. U kopytníků PV vyvolávají též nezhooubné nádory pojivové tkáně — fibromy, fibropapillomy a zhoubné nádory pojivové tkáně — fibrosarkomy.

### Od buňky dole k buňce nahore, aneb životní cyklus papillomavirů

Životní cyklus papillomavirů je spojen s postupným dozráváním epitelálních buněk (obr. 1). Jeho jednotlivé kroky jsou závislé na přítomnosti určitých buněčných složek (faktorů) regulujících přepis genů. Simulace takových kultivačních podmínek je sice možná, ale velmi obtížná a to je též důvodem, proč neexistují tkáňové kultury pro snadné množení PV. Dlouhou dobu byla z těchto důvodů nemožná i příprava antigenu pro sérologickou detekci PV. Až s nástupem metod molekulární biologie došlo k rozvoji sérologických technik průkazu PV, ale stále se tyto techniky využívají pouze pro výzkumné účely.

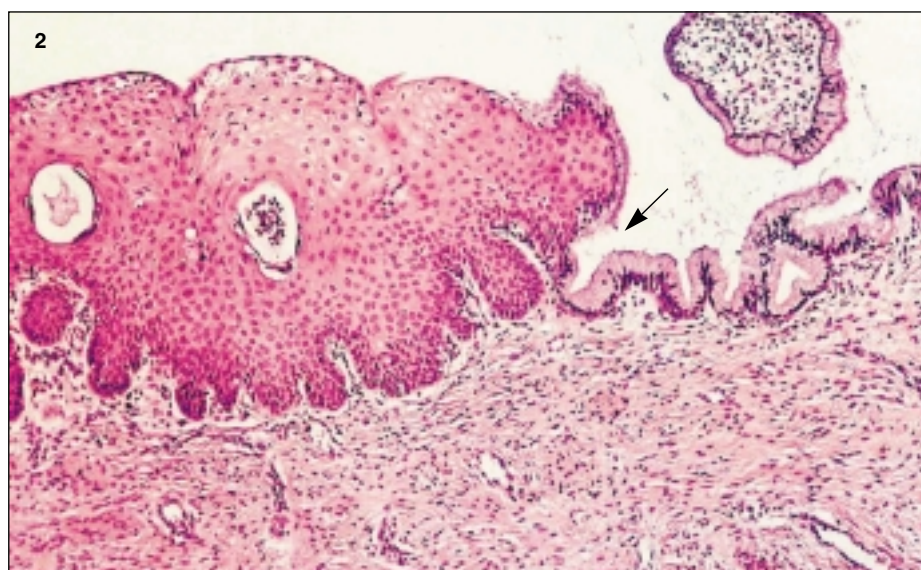
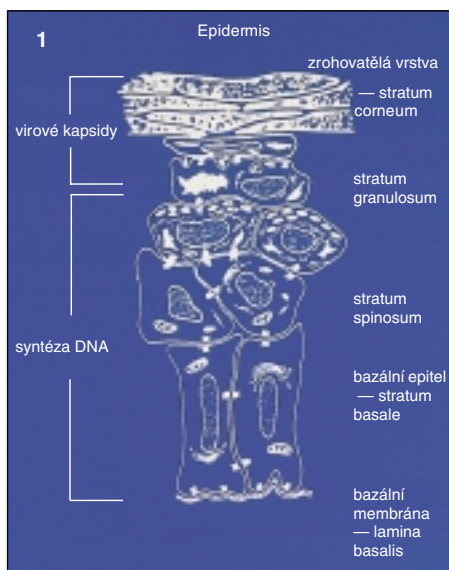
PV infikují výlučně buňky bazální vrstvy epitelu, i když se váží i na jiné buňky. Předpokládá se, že se virus k buňkám bazálního epitelu dostane skrze mikroskopická poranění nebo přímým kontaktem, k jakému dochází nejčastěji v místě tzv. transformační zóny (místo, kde se stýkají dva druhy epitelu — dlaždicový a cylindrický, viz obr. 2). Dosud nebyl jednoznačně identifikován buněčný receptor pro PV, i když se uvažuje o membránovém proteinu syndekanu-1 ze skupiny heparan sulfátových proteoglykanů, které jsou i buněčnými receptory jiných virů.

V bazální vrstvě epitelu dochází k částečné expresi virového genomu, virové partikule se tvoří až ve vrchních vrstvách epitelálních buněk, které již ukončily svůj vývoj. Typickým projevem infekce PV je buňka se zvětšeným jádrem obklopeným světlou zónou, která se nazývá koilocyt. Kompletní virový cyklus provází zánik buňky.

### Bude nalezen lidský papillomavirus typ 200?

První papillomavirus — CRPV (cottontail rabbit papillomavirus) byl popsán v r. 1933 u severoamerických králíků *Sylvilagus floridanus*, u nichž vyvolával papillomatózu. Množství typů PV u jednotlivých živočišných druhů, které dnes známe, odráží úsilí, s jakým je ten který druh studován. U papillomaviru hovězího dobytka (BPV), který může vyvolávat epidemie a způsobovat ekonomické ztráty pro chovatele, známe 6 typů (BPV 1–6). U ostatních druhů zvířat však byly dosud izolovány maximálně dva typy PV (tab. 1).

Nápadná podobnost genitálních a kožních bradavic u lidí byla po dlouhou dobu příčinou tzv. jednotné teorie, která říkala, že všechny bradavice jsou vyvolány infekcí stejným agens. V r. 1979 vyšel článek o obrovské četnosti typů lidských papillomavirů (HPV). V té době jich bylo známo



Obr. 1 Vrstvy diferencujících se epitelálních buněk tvořících pokožku (epidermis) či mukózní povrch ♦ Obr. 2 Transformační zóna na brdle děložním — přechod mezi dlaždicovým a cylindrickým epitelem (označená šipkou). Místo, kde se často nalézají léze vyvolané papillomaviry

pět a pravděpodobně nikdo neočekával, že za 10 let jich bude izolováno více než 60. Dnes je plně charakterizováno 86 typů HPV a potenciálně nových je více než 130.

PV se označují podle druhu hostitele, ze kterého byly izolovány, a pořadovým číslem. Původní systém klasifikace byl založený na porovnání podobnosti jejich genomů při hybridizaci DNA v tekuté fázi, novější systém přijatý v r. 1991 a upravený v r. 1995 dělí izoláty na základě porovnání nukleotidových sekvencí genomů.

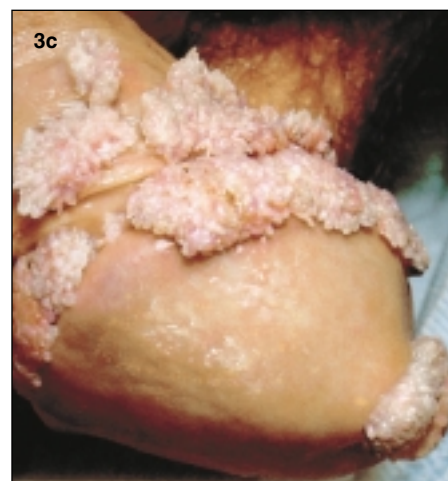
### Virové proteiny a jejich funkce

Kapsidy papillomavirů jsou neobalené a z 90 % je tvoří hlavní strukturální protein



Tab. 1 Papillomaviry (PV) zvířat

Hostitel	Zkratka PV	Onemocnění
šimpanz bonobo ( <i>Pan paniscus</i> )	PCPV 1 (PpPv)	orální epitelální hyperplazie
šimpanz učenlivý ( <i>Pan troglodytes</i> )	PtPV	
makak rhesus ( <i>Macaca mulatta</i> )	RhPV	genitální karcinom
gueréza pláštiková ( <i>Colobus guereza</i> )	CgPV 1 CgPV 2	genitální papillom kožní papillom
tur domácí ( <i>Bos taurus</i> )	BPV 1 BPV 2 BPV 3 BPV 4 BPV 5 BPV 6	kožní fibropapillom -  - kožní papillom ezofageální papillom fibropapillom papillom
ovce domácí ( <i>Ovis aries</i> )	OaPV 1 OaPv 2	kožní papillom -  -
jelen lesní ( <i>Cervus elaphus</i> )	RDPV (CePV)	kožní papillom
sob ( <i>Rangifer tarandus</i> )	RPV (RtPV)	kožní fibropapillom
los ( <i>Alces alces</i> )	EPPV (AaPV)	kožní papillom
jelenc běloocasý ( <i>Odocoileus virginianus</i> )	DPV (OvPV)	-  -
pes domácí ( <i>Canis familiaris</i> )	COPV	orální/kožní papillom
kočka domácí ( <i>Felis catus</i> )	FdPV	kožní papillom
kůň domácí ( <i>Equus caballus</i> )	EQPV (EcPV)	-  -
myška drobná ( <i>Micromys minutus</i> )	MmPV	-  -
krysa mnohobradavková ( <i>Mastomys natalensis</i> )	MnPV	-  -
urzon kanadský ( <i>Erethizon dorsatum</i> )	EdPV	-  -
králík východoamerický ( <i>Sylvilagus floridanus</i> )	CRPV	-  -
králík domácí ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )	ROPV (OcPV)	orální papillom
kusu liščí ( <i>Trichosurus vulpecula</i> )	PPV	kožní papillom
sviňucha obecná ( <i>Phocoena phocoena</i> )	FPV (FcPV)	-  -
papoušek žako ( <i>Psittacus erithacus</i> )	PePV	-  -



Obr. 3a Příčinou onemocnění dutiny ústní — fokální epitelální hyperplazie u šimpanze je papillomavirus PtPV-1 (*Pan troglodytes* PV typ 1), který je blízké příbuzný lidskému HPV 13 vyvolávajícím stejné onemocnění u člověka. Foto Marc Van Ranst ♦ Obr. 3b Bradavice na prstech ruky (*verruca vulgaris*) obvykle způsobené nákazou HPV typu 1 a 2 ♦ Obr. 3c Genitální bradavice (*condylomata accuminata*) na penisu, které jsou nejčastěji vyvolané HPV typem 6 a 11

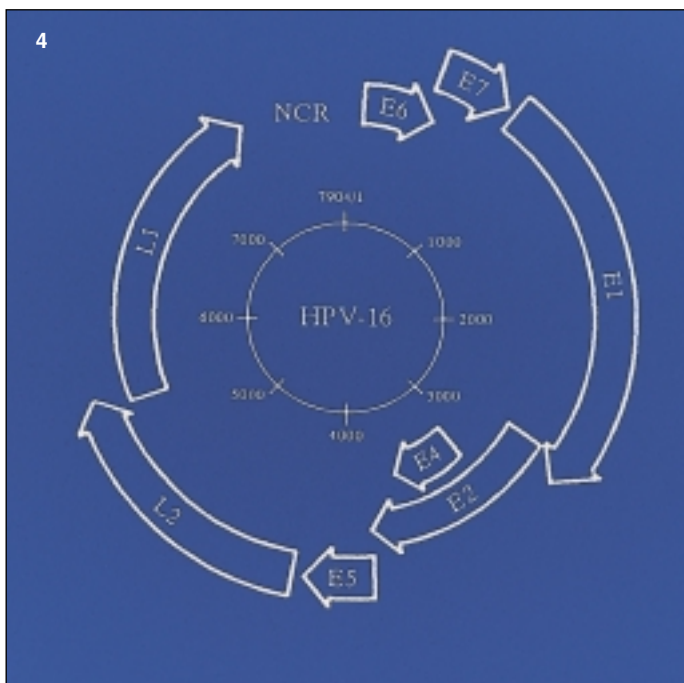
L1. Další stavební složkou virové kapsidy je minoritní strukturální protein L2 (obr. 4). V eukaryotických expresních systémech, které jsou ve výzkumu používány pro přípravu proteinů, se ukázalo, že se L1 protein samovolně uspořádá do kapsid morfologicky neodlišitelných od prázdných virových partikulí (neobsahujících genetický materiál, obr. 5) — tzv. pseudopartikulí. Protein L2, pokud je současně v těchto systémech produkován, ovlivní umístění pseudopartikulí, které pak nacházíme v jádře infikované buňky a ne v cytoplasmě. Poslední výzkumy též naznačují, že L2 protein je nezbytně nutný pro tvorbu infekčních virových partikulí. Virový genom sestává přibližně ze 7 500–8 000 párů bází dlouhé kruhové dvouvláknové DNA (dsDNA), která je uvnitř virové částice vázaná s buněčnými bílkovinami — histony. Tato DNA kóduje, mimo výše uvedené strukturální proteiny (L1 a L2) produkované v pozdní fázi replikačního cyklu (L = late), ještě proteiny časné fáze, kterých může být až 8 (E = early, E1–E8, tab. 2, obr. 4). Všechny geny jsou přepisovány z jednoho řetězce, ale některé kódují více proteinů, neboť mRNA přepsané z těchto genů jsou různým způsobem upravovány. Tím se zvyšuje kódovací kapacita malého virového genomu.

Proteiny časné fáze se uplatňují při replikaci viru, při jeho přežívání v tkáni a při přeměně napadených buněk v nádorové buňky. Hlavní regulační elementy pro replikaci a transkripci virové DNA jsou umístěny v tzv. nekódující oblasti virové DNA (NCR = non-coding region, z této části genomu nejsou překládány žádné proteiny).

#### Jak mění papillomaviry zdravou buňku na nádorovou?

Při vegetativní infekci se genomy PV do genomu buněk nezačleňují. Včlenění PV DNA do genomu buňky se zdá být nezbytné

*Obr. 4 Grafické znázornění organizace genomu lidského papillomaviru HPV-16. Strukturální proteiny L1 a L2 produkované v pozdní fázi replikačního cyklu, proteiny časné fáze E1–E8, NCR — nekódující oblast virové DNA. Podrobně viz text. Orig. archiv autorky*



ným krokem v přeměně zdravé buňky na buňku nádorovou. Tento proces, označovaný jako integrace, je nutný k vyvolání maligní transformace buněk i při infekci jinými viry, i když mechanismus je jiný, a je např. součástí normálního replikačního cyklu některých virů. Při začlenění PV do hostitelského genomu může dojít k přerušení sekvence genu E2, jeho produkt tak v buňkách chybí a neplní svou funkci inhibitoru přepisu genů E6 a E7. Nahromadění produktů genů E6 a E7 má za následek inaktivaci produktů buněčných genů důležitých pro normální dělení buněk a správné fungování kontrolních buněčných mechanismů. Buňky se tedy začnou nekontrolovaně dělit a ztratí schopnost opravovat chyby vznikající při kopírování vlastního genomu, či vzniklé po vnějších zásazích. Tyto chyby — mutace — se hromadí, až dojde k selekci buňky, která se zcela vymkne kontrole a vznikne z ní maligní klon.

Tab. 2 Proteiny časné fáze replikačního cyklu a jejich funkce

Protein	Funkce
E1	zahájení virové replikace
E2	stabilizace proteinu E1 v místě zahájení replikace virové DNA, represor i aktivátor transkripce virové DNA
E3	není známa
E4	napomáhá uvolnění virionů z buňky (vazba na cytoskeleton a jeho rozpad)
E5	hlavní transformační protein některých typů PV hovězího dobytka. U HPV napomáhá při přeměně buňky v nádorovou, ovlivňuje metabolismus receptorů pro epidermální růstový faktor a endotelin
E6	hlavní transformační proteiny lidských papillomavirů jsou vždy produkované v nádorové tkáni, vážou se na buněčné proteiny p53, resp. pRB, které negativně regulují buněčný cyklus; virové proteiny narušují jejich funkci a vytvářejí tím podmínky pro neřízený buněčný růst
E7	

#### Lidské PV vyvolávají nejen úporná, ale též velmi zákeřná onemocnění

HPV vyvolávají nezhoubné nádory, z nichž nejčastější jsou bradavice na rukou a nohou (verruca plana, verruca plantaris a verruca vulgaris) a condylomata accuminata, která se nejčastěji nalézají na vulvě, vagině, hrdle děložním, na penisu a v anální oblasti (obr. 3b–c, ale též v hrтанu — nejčastěji na hrтанové příklopce (epiglottis) a na hlasívkách, kde jsou příčinou úporného onemocnění tzv. rekurentní laryngeální papillomatózy. Endemicky se vyskytujícím onemocněním u Eskymáků a severoamerických indiánů je fokální epitelální hyperplazie (onemocnění dutiny ústní, které se projevuje uzlíkovitými zduřeninami, viz obr. 3a u šimpanze).

Pro odhalení vztahu PV k zhoubnému bujení bylo významných několik objevů. Jedním z nich bylo pozorování skupiny P. Rouse, která zjistila vznik nádorů z papillomů u králíků infikovaných králíčím PV (CRPV) při současné konzumaci potravy obsahující chemické kancerogeny (dehet, metylcholantren). PV byly též zjištěny jako příčina vzniku nejčastějších nádorů pojivové tkáně u koňů, tzv. sarkoidů. U lidí byla zjištěna etiologická role PV u kožního onemocnění epidermodysplasia verruciformis, jehož léze asi u 30 % jedinců přecházejí v karcinom kůže. Objevem, který však především zahájil obrovský nárůst výzkumu PV, byla v r. 1983 izolace PV z karcinomu hrdla děložního. Již v r. 1842 italský lékař D. Rigoni-Stern pozoroval častější výskyt karcinomu dělohy (pravděpodobně spíše hrdla děložního) u vdáných žen a vdov, než u žen bez sexuální zkušenosti. I další pozorování napovídala, že toto onemocnění vyvolává sexuálně přenosné agens. Horkým kandidátem byl lidský herpesvirus typ 2 (HSV-2). V Praze skupina prof. V. Vonky prováděla rozsáhlou studii, která však podala jednoznačný důkaz, že HSV-2 není faktorem vyvolávajícím toto onemocnění (Vonka a spol. 1984, Krčmář a spol. 1986). Rozsáh-

*Obr. 5 Virové kapsidy papillomavirů o velikosti 55 nm na snímku z elektronového mikroskopu. Zřetelně je vidět i několik prázdných kapsid (bez virového genomu). Snímky R. Tachezyové*

