



UPPSALA
UNIVERSITET

Utveckling av livmoderhalscancer kan vara förutbestämt genom ditt genetiska material

Hur HLA molekylernas biologiska samt genetiska
egenskaper påverkar cancerutveckling i livmodern

Tina Sarén

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2013
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Utveckling av livmoderhalscancer kan vara förutbestämt genom ditt genetiska material

Hur HLA molekylernas biologiska samt genetiska egenskaper påverkar cancerutveckling i livmodern

Sarén Tina

Självständigt arbete i biologi 2013

Sammandrag

För att livmoderhalscancer ska uppstå krävs en kronisk högrisk-HPV infektion. En vanligtvis övergående infektion utvecklas till kronisk när HPV viruset lyckas undkomma immunförsvaret och då etablera en så kallad persistent infektion. Detta kan ske genom bland annat upp- eller nedreglering av antigenpresenterande humana leukocyt antigen (HLA) molekyler. Eftersom endast en liten del av de kroniskt infekterade utvecklar livmoderhalscancer måste även andra faktorer spela in och ett exempel är polymorfism i HLA generna. Man har sett att vissa alleler kan förknippas med livmoderhalscancer. En individ med någon av dessa alleler lider högre risk att utveckla cancer än en individ som har en skyddande allel, vilken kan kopplas till personer som inte utvecklar livmoderhalscancer.

Denna översiktsartikel har syftat till att undersöka hur viruset genom att påverka mängden HLA molekyler kan undkomma immunförsvaret. Samt undersöka polymorfism hos HLA generna och hur denna kan bidra till en ökad eller minskad risk att utveckla livmoderhalscancer.

Inledning

Livmoderhalscancer och HPV

Livmoderhalscancer är den tredje mest förekommande cancerformen som drabbar kvinnor världen över (Ferlay *et al.* 2010). Varje år tillkommer ungefär en miljon nya fall och över en fjärdedel av de drabbade dör till följd av cancer per år (Chattopadhyay 2011). Störst är problemet i utvecklingsländer, som står för över 85 % av alla fall (Ferlay *et al.* 2010). Det har visat sig att humant papillomvirus, förkortat HPV, är huvudorsaken till nästan alla (ca 95 %) fall av livmoderhalscancer. Omkring 200 typer av HPV har klassificerats varav ca 15 är så kallade högrisk-HPV (HR-HPV) vilket innebär att var och en av dessa har kunnat kopplas till fall av livmoderhalscancer. Det är med andra ord någon av dessa HR-HPV som i 95 % av alla fall orsakar cancer. (Sasagawa *et al.* 2012). De HPV typer som är vanligast förekommande vid invasiv cancer är 16 och 18 (Sorbe 2013). Livmoderhalscancer karaktäriseras av ett väldefinierat förstadium vars avvikande cellförändringar sträcker sig i ett spektrum från CIN1 till CIN3 där CIN står för cervikal intraepitelial neoplas. CIN1 uttrycker mild ändring hos cellerna medan CIN3 används för att beskriva allvarliga cellförändringar. Förstadiet CIN3 följs sedan av cancer (Woodman *et al.* 2007).

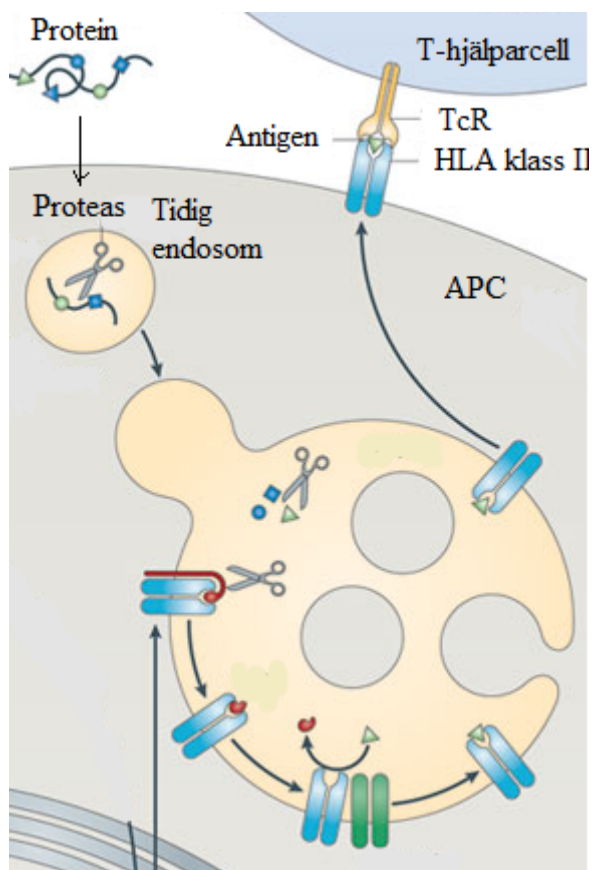
Immunresponsen vid en virusinfektion och vikten av HLA

Immunförsvaret delas upp i två delar, det medfödda och det adaptiva. Det medfödda är ospecifikt och agerar snabbt på ett främmande ämne genom att utsöndra molekyler som startar

en inflammation. Celler som är aktiva i det medfödda immunförsvaret är bland annat makrofager och NK-celler (Natural Killer cells) (de Visser *et al.* 2006).

Det medfödda immunförsvarets agerande aktiverar det mer specifika adaptiva immunförsvaret som består av bland andra T-hjälparceller och T-mördarceller. T-mördarcellernas uppgift är att avlägsna den infekterade cellen medan T-hjälparcellen spelar en roll i aktiveringen av T-mördarcellen (Hibma 2012). T-cellernas förmåga att vara specifika beror på att de har antigenspecifika receptorer (de Visser *et al.* 2006), så kallade T-cellsreceptorer (TcR), där en viss TcR binder till ett specifikt antigen (Armstrong 2008). En stor variation hos TcR gör att T-cellerna kan känna igen ett större spektra av främmande ämnen än det medfödda som endast har en sorts receptor (de Visser *et al.* 2006).

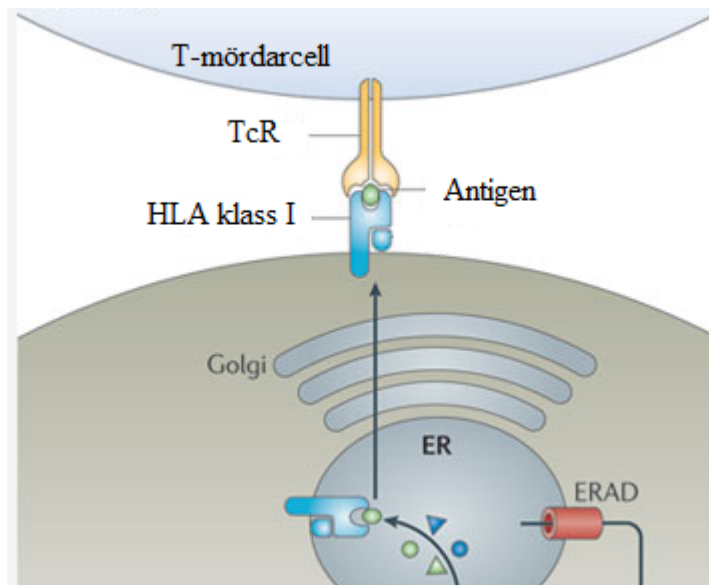
För att avlägsna ett virus är två klasser av HLA molekyler (Human Leucocyte Antigen) viktiga för immunförsvaret (Hildsheim & Wang 2002). Med hjälp av dessa molekyler kommer immunförsvaret i de flesta fall att kunna avlägsna infektionen (Das BC *et al.* 2008), vilket gör att en kronisk infektion inte kan utvecklas och följaktligen inte heller livmoderhalscancer (Zoodma *et al.* 2005).



HLA molekylernas uppgift är att presentera antigen, för kroppen främmande ämnen, för T-cellerna som i sin tur startar en immunrespons vars mål är att avlägsna infektionen (Hildsheim & Wang 2002). I princip alla kroppens celler uttrycker HLA klass I kontinuerligt (Hildsheim & Wang 2002) och dess uppgift är att på sin väg ut till cellmembranet plocka upp fragment av det som produceras i cellen just nu. HLA klass II finns inte hos alla celler utan är specifika för antigenpresenterande celler (APC) (Hibma 2012), det vill säga celler som fagocyterar, till exempel makrofager. HLA klass II kommer till skillnad från HLA klass I, på vägen till cellmembranet, ta upp delar av ämnen från det cellen fagocyterat (Hildsheim & Wang 2002). Fagocyterande celler som patrullerar i kroppen kommer vid en virusinfektion stöta på virus som de attackerar och fagocyterar. HLA klass II molekyler kommer då att få med sig främmande ämnen från det fagocyterade viruset till cellens yta. En specifik T-hjälparcell kommer med hjälp av sin TcR binda till denna HLA klass II molekyl i kombination med det antigen den presenterar (Hildsheim & Wang 2002). Denna T-hjälparcell bestämmer nu vilka T-mördarceller som ska aktiveras (Hibma 2012).

Figur 1. Omritad efter Neefjes m.fl. (2011). Ett protein eller ett virus fagocyteras av en antigen presenterande cell (APC) och en tidig endosom bildas. Det fagocyterade materialet bryts ned till mindre beståndsdelar och binds därefter av en HLA klass II molekyl. Komplexet rör sig därefter till cellmembranet där det presenteras för T-hjälparcellerna som binder via sin TcR (Hildsheim & Wang 2002).

Även T-mördarceller har en specifik TcR som känner igen ett visst antigen. Så de T-mördarceller som känner igen det främmande ämne som T-hjälparcellen stött på kommer då aktiveras. T-



mördarcellerna kommer i sin tur att undersöka cellerna i kroppen och har en förmåga att binda till HLA klass I. Den infekterade cellen kommer med hjälp av sina HLA klass I molekyler själv berätta för T-mördarcellen att den måste elimineras genom att presentera antigen för T-celler (Hildsheim & Wang 2002).

Eftersom båda T-celler har samma TcR behöver de något som gör att de kan skilja på HLA klass I och II. För detta ändamål finns proteinerna CD4 och CD8. CD4 finns bara hos T-

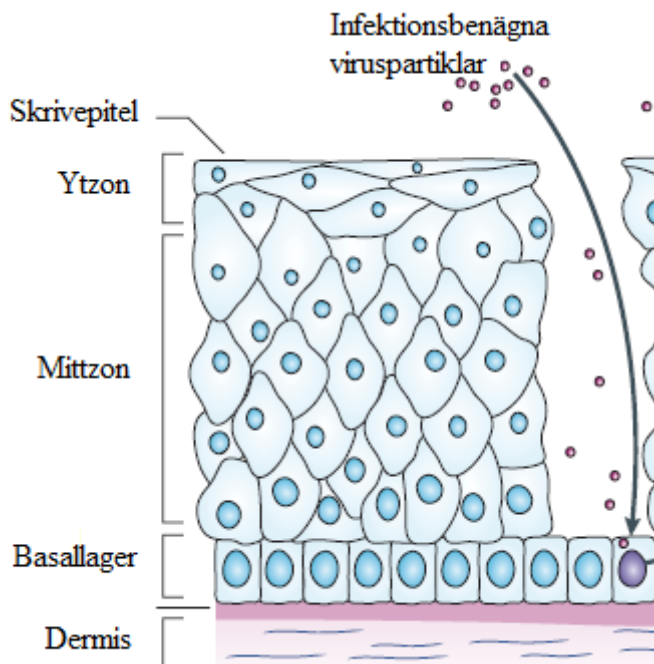
hjälp-cellerna som därför kallas CD4⁺ och CD8 finns bara hos T-mördarcellerna vilket gör att de går under namnet CD8⁺ (Hildsheim & Wang 2002).

Det ovan beskrivna händelseförloppet sker normalt sett när en virusinfektion uppstått och kallas för en positiv immunrespons. Den positiva immunresponsen eliminerar oftast den infekterade cellen. Vissa virus har dock förmågan att komma undan avlägsnandet genom att "gömma" cellen den infekterat för immunförsvaret vilken leder till en kronisk infektion. En kronisk infektion leder till att vävnaden i området inte kan repareras då inflammationen fortsätter, detta kan i sin tur leda till cancer (de Visser *et al.* 2006).

Figur 2. Omritad efter Neeffjes m.fl. (2011). Ett stabilt komplex av HLA klass I med bindande peptid transporteras från ER (Endoplasmisk retikulum) till cellmembranet via golgiapparaten. Väl på ytan presenterar HLA klass I peptider för T-mördarcellerna som binder till det stabila komplexet via sin T-cells receptor (TcR) (Neeffjes *et al.* 2011).

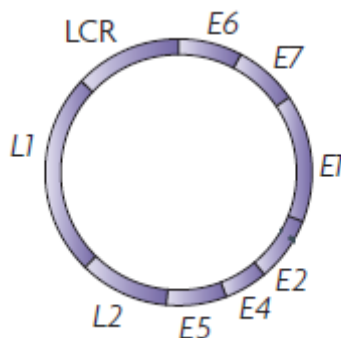
HPV viruset

Viruset överförs sexuellt (Tindle 2002) och infekterar därefter sin nya värd genom att överföra sitt cirkulära dubbelsträngade (ds) DNA (zur Hausen 1996) till keratinocyter. Keratinocyter är celler i epidermis vilket utgör människans yttersta skyddande cellager (Tindle 2002). HPV viruset infekterar keratinocyterna i basallagret vilka är odifferentierade och virusets transkription är sedan kopplad till hur keratinocyterna senare differentierar (Tindle 2002). Keratinocyterna som finns i basallagret kommer röra sig utåt mot ytzonen och kommer på sin väg att differentieras. De migrerande cellerna ersätts av likadana celler som bildats från stamceller i underliggande lager. När cellerna förflyttas mot ytan kommer förändringar i deras genuttryck att ske vilket resulterar i en högre keratinproduktion. Med mer keratin kommer cellerna att kunna fungera som en skyddande barriär mot omgivande stress, exempelvis i form av virus. Det finns följaktligen två former av keratinocyter i epidermis, de odifferentierade i basallagret och de som har en ökad keratinproduktion (Blanpain & Fuchs 2009). HPV tros kunna nå keratinocyterna i basalmembranet via områden där epidermis är nött, vilket kan vara vid ett sår (Woodman *et al.* 2007).



Figur 3. Omritad efter Woodman m.fl. (2009). Epidermis består av skrivepitel, ytton, mittzon och basallager. Det utgör en barriär på kroppens yta som skyddar mot yttre stress som exempelvis en virusinfektion. HPV viruset infekterar keratinocyter som finns i epidermis basallager. Om ett sår uppstår kommer inget stå emellan viruset och dess mål, nu kan en infektion ske.

Väl inne i cellen etablerar sig det cirkulära DNA:t i värdcellens kärna och börjar där transkribera sina tidigt uttryckta gener (Woodman *et al.* 2007). Värt att nämna är att HPV virusets DNA även kan integreras i värdcellens genom och det anses vara ett viktigt steg i transformationen från en frisk cell till en tumörcell (Badaracco *et al.* 2002). Detta sker dock inte under virusets normala livscykel då virusets genom förekommer i episomal form (Kadaja *et al.* 2009), där en episom är ärvt material som kan replikeras självständigt (Woodman *et al.* 2007).



Figur 4. Omritad efter Woodman m.fl. (2007). Figuren visar HPV-virusets cirkulära dubbelsträngade DNA vilket även kallas episom. En episom är ärvt material som kan replikeras självständigt (Woodman *et al.* 2007). Genomet kodar för sex tidigt uttryckta protein (E1, E2, E4, E5, E6 samt E7) och även två senare uttryckta protein (L1 och L2) (Tindle 2002). LCR är regleringsregionen för genomet (zur Hausen 1996).

En rad olika åtgärder krävs nu från viruset för att cellen den infekterat ska överleva. En av de viktigaste delarna i detta är att undkomma immunförsvaret, vilket kräver att en del åtgärder och ändringar i cellen sker. För att inte upptäckas av T-hjälparcellerna undviker virusen bland annat att infektera APC-celler och lyserar heller inte den infekterade cellen. Detta leder till att få antigen kommer kunna presenteras av HLA klass II (Tindle 2002). HLA klass I som finns hos nästan alla kroppens celler kan inte undvikas av viruset.

HPV virusets genom kodar för en rad proteiner som bland annat hjälper viruset att undvika immunförsvaret. De tidiga proteinerna är E1, E2, E4, E5, E6 samt E7 där E står för engelskans early. L1 och L2 är senare uttryckta proteiner som främst har strukturella funktioner i bildandet av ett virus. För upprätthållande av den infekterade cellen är den reglerande funktionen hos de tidiga proteinerna viktig (zur Hausen 1996). Som tidigare

nämnts följer transkriptionen av virusets gener keratinocyternas differentiering. Detta innebär att de tidigt uttryckta generna kommer transkriberas när keratinocyterna är odifferentierade, alltså när de finns i basallagret. De senare uttryckta proteinerna kommer att bildas när värdkeratinocyten differentierats (Blapain & Fuchs 2009).

E6 och E7 är onkogenerna hos HPV, det är alltså de gener som bidrar till utvecklingen av cancer (zur Hausen 1996) genom att främja utvecklingen av transformerade celler (Moody & Laimins 2010). Vanligtvis kommer skador på en cells DNA tas an av de så kallade tumörsuppressorgenerna p53 och RB. Vid en mindre skada på en cells genom ökar mängden p53 vilket leder till en paus vid celldelningen där DNA:t kan repareras. Större skador som cellen inte kan reparera leder vanligtvis till att cellen genomgår apoptos, celldöd. Vid en HR-HPV infektion inaktiverar E6 och E7 supressormolekylerna vilket leder till en okontrollerad tillväxt samt formering av abnorma celler som inte avlägsnas (Ferenczy & Franco 2002). Att onkogenerna motverkar apoptos och främjar celldelning kommer leda till att det ansamlas celler med DNA-skador, som inte hinner repareras, samt mutationer. Detta kommer att resultera i transformerade tumörceller som kan leda till utveckling av cancer (Moody & Laimins 2010).

För att övergången till linjär form ska vara möjlig måste virusets DNA klyvas i E2 regionen. E2 reglerar uttrycket av E6 och E7 och en inkorporering av virusets genom i värdcellens kommer innebära att den regleringen förloras. Onkogenerna kan nu uttryckas okontrollerat vilket resulterar i tumörceller (Tindle 2002).

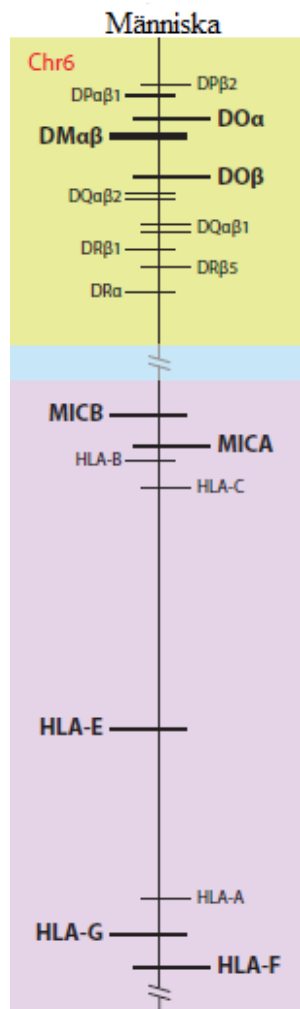
Rollen av HLA i utveckling av livmoderhalscancer

En HPV-infektion är oftast övergående vilket innebär att kroppen gör sig av med viruset själv, 70-90 % av alla infekterade gör sig av med viruset naturligt (Das BC 2008). Man har kunnat påvisa att en nedreglering av HLA klass I vid infektioner av HPV 16 gör att viruset lättare kan undkomma immunförsvaret och då leda till ökad risk för att utveckla cancer genom att en kronisk infektion bildas (Li *et al.* 2010). Färre eller helt avsaknad av HLA klass I hos en cell kan dock kännas igen av NK-celler som i sin tur avlägsnar den (Hildsheim & Wang 2002).

Av de som infekteras av HR-HPV kommer endast 3 % utveckla livmoderhalscancer, vilket visar att det krävs mer än en HPV infektion för att cancerutveckling ska ta form. Detta betyder alltså att förändringar som nedreglering av klass I HLA i cellen vid en HPV-infektion inte är tillräckliga för att livmoderhalscancer ska uppkomma. Andra faktorer spelar in och ökar risken för cancer (Carter *et al.* 2013). Exempel på sådana faktorer kan vara miljöfaktorer, som rökning (Castro *et al.* 2009), världens genetik samt immunförsvarsproblem (Carter *et al.* 2013).

HLA klass I inkluderar generna HLA-A, B samt C medan klass II innehåller DR, DQ och DP generna (Chattopadhyay 2011). Det finns även ett antal HLA gener som inte hör till någon av klasserna, HLA-E, F och G men som liknar HLA klass I. Att ha flera gener som kodar för HLA molekyler bidrar till effektiv bindning av antigen. Tillsammans med polymorfismen leder detta till att ett bredare spektra av antigen kan bindas. Om en gen har hög polymorfism betyder det att det finns många olika allelvarianter av genen. Att HLA klass I består av tre gener leder till att om en individ har olika alleler vid alla tre loci (Heterozygot) på de två kromosomerna uttrycks sex olika molekyler, vilka skiljer sig med avseende på bindning

(Hildesheim & Wang 2002). Alla HLA gener har en gemensam nämnare vilket är att de uttrycks som glykoproteiner (Adams *et al.* 2013).



Figur 5. Omritad efter Adams m.fl. (2013). Bilden visar organisationen av HLA loci som finns på kromosom 6 hos människan. Oklassificerade samt HLA liknande gener är markerade i fet stil (Adams *et al.* 2013).

I limegrönt kan man se HLA klass II generna vilka är DR, DQ samt DP (Chattopadhyay 2011).

I den nedre lila delen av bilden finns generna tillhörande klass I, vilka är HLA-A, B och C. De oklassificerade men klass I liknande generna HLA-E, F samt G kan också finnas här (Adams *et al.* 2013).

De fetstilta som inte nämnts är andra ickeklassificerade eller HLA liknande gener som inte kommer att tas upp här (Adams *et al.* 2013).

Forskare tror att om man har HLA molekyler som binder till HPV antigen med hög affinitet kommer detta ha en skyddande effekt mot sjukdomen och om man har en variant som binder med låg affinitet kommer det öka risken för sjukdom (Holdesheim & Wang 2002).

Det som skiljer de klass I liknande HLA generna från de tillhörande klass I är dels förmågan att binda till och presentera antigen men även att de klass I liknande inte är lika polymorfa. HLA-E binder till peptider som har sitt ursprung från den så kallade "leader region" från HLA klass I. HLA-E och peptiden formar då ett stabilt komplex som kan sätta sig på cellens yta. Väl på cellytan ger komplexet inhibitoriska signaler till cytotoxiska celler som NK-celler för att de inte ska eliminera den fungerande cellen. Om HLA klass I saknas, vilket kan vara fallet hos virusinfekterad cell såväl som hos en tumörcell, kan inte HLA-E bilda ett stabilt komplex och kommer inte visas på cellytan. Immunförsvarets celler blir nu inte längre bortstötta från cellen utan eliminerar den infekterade cellen (Adams *et al.* 2013).

HLA-G fungerar såväl som HLA-E som ligand till de inhibitoriska receptorerna som finns på bland annat NK- samt T-cellernas yttre (Adams *et al.* 2013). Dessa inhibitoriska effekter är nödvändiga vid en graviditet, då HLA-G förhindrar att fostret slås ut av moderns immunförsvaret. Detta kan ske på grund av att de första cellerna som differentierar från det

befruktade ägget, trofoblasterna, inte uttrycker HLA klass I vilket skulle göra de till mål för NK-celler (Adams *et al.* 2013). HLA-G är dock sparsamt uttryckt i normala celler men kan uppregleras vid en virusinfektion som HPV (Gobin *et al.* 1999). Om HLA-G uttrycks kommer NK-cellerna inte att eliminera den infekterade cellen med nedreglerad HLA klass I (Hibma 2012).

Både HLA-E samt G har antigenbindande egenskaper. Hos HLA-F har man dock inte kunnat påvisa en sådan förmåga (Gobin *et al.* 2000).

HLA molekyler har en viktig roll i avlägsnandet av en HPV-infektion samt i utvecklingen av livmoderhalscancer. Jag har därför valt att undersöka vilka biologiska och genetiska egenskaper hos HLA som kan leda till livmoderhalscancer genom att undersöka reglering och polymorfism hos HLA.

Nedreglering av HLA klass I vid en HPV-infektion

Som tidigare nämnts måste viruset ta till andra medel än att undvika HLA klass I för att undkomma immunförsvaret, då det uttrycks kontinuerligt (Hildesheim & Wang 2002) hos nästan alla kroppens celler. För att kunna undvika en positiv immunrespons, till följd av presenterande av antigen på cellytan är de tidigt uttryckta proteinerna viktiga. Detta på grund av deras reglerande egenskaper (zur Hausen 1996).

HPV 16 och dess E5 protein

I en studie som utfördes av Campo m.fl. ville man se om det tidigt uttryckta E5 proteinet (zur Hausen 1996) bidrar till nedreglering av HLA klass I (Campo MS *et al.* 2010). Experimentet visade att hos celler där E5 var uttryckt uppvisades färre HLA klass I molekyler på cellytan än normalt. Molekylerna hölls istället kvar i golgiapparaten (Campo *et al.* 2010) där E5 finns (zur Hausen 1996). När man nu hade visat att E5 kan nedreglera HLA klass I ville man se om nedregleringen påverkade T-mördarcellernas aktivitet. Det visade sig att aktiviteten minskade när både HLA-A (tillhörande klass I) och E5 uttrycktes (Campo *et al.* 2010).

Det ovan styrks även av ett annat experiment som utfördes av Campo m.fl. där det fastställdes att en fysisk interaktion mellan E5 proteinet och HLA klass I fanns. Man kunde även fastställa att det var just den interaktionen som ledde till en nedreglering av klass I molekylerna. (Campo *et al.* 2006)

Inverkan av HPV 16 E7 protein på nedregleringen av HLA klass I

Li m.fl. kunde visa att förekomsten av E7 i en cell kan ge upphov till en femtioprocentig minskning av HLA klass I på cellmembranet jämfört med en cell som inte har E7 närvarande (Li *et al.* 2010) Ytterligare en undersökning visade också att E7 proteinet från HPV 16 och även 18 bidrar till nedreglering av HLA klass I. Som kontroll reducerades E7 proteinet vilket resulterade i en ökning av HLA klass I igen (Botley *et al.* 2008). Nedreglering av HLA klass I leder till att NK-celler nu känner igen den infekterade cellen och eliminerar denna (Hildesheim & Wang 2002). Därför kan tumörceller i kombination med nedreglering av HLA

klass I uppreglera HLA-G som motverkar NK-cellerna cytotoxiska effekt. Detta gör att infekterade celler inte kommer kunna tas bort av NK-celler (Adams *et al.* 2013).

Uppreglering av HLA-G hos patienter med livmoderhalscancer

Forskare har kunnat visa att det sker ett ökat uttryck av HLA-G hos patienter med ett förstadium såväl som utvecklad cancer jämfört med hos friska kontrollpatienter. Dong m.fl. kunde visa att mängden HLA-G ökar för varje steg i förstadiet till cancer. Det visade sig även att patienter som utvecklat livmoderhalscancer har mer HLA-G än något förstadium har (Dong *et al.* 2010).

Rodríguez m.fl. undersökte bland annat förekomsten av HLA klass I samt HLA-G hos cancerpatienter för att se om förändring i uttryck av dessa gener hjälper HPV-viruset att undkomma immunförsvaret. I denna studie kunde man visa att det finns ett samband mellan nedreglering eller total förlust av HLA klass I och uppreglering av HLA-G hos patienter med cancer (Rodríguez *et al.* 2012).

Att HLA-G mängden ökar hos såväl patienter i ett förstadium som hos patienter med utvecklad cancer kan styrkas ytterligare av studien Li m.fl. utförde. I experimentet deltog friska personer med normal livmoderhalsvävnad, personer i ett förstadium till att utveckla cancer samt patienter med livmoderhalscancer. Undersökningen visade att HLA-G mängden är större vid en skivepitelskada än i normal vävnad. Man kunde även fastställa att ju allvarligare grad av cancer desto mer HLA-G uttrycks (Li *et al.* 2012).

Påverkan på NK- och T-celler

Dong m.fl. kunde även visa att ökningen av HLA-G resulterade i en sämre immunrespons vid en virusinfektion (Dong *et al.* 2010). Detta har även påvisats i en tidigare studie av Riteau m.fl. som utfördes 2001. Undersökningen visar att HLA-G har en inhibitorisk effekt på T-mördarceller. Man kunde visa att den sämre effektiviteten hos T-mördarcellerna berodde på en ökad mängd HLA-G på cellmembranet och inte nedreglering i peptidpresentation (HLA klass I). Detta gör att HLA-G förstör den positiva immunresponsen som uppkommer när CD8⁺ cellen med hjälp av sin TcR känner igen HLA klass I med presenterat antigen. Man kunde även se att ökad mängd HLA-G ledde till minskad aktivitet hos NK-celler (Riteau *et al.* 2001).

Att mängden HLA-G påverkar NK-cellernas förmåga till cytolys, det vill säga att ta död på en annan cell, har även visats av Chen m.fl. i en nyare studie. I försöket undersökte man NK-cellernas förmåga till cytolys på celler som uttryckte olika proportioner av HLA-G. Olika proportioner erhöles genom att HLA-G negativa celler blandades med HLA-G positiva (vilka räknades som 100% HLA-G uttryckt). Celler med HLA-G uttryckt fick sedan växa i ett medium tillsammans med NK-celler. Man kunde se att NK-cellernas cytolysförmåga påverkades till det sämre när proportionen av HLA-G uttryckt var över 60 % (Chen *et al.* 2013). Detta gör att den virusinfekterade cellen kan undkomma immunförsvaret och fortsätta dela sig.

Regleringen av HLA-G

Eftersom tumörceller ofta har en nedreglering av HLA klass I i kombination med uppreglering av HLA-G kan man tänka sig att dessa händelser hänger ihop. HLA-G uttrycks begränsat hos kroppens celler och hittas framförallt hos trofoblasterna. Trofoblasterna uttrycker inget HLA klass I men uttrycker HLA-G vilket tyder på en nära transkriptionell kontroll mellan dessa gener (Gobin *et al.* 1999).

Transkriptionen av HLA-E samt F regleras på ett liknande sätt som för HLA klass I. Man har dock inte kunnat visa att HLA-G använder sig av någon av de komponenterna, som övriga HLA klass I samt klass I liknande generna gör, för att reglera sin transkription. Gobin m.fl. försökte då se om de kunde hitta någon annan reglerande sekvens som kunde förklara trofoblasternas specifika uttryck av HLA-G. Ingen sekvens kunde dock hittas vilket indikerar att transkriptionsregleringen för HLA-G är unik bland alla klass I samt klass I liknande gener (Gobin *et al.* 1999).

HLA och polymorfism

Som nämnts tidigare krävs inte bara en HR-HPV infektion för att en utveckling av livmoderhalscancer ska ske, även genetiska faktorer kan påverka. Forskarvärlden tittar just nu i huvudsak på hur olika former av HLA generna kan spela en roll vid livmoderhalscancer utveckling. För att se om vissa allelvarianter av HLA generna kan kopplas till livmoderhalscancer har ett stort antal försök inom detta område utförts.

Hypotesen är att på grund av polymorfism i HLA generna kommer olika alleler binda med olika affinitet till HPV antigen (Metcalf *et al.* 2013). Innehavande av en HLA molekyl som binder till virusets antigen med hög affinitet skyddar mot sjukdomen. Medan om man har HLA molekyler som inte känner igen och binder till HPV antigen kommer detta associeras med en ökad risk för sjukdom (Hildesheim & Wang 2002). Detta kan ha en betydande roll i hur en infektion utvecklas från övergående till permanent vilket sedan kan leda till livmoderhalscancer (Metcalf *et al.* 2013).

Polymorfism hos HLA klass I

Färre studier har gjorts på HLA klass I polymorfism och kopplingen till livmoderhalscancer än vad som gjorts för HLA klass II. Anledningen är att metoden som krävs vid utförandet av dessa experiment mer avancerad. Detta har gjort att man först senare kunnat utveckla en teknik för att utföra samma experiment med HLA klass I (Hildesheim *et al.* 2002).

HLA-A samt B

Madeleine m.fl. utförde ett försök för att se om polymorfism hos HLA klass I samt klass II generna har en inverkan på livmoderhalscancer. Man kunde se att allelvarianten HLA-A*0301 samt HLA-B*4402 var associerade med cancer. Dessa två ökade alltså risken för att cancer ska uppkomma men man hittade också en allel tillhörande HLA klass I som har en skyddande effekt, vilken var B*1501 (Madeleine *et al.* 2008).

I en annan studie kunde man visa att haplotypen A*02-B*51 bidrog i försvaret mot en HPV infektion. Men ingen direkt koppling till cancer hittades (Marangon *et al.* 2013).

HLA-C

Experimentet som gjordes av Madeleine m.fl. visade även att genvarianten C*0501 kunde kopplas till livmoderhalscancer. Song m.fl. ville också undersöka hur allelvarianter av HLA-C genen var fördelade mellan friska personer (kontroll) jämfört med patienter som utvecklat en sjukdom till följd av en HPV infektion. Man kunde visa att C*0303 hittades signifikant mer hos patienter som utvecklat en HPV-relaterad sjukdom än hos kontrollgruppen. Däremot kunde man se att de som var infekterade men inte utvecklade sjukdom oftare hade allelen C*01 närvarande vilket visar på skyddande egenskaper (Song *et al.* 2013).

HLA klass II

HLA-D

Det finns tre stycken HLA-D gener vilka är HLA-DB, HLA-DQ samt HLA-DP som alla tillhör HLA klass II (Chattopadhyay 2011). Flera studier har gjorts för att se om det finns något samband mellan polymorfism hos HLA-D och livmoderhalscancer (Ades *et al.* 2008, Castro *et al.* 2009, Jianming *et al.* 2012). Bland annat Jianming m.fl. undersökte detta med fokus på olika alleler av HLA-DQ samt HLA-DB. Man såg att HPV 16 var vanligare hos patienter som utvecklat livmoderhalscancer än hos den friska befolkningen vilket visar att HPV 16 bidrar till cancerutveckling. Man jämförde sedan förekomsten av olika alleler hos de drabbade patienterna med kontrollgruppen, vilka var de friska individerna (Jianming *et al.* 2012). DQB1*0301 samt DRB1*1501 förekommer mer frekvent hos drabbade patienter än hos kontrollgruppen. Dessa alleler visade sig ha en signifikant inverkan på utveckling av livmoderhalscancer (Jianming *et al.* 2012).

Även andra studier har visat att HLA-DRB1*1501 är kopplad till en ökad risk för utveckling av cancer (Castro *et al.* 2009). Castro m.fl. visade att DRB1*1501 var associerad med livmoderhalscancer men att även DRB1*04 var det, antingen var för sig eller i samband med varandra (Castro *et al.* 2009). HLA-DRB1*1501 utgör en ännu större indikator för cancerutveckling om den ingår i en haplotyp med HLA-DRB1*0602 (Castro *et al.* 2009, Kohaar *et al.* 2009)

Andra varianter av HLA-D generna har visat sig ha en skyddande effekt mot HPV-infektion såväl som HPV-relaterad cancer. Kohaar m.fl. har visat att DRB1*13 har en skyddande effekt mot en infektion av HPV och även livmoderhalscancer. Detta har man sett eftersom DRB1*13 oftare förekommer hos friska personer än hos patienter som är i ett förstadium eller hos de som utvecklat cancer. När man kommit fram till detta gjorde man ytterligare ett experiment som visade att DRB1*13 även har en skyddande effekt mot infektion av HPV (Kohaar *et al.* 2009). Att DRB1*13 har en skyddande roll stöds även av andra studier (Castro *et al.* 2009).

Icke klassade HLA gener

HLA-E

Inga associationer har hittats mellan polymorfism i HLA-E genen och HPV-infektion (Ferguson *et al.* 2011).

HLA-G

För att hitta ett eventuellt samband mellan polymorfism i HLA-G genen och HPV-infektion samt utveckling av livmoderhalscancer har ett antal studier gjorts (Simões *et al.* 2009, Ferguson *et al.* 2011, Metcalfe *et al.* 2013). Ferguson m.fl. var några av de som hade för avsikt att undersöka om polymorfism i genen ger olika mottaglighet för viruset, samt se om det har någon betydelse i utvecklingen mot en kronisk HPV-infektion. HLA-G*01:01:08 visade sig vara associerad med en ökad risk för HPV-infektion generellt. Allelen HLA-G*01:01:02 kunde kopplas till en ökad risk att smittas av HPV 16. Bärare av denna allelvariant utvecklade även med större sannolikhet en permanent HPV 16 infektion. Även HLA-G*01:03 associerades med ökad risk för utveckling av kronisk HPV-infektion (Ferguson *et al.* 2011).

Att HLA-G skulle ha någon koppling till permanent HPV-infektion bekräftades dock inte av Metcalfe med flera. Vad gällde HLA-G*01:01:02 kom man i denna studie fram till att den snarare har en skyddande effekt mot HPV-infektion än ökar risken för infektion som Ferguson m.fl. hävdade. Metcalfe m.fl. fann också att HLA-G*01:01:01 kunde ge en större risk för virusinfektionen (Metcalfe *et al.* 2013). Trots att dessa två studier skiljde sig i vissa avseenden är båda överens om att HLA-G polymorfism har en betydelse rörande mottaglighet för en HPV-infektion. Ett annat experiment av Simões m.fl. styrker också HLA-G polymorfismens roll. Då de visar att om man är homozygot för HLA-G*0103 allelen minskar risken för att infekteras av HPV-viruset. Detta kunde man se då allelen förekom mer frekvent hos den friska kontrollgruppen än hos de drabbade (Simões *et al.* 2009).

Hittills har artiklarna som nämnts tagit upp infektion och utvecklandet av kronisk infektion med avseende på olika allelvarianter av HLA-G. Men ingen har tittat på om det finns någon direkt koppling till livmoderhalscancer. Ferguson m.fl. har ägnat sig åt detta (Ferguson *et al.* 2012). De hittade ett samband mellan HLA-G polymorfism och livmoderhalscancer. Man kom fram till att risken att man utvecklar cancer ökar om man är homozygot för allelen G*01:01:02. G*01:01:02 kan göra att man går från ett förstadium av cancer till nästa, mer allvarliga steg (Ferguson *et al.* 2012). Kan tilläggas att man i denna undersökning inte kunde koppla HLA-G polymorfism och HPV-infektion som man tidigare gjort 2011.

Koppling mellan virusmängd, HLA polymorfism samt livmoderhalscancer

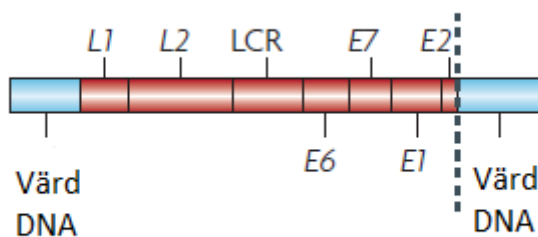
Moberg m.fl. ville undersöka om virusbelastningen, vilken mäts i mängden viralt DNA i det drabbade området (i det här fallet livmodern) vid en viss tidpunkt, ökade risken för utveckling av livmoderhalscancer. Detta gjordes genom en Realtids-PCR (Moberg *et al.* 2004), vilken både detekterar och amplifierar DNA (Dalla Valle *et al.* 2004). De kunde se att ju högre mängd viralt DNA som påvisades i livmodern desto större blev risken för att cancer skulle utvecklas. Detta gällde för HPV 16 där man kunde påvisa en ökad risk för cancer ju högre virusbelastningen var (Moberg *et al.* 2004).

Ett annat forskarlag med Beskow i spetsen ville i sin tur se vad som påverkade virusmängden vilken Moberg m.fl. hade kopplat till utveckling av cancer i livmodern. Man undersökte i

detta fall om olika HLA klass II molekyler kan kopplas till virusbelastningen för några HR-HPV typer (Beskow *et al.* 2005). Resultatet visade att personer med allelen DRB1*1301 har en lägre virusmängd, för de HR-HPV typer som testades, än personer som saknar allelen (Beskow *et al.* 2005). Enligt Moberg m.fl. ska detta då betyda att allelen är skyddande mot livmoderhalscancer genom att ge en lägre virusmängd. Denna skyddande effekt hos DRB1*1301 har kunnat bekräftas av ett flertal studier som undersökt sambandet mellan olika HLA alleler och deras koppling till livmoderhalscancer (Castro *et al.* 2009, Kohaar *et al.* 2009).

Hypotesen som utformats av Metcalf m.fl. indikerar att DRB1*1301 ger upphov till HLA molekyler som binder med hög affinitet till HPV viruset (Metcalf *et al.* 2013). Detta leder i sin tur till en bra presentation av antigen på cellens yta vilket resulterar i en positiv immunrespons och avlägsnande av den infekterade cellen (Adams *et al.* 2013).

Integrering av HPV DNA in i värdens DNA



Figur 6. Omritad efter Woodman m.fl. (2007). Visar integration av HPV virusets DNA i värdcellens genom. Detta leder till att E2 genen förstörs så att dess reglerande effekt går förlorad. E6 samt E7 kan nu uttryckas okontrollerat (Tindle 2002).

HR-HPV genomgår replikation som en episomal molekyl vid en normal cellcykel (Wentzensen *et al.* 2004). Ibland kan dock DNA:t övergå från cirkulär form till linjär. Detta sker sällan och slumpmässigt och leder till inkorporering av virusets DNA i värdcellens. E2 genen förstörs vid inkorporering (Figur 6.), vilket leder till att dess reglering av den virala transkriptionen går förlorad. E6 samt E7 som regleras av E2 kan nu uttryckas okontrollerat då de inte begränsas av negativ feedback reglering (Tindle 2002). Som nämnts tidigare gör onkogenerna E6 samt E7 att cellen transformeras och när dessa nu uttrycks okontrollerat kommer cellen kunna upprätthållas i detta transformerade tillstånd (Tindle 2002), utan att genomgå apoptos (Moody & Laimins 2010).

Badaracco m.fl. ville se ifall en integrering är nödvändig för utvecklandet av en tumör i livmodern. Avsaknaden av E1 och E2 var för sig och tillsammans fungerade som indikator på integrerat DNA. Resultatet för HPV 16 visade att 41,3 % av tumörerna hade integrerat virusets DNA. Denna mängd var inte tillräcklig för att visa att integrering är signifikant för utveckling av cancer. Man hade dock inte tagit hänsyn till närvaro av eventuella episomala former i samma cell. De gjorde då ett nytt försök där man tog hänsyn till detta vilket gav en ökning till 63,3 %. Detta visar att integration inte nödvändigtvis krävs för att tumörceller ska utvecklas men den relativt höga procenten kan ändå indikera att det kan underlätta transformationen från en frisk cell till en tumörcell (Badaracco *et al.* 2002).

Ett liknande försök utfördes för HPV 18. För att en infektion av HPV 18 ska utvecklas till livmoderhalscancer krävs en integrering av DNA:t. Detta kunde man påvisa då 100 % av tumörerna som uppkommit till följd av en HPV 18 infektion hade integrerat DNA i sitt genom (Badaracco *et al.* 2002).

Först sker en integrering av HPV in i cellens genom. I nästa steg kommer episomerna att tappas så cellen endast har integrerat virus DNA. Sådana celler kan finnas i vävnaden länge och kan leda till utvecklingen av cancer (Kadaja *et al.* 2009).

Diskussion

Livmoderhalscancer är en av de vanligaste cancerformerna hos kvinnor i världen (Ferlay *et al.* 2010). Huvudorsaken till cancerutveckling i livmoderhalsen är infektion av HR-HPV (Sasagawa *et al.* 2012) och en kronisk infektion krävs för att cancer ska utvecklas. För att detta ska ske behöver en del förändringar göras i cellen för att undvika immunförsvaret (Tindle 2002), vilket involverar regleringar som virusets tidigt uttryckta gener påverkar (zur Hausen 1996). Jag har genom mina artikelstudier kunnat se att regleringen av de så kallade HLA generna kan användas för att undvika immunförsvaret. Forskare har även sett att polymorfism hos HLA generna påverkar mottaglighet för såväl livmoderhalscancer som en HPV-infektion (Marangon *et al.* 2008, Castro *et al.* 2009, Jianming *et al.* 2012). Detta beror bland annat på att olika alleler ger upphov till HLA molekyler som binder med olika affinitet till antigen (Metcalf *et al.* 2013).

Att undvika immunförsvaret via reglering av HLA

HPV viruset använder sig av sina tidigt uttryckta proteiner för att upprätthålla cellen den infekterat (Tindle 2002), alltså motverka att cellen elimineras av immunförsvaret. De reglerande egenskaperna hos dessa proteiner kan användas för att påverka mängden HLA på olika sätt.

Eftersom HLA klass I finns hos i princip alla kroppens celler (Hildsheim & Wang 2002) kan viruset inte undvika dessa HLA molekyler som man gör med de tillhörande klass II (Tindle 2002). Man har istället sett att en nedreglering av HLA klass I är vanlig i närvaro av de tidigt uttryckta proteinerna E5 samt E7 var för sig (Botley *et al.* 2008, Campo *et al.* 2010, Li *et al.* 2010). Nedreglering av HLA klass I kommer även leda till en nedreglering av HLA-E vilket leder till att den inhibitoriska signalen till immunförsvaret som HLA-E besitter förloras. Den infekterade cellen kommer nu vara ett öppet mål för NK-cellerna som nu inte stöts bort av ett stabilt HLA-E komplex på cellens yta (Adams *et al.* 2013).

För att inte elimineras av NK-cellerna till följd av HLA klass I nedreglering kan viruset uppreglera HLA-G. Dong m.fl. har visat att mängden HLA-G i cellen ökar från CIN1 med lägst mängd till CIN 3 som har högst mängd. De visade även att HLA-G mängden hos cancerceller var högre än hos alla förstadium (Dong *et al.* 2010). Hur denna uppreglering av HLA-G går till är ännu inte fastställt (Gobin *et al.* 1999). Det Riteau m.fl. däremot kunnat konstatera var att HLA-G mängden påverkar NK-cellernas förmåga till cytolys. Men inte nog med det, man visade även att HLA-G har en inhibitorisk effekt på T-mördarcellerna. Detta

gör att uppregleringen av HLA-G bidrar till undkommandet av immunförsvaret på två viktiga plan (Riteau *et al.* 2001).

HLA och polymorfism

Reglering av HLA och följaktligen ett undkommande av immunförsvaret är inte tillräckligt för att cancer ska utvecklas (Carter *et al.* 2013). Andra faktorer spelar in och forskare har sett att polymorfism hos HLA generna kan kopplas till livmoderhalscancer (Madeleine *et al.* 2008). Diversiteten av HLA alleler har gynnat överlevnad evolutionärt. Detta genom att ge möjligheten att binda till och på så sätt kunna presentera ett brett spektra av antigen för T-cellerna. Att vi har flera gener för HLA molekyler bidrar också till effektiv bindning av olika antigen.

Metcalf m.fl. lade fram en hypotes som sa att olika HLA alleler kommer möjliggöra HLA molekyler med skillnad i affinitet till HPV antigen (Metcalf *et al.* 2013). Har man en HLA molekyl som binder till antigen från viruset med hög affinitet får man ett skydd och låg affinitet ger motsatsen (Hildesheim & Wang *et al.* 2013). Flera alleler har kunnat förknippas med en minskad såväl som ökad risk för livmoderhalscancer, framförallt DRB1*1501 med en ökad risk och DRB1*13 med minskad. Hur den bakomliggande mekanismen ser ut vet man dock inte idag (Castro *et al.* 2004). Jag tänker mig att en koppling finns till upp och nedregleringen av HLA. Om HLA klass I nedregleras så att det fortfarande finns en del kvar så borde innehavande av en allelvariant som binder antigen med hög affinitet ändå kunna sätta igång en positiv immunrespons. Medan om man har en allel som ger upphov till en HLA molekyl med sämre affinitet har svårt att avlägsna infektionen i en kombination med nedregleringen.

Virusbelastning och livmoderhalscancer

Moberg m.fl. kom fram till att det fanns ett samband mellan virusbelastning och livmoderhalscancer. En större mängd virus ökade risken för att utveckling av cancer ska ske (Moberg *et al.* 2004). Senare visade Beskow m.fl. att polymorfismen hos HLA klass II gener kan påverka virusbelastningen hos en person (Beskow *et al.* 2005). Man kan tänka sig att detta har med hypotesen Metcalfe m.fl. lagt fram att göra (Metcalf *et al.* 2013). För om en allel ger upphov till en HLA molekyl som binder till antigen med hög affinitet kommer högst troligen en positiv immunrespons initieras. Om molekylen binder med låg affinitet kommer den vara sämre på att presentera antigen för immunförsvaret. En funktionell immunrespons kommer i sin tur kunna avlägsna fler infekterade celler vilket leder till en minskad virusbelastning.

Integrering av HPV viruset

Som nämnts tidigare replikeras HR-HPV i normala fall episomalt (Wentzensen *et al.* 2004), men ibland kan virusets DNA övergå i linjär form, detta sker dock slumpmässigt och sällan och leder till integrering av virusets DNA i värdcellens (Tindle 2002). Integrering har visat sig ha en betydande roll för utveckling av livmoderhalscancer. För att en infektion av HPV 18 ska övergå till cancer är integrering ett måste, vilket Badaracco m.fl. visade genom att 100 % av alla tumörer orsakade av HPV 18 i försöket hade integrerat DNA. Vid tumörer orsakade av HPV 16 hade 63,3 % viralt DNA integrerat detta indikerar att integrering även här har en inverkan på utvecklingen av cancer, men fler studier behövs för att fastställa detta (Badaracco *et al.* 2002).

Som nämndes ovan ger en ökad virusmängd en större risk att utveckla livmoderhalscancer (Moberg *et al.* 2004). Jag tänker mig då att en ökning av episomalt viruellt DNA statistiskt sett kommer att öka risken för att den slumpmässiga integreringen ska ske och på så sätt öka risken för cancerutveckling. Det sker genom att onkogenerna E6 samt E7 vid integrering uttrycks okontrollerat. Det gör att cellen blir fullt transformerad och håller sig i ett transformerat läge eftersom dessa kontinuerligt uttrycks. Detta leder till en abnorm cell som inte genomgår apoptos utan fortsätter leva och dela sig till fler abnorma celler (Ferenczy & Franco 2002).

Sammanfattningsvis kan konstateras att HLA spelar en nyckelroll i utvecklingen av livmoderhalscancer. Reglering av HLA är nödvändig för att HPV viruset ska kunna undvika immunförsvaret och då upprätthållas hos den infekterade individen. Polymorfismen hos HLA bidrar till utveckling av cancer men mekanismen bakom detta behöver studeras vidare. En del i detta skulle kunna vara polymorfismens inverkan på virusmängden som direkt kopplats till livmoderhalscancer. Virusmängden skulle kunna påverka integrering i värdcellens genom och på så sätt bidra till cancerutveckling. Man skulle med vidare forskning i framtiden kunna använda virusbelastningen som en indikator på vilket stadium i utveckling av cancer man är i.

Detta skulle förslagsvis kunna vara en del av sanningen bakom mekanismen men jag är övertygad om att det inte är så enkelt. Vidare forskning för att knyta en HPV infektion till livmoderhalscancer när man tar hänsyn till polymorfism i HLA generna behöver göras.

Tack

Jag skulle vilja rikta ett stort tack till min handledare Martin Svenda för bra vägledning genom arbetet. Vill även tacka mina opponenter Adam Reger och Nicole Loginger för bra opponering.

Referenser

- Adams EJ, Luoma AM. 2013. The Adaptable Major Histocompatibility Complex (MHC) Fold: Structure and Function of Nonclassical and MHC Class I-Like Molecules. *Annual Review of Immunology* **31**: 529-561.
- Ades S, Koushik A, Duarte-Franco E, Mansour N, Arseneaus J, Provencher D, Gilbert L, Gotlieb W, Ferenczy A, Coutlée F, Roger M, Franco EL. 2008. Selected class I and class II HLA alleles and haplotypes and risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *International Journal of Cancer* **122**: 2820-2826.
- Armstrong KM, Piepenbrink KH, Baker BM. 2008. Conformational changes and flexibility in T-cell receptor recognition of peptide-MHC complexes. *Biochemical Journal* **415**: 183-196.
- Ashrafi GH, Haghshenas M, Marchetti B, Campo S. 2006. E5 protein of human papillomavirus 16 downregulates HLA class I and interacts with the heavy chain via its first hydrophobic domain. *International Journal of Cancer* **119**: 2105-2112.

- Badaracco G, Venuti A, Sedati A, Marcante ML. 2002. HPV16 and HPV18 in Genital Tumors: Significantly Different Levels of Viral Integration and Correlation to Tumor Invasiveness. *Journal of Medical Virology* **67**: 574-582.
- Blanpain C, Fuchs E. 2009. Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **10**: 207-217.
- Bottley G, Watherston OG, Hiew YL, Norrild B, Cook GP, Blair GE. 2008. High-risk human papillomavirus E7 expression reduces cell-surface MHC class I molecules and increases susceptibility to natural killer cells. *Oncogene* **27**: 1794-1799.
- Campo MS, Graham SV, Cortese MS, Ashrafi GH, Araibi EH, Dornan ES, Miners K, Nunes C, Man S. 2010. HPV-16 E5 down-regulates expression of surface HLA class I and reduces recognition by CD8 T cells. *Virology* **407**: 137-142.
- Castro FA, Haimila K, Sareneva I, Schmitt M, Lorenzo J, Kunkel N, Kumar R, Försti A, Kjellberg L, Hallmans G, Lethinen M, Hemminki K, Pawlita M. 2009. Association of HLA-DRB1, interleukin-6 and cyclin D1 polymorphisms with cervical cancer in the Swedish population—A candidate gene approach. *International Journal of Cancer* **125**: 1851-1858.
- Chattopadhyay K. 2011. A comprehensive review on host genetic susceptibility to human papillomavirus infection and progression to cervical cancer. *Indian Journal of Human Genetics* **17**: 132-144.
- Chen B-G, Xu D-P, Lin A, Yan W-H. 2013. NK cytotoxicity is dependent on the proportion of HLA-G expression. *Human immunology* **74**: 286-289.
- Chen D, Juko-Pecirep I, Hammaer J, Ivansson E, Enroth S, Gustavsson I, Feuk L, Magnusson PKE, McKay JD, Wilander E, Gyllensten U. 2013. Genome-wide Association Study of Susceptibility Loci for Cervical Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, doi 10.1093/jnci/djt051.
- Dalla Valle L, Toffolo V, Lamprecht M, Maltese C, Bovo G, Belvedere P, Colombo L. 2004. Development of a sensitive and quantitative diagnostic assay for fish nervous necrosis virus based on two-target real-time PCR. *Veterinary Microbiology* **110**: 167-179.
- Das BC, Hussain S, Nasare V, Bhardawaj M. 2008. Prospects and prejudice of human papillomavirus vaccines in India. *Vaccine* **26**: 2669-2679.
- de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. 2006. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nature Reviews Cancer* **6**: 24-37.
- Dong DD, Yang H, Li K, Xu G, Song LH, Fan XL, Jiang XL, Yien SM. 2010. Progression, HPV 16/18 Infection, and Host Immune Response Human Leukocyte Antigen-G (HLA-G) Expression in Cervical Lesions: Association With Cancer **17**: 718-723.
- Ferenczy A, Franco E. 2002. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *The Lancet Oncology* **3**: 11-16.
- Ferguson R, Ramanakumar AV, Richardson H, Tellier PP, Coutlée F, Franco EL, Roger M. 2011. Human leukocyte antigen (HLA)-E and HLA-G polymorphisms in human papillomavirus infection susceptibility and persistence. *Human Immunology* **72**: 337-341.

- Ferguson R, Ramanakumar AV, Koushik A, Coullée F, Franco E, Roger M. 2012. Human leukocyte antigen G polymorphism is associated with an increased risk of invasive cancer of the uterine cervix. *International Journal of Cancer*, 10.1002/ijc.27356.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: <http://globocan.iarc.fr>. Hämtad 2013-11-10.
- Gobin SJP, Evan der Elsen PJ. 1999. The regulation of HLA class I expression: is HLA-G the odd one out?. *Cancer Biology* **9**: 55-59.
- Gobin SJP, van der Elsen PJ. 2000. Transcriptional Regulation of the MHC Class Ib Genes HLA-E, HLA-F, and HLA-G. *Human Immunology* **61**: 1102-1107.
- Hibma MH. 2012. The Immune Response to Papillomavirus During infection. *The Open Virology Journal* **6**: 241-248.
- Hildesheim A, Wang SS. 2002. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. *Virus Research* **89**: 229-240.
- Jianming H, Ling L, Lijuan P, Yunzhao C, Lan Y, Chunxia L, Jin Z, Bing C, Yan Q, Weihua L, Feng L. 2012. HLA-DRB1*1501 and HLA-DQB1*0301 alleles are positively associated with HPV16 infection-related Kazakh esophageal squamous cell carcinoma in Xinjiang Chin. *Cancer Immunology Immunotherapy* **61**: 2135-2141.
- Kadaja M, Isok-Paas H, Laos T, Ustav E, Ustav M. 2009. Mechanism of Genomic Instability in Cells Infected with the High-Risk Human Papillomaviruses. *PLOS Pathogens*, doi 10.1371/journal.ppat.1000397.
- Kohaar I, Hussain S, Thakur N, Tiwari P, Nasare V, Batra S, Singh V, Bhambani S, Das BC, Sarkar DP, Bharadwaj M. 2009. Association between human leukocyte antigen class II alleles and human papillomavirus-mediated cervical cancer in Indian women. *Human Immunology* **70**: 222-229.
- Li W, Deng XM, Wang CX, Zhang X, Zheng GX, Zhang J, Feng JB. 2010. Down-Regulation of HLA Class I Antigen in Human Papillomavirus Type 16 E7 Expressing HaCaT Cells. *International Journal of Gynecological Cancer* **20**: 227-232.
- Li X-J, Zhang X, Lin A, Rua Y-Y, Yan W-H. 2012. Human leukocyte antigen-G (HLA-G) expression in cervical cancer lesions is associated with disease progression. *Human immunology* **73**: 946-949.
- Madeleine MM, Johnson LG, Smith AG. 2008. Comprehensive Analysis of HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, and HLA-DQB1 Loci and Squamous Cell Cervical Cancer Risk. *Cancer Research*. **68**: 3532-3539.
- Marangon AV, Guelsin GAS, Visentainer JEL, Borelli SD, Watanabe MAE, Consolaro MEL, Caleffi-Ferracioli KR, Rudnick CCC, Sell AM. 2013. The Association of the Immune Response Genes to Human Papillomavirus-Related Cervical Disease in a Brazilian Population. *BioMed Research International*, doi <http://dx.doi.org/10.1155/2013/146079>.

- Metcalf S, Roger M, Faucher MC, Coutlée, Franco EL, Brassard P. 2013. The association between human leukocyte antigen (HLA)-G polymorphisms and human papillomavirus (HPV) infection in Inuit women of northern Quebec. *Human Immunology*, doi 10.1016/j.humimm.2013.08.279.
- Moberg M, Gustavsson I, Gyllensten U. 2004. TYPE-SPECIFIC ASSOCIATIONS OF HUMAN PAPILOMAVIRUS LOAD WITH RISK OF DEVELOPING CERVICAL CARCINOMA IN SITU. *International Journal of Cancer* **112**: 854-859.
- Moody CA, Laimins LA. 2010. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature Reviews Cancer* **10**: 550- 560.
- Neefjes J, Jongsma LÖ, Paul P, Bakke O. 2011. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nature Reviews Immunology* **11**: 823-836.
- Riteau B, Rouas-Freiss N, Menier C, Paul P, Dausset J, Carosella ED. 2001. HLA-G2, -G3, and -G4 Isoforms Expressed as Nonmature Cell Surface Glycoproteins Inhibit NK and Antigen-Specific CTL Cytolysis. *The Journal of Immunology* **166**: 5018-5026.
- Rodríguez JA, Galeano L, Palacios DA, Gómez C, Lucía M, Bravo MM, Combata AL. 2012. Altered HLA Class I and HLA-G Expression Is Associated with IL-10 Expression in Patients with Cervical Cancer. *Pathobiology* **79**: 72-83.
- Sasagawa T, Takagi H, Makinoda A. 2012. Immunerespons against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer. *Journal of Infection and Chemotherapy* **18**: 807-815.
- Simões RT, Gonçalves MAG, Castelli EC, Júnior CM, Bettini JSR, Discorde ML, Duarte G, Quintana SM, Simões AL, Moreau P, Carosella ED, Soares EG, Donadi EA. 2009. HLA-G polymorphisms in women with squamous intraepithelial lesions harboring human papillomavirus. *Modern Pathology* **22**: 1075-1082.
- Song MJ, Lee CW, Kim JH, Lee SJ, Kim CJ, Hur SY, Park TC, Kim TG, Park JS. 2013. Association of KIR genes and HLA-C alleles with HPV-related uterine cervical disease in Korean women. *Tissue Antigen* **81**: 164-170.
- Sorbe B. 2013. Cervixcancer. Sorbe B, Frankendal B, Högberg T (red). *Gynekologisk onkologi*, ss. 280-286. Studentlitteratur AB, Lund.
- Tindle RW. 2002. Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer. *Nature Reviews Cancer* **2**: 59-64.
- Woodman CBJ, Collins SI, Young LS. 2007. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nature Reviews Cancer* **7**: 11-22.
- Zoodma M, Schipper M, Oosterom E, van det Steege G, de Vries EGE, te Meerman GJ, van der Zee AGJ. 2005. Association of the entire HLA region in susceptibility for cervical cancer a comprehensive study. *Journal of Medical Genetics*, doi: 10.1136/jmg.2005.031351.
- zur Hausen H. 1996. Papillomavirus infections – A major cause of human cancer. *Biochimica et Biophysica Acta* **1288**: 55-78.

