

## Иммунный ответ организма при индукции и прогрессии рака шейки матки — ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

О.В. Курмышкина<sup>1</sup>, Т.О. Волкова<sup>1</sup>, П.И. Ковчур<sup>1</sup>, И.Е. Бахлаев<sup>1</sup>, Н.Н. Немова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Петрозаводский государственный университет;

<sup>2</sup>Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Карелия

Контакты: Ольга Вадимовна Курмышкина studioza@mail.ru

Вирус папилломы человека (ВПЧ), являющийся главной причиной заболевания раком шейки матки (РШМ), обладает иммуногенными свойствами, т. е. способностью активировать реакции противовирусного иммунитета, как адаптивного ВПЧ-специфического, так и врожденного. По этой причине, несмотря на многочисленные механизмы, выработанные ВПЧ для ускользания от реакций иммунитета, в большинстве случаев организм человека способен элиминировать инфекцию. В то же время развитие РШМ является результатом комплексного действия многих факторов различной природы, среди которых первостепенная роль принадлежит факторам, нарушающим нормальное протекание иммунного ответа.

В настоящем обзоре описаны основные факторы и механизмы, способствующие, с одной стороны, установлению персистирующей ВПЧ-инфекции и прогрессии дисплазии в рак, а с другой — позволяющие опухолевым клеткам РШМ противостоять иммунным реакциям организма. Иммунные нарушения, индуцируемые вирусом и/или опухолевыми клетками, рассматриваются как на местном, так и на системном уровнях. Особое внимание уделяется молекулярным механизмам изменений популяционного состава и функциональной активности лейкоцитов, цитокинового профиля клеток, формирования супрессорного микроокружения опухоли.

**Ключевые слова:** вирус папилломы человека, рак шейки матки, иммуносупрессия, толерантность, цитотоксические Т-клетки, Т-хелперы, регуляторные Т-клетки

### The body's immune response in the induction and progression of cancer of the cervix uteri: possible mechanisms

O.V. Kurmyshkina<sup>1</sup>, T.O. Volkova<sup>1</sup>, P.I. Kovchur<sup>1</sup>, I.E. Bakhlayev<sup>1</sup>, N.N. Nemova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Petrozavodsk State University;

<sup>2</sup>Institute of Biology, Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Karelia

Human papillomavirus (HPV) that is a main cause of cancer of the cervix uteri (CCU) has immunogenic properties, i.e. an ability to activate antiviral immunity responses as adaptive HPV-specific and innate ones. For this reason, despite multiple mechanisms generated by HPV to avoid immunity responses, the human body can eliminate the infection in most cases. At the same time, CCU results from the combined influence of many factors of different nature, among which the factors that impair the normal course of an immune response are of vital importance.

This review describes the major factors and mechanisms, which promote the establishment of persistent HPV infection and the progression of dysplasia to cancer, on the one hand, and allow the tumor cells in CCU to restrict the body's immune reactions, on the other. Immune disorders induced by the virus and/or tumor cells are considered at both local and systemic levels. Particular emphasis is placed on the molecular mechanisms that can change the population composition and functional activity of leukocytes and the cytokine profile of cells and can form the tumor suppressor microenvironment.

**Key words:** human papillomavirus, cancer of the cervix uteri, immunosuppression, tolerance, cytotoxic T cells, helper T cells, regulatory T cells

Согласно статистическим данным Всемирной организации здравоохранения [1], рак шейки матки (РШМ) — второе по встречаемости онкологическое заболевание среди женщин. Особенность данного типа рака состоит в том, что его главным этиологическим фактором является инфицирование клеток базального слоя эпителия шейки матки вирусом папилломы человека (ВПЧ). Интеграция вирусного генома в геном кератиноцитов приводит к нарушению баланса между процессами пролиферации и дифференцировки и индуцирует злокачественную трансформацию

клеток. Однако при попадании в организм человека ВПЧ, как и любой другой вирус, становится мишенью специфического противовирусного иммунитета. Эффективность функционирования естественных механизмов противовирусной защиты подтверждается клиническими данными, согласно которым большая часть нарушений, ассоциированных с ВПЧ-инфекцией, подвергается спонтанной регрессии [2].

Ряд исследований указывает на существование связи между вероятностью развития РШМ и состоянием иммунной системы пациентки. Сегодня эта про-

блема активно изучается с различных сторон. Кроме «внешних» факторов, в целом ослабляющих иммунные реакции, обнаруживаются новые молекулярно-генетические факторы, обуславливающие предрасположенность организма человека к развитию РШМ. Также становятся известны новые механизмы, используемые как вирусом, так и опухолевыми клетками для ускользания от реакций противовирусного/противоопухолевого иммунитета. Тем не менее главная «брешь» в системе иммунной защиты, определяющая вероятность развития РШМ, пока не установлена.

С другой стороны, вирусная природа РШМ, присутствие чужеродных вирусных антигенов на поверхности инфицированных и трансформированных клеток направляют современные исследования на поиск новых, более эффективных методов иммунотерапии данной онкопатологии. Эти методы нацелены на преодоление специфических механизмов маскировки ВПЧ, иммуносупрессии в очаге поражения и иммунологической толерантности к опухолевым клеткам РШМ. Кроме того, определение иммунного статуса пациентки может иметь большое значение в составлении индивидуального прогноза при развитии и прогрессировании заболевания, выборе тактики лечения, дозировки препаратов и т. п. Безусловно, для этого необходимо знать иммунологические маркеры, имеющие прогностическую ценность [3]. Также для внедрения иммунотерапевтических методов должны быть охарактеризованы иммунологические мишени для используемых препаратов.

В настоящем обзоре представлены данные литературы, отражающие современное состояние проблемы взаимодействия ВПЧ и иммунной системы организма человека.

### **Ингибирующее действие ВПЧ на реакции локального иммунитета**

В выявлении ВПЧ-инфекции и иницировании ВПЧ-специфического иммунного ответа ключевую роль играют клетки Лангерганса (КЛ) [4]. Кроме того, сами кератиноциты способствуют осуществлению функций КЛ через секрецию широкого спектра цитокинов и лимфокинов, стимулирующих процессы миграции, активации и созревания КЛ. Тем не менее ВПЧ выработал целый ряд механизмов для уклонения или подавления противовирусного ответа хозяина. Следует отметить, что они в значительной степени отличаются от механизмов, используемых опухолевыми клетками РШМ для ускользания от реакций противоопухолевого иммунитета [5].

Жизненный цикл ВПЧ протекает интраэпителиально по нелинейному пути и не приводит к секреции провоспалительных цитокинов и хемоаттрактантов. Продукция антигенов, их процессинг и презентация ограничены, вирусные белки экспрессируются в малых

количествах и не секретируются в кровь. Более того, синтез высокоиммуногенных капсидных белков происходит исключительно в супрабазальных слоях эпителия, где клетки проходят терминальную стадию дифференцировки и слущиваются, высвобождая зрелые вирусные частицы во внешнюю среду [5]. Таким образом, ВПЧ остается «незамеченным» для системного иммунитета. Помимо этого, ВПЧ способен эффективно подавлять локальные иммунные реакции. ВПЧ-инфицированные кератиноциты перестают секретировать спектр цитокинов и хемоаттрактантов, характерный для нормальных эпителиальных клеток (см. таблицу), в первую очередь фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО  $\alpha$ ) — мощный активатор КЛ, и начинают продуцировать интерлейкин-10 (ИЛ-10), подавляющий функционирование КЛ [6]. Предположительно ВПЧ индуцирует эти изменения путем подавления экспрессии генов Toll-подобных рецепторов (TLRs), прежде всего TLR9, участвующего в первичном распознавании вирусной ДНК и активирующего продукцию провоспалительных цитокинов [7]. Также вирус способен ингибировать экспрессию Е-кадгерина в кератиноцитах, использовать его КЛ для миграции в эпителии [8]. В результате в зоне ВПЧ-инфекции значительно снижается численность данной популяции дендритных клеток. Более того, ВПЧ нарушает проведение активационного сигнала в КЛ [9] и тем самым ингибирует экспрессию адгезионных/костимулирующих молекул (CD86, CD50, CD54, CD11a /18, CD58) на поверхности их мембраны [6]. Презентация антигенов КЛ Т-клеткам в отсутствие костимулирующих сигналов может приводить к развитию Т-клеточной толерантности в отношении ВПЧ [6]. Выявлена также молекулярная мимикрия онкопротеинов вируса под некоторые жизненно важные клеточные белки, например белок XPGC, участвующий в репарации повреждений ДНК [5], что, вероятно, вносит дополнительный вклад в формирование толерантности.

В целом можно сделать заключение, что вирус эволюционно выгодно жестко ограничивать репликацию и экспрессию своего генома, чтобы, с одной стороны, оставаться не заметным иммунитету, а с другой — не приводить к гибели организма хозяина.

Переломным моментом в жизненном цикле вируса является интеграция вирусного генома в геном хозяина и вызванная этим сверхпродукция белков Е6 и Е7. Помимо своего онкогенного действия, эти белки обладают многочисленными иммуносупрессорными свойствами и в итоге приводят к тотальному подавлению специфического противовирусного и затем — противоопухолевого иммунитета в очаге патологии. Например, Е6 и Е7 подавляют передачу сигналов по интерферон  $\alpha$ - (ИФН  $\alpha$ ) зависимому пути, ингибируя экспрессию и активность его компонентов (ИФН  $\alpha$ , STAT-1, -2, IRF-1, -3, -9, Tyk2 и др.) [5, 10]. Онкопротеин Е7 является репрессором генов МНС I класса,

в результате чего в ВПЧ-позитивных опухолевых клетках нарушены реакции процессинга и презентации вирусных и опухоль-ассоциированных антигенов, что делает невозможным распознавание их цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ) [5]. Известно, что опухолевые и/или инфицированные клетки, не имеющие на поверхности МНС I, становятся потенциальными мишенями натуральных киллеров (НК). Однако, как показало исследование T. Garcia-Iglesias et al. [11], экспрессия рецепторов активации на НК-клетках у больных с дисплазией тяжелой степени и РШМ существенно снижена. Молекулярные механизмы подавления цитотоксической активности таких важных эффекторов противоопухолевого иммунитета, как НК-клетки, находятся в процессе изучения. Кроме того, белок E5, обладающий онкогенными свойствами, ингибирует образование комплексов антиген/МНС II класса, подавляя узнавание инфицированных клеток CD4<sup>+</sup> Т-хелперами [5]. Также было обнаружено, что E5 подавляет экспрессию CD1d-молекулы на поверхности кератиноцитов [12], необходимой для презентации РШМ-ассоциированных гликолипидов [13] особой популяции Т-лимфоцитов — НКТ-клеткам, играющим важную роль в развитии противоопухолевого ответа.

Представленная характеристика молекулярных событий не исчерпывает всех механизмов, используемых ВПЧ для подавления реакций врожденного и ВПЧ-специфического иммунитета инфицированного организма.

Несмотря на то что по мере прогрессии неоплазии в очаге патологии все-таки происходит заметное увеличение количества инфильтрирующих ЦТЛ, НК и макрофагов, предполагают, что эти эффекторные клетки приобретают толерантность и становятся анергичными по причине того, что иммунный ответ долгое время развивается в невоспалительной среде и при нарушении условий презентации вирусных антигенов [14].

### Гуморальный ответ на ВПЧ-инфекцию

Согласно современным представлениям, естественные антитела инфицированных пациенток, направленные в основном на белки капсида, не могут рассматриваться в качестве важных и достаточных эффекторов устранения ВПЧ-инфекции и дальнейших нарушений (неоплазии) [15]. Концентрация иммуноглобулина G (IgG) и/или A (IgA) на системном и локальном уровнях не отражает возможности организма элиминировать вирус и не связана с вероятностью спонтанной регрессии дисплазии на ранней стадии заболевания [16, 17]. Это обусловлено тем, что гуморальный ответ развивается относительно медленно (в среднем в течение 8 мес [3]) и только в случае успешной индукции CD4(+)-клеточного ответа. Во многих (до 50 %) случаях инфицирование не приводит к образованию антител [14, 15], что объясняется

особенностями жизненного цикла вируса. Однако оценка уровня антител в плазме крови и в секрете слизистой шейки матки может иметь диагностическое и прогностическое значение при уже развившемся заболевании. Так, у больных с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (ЦИН) и РШМ в периферической крови могут выявляться заметные концентрации антител против капсидного белка L1, а также против E7 [15, 17]. Кроме того, у таких пациенток были обнаружены определенные нарушения локального гуморального ответа на ВПЧ-инфекцию, в частности уменьшение содержания секреторного S-IgA [18] и снижение уровня IgA, специфичного к белку E7 ВПЧ-16 [19].

Таким образом, определение концентрации ВПЧ-специфических антител может играть вспомогательную роль при мониторинге общего состояния иммунитета пациенток. Параллельно необходимо проводить исследование факторов Т-клеточного иммунитета, которое представляется наиболее информативным для выбора стратегии лечения и прогноза, так как различные субпопуляции Т-лимфоцитов являются центральными участниками процессов как элиминации инфекции и спонтанной регрессии ЦИН, так и развития РШМ.

### Роль CD4(+)-/CD8(+)-Т-клеточного иммунитета в борьбе с ВПЧ-инфекцией и РШМ

ВПЧ-специфический CD4(+)-Th1-клеточный ответ, вероятно, играет первостепенную роль в клиренсе ВПЧ. Предположительно именно нарушение CD4(+)-ответа способствует установлению персистирующей ВПЧ-инфекции, а затем и прогрессии дисплазии. При тяжелой степени ЦИН и по мере прогрессии рака наблюдается значительное уменьшение отношения CD4(+)-/CD8(+)-клеток как в очаге патологии [15], так и в периферической крови, в то время как остальные популяции лейкоцитов не претерпевают существенных количественных изменений [20]. Косвенным доказательством главенствующей роли Т-хелперов в защите от ВПЧ-инфекции является высокая частота случаев ЦИН и РШМ у ВИЧ-инфицированных женщин и пациенток с подавленным в результате трансплантации иммунитетом [14, 15]. ВПЧ-специфические CD8(+)-Т-клетки количественно преобладают на всех стадиях заболевания, однако это указывает лишь на наличие длительно персистирующей ВПЧ-инфекции и РШМ, но не на способность к устранению инфекции [21]. Как показали H.J. Bontkes et al. [22], в случае ЦИН I–III степени, несмотря на заметное количество инфильтрирующих CD8(+)-лимфоцитов, лишь незначительная доля этих клеток действительно активирована, чего, по-видимому, недостаточно для индукции процесса естественной регрессии неоплазии.

Тем не менее развитие опухоли, инвазивный рост, усиление экспрессии вирусных онкогенов, взаимодей-

ствии их с профессиональными антиген-презентирующими клетками (АПК) так или иначе индуцирует CD4(+)-иммунитет. Примечательно, что ряд исследователей сообщают о существенном увеличении интенсивности ВПЧ-специфического CD4(+)-ответа в группе пациенток с РШМ по сравнению с данным показателем при ЦИН III степени [21]. Кроме того, по мнению H.J. Bontkes et al. [22], доля активированных ЦТЛ, как правило, выше при инвазивном раке, чем при ЦИН III степени. Эти данные дополняют результаты P.J. de Vos van Steenwijk et al. [23], согласно которым у пациенток с РШМ как в очаге опухоли, так и в регионарных лимфатических узлах присутствуют E6/E7-специфические CD4(+)- и CD8(+)-Т-клетки с широким диапазоном антигенной специфичности, потенциально готовые элиминировать опухолевые клетки.

Большое число исследований посвящено детальному изучению специфичности Т-лимфоцитов у пациенток с персистирующей ВПЧ-инфекцией, ЦИН и РШМ. В частности, были выявлены E2, E6 и E7-ВПЧ-16-специфические ЦТЛ у больных с ВПЧ-инфекцией, тяжелой дисплазией и РШМ; также были обнаружены E6, E7, E2, E5, E4 и L1-ВПЧ-16-специфические CD4(+)-клетки у пациенток с РШМ и у здоровых женщин, справившихся с инфекцией. Однако вопрос о том, какой именно из этих ответов ассоциирован с прогрессией или регрессией заболевания, остается спорным [21, 24].

Несмотря на ряд разночтений, вызванных, по-видимому, особенностями применяемых протоколов экспериментов, фактически все исследователи едины во мнении о том, что Т-клеточные реакции неэффективны в борьбе с прогрессирующим РШМ. Анализ цитокинового профиля указывает на то, что ВПЧ-трансформированные клетки противостоят созданию необходимого провоспалительного микроокружения (см. таблицу), а в отсутствие «правильных» сигналов Т-лимфоциты находятся в функционально неактивном состоянии.

В связи с пониманием первостепенной роли CD4(+)-иммунитета в контроле ВПЧ-инфекции и опухолевого роста сегодня активно исследуются молекулярные механизмы, лежащие в основе его нарушений. Эти нарушения связывают с изменением экспрессии сигналпередающих белков в Т-клетках, в частности с уменьшением уровней TCR- $\alpha$ , CD3- $\epsilon$ , Zap-70, p56lck, PK-C, а также с нарушением процесса транслокации в ядро компонентов NF- $\kappa$ B-сигнального пути (p50, RelA, RelB, c-rel). Перечисленные изменения могут приводить к ингибированию продукции ИЛ-2 и общему подавлению иммунных реакций пациенток с РШМ [25].

### Индукция апоптоза Т-лимфоцитов

Общим механизмом ингибирования противоопухолевого иммунитета является способность раковых

клеток индуцировать апоптоз Т-лимфоцитов. Это показано и для клеток РШМ. Как клеточные линии, так и первичные клетки РШМ экспрессируют CD95L (FasL) и при совместном культивировании с ВПЧ-специфическими ЦТЛ вызывают их апоптоз по CD95-зависимому пути [26]. При гистологическом исследовании образцов ткани РШМ популяция апоптотических клеток была представлена в основном лимфоцитами и лишь незначительным количеством самих опухолевых клеток [27]. В отличие от дисплазии и РШМ, где экспрессия FasL обнаруживается во всех слоях эпителия и увеличивается по мере прогрессирования заболевания, в нормальной ткани экспрессия FasL ограничена только базальным слоем и не наблюдается в супрабазальных слоях более дифференцированных клеток. В связи с этим базальный слой эпителия шейки матки можно назвать иммунным «убежищем» для ВПЧ и ВПЧ-трансформированных клеток [27].

Кроме подверженности апоптозу, для лимфоцитов периферической крови ВПЧ(+)-пациенток с РШМ характерна высокая частота хромосомных aberrаций [28], что, возможно, вносит определенный вклад в подавление иммунных противоопухолевых реакций.

### Регуляторные Т-лимфоциты при РШМ

Сравнительно недавно было установлено, что в крови ВПЧ(+)-пациенток с ЦИН III степени или РШМ возрастает количество регуляторных Т-клеток с фенотипом CD4(+)/CD25(high)/CTLA4(+)/FoxP3(+) [29]. Эта популяция лимфоцитов обладает иммуносупрессорными свойствами — секретирует ИЛ-10, трансформирующий фактор роста  $\beta$  (ТФР  $\beta$ ) и подавляет пролиферацию эффекторных Т-клеток и продукцию ими ИФН  $\gamma$  и ИЛ-2. Как показано в работе S.H. van der Burg et al. [30], Tregs подавляют иммунный ответ не только на опухоль-ассоциированные («собственные»), но и на ВПЧ-специфические антигены. ВПЧ-специфические Tregs также были выявлены в лимфатических узлах больных РШМ и непосредственно в образцах патологической ткани. Высокое содержание регуляторных Т-лимфоцитов в патологической зоне является важным показателем неблагоприятного прогноза [31]. Согласно результатам C. Loddenkemper et al. [32], ВПЧ-ассоциированные нарушения сопровождаются значительно более интенсивной инфильтрацией Tregs, чем меланома, рак легких или рак кишечника. J.W. Molling et al. [33] также была выявлена стойкая взаимосвязь персистирующей ВПЧ-инфекции с увеличением относительного количества регуляторных Т-клеток, однако авторы статьи ставят вопрос о том, является ли повышенное содержание Tregs причиной, обязательным условием прогрессирования неоплазии или только ее следствием.

Высокое содержание регуляторных Т-лимфоцитов в очаге РШМ может быть вызвано не только инфильтрацией естественных Tregs, но и локальной индукцией их дифференцировки из периферических лимфоцитов. В литературе описано несколько подобных механизмов. Один из них связан со способностью клеток РШМ продуцировать ТФР  $\beta$ , который является фактором дифференцировки Tregs [34]. С другой стороны, опухоль-ассоциированные макрофаги, помимо своей ангиогенной активности, секретируют ИЛ-10 и ТФР  $\beta$ , что вызывает дифференцировку регуляторных Т-клеток и развитие опухоли [35, 36]. Наконец, еще один возможный механизм связан с биологией вируса: как было отмечено выше, ВПЧ препятствует созданию провоспалительного микроокружения и активации АПК; в то же время презентация антигенов Т-лимфоцитам незрелыми АПК (в отсутствие коstimулирующих сигналов) приводит к формированию фенотипа Tregs и продукции ИЛ-10 [37]. Тонкие молекулярные механизмы индукции Tregs при ВПЧ-ассоциированных нарушениях являются предметом

активного исследования, так как они определяют эффективность иммунотерапевтических подходов к лечению РШМ [38].

В настоящее время накапливаются данные о генах, полиморфные варианты которых ассоциированы с индивидуальным риском развития РШМ и вероятными характеристиками опухолевого процесса. Как правило, это гены, определяющие функционирование иммунной системы (в первую очередь МНС II класса, а также гены дифференцировочных маркеров лейкоцитов, цитокинов и факторов роста, ферментов с иммунорегуляторной активностью и др.). База данных [39] по генам, вовлеченным в прогрессию ВПЧ-инфекции и канцерогенез, в будущем может помочь не только в решении исследовательских задач, но и в составлении индивидуального прогноза при развитии и прогрессировании заболевания, в подборе комплексной терапии с применением методов гено- и биотерапии РШМ и, как следствие, в повышении безрецидивной и общей выживаемости пациенток.

### ЛИТЕРАТУРА

1. <http://www.who.int/hpvcentre>
2. Castle P.E., Schiffman M., Wheeler C.M. et al. Evidence for frequent regression of cervical intraepithelial neoplasia-grade 2. *Obstet Gynecol* 2009;113(1):18–25.
3. Baseman J.G., Koutsky L.A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005;32(Suppl 1):16–24.
4. Giannini S.L., Hubert P., Doyen J. et al. Influence of the mucosal epithelium microenvironment on Langerhans cells: implications for the development of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Int J Cancer* 2002;97:654–9.
5. Kanodia S., Fahey L.M., Kast W.M. Mechanisms used by human papillomaviruses to escape the host immune response. *Current Cancer Drug Targets* 2007;7:79–89.
6. Mota F., Rayment N., Chong S. et al. The antigen-presenting environment in normal and human papillomavirus (HPV)-related premalignant cervical epithelium. *Clin Exp Immunol* 1999;116(1):33–40.
7. Hasan U.A., Bates E., Takeshita F. et al. TLR9 expression and function is abolished by the cervical cancer-associated human papillomavirus type 16. *J Immunol* 2007;178(5):3186–97.
8. Laurson J., Khan S., Chung R. et al. Epigenetic repression of E-cadherin by human papillomavirus 16 E7 protein. *Carcinogenesis* 2010;31(5):918–26.
9. Fahey L.M., Raff A.B., Da Silva D.M. et al. A major role for the minor capsid protein of human papillomavirus type 16 in immune escape. *J Immunol* 2009;183(10):6151–6.
10. Nees M., Geoghegan J.M., Hyman T. et al. Papillomavirus type 16 oncogenes downregulate expression of interferon-responsive genes and upregulate proliferation-associated and NF- $\kappa$ B-responsive genes in cervical keratinocytes. *J Virol* 2001;75(9):4283–96.
11. Garcia-Iglesias T., Del Toro-Arreola A., Albarran-Somoza B. et al. Low NKp30, NKp46 and NKG2D expression and reduced cytotoxic activity on NK cells in cervical cancer and precursor lesions. *BMC Cancer* 2009;9:186.
12. Miura S., Kawana K., Schust D.J. et al. CD1d, a sentinel molecule bridging innate and adaptive immunity, is downregulated by the human papillomavirus (HPV) E5 protein: a possible mechanism for immune evasion by HPV. *J Virol* 2010;84(22):11614–23.
13. Moro-Rodríguez E., Álvarez-Fernández E. Losses of expression of the antigens A, Lea and Lex and over-expression of Ley in carcinomas and HG-SIL of the uterine cervix. *Diagn Pathol* 2008;3:38.
14. Stanley M.A. Immune responses to human papilloma viruses. *Indian J Med Res* 2009;130:266–76.
15. Frazer I.H. Interaction of human papillomaviruses with the host immune system: A well evolved relationship. *Virology* 2009;384:410–14.
16. Matsumoto K., Yasugi T., Oki A. et al. IgG antibodies to HPV16, 52, 58 and 6 L1-capsids and spontaneous regression of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer Lett* 2006;231(2):309–13.
17. Mbulawa Z.Z., Williamson A.L., Stewart D. et al. Association of serum and mucosal neutralizing antibodies to human papillomavirus type 16 (HPV-16) with HPV-16 infection and cervical disease. *J Gen Virol* 2008;89(Pt 4):910–4.
18. Bard E., Riethmuller D., Meillet D. et al. High-risk papillomavirus infection is associated with altered antibody responses in genital tract: non-specific responses in HPV infection. *Viral Immunol* 2004;17(3):381–9.
19. Nguyen H.H., Broker T.R., Chow L.T. et al. Immune responses to human papillomavirus in genital tract of women with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2005;96(2):452–61.
20. Das S., Karim S., Datta Ray C. et al. Peripheral blood lymphocyte subpopulations in patients with cervical cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2007;98(2):143–6.
21. Steele J.C., Mann C.H., Rookes S. et al. T-cell responses to human papillomavirus type 16 among women with different grades of cervical neoplasia. *Br J Cancer* 2005;93:248–59.
22. Bontkes H.J., de Gruijl T.D., Walboomers J.M. et al. Assessment of cytotoxic T-lymphocyte phenotype using the specific markers granzyme B and TIA-1 in cervical neoplastic lesions. *Br J Cancer* 1997;76(10):1353–60.
23. de Vos van Steenwijk P.J., Heusinkveld M., Ramwadhoebe T.H. et al. An unexpectedly large polyclonal repertoire of HPV-specific T cells is poised for action in patients with

- cervical cancer. *Cancer Res* 2010; 70(7):2707–17.
24. Woo Y.L., van den Hende M., Sterling J.C. et al. A prospective study on the natural course of low-grade squamous intraepithelial lesions and the presence of HPV16, E2-, E6- and E7-specific T-cell responses. *Int J Cancer* 2010; 126(1):133–41.
25. Cheriyan V.T., Krishna S.M., Kumar A. et al. Signaling defects and functional impairment in T-cells from cervical cancer patients. *Cancer Biother Radiopharmaceut* 2009; 24(6):667–74.
26. Contreras D.N., Krammer P.H., Potkul R.K. et al. Cervical cancer cells induce apoptosis of cytotoxic T-lymphocytes. *J Immunother* 2000; 23(1):67–74.
27. Ibrahim R., Frederickson H., Parr A. et al. Expression of FasL in squamous cell carcinomas of the cervix and cervical intraepithelial neoplasia and its role in tumor escape mechanism. *Cancer* 2006; 106(5):1065–77.
28. Alvarez-Rosero R.E., Rodríguez-Argote J., Arboleda-Moreno Y.Y. et al. Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of high-risk HPV-infected women with HGSIL. *Environ Mol Mutagen* 2008; 49(9):688–94.
29. Visser J., Nijman H.W., Hoogenboom B.N. et al. Frequencies and role of regulatory T cells in patients with (pre)malignant cervical neoplasia. *Clin Exp Immunol* 2007; 150(2):199–209.
30. van der Burg S.H., Piersma S.J., de Jong A. et al. Association of cervical cancer with the presence of CD4+ regulatory T cells specific for human papillomavirus antigens. *PNAS* 2007; 104(29):12087–92.
31. Jordanova E.S., Gorter A., Ayachi O. et al. Human leukocyte antigen class I, MHC class I chain-related molecule A, and CD8+/regulatory T-cell ratio: which variable determines survival of cervical cancer patients? *Clin Cancer Res* 2008; 14(7):2028–35.
32. Loddenkemper C., Hoffmann C., Stanke J. et al. Regulatory (FOXP3+) T cells as target for immune therapy of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Cancer Sci* 2009; 100(6):1112–7.
33. Molling J.W., de Gruijl T.D., Glim J. et al. CD4(+)CD25high regulatory T-cell frequency correlates with persistence of human papillomavirus type 16 and T helper cell responses in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2007; 121(8):1749–55.
34. Rao P.E., Petrone A.L., Ponath P.D. Differentiation and expansion of T cells with regulatory function from human peripheral lymphocytes by stimulation in the presence of TGFβ. *J Immunol* 2005; 174(3):1446–55.
35. Hammes L.S., Tekmal R.R., Naud P. et al. Macrophages, inflammation and risk of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) progression — clinicopathological correlation. *Gynecol Oncol* 2007; 105(1):157–65.
36. Bolpetti A., Silva J.S., Villa L.L. et al. Interleukin-10 production by tumor infiltrating macrophages plays a role in Human Papillomavirus 16 tumor growth. *BMC Immunol* 2010; 11:27.
37. Jonuleit H., Schmitt E., Schuler G. et al. Induction of interleukin 10-producing, nonproliferating CD4(+) T cells with regulatory properties by repetitive stimulation with allogeneic immature human dendritic cells. *J Exp Med* 2000; 192(9):1213–22.
38. Jayshree R.S., Sreenivas A., Tessy M. et al. Cell intrinsic and extrinsic factors in cervical carcinogenesis. *Indian J Med Res* 2009; 130:286–95.
39. Agarwal S.M., Raghav D., Singh H. et al. CCDB: a curated database of genes involved in cervix cancer. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(Database issue):975–9.