

NOBELPRISET

I FYSIOLOGI ELLER MEDICIN

2008

Ena hälften till

HARALD ZUR HAUSEN

för hans upptäckt av

”humana papillomvirus som orsakar livmoderhalscancer”

och andra hälften gemensamt till

FRANÇOISE BARRÉ-SINOUSI

och **LUC MONTAGNIER**

för deras upptäckt av

”humant immunbristvirus”

Årets pristagare belönas för sina upptäckter av två olika virus som orsakar allvarliga sjukdomar hos människor. Upptäckterna har det gemensamt att båda har bidragit till att minska mänskligt lidande men kommer här att beskrivas var för sig.

HPV: virus bakom livmoderhalscancer avslöjat

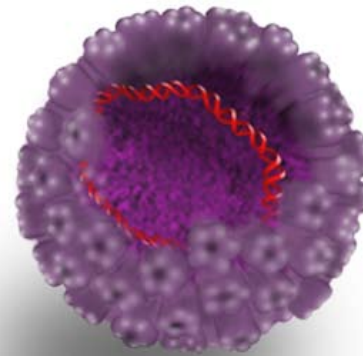
År 1974 postulerade Harald zur Hausen att en kronisk infektion med nya, okända typer av humant papillomvirus, HPV, kan ge upphov till cancer i livmoderhalsen. Han gick därmed emot den förhärskande uppfattningen i forskarsamhället, där man snarare tänkte sig att det var herpes simplex virus som låg bakom. På ett vetenskapligt möte presenterade Harald zur Hausen hur han försökt hitta herpesvirus i tumörer, men att han inte hade lyckats. Han föreslog därför att det kunde vara idé att med samma metod leta efter humant papillomvirus, något som de andra mötesdeltagarna dock var kallsinniga inför.

Han gick ändå vidare och inledde ett flerårigt arbete för att testa sin hypotes. Harald zur Hausen utgick från att tumörcellerna, om de innehöll cancerframkallande virus, borde ha virus-DNA infogat i sin arvsmassa. Där skulle det virala DNA:t kunna finnas under lång tid utan att bilda nya viruspartiklar. För att upptäcka detta virus-DNA konstruerade han

korta, enkelsträngade DNA-bitar som han använde för att försöka "fiska" fram matchande virus-DNA ur tumörcellerna.

Detta är möjligt eftersom de baser som bygger upp arvsmassan bara kan paras ihop på ett speciellt vis: A med T och C med G. Den DNA-sträng som används som bete kan liknas vid ena halvan av ett korbordband, som bara kan hakas ihop med en annan halva av liknande fabrikat.

Denna teknik, där man med hjälp av en viss sekvens av arvs massa vill finna en matchande sekvens, kallas hybridisering.



Humant papillomvirus

HPV bär sin arvs massa i form av en dubbelsträngad, cirkulär DNA-sträng, som skyddas av hölje proteiner. Viruset är 55 nm i diameter.

En tålmodig fiskare

I ett första skede använde Harald zur Hausen korta, enkelsträngade bitar av virus-DNA som han hade utvunnit ur celler från fotvårtor. Man visste att sådana vårtor uppkommer efter en infektion med ett känt HPV-virus.

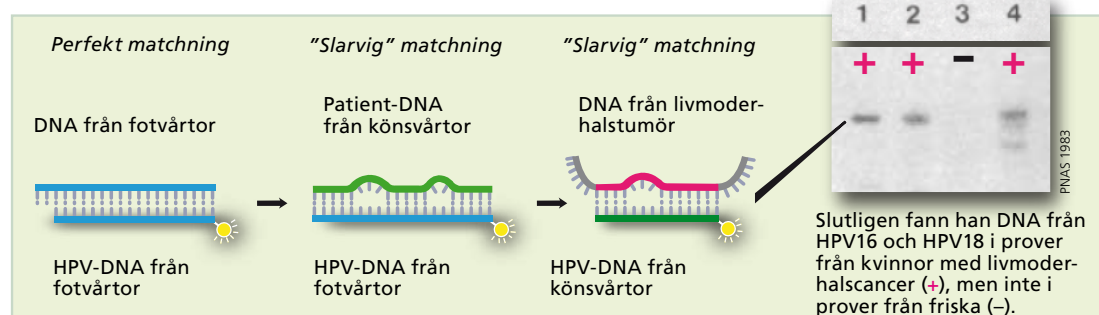
Med dessa "beten" gick det smidigt att plocka fram virusarvs massa ur andra fotvårts celler, ett slags kontroll på att principen fungerade. Det gick också att fånga upp virus-DNA ur vanliga hudvårtor. Men när han med samma beten försökte ta fram okänt HPV-DNA ur celler från genitala vårtor och från livmoderhalstumörer fick han i början inga napp.

Detta metodologiska problem löste han på så vis att han såg till att betet inte behövde passa exakt ihop med det virus-DNA som fanns i cellen. Med en sådan litet "slarvigare" matchning (på engelska: low stringency hybridization) kunde han efter nära tio års arbete fånga upp bitar av tidigare okänt HPV-DNA ur tumörceller från livmoderhalscancer.

År 1983 beskrev han i tidskriften Proceedings of the National Academy of Sciences den första cancerframkallande HPV-varianten, som kallades HPV16. Därefter identifierade han ytterligare en ny HPV-variant ur andra patienters livmoderhalscancer celler, kallad HPV18. Han klonade sedan dessa två cancerframkallande HPV-typer.

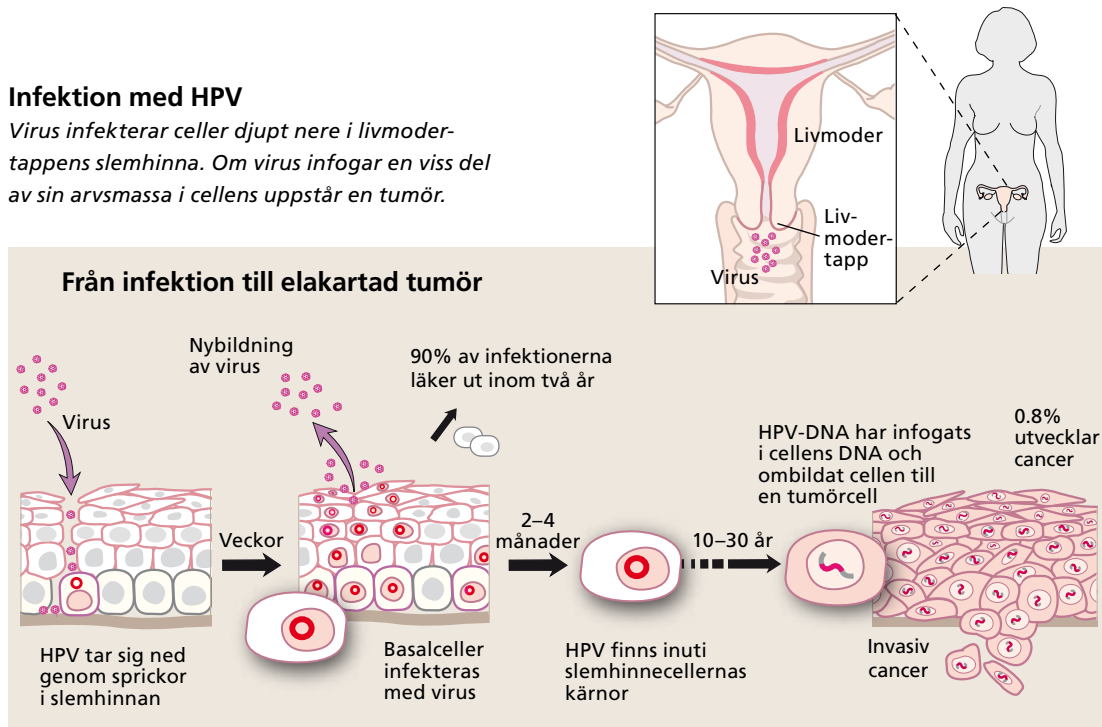
Så här gick det till

Harald zur Hausen arbetade i tio år för att bevisa sin hypotes. Han sökte efter HPV-arvs massa i tumörceller genom att fiska med DNA från redan kända former av HPV.



Infektion med HPV

Virus infekterar celler djupt nere i livmodertappens slemhinna. Om virus infogar en viss del av sin arvsmassa i cellens uppstår en tumör.



Nio fall av tio läker ut

Livmoderhalscancer som beror på HPV-infektion är en sexuellt överförd smitta. Vid samlaget kan virus ta sig ned till det djupast liggande cellagret och in i de så kallade basalcellerna i livmodertappens slemhinna. Basalcellernas funktion är att dela sig och bygga på slemhinnan utåt. Ju närmare slemhinnans yta cellen vandrar, desto plattare och hårdare blir den. Det yttersta lagret består av döda och keratiniserade celler som flagar av allteftersom. Detta gör att slemhinnan fungerar som ett gott skydd, så länge den är hel och oskadad.

Vid en infektion hamnar virusets DNA i basalcellens kärna. Virusets gener stimulerar celledelning och basalcellslagret blir tjockare, något som kan iaktas i form av en ofarlig värta. Med tiden börjar den infekterade cellen mogna och vandra uppåt genom slemhinnan och då tillverkas nya virusproteiner. När cellen når det yttersta lagret dör den och en mängd nybildade viruspartiklar släpps ut. Kvinnan är då i sin tur smittsam.

I ungefär en tiondel av fallen infogas en mindre del virus-DNA i själva basalcellens arvsmassa. Då sker inte någon nytillverkning av virus, utan bara celledelning. Det beror på aktivitet hos två speciella virusgener, kallade E6 och E7.

Det protein som bildas från E7-genen stänger av en gen i basalcellen som normalt reglerar dess celledelning. När detta reglage är urkopplat börjar cellen dela sig upprepade gånger. Genen E6, å sin sida, bildar ett protein som har till uppgift att stoppa ett skyddsprotein inuti cellen som kallas p53. Detta har normalt till uppgift att se till att cellen genomgår programmerad celledöd, så kallad apoptos, om den börjar dela sig på ett onormalt vis. Det är precis vad cellen gör när E7 börjat verka, men när p53 är avstängt kan den ändå fortsätta att dela sig. Den ohämmade delningen gör att nya förändringar kan uppstå, och efter upp till trettio år bildas då en tumör.

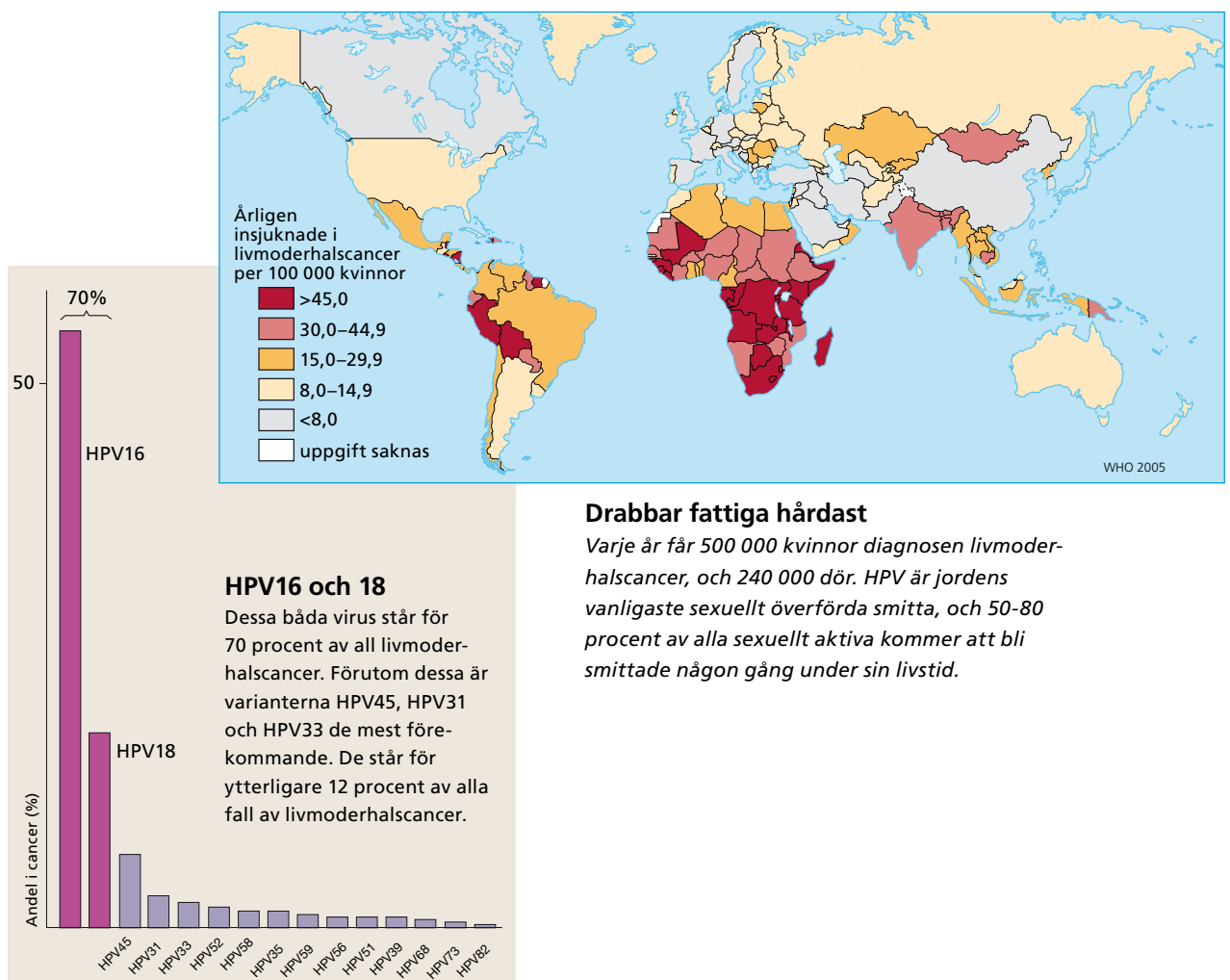
Vacciner mot HPV räddar liv

Harald zur Hausens arbete innebar att forskarvärlden fick tillgång till HPV16 och 18. Många har vittnat om att han mycket generöst delade med sig av sina klonade virus till de kollegor som efterfrågade dem. Han visade också att det är virusgenerna E6 och E7 som gör att infektionen kan orsaka cancer.

I dag känner man till omkring 100 olika varianter av HPV. Av dessa ger 40 infektioner i genitala slemhinnor, och femton av dem räknas som högrisktyper kopplade till livmoderhalscancer.

I den sexuellt aktiva delen av världens befolkning beräknas mellan 50 och 80 procent drabbas av en genital HPV-infektion någon gång under sin livstid. Varje år får omkring 500 000 kvinnor i världen diagnosen livmoderhalscancer, och 240 000 av dessa kvinnor dör. Livmoderhalscancer är den näst vanligaste cancerformen hos kvinnor, efter bröstcancer.

Harald zur Hausen och andra forskare har visat att hos sammanlagt 30 000 kvinnor från 25 länder fanns HPV16 och HPV18 i sammanlagt 70 procent av de elakartade tumörerna. I dag finns glädjande nog vacciner mot just dessa två virusformer. Dessa vacciner har visat sig ge ett mer än 90-procentigt skydd mot de förstadier till cancer som dessa två HPV-varianter orsakar.



HIV: upptäckten av ett nytt, dödligt virus

Under tidigt 1980-tal började det komma rapporter om unga män som uppvisade ett egendomligt sjukdomsspektrum. De led av ovanliga infektioner och cancerformer som normalt bara drabbar mycket gamla människor eller personer som behandlats med immun-dämpande läkemedel.

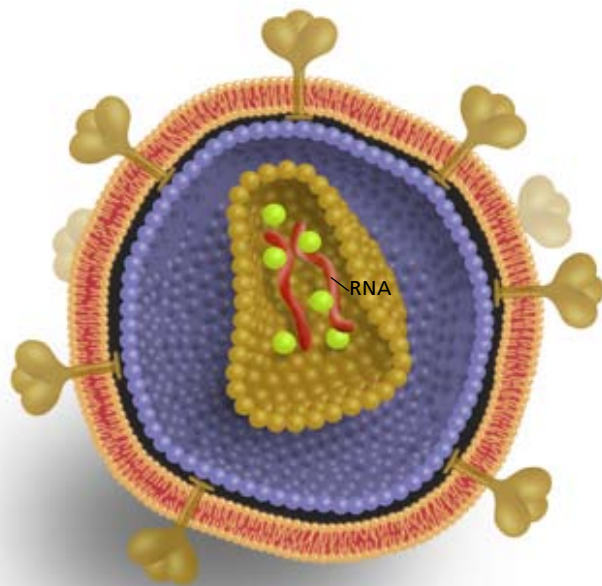
I december 1981 publiceras de första vetenskapliga rapporterna i New England Journal of Medicine. Där beskrivs sammanlagt 19 unga män (varav 12 redan dött) med svår immunbristsjukdom. Eftersom de flesta patienter som rapporterades under det första året var homo- eller bisexuella män kallades tillståndet till en början Gay Related Immuno-deficiency. Förutom att smittan överfördes vid sexuella kontakter, kunde smitta också överföras från mor till barn och även via blodprodukter, trots att dessa filtrerats. Tanken väcktes att det skulle kunna vara ett virus som låg bakom och nu inleddes en intensiv jakt på smittämnet.

Året därpå, 1982, bestämdes att den allvarliga sjukdomen skulle kallas AIDS, av Acquired Immune Deficiency Syndrome (på svenska: förvärvad immunbristsjukdom).

De som drabbades uppvisade så kallade opportunistiska infektioner. Dessa orsakas av bakterier och mikroorganismer som vi normalt råår på, men som frodas hos människor som har ett försvagat immunsystem. Exempel på sådana sjukdomar hos aids-patienter är olika former av bakteriell lunginflammation, svåra svampinfektioner, och en speciell form av herpesinfektioner som ger upphov till brunsvarta hudtumörer, Kaposi sarkom.

Humant immunbristvirus

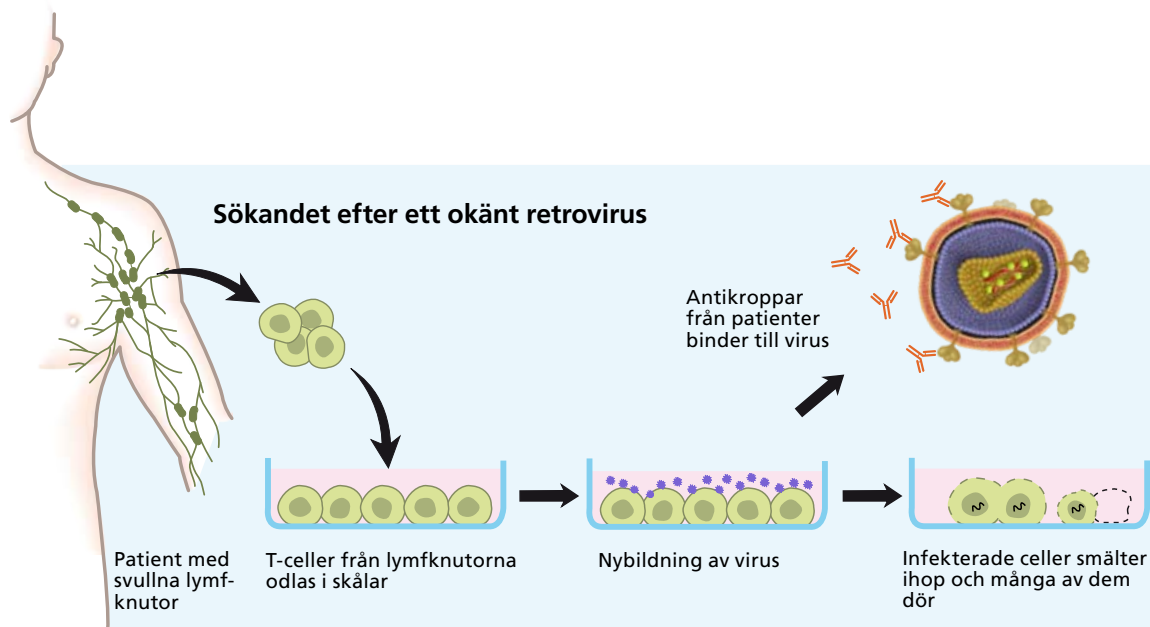
HIV är ett retrovirus av typen lentivirus. Det bär sin arvs massa i form av enkelsträngat RNA som måste göras om till DNA för att kunna infogas i en värdcells arvs massa. HIV kan vara mellan 90 och 130 nm i diameter.



Celler från lymfknutor odlas

På Institut Pasteur i Paris analyserade Françoise Barré-Sinoussi och Luc Montagnier prover de fått av läkare som haft patienter med den mystiska immunbristsjukdomen.

Forskarna trodde att det kunde vara ett så kallat retrovirus som låg bakom. Retrovirus kallas så, eftersom de bär sin arvs massa i form av RNA. För att kunna foga in sig i en värdcells arvs massa och sedan bilda nya virus behöver det tillverka ett enzym kallat omvänt transkriptas, som kan översätta RNA till DNA.



Efter ett möte i december 1982 mellan virologer och kliniker fick Françoise Barré-Sinoussi och Luc Montagnier lymfknotor från en patient som uppvisade tidiga symtom. I efterhand går det att konstatera att detta var klokt, eftersom det i lymfknotor finns tusenfalt mer virus än i celler från blodet. Celler från lymfknutorna odlades sedan i odlings-skålar. För att få cellerna att bilda mycket virus tillsattes ett ämne som gjorde att de reagerade som om det pågick en inflammatorisk reaktion.

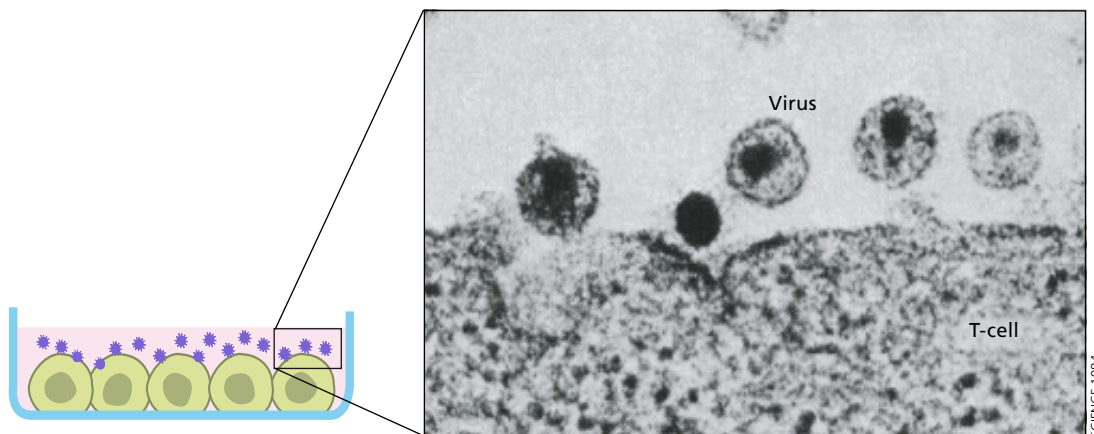
Enzymaktivitet avslöjar ett nytt retrovirus

Från cellodlingarna gick det att avskilja virus genom att centrifugera odlingsvätskan. Detta gjordes var tredje dag under en tvåveckors period. I de prover som innehöll viruspartiklar kunde Françoise Barré-Sinoussi i avgörande experiment påvisa enzymaktivitet som härrörde från just sådant omvänt transkriptas som används av retrovirus.

Genom att centrifugera vätskan i en sockergradient gick det att se vid vilken täthet som enzymaktiviteten (och därmed virushalten) var högst. Denna täthet stämde väl överens med vad som tidigare beskrivits för just retrovirus.

För att styrka detta studerade hon enzymaktiviteten mer i detalj. Denna kan inte betraktas direkt, men med en indirekt metod går det att undersöka vilken metall som enzymet behöver för att bilda DNA. Det finns olika slags omvänt transkriptas, exempelvis inuti cellens energifabriker, de så kallade mitokondrierna. Mitokondrievarianten av enzymet behöver tillgång till manganjoner, men det som nu krävdes var i stället magnesiumjoner. Då stod det klart att det handlade om ett retrovirus.





Avknoppande virus

Med hjälp av elektronmikroskopi kunde forskarna se nybildade viruspartiklar knoppa av från en infekterad T-cell.

Knoppande virus

Françoise Barré-Sinoussi, Luc Montagnier och deras medarbetare kunde även visa att de celler som viruset infekterade var ett slags vita blodkroppar, som kallas T-hjälparceller. Dessa smälte ihop med varandra och dog, vilket förklarar varför de som smittades hade så få vita blodkroppar av denna typ.

Redan i sina inledande försök såg forskarna att de celler som togs fram från lymfknutorna dog. Detta visade att deras virus var av annat slag än tidigare funna tumörbildande retrovirus. För att få cellodlingarna att överleva tillsatte de nya celler från friska människor i odlingskålarna (från prover de fick från blodbanken vid Institut Pasteur). De från början friska cellerna infekterades av virus och blev sedan smittsamma i sin tur.

Med hjälp av elektronmikroskopi kunde forskarna också studera hur nybildade viruspartiklar knoppade av från de infekterade cellerna. Virusets utseende, dess morfologi, visade också att det tillhörde en undergrupp av retrovirus som kallas lentivirus.

De publicerade sina fynd i tidskriften Science i maj 1983. De kallade då viruset LAV, från engelskans Lymphadenopathy Associated Virus.

HIV får sitt namn

Ordet lenti är latin för ”långsam”. Forskare hade i djurstudier sett att just lentivirus ger upphov till sjukdomar som utvecklas långsamt. Däremot är själva virusbildningen mycket snabb; det bildas på kort tid stora mängder virus som dödar de infekterade cellerna. Det nyfunna viruset var det första lentivirus man hittat som kunde infektera människor.

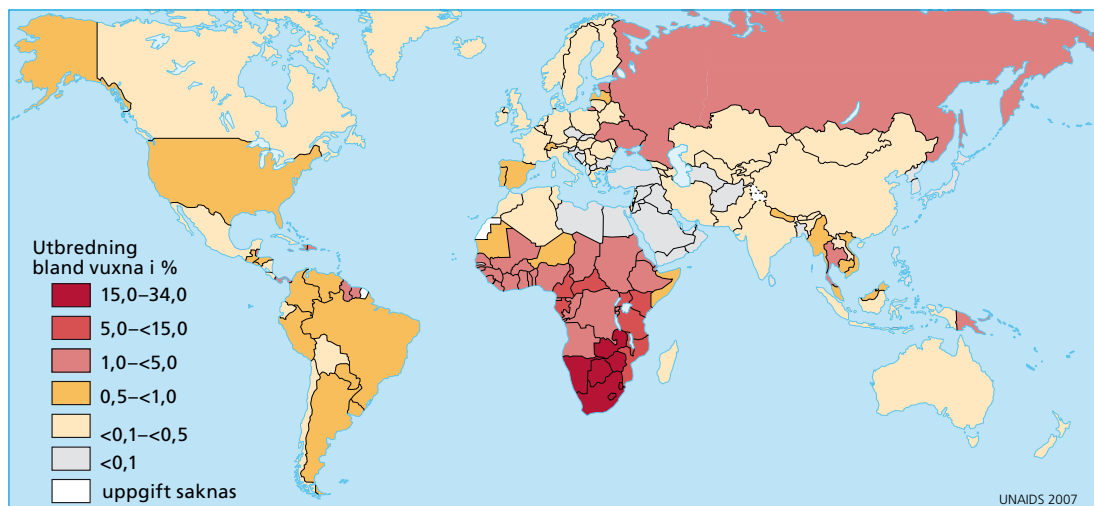
År 1985 togs det första kommersiella blodtestet fram som kunde spåra detta virus. Ett internationellt virustaxonomikonsortium bestämde då också att viruset skulle få det namn som det är känt under i dag: HIV-1, från Human Immunodeficiency Virus type 1 (på svenska: humant immunbristvirus).

Fyra år efter det att man identifierat HIV startade Världshälsoorganisationen, WHO, program för att bekämpa HIV internationellt. Men man arbetade i motvind och ett år senare gick det att konstatera att epidemin var spridd över hela världen.

Fransk upptäckt

En lång rad forskargrupper publicerade under åren 1984 och 1985 flera rapporter som styrkte att HIV ger upphov till sjukdomen AIDS. Det som belönas med årets pris är dock just själva upptäckten av viruset, som skedde i Paris.

Sedan år 1981, när de första sjuka började uppmärksammas i USA, har 60 miljoner människor världen över smittats med HIV, och sammanlagt har 25 miljoner människor dött i AIDS. I dag är sjukdomen mest utbredd i Afrika, söder om Sahara. Nu dominerar heterosexuell smitta och unga kvinnor drabbas särskilt hårt.



Afrika drabbas hårdast

I dag lever drygt 33 miljoner människor med HIV, de flesta söder om Sahara. Med hjälp av så kallade bromsmediciner kan många leva sin normala livslängd med sjukdomen, dock med lägre livskvalitet.

Att kunna känna igen viruset och de antikroppar som immunsystemet skapar för att försöka skydda sig, innebar att det gick att börja ställa diagnos och att analysera blodprodukter. Sådan analys är nödvändig för att kunna sortera bort smittat blod och hindra spridning till exempelvis blödarsjuka.

När viruset gått att klona gick det också att identifiera proteiner som var specifika för just detta virus. Då gick det att ta fram virusdödande läkemedel och tillgång till dessa har bland annat gjort det möjligt att skydda barn från att smittas av sin mor vid förlossningen.

År 2006 kunde amerikanska forskare slutgiltigt slå fast att viruset ursprungligen härstammar från schimpanser, när de fann en apvariant av HIV hos vilda apor. Tidigare hade man bara funnit smittan hos apor i fångenskap. Troligen har virus överförts till människor via blod när aporna jagats. Beräkningar av hur många gånger viruset hunnit förändra sig tyder på att den första överföringen från apa till människa skedde i Västafrika redan omkring år 1900.

Inget botemedel än så länge

Så snart det stod klart vilket virus som låg bakom den smygande sjukdomen väcktes förhoppningarna om att det snabbt skulle gå att ta fram ett verkningsfullt vaccin. Det har dock visat sig vara mycket komplicerat. Det beror delvis på att HIV är enormt föränder-

ligt och snabbt byter skepnad, men även att viruset så lömskt infekterar och dödar de celler i immunförsvaret som är centrala för att sätta igång de immunreaktioner som normalt ska skydda oss.

Ännu finns ingen fullgod bot, men med hjälp av kombinationer av antivirala läkemedel kan patienter leva nästan sin normala livslängd, dock med lägre livskvalitet.

Allt fler får tillgång till dessa så kallade bromsmediciner. De har också blivit mycket billigare och en dygnsdos kostar omkring femton kronor. Men fortfarande når inte medicinerna alla som skulle behöva dem, bland annat på grund av problem med transporter och att kunskap saknas om hur läkemedlen ska tas. Av världens drygt 33 miljoner smittade beräknas mellan sex och nio miljoner behöva behandling och tre miljoner har också tillgång till den (varav två miljoner i utvecklingsländer).

Att man inte längre ser svårt sjuka och utmärglade AIDS-drabbade patienter i västvärlden har tyvärr gett den felaktiga bilden att sjukdomen går att bota. Det har i sin tur lett till att många struntar i att använda skydd vid tillfälliga sexuella kontakter. Det är riskabelt eftersom HIV mycket lättare smittar den som redan bär på en annan infektion.

Upptäckterna har minskat mänskligt lidande

Årets pris belönar de forskare som har upptäckt två av mänsklighetens stora dräpare. Både de tumörframkallande HPV-varianterna och HIV sprids framförallt via sexuella kontakter. De finns över hela jorden, men sjukdomsburden är störst i fattiga länder. Att dessa virus har kunnat identifieras har gjort forskarvärlden bättre rustad att ta fram metoder för att både kunna stävja smittspridning och förhindra dödsfall.

Harald zur Hausens upptäckt av de tumörbildande HPV-varianterna HPV16 och 18 har gjort det möjligt att ta fram effektiva vacciner mot dessa virusvarianter. Det är rimligt att tro att dagens eller morgondagens vaccin kommer att skydda otaliga kvinnor från att drabbas av livmoderhalscancer.

Att Françoise Barré-Sinoussi och Luc Montagnier så snabbt kunde identifiera HIV har varit till stor nytta, eftersom avslöjandet gjort att många människor sluppit bli smittade. Noggranna studier av hur viruset infekterar värdceller och hur det förökar sig har gjort det möjligt att ta fram läkemedel som markant ökat både livslängd och livskvalitet hos drabbade.

Pristagarna

Harald zur Hausen föddes år 1936 och är tysk medborgare. Han tog läkarexamen vid Düsseldorfs Universitet i Tyskland och var tidigare chef och vetenskaplig direktör vid Deutsches Krebsforschungszentrum i Heidelberg.

Han belönas för att ha visat att humant papillomvirus ger upphov till livmoderhalscancer. I dag studerar han fortsatt sambandet mellan virala gener och mänsklig cancer.



Françoise Barré-Sinoussi föddes år 1947 och är fransk medborgare. År 1975 disputerade hon i virologi vid Institut Pasteur i Garches, Frankrike. Hon är professor och chef vid Unité de Régulation des Infections Rétrovirales, vid Institut Pasteur i Paris.

Hon belönas för att ha upptäckt HIV-virus. I dag studerar hennes forskargrupp bland annat hur HIV överförs mellan mor och barn, och även HIV-liknande virus hos apor.



Luc Montagnier föddes år 1932 och är fransk medborgare. År 1960 disputerade han i virologi vid Université de Paris. I dag är han professor och President vid Fondation Mondiale Recherche et Prévention SIDA i Paris.

Han belönas för att ha upptäckt HIV-virus och arbetar i dag med att ta fram ett slags vaccinationsbehandling som kan användas i fattiga länder, främst i Afrika.

Tidigare Nobelpris inom forskningsområdet

Årets pris har beröringspunkter med flera tidigare Nobelpris, som belönat forskning om hur arvsmassan är organiserad, molekylärbioologiska tekniker som möjliggör tillverkningen av specifika DNA-sekvenser samt hur immunsystemet och virus fungerar.

År 1908: **Ilya Ilyich Mechnikov** och **Paul Ehrlich** ”såsom ett erkännande åt deras arbeten rörande immuniteten”.

År 1954: **John F. Enders**, **Thomas H. Weller** och **Frederick C. Robbins** ”för deras upptäckt av poliomyelitvirus förmåga att föröka sig i kulturer av vävnader av olika slag”.

År 1965: **François Jacob**, **André Lwoff** och **Jacques Monod** ”för deras upptäckter rörande genetisk styrning av enzym- och virussyntes”.

År 1966: **Peyton Rous** ”för hans upptäckt rörande tumörframkallande virus”.

År 1975: **David Baltimore**, **Renato Dulbecco** och **Howard Martin Temin** ”för deras upptäckter över tumörvirus samspel med cellens arvs massa”.

År 1978: **Werner Arber**, **Daniel Nathans** och **Hamilton O. Smith** ”för upptäckten av restriktionsenzym och deras användning inom den molekylära tekniken”.

År 1989: **J. Michael Bishop** och **Harold E. Varmus** ”för deras upptäckt av retrovirala onkogens cellulära ursprung”.

År 1996: **Peter C. Doherty** och **Rolf M. Zinkernagel** ”för deras upptäckter rörande det cellförmedlade immunförsvarets specificitet”.

Förutom ovan nämnda Nobelpris i fysiologi eller medicin har forskning inom detta område även resulterat i Nobelpris i kemi.

År 1980: **Paul Berg** ”för hans grundläggande arbeten över nukleinsyrors biokemi, särskilt avseende hybrid-DNA” samt **Walter Gilbert** och **Frederick Sanger** ”för deras insatser rörande bassekvensbestämning i nukleinsyror”.

Mer information om priset och pristagarna finns på internet: <http://nobelprize.org>

Redaktionskommittén för årets populärvetenskapliga presentation av Nobelpriset i fysiologi eller medicin har utgjorts av följande professorer vid Karolinska Institutet, tillika ledamöter av Nobelförsamlingen:

Jan Andersson, **Bertil Fredholm**, **Hans Jörnvall**, **Klas Kärre** och **Björn Vennström**

Text: **Lotta Fredholm**, vetenskapsjournalist

Illustrationer: **Bengt Gullbing** och **Annika Röhl**

Granskning av virusstruktur: professor **Henrik Garoff**, Karolinska Institutet

Nobelpriset® är Nobelstiftelsens registrerade varumärke.

© 2008 Nobelkommittén för fysiologi eller medicin, Karolinska Institutet, 171 77 Stockholm