

dr Alicja Warowicka<sup>1,3</sup>✉,

prof. UAM dr hab. Robert Nawrot<sup>2</sup>,

dr hab. Justyna Broniarczyk<sup>2</sup>,

dr Martyna Węglewska<sup>2</sup>,

prof. dr hab. Anna Goździcka-Józefiak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

<sup>2</sup>Pracownia Wirusologii Molekularnej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

<sup>3</sup>Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

[https://doi.org/10.18388/pb.2020\\_360](https://doi.org/10.18388/pb.2020_360)

✉ autor korespondujący: [alicia@amu.edu.pl](mailto:alicia@amu.edu.pl)

**Słowa kluczowe:** wirusy onkogenne, kancerogeneza

**Wykaz skrótów:** AIDS (ang. *Acquired immunodeficiency syndrome*) – zespół nabytego niedoboru odporności, AKT (ang. *Protein kinase*) – kinasa białkowa, BK wirus polyoma BK, CCNE1 (ang. *Gene Cyklin E1*) – gen cykliny E, Chk4 (ang. *histidine kinase*) – kinaza histydyny, ERK (ang. *extracellular signal – regulated kinases*) – kinaza z grupy MAPK, HIV (ang. *Human immunodeficiency virus*) – ludzki wirus niedoboru odporności, IGF – (ang. *Insulin-like growth factor*) – insulinopodobny czynnik wzrostu, JAK (ang. *janus activated kinases*) – kinaza Janus, JC (ang. *John Conningham virus*) – wirus polyoma 2, KAI-1 – ludzkie białko kodowane przez gen CD82, MAPK (ang. *mitogen acti-ated protein kinases*) – kinazy aktywowane mitogenami, MLL4 (ang. *Gene MHC class I like located near the leucocyte receptor complex*) białko z rodziny MHC kl.I, NK (ang. *Natural killer*), PI3K (ang. *phosphoinositide 3-kinase*) – 3 kinazy fosfoinozytolu, RhoGDI (ang. *Rho-GDP – dissociation inhibitor Rho*) – negatywny regulator Rho z zakresu GTP-a, STAT (ang. *signal transducer and activator of transcription*) – czynnik transkrypcyjny, TERT (ang. *Telomerase reverse transcriptase*) – gen odwrotnej transkryptazy telomerazy, TGF (ang. *Transforming growth factor*) – transformujący czynnik wzrostu, VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) – czynnik wzrostu śródonka naczyńniowego,

## STRESZCZENIE

Wirusy onkogenne (onkowirusy) są zaangażowane w powstawanie około 12% nowotworów u ludzi. Obecnie wirusy, o których wiadomo, że powodują raka, to wirusy zapalenia wątroby typu C i B (HCV i HBV), wirusy brodawczaka ludzkiego (HPV), wirus polyoma komórek Merkla (MCV), ludzki herpeswirus-8 (HHV-8) i ludzki wirus limfotropowy komórek T (HTLV-1). Wirusy nie są jednak pełnymi kancerogenami i w procesie transformacji nowotworowej odgrywają różną rolę. Onkowirusy mogą bezpośrednio zakłócać funkcjonowanie genów kodujących komórkowe białka regulatorowe w wyniku insercji własnego genomu do genomu komórkowego. Mają także własne geny kodujące białka, które zaburzają regulację procesów komórkowych lub zawierają onkogeny wirusowe *v-onc*, które mogą brać udział bezpośrednio w rozwoju procesu nowotworowego.

## WPROWADZENIE

Badania kliniczne i epidemiologiczne wskazują, że przyczyną 20% nowotworów u ludzi są czynniki infekcyjne, z tego 12% powstaje w wyniku zakażenia wirusami onkogennymi (onkowirusami) [1,2]. Dotychczas opisano siedem onkowirusów, których udział w etiologii nowotworów jest najlepiej poznany. Do tej grupy zalicza się wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV, ang. *Hepatitis B Virus*), wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV, ang. *Hepatitis C Virus*), wirusy brodawczaka ludzkiego (HPV, ang. *Human Papillomavirus*), wirus polyoma komórek Merkla (MCPyV, MCV, ang. *Mercel Cell Polyomavirus*), ludzki herpeswirus typu 8 (HHV-8, ang. *Human herpesvirus 8*), wirus Epstein Barr (EBV, ang. *Ebstein-Barr Virus*) i ludzki wirus limfotropowy typu 1 (HTLV-1, ang. *Human T-Cell Lymphotropic Virus-1*). Wirusy onkogenne zaangażowane w powstawanie nowotworów zawierają materiał genetyczny w formie RNA lub DNA i należą do różnych grup taksonomicznych (Tabela 1) [3-6].

Wszystkie wirusy wykazują tropizm do komórek określonych typów. Jest to związane z obecnością swoistych receptorów na powierzchni komórki oraz czynników wewnątrzkomórkowych odpowiedzialnych za prawidłowy przebieg cyklu replikacyjnego wirusa. Pełny cykl życiowy wirusów, zakończony wytworzeniem wirusowych cząstek potomnych, zachodzi w komórkach permissywnych. W komórkach niepermissywnych wirusowy DNA jest najczęściej integrowany do różnych miejsc w genomie komórkowym i nie są tworzone wiriony potomne. Indukcja nowotworów przez wirusy onkogenne nie jest „zapisana” w ich cyklu replikacyjnym, a raczej stanowi skutek „biologicznego wypadku”, do jakiego dochodzi w komórce w wyniku zablokowania wytwarzania wirionów potomnych. Wirusy onkogenne nie są jednak wystarczającymi czynnikami kancerogennymi i odgrywają różną rolę w procesach transformacji nowotworowej komórki, jej inicjacji, jak i rozwoju.

Do rozwoju nowotworu dochodzi najczęściej w wyniku zakażeń chronicznych i potrzebne są dodatkowe czynniki komórkowe, hormonalne, żywieniowe, niekiedy uwarunkowane czynnikami geograficznymi i kulturowymi. Z tego względu proces nowotworowy rzadko rozwija się bezpośrednio po zakażeniu, a dopiero po kilkunastu latach (od 15 do 40 lat) [1]. W komórkach takich nie dochodzi do replikacji wirusa i wytworzenia pełnych wirusowych cząstek potomnych. Wirusowy materiał genetyczny występuje najczęściej w formie episomalnej lub jest zintegrowany z komórkowym genomem [6]. Wirusy onkogenne zawierające materiał genetyczny w formie RNA przepisują go na DNA z udziałem odwrotnej transkryptazy. Integracja wirusowego materiału genetycznego do komórki może prowadzić do uszkodzenia genów komórkowych, których produkty biorą udział w regulacji procesów komórkowych, przede wszystkim odpowiedzialnych za wzrost komórek, różnicowanie, podziały i apoptozę. Wirusy mogą także zawierać geny kodujące białka, umożliwiające szybkie namnażanie cząstek potomnych wirusa, ale niekorzystnie oddziałujące na procesy ko-

Tabela 1. Wirusy onkogenne

Onkowirus	Klasyfikacja	Przykłady indukowanych nowotworów
EBV	Herpesviridae/ dsDNA	Chłoniak Burkitta, Chłoniak Hodgkina, rak nosogardzieli
KSHV	Herpesviridae/ dsDNA	Nowotwór Kaposiego
HPV	Papillomaviridae / dsDNA	Rak jamy ustnej, szyjki macicy, raki analne
MCPyV	Polyomaviridae/ dsDNA	Rak Merkel
HBV	Hepadnaviridae/ dsDNA	Rak wątroby
HCV	Flaviviridae/ ssRNA	Rak wątroby
HTLV-1	Retroviridae/ ssRNA	Chłoniak T komórkowy

mórkowe. Znane są także wirusy o zmienionych formach genów pochodzących z komórki, które jeżeli ulegną insercji do genomu nowej komórki, mogą prowadzić do deregulacji procesów komórkowych i rozwoju nowotworu [7-9]. Geny wirusowe kodujące białka, które zaburzają kontrolę proliferacji komórki i są odpowiedzialne za jej transformację zwane są onkogenami wirusowymi (*v-onc*) i są homologami protoonkogenów komórkowych (*c-onc*).

Protoonkogeny komórkowe kodują białka pełniące funkcję czynników wzrostu, receptorów wzrostu, biorą udział w przekazywaniu sygnału w komórce, czynników transkrypcyjnych, regulatorów procesu apoptozy. Białka te odgrywają kluczową rolę w regulacji wzrostu i różnicowania komórek oraz apoptozie. Mutacje w strukturze protoonkogenów, ich amplifikacja, jak również rearanżacje chromosomowe prowadzą do ich aktywacji i zamiany w onkogeny odpowiedzialne za proces kancerogenezy. Często do zmian takich dochodzi w wyniku integracji genomu wirusowego (tzw. mutagenеза insercyjna) w pobliżu protoonkogeny. Na przykład, zintegrowane retrowirusy – tzw. prowirusy zawierające bardzo silne promotory, jak również sekwencje wzmacniające – aktywują dodatkowo ekspresję protoonkogenów komórkowych [10,11]. Znanych jest przeszło 70 protoonkogenów, do aktywacji których doszło w wyniku insercji prowirusa. Niektóre wirusy zawierają własne onkogeny *v-onc*. Antagonistami protoonkogenów komórkowych są antyonkogeny, zwane także genami supresji transformacji nowotworowej (TSG, ang. *tumor suppressor genes*). TSG kodują białka zaangażowane w naprawę DNA, hamowanie podziałów komórki, indukcję apoptozy i hamowanie przetrwania komórek. Utrata ich funkcji promuje proces kancerogenezy. Najlepiej poznanymi białkami kodowanymi przez geny supresji transformacji nowotworowej są p53 i retinoblastoma Rb [12,13]. Do rozwoju nowotworu dochodzi przede wszystkim w wyniku nagromadzenia się zmian genetycznych oraz epigenetycznych w protoonkogenach i genach supresji transformacji nowotworowej

## MECHANIZM MOLEKULARNY NOWOTWORZENIA (KANCEROGENEZY) Z UDZIAŁEM WIRUSÓW

### HERPESWIRUSY

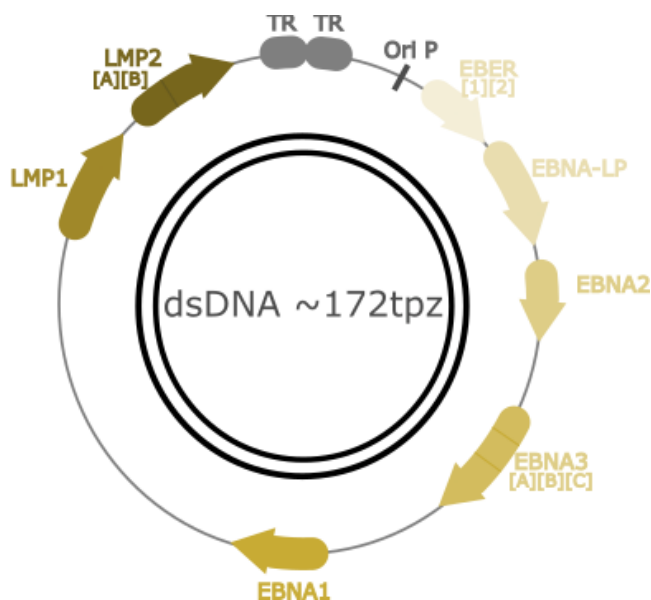
Przedstawicielami herpeswirusów o dużym potencjale onkogenym są ludzki wirus Epsteina-Barr oraz ludzki wirus mięsaka Kaposiego.

### Herpeswirus EB

Wirus Epsteina-Barr (EBV, ang. *Epstein-Barr virus*), znany również jako HHV-4 (ang. *Human herpesvirus 4*) należy do rodziny *Herpesviridae* i jest jednym z ośmiu herpeswirusów chorobotwórczych dla człowieka, najczęściej występującym w populacji ludzkiej, będącym przyczyną mononukleozy. Nazwa tego wirusa pochodzi od nazwisk jego odkrywców – brytyjskiej wirusolog Yvonne M. Barr oraz Michaela A. Epsteina. EBV jest pierwszym wykrytym wirusem onkogenym. Został zidentyfikowany w 1964 roku w komórkach chłoniaka Burkitta [14]. EBV infekuje komórki nabłonkowe nosogardzieli oraz limfocyty, w których może doprowadzać do procesu nowotworzenia. Powiązany jest więc z nowotworami pochodzenia nabłonkowego, jak rak jamy nosowo-gardłowej oraz nowotworami wywodzącymi się z komórek układu limfatycznego i krwiotwórczego, jak np. chłoniak Burkitta, choroba Hodgkina (ziarnica złośliwa), czy potransplantacyjna/ poprzesczczepowa choroba limfoproliferacyjna (PTLD, ang. *post-transplant lymphoproliferative disorder*) [15]. Najlepiej udokumentowany jest związek EBV z niekontrolowaną proliferacją limfocytów typu B, ale wirus ten doprowadza również do nieprawidłowego namnażania się limfocytów typu T oraz komórek NK [16].

Podobnie jak inne wirusy z rodziny *Herpesviridae*, EBV ma zdolność do przetrwałego zakażenia poprzez ustalanie stanu latentnego (utajenia) w zainfekowanych komórkach gospodarza i jego reaktywacji. Jego cechą charakterystyczną jest zdolność do unieśmiertelniania limfocytów i pobudzania ich proliferacji [2].

EBV należy do wirusów typu DNA. Jego genom stanowi liniowa cząsteczka podwójnoniciowego DNA (dsDNA), zbudowana z około 172 tpb, kodująca ponad 100 polipeptydów. Genom wirusa okrywa ikozaedralny kapsyd o średnicy blisko 100 nm, zbudowany z 162 kapsomerów. Kapsyd dodatkowo otoczony jest amorficzną warstwą białkową, tzw. tegumentem, a następnie osłonką, która zbudowana jest z podwójnej warstwy lipidowej, zawierającej wirusowe glikoproteiny tworzące charakterystyczne wypustki na jej powierzchni. W komórkach gospodarza genom EBV może występować w dwóch formach – liniowej (podczas fazy litycznej infekcji) oraz kolistej (w stanie latencji) [17].



Rycina 1. Schemat budowy genomu herpeswirusa Epsteina-Barr.

W fazie latentnej genom EBV przyjmuje postać kolistą, dochodzi do ekspresji tylko niektórych genów wirusowych, których produkty zaznaczono na schemacie: LMP1, LMP2 (A, B) – białka błonowe LMP1, LMP2A i LMP2B; EBNA1 (ang. *latent membrane protein*); EBNA2, EBNA3 (A, B, C), EBNA-LP – antygeny jądrowe EBV (ang. *Epstein-Barr nuclear antigen 1*); EBER (1, 2) – małe niekodujące RNA (ang. *EBV encoded small RNA*). Na schemacie zaznaczono sekwencje powtórzone TR (ang. *terminal repeat*), które w formie liniowej genomu, znajdują się na jego końcach oraz miejsce początku replikacji *Ori P*, aktywne podczas replikacji genomu w fazie latentnej.

W pierwszym etapie infekcji wirion EBV ulega adsorpcji do komórki gospodarza. Główna glikoproteina otoczki wirusa gp350 oddziałuje z receptorem CD21, a glikoproteina gp42 – z antygenami zgodności tkankowej HLA klasy II (HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ), znajdującymi się na powierzchni limfocytów typu B [18]. Komórki nabłonkowe nie mają receptora CD21. Przypuszcza się, że do ich infekcji dochodzi przez bezpośredni kontakt z zakażonymi limfocytami B lub z udziałem innego receptora. Mechanizm zakażenia komórek nabłonka przez EBV jest słabo poznany. Po adsorpcji cząstki wirusowej dochodzi do fuzji wirusowej otoczki z błoną komórkową i uwolnienia nukleokapsydu wirusa do cytoplazmy. Następnie dsDNA wirusa transportowany jest do jądra komórkowego. Podczas cyklu litycznego wirusa powstają pełne wirusowe cząstki potomne, które są uwalniane z komórki. W komórkach limfocytów B wirus może także przebywać w formie latentnej. Genom wirusa przyjmuje formę kolistą, upakowaną w tzw. minichromosom (episom). Podczas latencji dochodzi do ekspresji tylko niektórych genów wirusowych, takich jak: geny kodujące 6 antygenów jądrowych EBNA1, 2, 3, 3A, 3B, 3C, EBNA LP, 3 białka błonowe LMP (LMP1, 2A i 2B) oraz krótkie cząsteczki RNA (EBER1, 2) [19] (Ryc. 1).

Synteza kolejno wybranych białek wirusowych w fazie latencji jest prawdopodobnie sposobem „ucieczki” wirusa przed mechanizmami obronnymi gospodarza. W ustaleniu stanu latencji EBV ważną rolę odgrywają także modyfika-

cje potranslacyjne zachodzące w obrębie wirusowego minichromosomu [20].

W fazie latencji wirusowe białko EBNA-1 jest niezbędne do utrzymania DNA wirusa w formie episomalnej, a replikacja genomu EBV jest zsynchronizowana z replikacją genomu gospodarza. Episomalny DNA wirusa replikuje się i trafia do komórek potomnych gospodarza [2].

W wyniku latentnego zakażenia EBV może dojść do transformacji nowotworowej zakażonych wirusem komórek. Wirus w fazie latencji uruchamia różne modele ekspresji wirusowych genów, dzięki którym unika reakcji ze strony układu immunologicznego gospodarza. Produkty genów wirusowych oddziałują z wieloma czynnikami komórkowymi, przez co mogą prowadzić do unieszkodliwienia komórki i wzmożonej proliferacji. Białka wirusowe EBNA oraz LMP uważa się za onkoproteiny EBV [21]. Znane są cztery typy latencji wirusa EBV związane z ekspresją różnych białek wirusowych. W typie latencji 0, w zależności od fazy cyklu komórkowego, nie dochodzi do ekspresji żadnych antygenów wirusowych; wirus jest niewidoczny dla układu immunologicznego gospodarza. W kolejnych typach latencji I, II, III ekspresji ulega wirusowe białko EBNA1, poza tym w latencji typu II produkowane są również białka LMP1 i LMP2 oraz cząsteczki EBER (wirusowy RNA), a w latencji typu III dochodzi do syntezy wszystkich antygenów jądrowych EBNA1-6, białek LMP1, 2 oraz LP (Tabela 2) [22]. Produkty genów wirusowych powstające w komórce gospodarza podczas cyklu latencji wirusa mogą prowadzić do deregulacji komórkowych szlaków sygnalizacyjnych, cyklu komórkowego i wzmożonej proliferacji. Typ I latencji EBV diagnozowany jest w po-transplantacyjnej/poprzyszczepowej chorobie limfoproliferacyjnej oraz w chłoniaku Burkitta. Aktywacja szlaków sygnalowych PI3K/AKT oraz JAK/STAT przez białko LMP1 jest, obok ciągłej ekspresji białka c-MYC, uznawana za główny czynnik prowadzący do transformacji nowotworowej [23]. Typ II latencji, gdzie oprócz białka EBNA1 dochodzi do ekspresji LMP1 i 2, występuje w raku jamy nosowo-gardłowej, raku żołądka, chłoniaku Hodgkina oraz chłoniaku wywodzącym się z limfocytów T i komórek NK (ang. *Natural killer*) [24]. Białko LMP1 bierze udział w aktywacji czynnika komórkowego NF- $\kappa$ B, LMP2 aktywuje ścieżki sygnałowe Akt/Src. III typ latencji EBV, w którym obecne są dodatkowe, immunogenne białka wirusowe EBNA2 i EBNA 3, stwierdza się u osób z potransplantacyjną/poprzyszczepową chorobą limfoproliferacyjną oraz chorych na AIDS ze stwierdzonym chłoniakiem. Chociaż zakażenia EBV są czynnikiem niezbędnym w kancerogenezie, to tylko u niewielkiego procenta zakażonych rozwija się nowotwór – i to u osób z immunosupresją [25].

Tabela 2. Geny EBV ulegające ekspresji w różnych typach latencji wirusa

Typ latencji	Ekspresja białek związanych z latencją	Wybrane nowotwory indukowane podczas latencji
I	EBNA 1	Chłoniak Burkitta
II	EBNA 1, LMP1, LMP2	Chłoniak Hodgkina
III	EBNA 1-6, LP	Potransplantacyjna choroba limfoproliferacyjna

## Mechanizm kancerogenezy z udziałem EBV

Za główne białko onkogenne EBV uznaje się LMP1. Jest ono niezbędne do transformacji limfocytów B w proliferujące komórki limfoblastoidalne. LMP1 jest białkiem transbłonowym, „naśladującym” komórkowy receptor CD40. Wiązanie czynników komórkowych do białka LMP1 indukuje kaskadę sygnałów, które prowadzą do wzrostu i proliferacji zakażonych komórek, jak np. aktywacja czynnika NF- $\kappa$ B (ang. *nuclear factor kappa B*), AP-1 (ang. *activating protein 1*), aktywacja szlaków MAPK/ERK, PI3K/AKT oraz JAK/STAT. Dochodzi również do nadekspresji białek antyapoptotycznych, jak np. Bcl-2. Za kluczowe w transformacji nowotworowej związanej z EBV przyjmuje się aktywację szlaków PI3K/AKT oraz JAK/STAT. Aktywacja tych szlaków prowadzi do zmian, które uznawane są za cechy charakterystyczne nowotworu, tj. zwiększona niestabilność genomu, oporność komórki na proces apoptozy, zmiany w metabolizmie energetycznym komórki, stan zapalny towarzyszący procesowi nowotworzenia, zdolność do inwazji i metastazy [24]. LMP1 prowadzi do niestabilności genomu również poprzez zahamowanie mechanizmów naprawy DNA [25].

Innym białkiem onkogennym wirusa EB jest LMP2. Powoduje ono zahamowanie apoptozy indukowanej TGF- $\beta$ 1, aktywację czynnika NF- $\kappa$ B i związanej z tym nadekspresji surwiwiny, jednego z białek antyapoptotycznych oraz aktywuje przejście komórki do fazy S cyklu komórkowego [26]. Ponadto, LMP2 stymuluje fosforylację białka STAT3, prowadząc do aktywacji metylotransferaz DNA. Ma to duże znaczenie w indukowaniu zmian na poziomie epigenetycznym [27].

Istotną rolę w kancerogenezie odgrywają wirusowe białka EBNA1, EBNA2 i EBNA3. EBNA1 to jedyne białko wirusowe, które jest obecne we wszystkich typach nowotworów związanych z zakażeniem EBV [28]. Jest białkiem nieimmunogennym, biorącym udział w replikacji genomu wirusowego oraz odpowiada za jego utrzymanie w formie episomalnej, w stanie latencji. Poprzez uruchamianie określonych szlaków komórkowych, wzmacnianie ekspresji białek antyapoptotycznych, jak Bcl-2 i surwiwiny, EBNA1 bierze udział w deregulacji cyklu komórkowego i wzmoczonej proliferacji zainfekowanych komórek [29]. W unieśmiertelnianiu limfocytów B, ich wzmoczonej proliferacji oraz „wymykaniu” się apoptozie ważną rolę odgrywa białko EBNA2. Razem z białkiem EBNA-LP jest odpowiedzialne za inicjację procesu transkrypcji białek wirusowych (LMP1, LMP2A) i komórkowych (MYC, CD21, CD23), które są istotne w procesie unieśmiertelniania i transformacji limfocytów B. Z kolei głównym efektem działania białka EBNA3 jest degradacja białka komórkowego Rb oraz akumulacja inhibitorów kinazy zależnej od cyklin (CDK). Białka EBNA2 oraz EBNA3 są immunogenne i wywołują wzmoczoną odpowiedź immunologiczną [30].

Wymienione białka wirusowe przyczyniają się do unieśmiertelniania zainfekowanych limfocytów B, wzmoczonej proliferacji komórek oraz zatrzymania EBV w fazie latentnej.

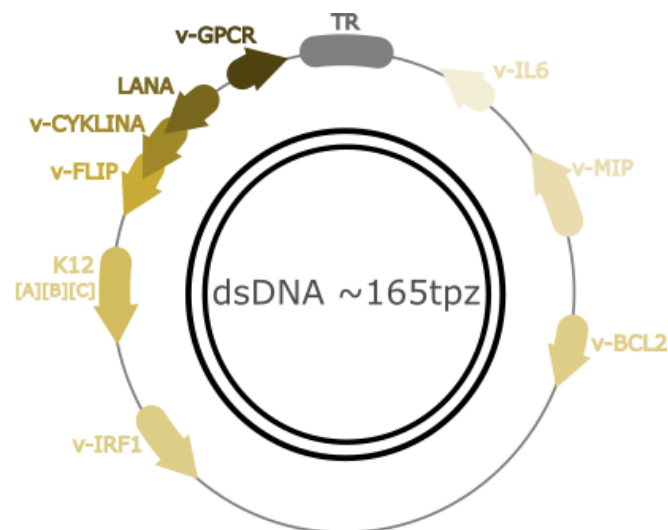
Podczas fazy latencji, w komórkach zakażonych EBV dochodzi do syntezy nie tylko białek wirusowych o działaniu onkogenym, ale również wirusowych, niekodujących cząsteczek RNA – tzw. EBER [31,32]. Wpływają one na kluczowe procesy komórkowe, jak proliferacja, apoptoza, sygnalizacja wewnątrzkomórkowa, czy kontrolowana ekspresja czynników wzrostu. EBER mogą wpływać na ekspresję miRNA, prowadząc do aktywacji szlaku IL-6/STAT3 oraz obniżają ekspresję inhibitorów cyklu komórkowego, białek p21 i p27 [33]. Poprzez aktywację czynników pFAK i pPAK1, zaangażowanych w aktywację metastazy, a inhibicję RhoGD1 i KAI-1, czynników hamujących metastazę, ułatwiają proces migracji komórkowej [34]. Wirusowe cząsteczki RNA indukują syntezę cytokin IL-6, IL-9, IL-10 oraz czynnika IGF-1, promując wzrost i proliferację zainfekowanej komórki [35]. Wysoki poziom EBERs stwierdza się w chłoniakach Burkitta i Hodgkina oraz raku jamy nosowo-gardłowej [33].

## Herpeswirus – 8 (KSHV/HHV-8)

KSHV (ang. *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus*), znany również jako ludzki herpeswirus typu 8 (HHV-8), należy do rodziny *Herpesviridae* i, podobnie jak EBV, jest wirusem onkogenym. Po raz pierwszy został zidentyfikowany przez Chang i Moore w 1994 roku w tkankach rzadkiego raka skóry, tzw. mięsaka Kaposiego, diagnozowanego szczególnie u chorych na AIDS [36]. KSHV wykazuje tropizm i infekuje limfocyty typu B, makrofagi, monocyty, keratynocyty i komórki śródbłonka naczyń krwionośnych [37]. Oprócz mięsaka Kaposiego, KSHV jest głównym czynnikiem etiologicznym w chorobach limfoproliferacyjnych limfocytów typu B, występujących głównie u pacjentów leczonych immunosupresyjnie, tj. pierwotnego chłoniaka wysiękowego (PEL, ang. *primary effusion lymphoma*) oraz wieloogniskowej choroby Castlemana (MCD, ang. *multicentric Castelman's disease*) [38]. KSHV przenoszony jest głównie przez ślinę, krew, kontakty seksualne; rzadko stwierdza się transmisję wirusa przez łożysko do płodu. Jego cechą charakterystyczną jest zdolność do ustalania stanu latencji w limfocytach typu B oraz komórkach śródbłonka [39].

Genom wirusa KSHV stanowi podwójnoniciowa cząsteczka DNA (dsDNA), zbudowana z około 165 tpz, zawierająca blisko 90 otwartych ramek odczytu (ORF), przy czym 15 ORF nie wykazuje homologii z ORF innych herpeswirusów. dsDNA koduje również 25 dojrzałych cząsteczek miRNA, które odgrywają ważną rolę w utrzymaniu fazy latentnej wirusa. Materiał genetyczny wirusa osłonięty jest kapsydem w formie ikozaedralnej oraz białkowo-lipidową osłonką. Glikoproteiny osłonki odgrywają ważną rolę w przyłączaniu się cząstki wirusowej do komórki gospodarza i w procesie fuzji osłonki z błoną komórkową. Jak u większości herpeswirusów, również u KSHV wyróżnia się dwa modele replikacji – cykl lityczny i cykl latentny [40].

Podczas cyklu litycznego KSHV dochodzi do uruchomienia ekspresji wszystkich genów wirusowych, niezbędnych do pełnego cyklu replikacyjnego wirusa, tj. replikacji genomu, składania i uwalniania dojrzałej cząstki wirusowej z komórki. W cyklu latentnym, po wnikięciu



Rycina 2. Schemat budowy genomu KSHV.

W fazie latentnej genom KSHV, podobnie jak u EBV, przyjmuje postać kolistą, dochodzi do ekspresji tylko niektórych genów wirusowych, których produkty zaznaczono na schemacie: LANA – wirusowe białko Lana (ang. *latency associated nuclear antigen*); v-Cyklina – wirusowe białko v-cyklina, homolog komórkowej cykliny D; v-FLIP – wirusowe białko FLIP (ang. *viral FLICE inhibitory protein*); K12 (A, B, C) – wirusowe białko K12 (kaposyna), v-GPCR – wirusowe białko GPCR (ang. *viral G protein-coupled receptor*). Dodatkowo dochodzi do produkcji białek, które również biorą udział w procesie nowotworzenia: v-IL6 – wirusowa interleukina 6; v-MIP – homolog komórkowej chemokiny (ang. *viral macrophage inflammatory protein*); v-BCL2 – homolog komórkowego białka antyapoptotycznego Bcl-2 (ang. *viral Bcl-2 homolog*); v-IRF1 – czynnik 1 regulacji interferonu (ang. *viral interferon regulatory factor 1*). Na schemacie zaznaczono sekwencje powtórzone TR (ang. *terminal repeat*), które w formie liniowej genomu, znajdują się na jego końcach.

cząstki wirusowej do komórki oraz transporcie wirusowego dsDNA do jądra komórkowego, dochodzi do cyrkularyzacji wirusowego genomu i wytworzenia kilkunastu kopii formy episomalnej. Genom wirusa w formie episomu przyłącza się do genomu gospodarza za pomocą białka Lana (ang. *viral latency associated nuclear antigen*), będącego główną onkoproteiną KSHV. Od tej pory replikacja genomu wirusa jest skoordynowana z replikacją genomu komórkowego i w czasie podziału komórkowego kopie genomu wirusowego przechodzą do komórek potomnych [41]. W cyklu latentnym wirusa dochodzi do ekspresji tylko niektórych białek wirusowych, niezbędnych do utrzymania formy episomalnej genomu, tj. Lana, v-cykliny, v-FLIP oraz kaposyny (K12) (ang. *kaposin*) i syntezy licznych wirusowych miRNA (Ryc. 2). Kaposyna jest białkiem wirusowym regulującym transformację komórek i hamującym apoptozę [41,42]. W fazie latencji infekcja KSHV zostaje utrzymana w stanie utajonym w komórce, a wirus rozprzestrzenia się dzięki wzmożonej proliferacji zainfekowanych komórek [42].

#### Mechanizm kancerogenezy z udziałem KSHV

W komórkach zakażonych KSHV wirusowe białko Lana powoduje zahamowanie komórkowych szlaków sygnalizacyjnych TGF-beta, MAPK, JAK/STAT, ERK, PI3K/AKT, Notch i Wnt oraz aktywność białka p53 i kompleksu Rb-E2F, prowadząc do zaburzeń w procesie apoptozy i zwiększenia proliferacji komórkowej [43]. Białko

Lana odpowiada za utrzymanie KSHV w stanie latencji, poprzez hamowanie transkrypcji RTA. Białko RTA jest aktywatorem replikacji i transkrypcji wirusowych genów, regulującym przejście wirusa z cyklu latentnego do litycznego [44].

Homolog komórkowej cykliny D, wirusowe białko v-cyklina, tworzy kompleks z kinazą CDK6. Kompleks v-cyklina/CDK6 oddziałuje z białkiem Rb, powodując jego inaktywację. Poza tym oddziałuje z białkami histonowymi (histon H1), inhibitorami CDK oraz białkiem p27 [45].

Białko wirusowe v-FLIP poprzez oddziaływanie z domenami receptora FAS (tzw. receptor śmierci) prowadzi do zaburzeń w transdukcji sygnału prowadzącego do apoptozy. Ponadto v-FLIP aktywuje czynnik NF- $\kappa$ B i wpływa na transkrypcję genów antyapoptotycznych *Bcl-2* i *A20* [46].

Wśród białek kaposyn (K12) wyróżnia się kaposynę A, B i C. Kaposyna B powoduje wzrost ekspresji cytokin promujących proces nowotworzenia. W limfocytach typu B zakażonych KSHV stwierdza się wzrost poziomu IL6, IL8 oraz czynników TNF- $\alpha$ , MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  [47].

W utrzymaniu fenotypu nowotworowego biorą udział również wirusowe miRNA [48].

W zainfekowanych komórkach, oprócz ekspresji wirusowych onkogenów, dochodzi również do indukowania przez KSHV ekspresji genów komórkowych, których produkty białkowe zaangażowane są w proces transformacji nowotworowej. Wykazano, że receptor kinazy tyrozynowej (c-Kit) oraz receptor RDC-1 są zaangażowane w proces transformacji nowotworowej komórek śródbłonna zakażonych KSHV [49].

W większości komórek mięsaka Kaposiego stwierdza się infekcję KSHV w fazie latencji, natomiast cykl lityczny wirusa występuje tylko w niektórych z nich. Przypuszcza się jednak, że w patogenezie tego nowotworu odgrywają rolę procesy zachodzące podczas cyklu latentnego, jak i litycznego wirusa.

Wykazano, że wirusowe białka syntetyzowane podczas cyklu litycznego KSHV odgrywają również istotną rolę w procesie nowotworzenia. Na przykład, wielofunkcyjne, wirusowe białko K1 prowadzi do aktywacji szlaków sygnalizacyjnych związanych ze wzrostem komórki [56]. Wirusowa interleukina 6 (v-IL6), homolog komórkowej interleukiny 6 (IL-6) indukuje proliferację komórek (kluczowy czynnik w proliferacji limfocytów B) oraz jest zdolne do pobudzania angiogenezy [50,51]. Dodatkowo ekspresji ulegają takie geny, jak: *v-Bcl-2*, *v-MIP*, *v-GPCR* (viral G protein-coupled receptor) i *v-IRF1*. v-GPCR promuje wzrost ROS, co indukuje oksydacyjne uszkodzenia DNA komórkowego [51]. v-GPCR i v-IGF-1 poprzez aktywację szlaku NF- $\kappa$ B oraz hamowanie czynników proapoptotycznych biorą udział w hamowaniu apoptozy. Ponadto, v-GPCR wpływa na zwiększoną ekspresję czynników VEGF oraz PDGF, co wspomaga proces angiogenezy [51].

## Poliomawirus związany z komórkami MERKLA

Poliomawirus związany z komórkami Merkla (MCPyV, MCV, ang. *Merkel Cell Polyomavirus*) należy do rodziny Poliomawirusów (ang. *Polyomaviruses*), wirusów DNA o małym ikosaedralnym i nieosłoniętym kapsydzie. Do tej samej rodziny należą również małpi wirus SV-40 (ang. *Simian virus*) oraz ludzkie wirusy JC i BK. Jednak tylko MCV ma właściwości onkogenne i jest odpowiedzialny za rozwój rzadkiego, ale bardzo agresywnego neuroendokrynnego nowotworu skóry – raka wywodzącego się z komórek Merkla (MCC, ang. *Merkel cell carcinoma*) [52-57].

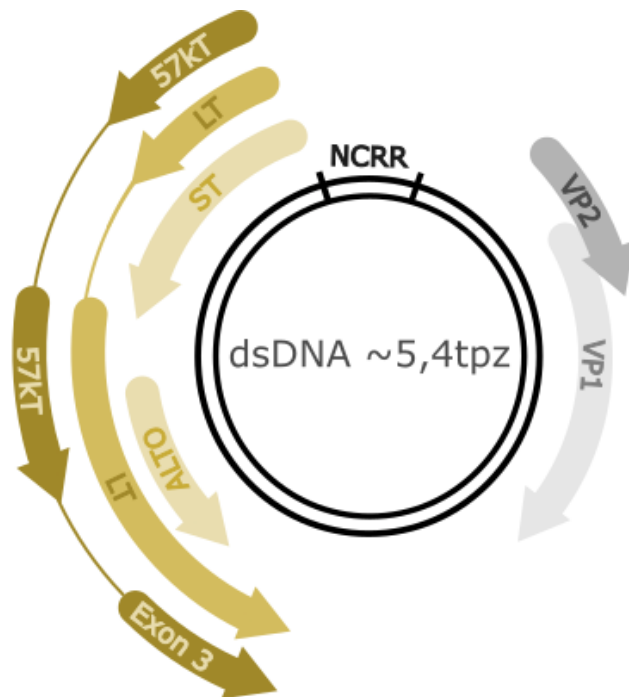
Wirus MCV należy do grupy wirusów dermatropowych, powodujących zakażenia błon śluzowych i skóry. Po raz pierwszy zidentyfikowano go w 2008 roku w komórkach raka neuroendokrynnego skóry [57]. Nowotwór ten rozwija się z komórek Merkla, wyspecjalizowanych komórek warstwy podstawnej naskórka i błon śluzowych pełniących funkcje mechanoreceptorów. Wirus MCV wykazuje jednak nie tylko tropizm do komórek Merkla, ale może również ulegać replikacji w fibroblastach skórnych [58]. Często wykrywany jest w cebulkach włosów brwi. Uważa się, że wirus MCV infekuje fibroblasty skórne w pobliżu mieszków włosowych, a dojrzałe wiriony potomne są uwalniane na powierzchnię skóry przez mieszki włosowe lub kanaliki gruczołów łojowych i potowych [59]. Najczęściej wirus ten występuje na skórze (40–80%) [60,61], rzadziej w drogach oddechowych, ślinie [62-65], limfie [66], moczu [67] i przewodzie pokarmowym [68]. Bardzo łatwo przenosi się przez bezpośredni kontakt fizyczny między ludźmi. Nie wyklucza się jednak również transmisji MCV przez drogi oddechowe i pokarmowe [68].

Genom wirusa MCV, znajdujący się w formie cyrkularnego dsDNA zbudowanego z około 5,4 tpoz, podzielony jest na trzy regiony: niekodujący region regulatorowy (NCCR, ang. *non-coding regulatory region*), wczesny region kodujący i późny region kodujący.

W regionie regulatorowym znajduje się miejsce inicjacji replikacji (*ori*) oraz promotory dla genów wczesnych i późnych. Wczesny region genomu koduje: duży antygen LT (ang. *Large T antigen*), mały antygen ST (ang. *Small T antigen*), białka 57kT i ALTO (ang. *Alternative LT open reading frame*). Antygeny LT i ST to główne onkoproteiny wirusa MCV [69].

Funkcja antygeny 57kT jest mało poznana, ale wykazano, że jego homolog u wirusa SV-40 promuje proliferację zakażonych wirusem komórek [70]. Białko ALTO mimo że nie pełni kluczowej funkcji w cyklu replikacyjnym wirusa i transformacji nowotworowej komórki, to wykazano jednak, że sekwencja je kodująca często ulega mutacji w komórkach nowotworowych [71].

Późny region genomu koduje dwa białka strukturalne: główne białko kapsydu VP1 i mniejsze białko kapsydu VP2. Białko VP1 oddziałuje z polisacharydami z grupy glikozaminoglikanów (GAG), siarczanem heparanu znajdującym



Rycina 3. Schemat budowy genomu MCV.

Genom wirusa MCV ma formę cyrkularnego dsDNA o długości około 5,4 tpoz. W genomie tym wyróżnia się trzy regiony: niekodujący region regulatorowy (NCCR, ang. *non-coding regulatory region*), wczesny region kodujący i późny region kodujący. Wczesny region genomu koduje: duży antygen LT (ang. *Large T antigen*), mały antygen ST (ang. *Small T antigen*), białka 57kT i ALTO (ang. *Alternative LT open reading frame*). Późny region genomu koduje dwa białka strukturalne: główne białko kapsydu VP1 i mniejsze białko kapsydu VP2 [na podstawie 52].

się na powierzchni komórek zwierzęcych i odgrywa bardzo ważną rolę w procesie wnikania wirusa do komórki. Ma ono również silne właściwości antygenowe. Białko VP2 również wpływa na infekcyjność wirusa MCV. Nie wykazano jednak jego bezpośredniej roli w wiązaniu wirusa do receptora komórkowego, transporcie wewnątrzkomórkowym wirionów, czy składaniu cząstek potomnych wirusów [72] (Ryc. 3).

## Mechanizm kancerogenezy z udziałem MCV

Za proces kancerogenezy z udziałem MCV odpowiada integracja DNA wirusa do genomu gospodarza oraz mutacje w sekwencji kodującej duży antygen LT. Mutacje te prowadzą do powstania skróconej formy antygeny LT pozbawionej występujących na końcu C domen o aktywności helikazy i replikazy. Utrata tych domen w białku LT eliminuje zdolność wirusa do replikacji jego materiału genetycznego, który pozostaje zintegrowany z genomem gospodarza [73-75].

Główne onkoproteiny wirusa MCV, których aktywność prowadzi do nadmiernej proliferacji komórek i rozwoju procesu nowotworzenia to białka LT i ST. Początkowo sądzono, że duży antygen LT ma silniejsze właściwości onkogenne niż mały antygen ST. Obecnie uważa się, że obie onkoproteiny wirusowe są niezbędne w procesie transformacji nowotworowej komórki z udziałem wirusa MCV [76].

Duży antygen LT oddziałuje poprzez swój koniec N z białkiem pRb, prowadząc do jego inaktywacji. Uwolnienie czynnika E2F z kompleksu E2F:Rb powoduje uruchomienie transkrypcji genów białek fazy S cyklu komórkowego, takich jak: cyklina A oraz cyklina E i stymulacji proliferacji komórki. Antygen LT odpowiada również za transformację nowotworową komórki poprzez hamowanie apoptozy, pobudzanie aktywności telomerazy i indukcję angiogenezy [53].

W przeciwieństwie do dużego antygeny LT, mały antygen ST nie wymaga mutacji, aby mieć aktywność onkogenną. Białko ST indukuje proces nowotworzenia poprzez deregulację szlaku kinazy mTOR, promowanie glikolizy, czy wpływając na fosforylację czynnika transkrypcyjnego c-JUN [2].

Wirus MCV stanowi czynnik etiologiczny w rozwoju neuroendokrynnego nowotworu skóry – raka z komórek Merkla (MCC, ang. *Merkel cell carcinoma*) [54]. Obecność Poliowirusa zwanego z komórkami Merkla potwierdza się w około 80–97% przypadków nowotworów MCC [77, 78]. Infekcje wirusem MCV są bardzo często spotykane zwłaszcza u dzieci. Wykazano, że 20–40% dzieci w wieku 1–5 lat i 80% populacji ludzi w wieku do 50 lat jest seropozytywnych (zawiera przeciwciała skierowane przeciwko białku kapsydu VP1 wirusa MCV) [73,79,80]. Pomimo dużej częstości występowania zakażeń wirusem MCV, rak z komórek Merkla jest niezwykle rzadkim, ale bardzo agresywnym nowotworem skóry, którego częstość występowania i śmiertelność wynoszą odpowiednio 0,79 i 0,43 na 100 000 osób [81]. Na rozwój tego nowotworu najczęściej narażone są osoby starsze lub z immunosupresją, chorzy na białaczkę, zarażeni wirusem HIV, czy pacjenci po przeszczepach [82–84]. Uważa się, że czynnikiem, który sprzyja rozwojowi tego nowotworu jest promieniowanie UV [85].

#### Wirus brodawczaka ludzkiego

Wirusy brodawczaka ludzkiego (HPV, ang. *Human Papillomaviruses*) należą do rodziny Papillomawirusów (PV, ang. *Papillomaviruses*) – niewielkich wirusów DNA o ikosaedralnym kapsydie, który nie jest osłonięty otoczką. Wirusy te infekują komórki nabłonka, a ich cykl replikacyjny jest ściśle zależny od procesu różnicowania się komórek nabłonka. Do tej pory zidentyfikowano ponad 200 typów wirusów HPV. W zależności od typu, mają one zdolność do wywoływania łagodnych zmian skórnych, takich jak brodawki skórne, brodawki pospolite, czy brodawki płaskie. Niektóre wirusy HPV posiadają jednak właściwości onkogenne i mogą prowadzić do rozwoju licznych nowotworów, m.in. raka szyjki macicy, odbytu, jamy ustnej i gardła, prącia, pochwy oraz sromu [86–90].

Wirusy HPV wykazują tropizm do komórek nabłonka wielowarstwowego błon śluzowych i skóry. Tropizm ten różni się w zależności od rodzaju wirusa. Wirusy brodawczaka ludzkiego można podzielić na pięć grup, tj.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\mu$  i  $\nu$ . Największą grupę stanowią wirusy  $\alpha$ -HPV, które infekują nabłonek błon śluzowych szyjki macicy, sromu, pochwy, penisa i odbytu. Wirusy  $\beta$ -HPV zakażają komórki

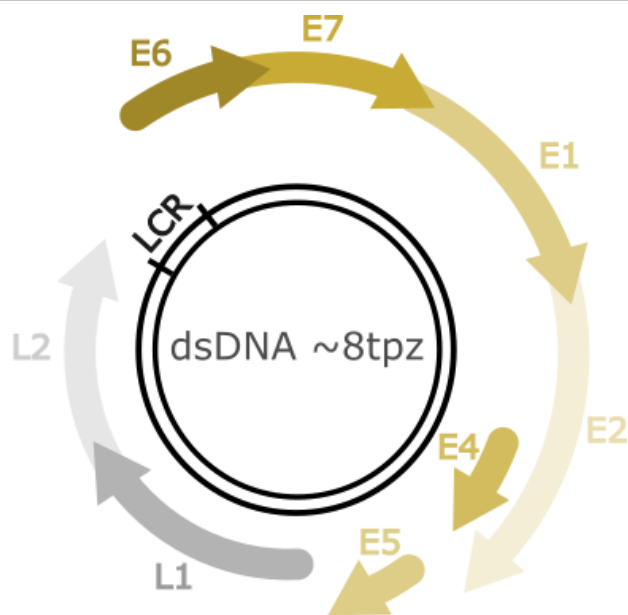
skóry, natomiast wirusy z grup  $\gamma$ ,  $\mu$  i  $\nu$  są odpowiedzialne za powstawanie brodawek skórnych, które nie ulegają transformacji nowotworowej [91].

Wirusy brodawczaka ludzkiego, ze względu na ich potencjał onkogeny, można również podzielić na HPV wysokiego ryzyka (HR-HPV, ang. *high risk HPV*) oraz HPV niskiego ryzyka (LR-HPV, ang. *low risk HPV*). Do wirusów wysokiego ryzyka należą m.in. HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV 35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59 i HPV68. Wśród nich HPV16 i HPV18 stanowią najczęściej występujące na świecie typy wirusów brodawczaka związane z procesem nowotworzenia. Wirusy niskiego ryzyka rzadko prowadzą do powstania nowotworów, wywołując najczęściej zmiany na narządach płciowych – tzw. kłykciny kończyste; należą tu m.in. wirusy HPV6 i HPV11.

Wirusami brodawczaka ludzkiego można się zarazić przez bezpośredni kontakt ze skórą lub błoną śluzową zainfekowanej osoby. Wirusy HPV należą do jednych z najczęściej przenoszonych drogą płciową patogenów [77,87,90].

Genom wirusów HPV funkcjonuje w formie kołistego dsDNA, zbudowany z około 8 tpz. Jest on podzielony na trzy regiony: wczesny (E, ang. *early*) i późny (L, ang. *late*) region kodujący oraz długi region kontrolny (LCR, ang. *long control region*) [87,90].

Wczesny region kodujący zawiera ramki odczytu dla sześciu białek wirusowych: E1, E2, E4, E5, E6 oraz E7. Białka E1 i E2 odgrywają bardzo ważną rolę w replikacji materiału genetycznego wirusa HPV. Proteina E1 ma aktywność helikazy, natomiast białko E2 może regulować ekspresję genów wirusowych i segregację materiału genetycznego wirusa podczas podziałów komórkowych. Białko E4 odpowiada za uwalnianie wirionów potomnych z powierzchni nabłonka poprzez destabilizację włókien keratynowych. Białko E5 natomiast to hydrofobowe białko błonowe, które ma właściwości onkogenne i wspomaga rozwój procesu nowotworzenia. Główne białka onkogenne wirusa brodawczaka ludzkiego odpowiedzialne za transformację nowotworową zainfekowanej komórki, to onkoproteiny E6 i E7. Późny region kodujący genomu HPV zawiera ramki odczytu dla białek strukturalnych wirusa L1 i L2. Białko L1 to białko głównego kapsydu (360 kopii L1), stanowiące 80% masy kapsydu wirusa HPV. Proteina ta pełni ważną rolę w adsorpcji wirusa do komórki. Białko L2, mimo że stanowi małą część kapsydu (12–36 kopii), pełni bardzo ważną funkcję w cyklu replikacyjnym wirusów HPV, odpowiada m.in. za transport materiału genetycznego wirusa do jądra komórkowego, a także regulację ekspresji genów wirusowych i składanie wirionów potomnych. Długi region kontrolny genomu HPV to obszar niekodujący, odpowiedzialny za regulację replikacji wirusowego materiału genetycznego i transkrypcję genów wirusowych. Znajdują się tu takie elementy, jak m.in. miejsce inicjacji replikacji (*ori*), promotor dla genów wczesnych (p97 u wirusa HPV16) i późnych (p670 u wirusa HPV16), a także sekwencje wzmacniające (*enhancer*) i wyciszające (*silencer*) transkrypcję wirusowych genów, wiążące zarówno wirusowe, jak i komórkowe czynniki transkrypcyjne [90]. Odmienne typy HPV różnią się sekwencją kodu-



**Rycina 4.** Schemat budowy genomu wirusa brodawczaka ludzkiego na przykładzie HPV16.

Genom wirusów brodawczaka ma formę kolistego dsDNA i zbudowany jest z ok. 8 tpz. W genomie HPV16 wyróżnia się geny wczesne (E), tj. E6, E7, E1, E2, E4, E5, geny późne (L), tj. L1 i L2, a także długi region kontrolny (LCR, ang. long control region) [na podstawie 90].

jąca białko L1, natomiast różnica między aktywnością wirusów wysokiego i niskiego często jest związana z różnicami w sekwencjach genów E6 i E7 [92,93] (Ryc. 4).

#### Mechanizm kancerogenezy z udziałem HPV

Cykl replikacyjny wirusów HPV jest ściśle zależny od procesu dojrzewania komórek nabłonka. Wirusy wnikają do warstwy podstawnej nabłonka, gdzie dostają się w wyniku mikrourazów, natomiast składanie i uwalnianie wirionów potomnych odbywa się w górnych warstwach nabłonka. Produktywny cykl replikacyjny wirusa wymaga wirusowych onkoprotein E6 i E7, które tworzą sprzyjające środowisko dla replikacji wirusowego DNA w środkowych warstwach nabłonka, gdzie replikacja DNA normalnie nie byłaby możliwa. W większości przypadków infekcja HPV jest samoistnie usuwana przez układ odpornościowy gospodarza. Jednakże, w niektórych przypadkach, np. kiedy układ odpornościowy gospodarza nie działa prawidłowo, może dojść do infekcji przetrwałej, która sprzyja integracji DNA wirusa z genomem gospodarza. Genom HPV ulega integracji w miejscu pęknięcia ramki odczytu dla białka E2, które kontroluje ekspresję E6 i E7. Brak białka E2 prowadzi do wzmożonej syntezy obu białek onkogennych, a ich nadmierna aktywność – do transformacji nowotworowej zainfekowanej komórki [94-97].

Białko E6 tworzy kompleks z ligazą ubikwityny E6AP i białkiem p53, kierując je do degradacji w proteosomie i blokując apoptozę [98]. Natomiast, białko E7 wiąże się z białkiem pRB, uwalniając czynnik transkrypcyjny E2F z kompleksu pRB/E2F, co prowadzi do zaburzenia regulacji cyklu komórkowego [99]. Onkoproteiny E6 i E7 wpływają również na ekspresję cytokin i aktywację takich szlaków sygnałowych, jak np. PI3K/AKT, Wnt i Notch [100]. Ponadto,

białko E6 wirusów HPV wysokiego ryzyka ma na końcu C motyw PBM (ang. PDZ binding motif), który oddziałuje z białkami zawierającymi domeny PDZ (PSD-95/Dlg/ZO-1), m.in. Dlg, Scribble. Prowadzi to do utraty polarności i zerwania połączeń międzykomórkowych, co również sprzyja wzmożonej proliferacji i transformacji nowotworowej zainfekowanych komórek nabłonkowych [101].

Podsumowując, nadmierna ekspresja i aktywność wirusowych onkoprotein E6 i E7 prowadzi do deregulacji cyklu komórkowego, nasilenia podziałów komórkowych, zahamowania apoptozy oraz nagromadzenia uszkodzeń genetycznych w wyniku niewydajnej naprawy DNA, co w rezultacie prowadzi do rozwoju procesu nowotworzenia.

Infekcje HPV stwierdza się u ponad 80% aktywnych seksualnie kobiet i mężczyzn. Większość zakażeń ma charakter bezobjawowy i jest samoistnie usuwana przez układ odpornościowy gospodarza. W zależności od typu HPV, wirusy te wywołują łagodne zmiany rozrostowe, np. brodawki skórne, brodawki pospolite (łac. *verruca vulgaris*), brodawki płaskie (łac. *verruca plana*), brodawki błony śluzowej jamy ustnej i gardła lub prowadzą do rozwoju nowotworów. Wirusy brodawczaka ludzkiego wysokiego ryzyka przyczyniają się do rozwoju prawie 5% wszystkich nowotworów złośliwych u ludzi. Infekcje wirusami HR-HPV są odpowiedzialne za prawie 90% przypadków raka szyjki macicy i odbytu, około 70% przypadków raka pochwy i sromu oraz około 60% przypadków raka prącia oraz nowotworów głowy i szyi [101].

Do najczęstszych nowotworów wywołanych przez te patogeny należy rak szyjki macicy, który jest czwartym najczęściej występującym nowotworem u kobiet na świecie. W komórkach raka szyjki macicy najczęściej identyfikowane są wirusy HPV16, HPV18, HPV31, HPV33 i HPV58, przy czym obecność HPV16 i HPV18 stwierdza się u ponad 70% przypadków nowotworów szyjki macicy. Co roku, na całym świecie raka szyjki macicy diagnozuje się u około 530 000 kobiet (około 3500 w Polsce); połowa z tych kobiet umiera z powodu zbyt późnej diagnozy. Infekcje wirusem HPV najczęściej występują u młodych kobiet między 18. a 30. rokiem życia, natomiast 80% przypadków raka szyjki macicy diagnozuje się u kobiet powyżej 35. roku życia; średnia wieku – 49 lat. Sugeruje to, że proces kancerogenezy związany z infekcją wirusem HPV trwa wiele lat. Do czynników sprzyjających rozwojowi raka szyjki macicy należą: wczesne rozpoczęcie aktywności seksualnej, wielu partnerów seksualnych, palenie tytoniu, niski status społeczno-ekonomiczny oraz częste infekcje narządów płciowych [101].

Obecnie na rynku dostępne są szczepionki chroniące przed infekcją niektórymi typami HPV, jednak mają one jedynie właściwości profilaktyczne, a nie terapeutyczne. Szczepionka Cervarix chroni przed HPV16 i HPV18, Gardasil chroni przed HPV6, HPV11, HPV16, HPV18, zaś Gardasil 9 – przed HPV6, HPV11, HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV45, HPV52, HPV58. Zaleca się szczepienie zarówno dziewcząt, jak i chłopców w wieku 9–26 lat [102]. W celu uniknięcia raka szyjki macicy, kobiety powinny również regularnie wykonywać cytologię.



## Wirus zapalenia wątroby typu B

Wirus zapalenia wątroby typu B (HBV, ang. *Hepatitis B virus*) jest przedstawicielem rodziny *Hepadnaviridae* i rodzaju *Orthohepadnavirus*. Wykazuje on tropizm do hepatocytów i może być przyczyną wirusowych zakażeń wątroby o ostrym lub przewlekłym przebiegu, prowadzącym do zwłóknienia lub marskości wątroby oraz rozwoju nowotworów.

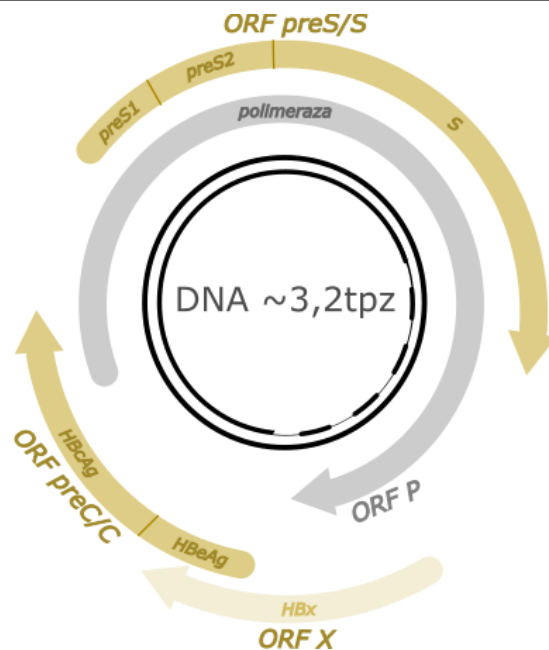
Progresja infekcji z ostrego zapalenia do stadium choroby przewlekłej zależy m.in. od wieku pacjenta, w jakim doszło do zakażenia. W przypadku zdrowych, dorosłych osób, o w pełni rozwiniętym i prawidłowo działającym układzie odpornościowym, zazwyczaj po 30–60 dniach dochodzi do całkowitego wyleczenia. Jedynie mniej niż 5% zakażeń stanowią zakażenia przewlekłe, z których u 20–30% osób dochodzi do rozwoju marskości i/lub nowotworów wątroby [2].

Szacunkowe dane Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) wskazują, że na całym świecie około 257 milionów osób żyje z przetrwałą infekcją wirusem HBV.

Wirus HBV jest najbardziej rozpowszechniony w Regionie Zachodniego Pacyfiku (Indo-Pacyfiku) i Afryce, gdzie ponad 6% populacji jest zakażonych. Znacznie rzadziej wirus ten występuje we Wschodnim Regionie Śródziemnomorskim, Europie, Azji Południowo-Wschodniej, czy na obszarze obu Ameryk, gdzie zainfekowanych jest odpowiednio 3,3%, 2,0%, 1,6% i 0,7% populacji. Obecnie dostępna szczepionka zapewnia 98–100% ochrony przed zakażeniem [2].

Do zakażenia HBV może dochodzić na drodze wertykalnej tzw. transmisji perinatalnej lub z matki na potomstwo (MTCT, ang. *mother to child transmission*). Możliwa jest także transmisja horyzontalna w wyniku kontaktu skórno-słuzowego lub błon śluzowych z zainfekowanymi płynami ciała, np. łzami, śliną, spermą, wydzielinami dróg rodnych czy krwią. Do infekcji może dochodzić poprzez kontakty seksualne, podczas zabiegów medycznych, czy używanie sprzętu zanieczyszczonego zainfekowanym materiałem. W przeszłości do zakażeń bardzo często dochodziło podczas przetaczania krwi. Jednak po wprowadzeniu obowiązku weryfikacji dawców pod kątem obecności antygenów powierzchniowych HBsAg i przeciwciał anti-HBc problem ten znacznie ograniczono [103].

Wirus HBV jest postrzegany jako czynnik ryzyka rozwoju raka wątrobowokomórkowego (HCC, ang. *hepatocellular carcinoma*). Około 20% przypadków HCC w Stanach Zjednoczonych, Europie i Japonii oraz 60% przypadków w Azji i Afryce jest związanych z przewlekłą infekcją HBV. Do rozwoju HCC dochodzi po 10–30 latach od pierwotnego zakażenia, m.in. wskutek nagromadzenia mutacji. HBV jest także związany z rozwojem innych nowotworów, jak chłoniak niezłośliwy, B-komórkowy chłoniak niezłośliwy, czy rak jamy nosowo-gardłowej, jednak w ich przypadku dokładny mechanizm onkogenezy nie został poznany [2,103].



Rycina 5. Schemat organizacji genomu HBV.

Na schemacie zaznaczone zostały cztery, zachodzące na siebie ramki odczytu zakodowane w genomie HBV. ORF *preS/S* koduje białka otoczki tzw. antygeny powierzchniowe (HBsAg). W ORF *preC/C* zakodowane są dwa białka: białko rdzeniowe (antygen rdzeniowy, HbcAg) oraz antygen e (HBeAg). Natomiast w ORF *P* i *X* kodują odpowiednio wirusowy, wielofunkcyjny enzym oraz białko Hx zaangażowane w regulację wszystkich procesów w cyklu wirusa. Wszystkie z kodowanych białek wirusa HBV są w sposób bezpośredni lub pośredni zaangażowane w promowanie procesu kancerogenezy.

HBV jako wirus o ikozaedralnym kapsydie osłonięty jest zewnętrzną otoczką. Genom wirusa stanowi cyrkularny DNA zbudowany z około 3,2 tpz, występujący częściowo w formie dwuniciowej. Genom HBV koduje 4 zachodzące na siebie otwarte ramki odczytu. Gen *preS/S* koduje 3 białka otoczki nazywane antygenami powierzchniowymi (HBsAgs), w ramce *preC/C* jest zakodowany tzw. antygen e (HBeAg) oraz białko rdzeniowe tzw. antygen rdzeniowy HbcAg, gen *P* koduje wirusowy wielofunkcyjny enzym o aktywności polimerazy, odwrotnej transkryptazy, RNazyH, natomiast w genie *X* zakodowane jest białko HBx – główny regulator wirusowy pełniący różne funkcje, m.in. związane z ekspresją genów, replikacją, czy kontrolą procesów komórkowych [104–106] (Ryc. 5).

Po wniknięciu wirusa do hepatocytów genom HBV jest transportowany do jądra komórkowego, gdzie dochodzi do uzupełnienia nukleotydów na jednej z nici DNA i konwersji cząsteczki do formy kolistej, zamkniętej kowalencyjnie, tzw. cccDNA (ang. *closed circular DNA*), będącej matrycą do transkrypcji i replikacji. cccDNA może być utrzymywany w formie stabilnego episomu w jądrach komórkowych hepatocytów lub włączany do genomu komórek gospodarza. Za replikację wirusa HBV odpowiada polimeraza o aktywności odwrotnej transkryptazy, podobnie jak ma to miejsce u retrowirusów [107]. Podczas replikacji wirusowego DNA powstają liczne błędy, ponieważ wirusowa polimeraza nie ma aktywności *proofreading*. Skutkiem tego są częste mutacje DNA, sprzyjające pojawianiu się wirusów o odmiennych genotypach [108].

Dotychczas opisano 10 genotypów wirusa HBV (A-J), podzielonych na subgenotypy. Wirusy o genotypach B i C dominują we wschodniej Azji, genotypy A i D – w Europie i Indiach, Afryce Subsaharyjskiej i Stanach Zjednoczonych. Ponadto, wirusy zawierające odmienne genotypy różnią się zdolnościami do transformacji nowotworowej hepatocytów oraz odpowiedzią na terapię przeciwwirusową. Zwiększone ryzyko komplikacji i rozwoju raka wątrobowokomórkowego związane jest z infekcją HBV o genotypie A, C, D lub F [105].

#### Mechanizm kancerogenezy z udziałem HBV

Rak wątrobowokomórkowy to najczęstszy typ nowotworów wątroby i drugi pod względem śmiertelności nowotwór na świecie, stanowiący przyczynę nawet 600-800 tysięcy zgonów rocznie. Jego rozwój jest związany z interakcją pomiędzy czynnikami genetycznymi, wpływem środowiska oraz infekcją wirusową. Przetrwale zakażenia wirusem HBV są postrzegane jako główna przyczyna HCC [109,110]. Transformację nowotworową, rozwój HCC oraz jego progresję napędzają przewlekłe stany zapalne, uszkodzenia DNA, modyfikacje epigenetyczne, reaktywacja telomerazy, niestabilność chromosomowa i neoangiogeneza. Rak ten może rozwijać się zarówno w następstwie marskości wątroby, jak również z niezmiennionych komórek. Proces progresji infekcji wirusowej można podzielić na 4 fazy. Pierwsze dwie identyfikowane są poprzez obecność wirusowego antygeny HBeAg, w trakcie których następuje aktywna replikacja i intensywna produkcja cząstek potomnych, która z czasem ulega osłabieniu. Dwie kolejne fazy rozwijają się po miesiącach lub latach od pierwotnego zakażenia. HBeAg znajduje się wówczas na niewykrywalnym poziomie, wirusowe DNA jest zintegrowane z genomem gospodarza, akumulowane są zmiany na poziomie DNA, po czym w wyniku supresji układu odpornościowego wirus ulega reaktywacji, pogłębiając powstałe uszkodzenie wątroby [104].

Onkogenne właściwości wirusa HBV wynikają w dużej mierze z jego zdolności do integracji z genomem komórki gospodarza, prowadząc do zmian w ekspresji i funkcjonowaniu kluczowych białek komórkowych, zaburzenia integralności genomu i w konsekwencji rozwoju nowotworów wątroby [111]. Najczęściej do integracji dochodzi w miejscach wrażliwych i kluczowych dla utrzymywania stabilności chromosomów, np. w okolicach sekwencji telomerowych, na obszarze wysp CpG. W wyniku integracji wirusowe geny *X* i *preS/S* mogą być włączane do sekwencji genów gospodarza, m.in. *TERT*, *MLL4*, *CCNE1*, *KMT2B*, *MAPK*, *TP53* kodujących białka zaangażowanych w kluczowe procesy komórkowe, takie jak aktywność telomerazy, przebieg cyklu komórkowego, apoptoza, czy proliferacja [112-113].

Wzrost ryzyka rozwoju HCC związany jest także z mutacjami, szczególnie w sekwencji genu *preS/S*, prowadzących do nadprodukcji skróconych białek osłonki, które mogą działać jako czynniki aktywujące transkrypcję [113-117]. Ponadto, ich akumulacja na obszarze siateczki śródplazmatycznej hepatocytów sprzyja rozwojowi stresu, dalszym uszkodzeniom DNA, a w konsekwencji progresji marskości wątroby czy transformacji nowotworowej [117].

Jednakże, za kluczowy wirusowy onkogen związany z rozwojem HCC uznawany jest wirusowy regulator transkrypcji HBx [117]. Białko HBx indukuje uszkodzenia DNA i zaburza proces ich naprawy. Podwyższony poziom jego ekspresji koreluje akumulacją indykatora stresu oksydacyjnego – adduktów 8-OHdG i hamowaniu enzymów naprawczych – glikozylazę DNA oraz uwrażliwia komórki na powstawanie uszkodzeń [118]. Onkogenne działanie HBx polega również na zaburzaniu ekspresji genów gospodarza związanych z procesem kancerogenezy poprzez wpływ na proces modyfikacji epigenetycznych histonów i DNA [119]. Białko to kontroluje bezpośrednio lub w wyniku aktywacji ekspresji miRNA, m.in. miR-101 ekspresję i aktywność metylotransferaz DNA DNMT1, DNMT3A/3B, powodując hipermetylację promotorów genów supresorowych [120,121]. Ponadto HBx zmienia profil ekspresji niekodujących i regulatorowych RNA, m.in. lncRNA i miRNA, modulując funkcjonowanie komórek gospodarza, działając antyapoptotycznie oraz wpływając na proliferację, inwazję i metastazę komórek nowotworowych [119,122]. Sprzyjające transformacji nowotworowej zmiany w ekspresji genów gospodarza mogą również wynikać z działania HBx jako czynnika transkrypcyjnego, jego wpływu na funkcjonowanie komórkowych czynników transkrypcyjnych, np. HIF-1 $\alpha$ , E2F1, AP-1, STAT3, bezpośrednie oddziaływanie z elementami maszynarii transkrypcyjnej gospodarza, np. (TF)IIB, TFIIH [123,124]. Stymulacja kancerogenezy może odbywać się również w wyniku nadmiernej aktywacji szlaków sygnałowych, m.in. Wnt/ $\beta$ -katenina, NF- $\kappa$ B, MAPK, JNK spowodowanych nadekspresją HBx [125,126]. HBx współdziała także z onkoproteina RMP, hamując ekspresję czynników proapoptotycznych i stymulując ekspresję antyapoptotycznych [127]. Białko to wpływa również na regulację ekspresji i działania głównego supresora transformacji nowotworowej – białka p53, działając tym samym antyapoptotycznie i stymulując proliferację [128]. Inhibicja działania p53 następuje w wyniku jego związania z domeną karboksylową w sekwencji HBx [129]. Ponadto, HBx wiążąc się z p53, zmienia możliwość jego oddziaływania z czynnikami transkrypcyjnymi, blokuje zdolność wiązania kompleksów transkrypcyjnych z promotorami regulowanych genów w wyniku indukowania fosforylacji p53 oraz inaktywuje białko p53 poprzez stabilizację jego oddziaływania z DNA [130]. Nadekspresja p53 prowadzi do natychmiastowej degradacji proteosomalnej białka HBx [131].

Liczne badania wskazują także na proces autofagii jako czynnika ryzyka w rozwoju HCC. Kolokalizację białka rdzeniowego HBV obserwowano z autofagosomami [132]. Autofagia jest wysoce zakonserwowaną reakcją komórek eukariotycznych, pozwalającą na kierowanie do lizosomalnej degradacji nieprawidłowych lub zagregowanych białek, jak i uszkodzonych komórek. Liczne badania wskazują, że autofagia promuje rozwój HCC w wyniku generowania stresu oksydacyjnego, stymulowania przewlekłego stanu zapalnego, czy zakażeń wirusowych [133]. Również białko HBx w sposób pośredni lub bezpośredni wpływa na proces autofagii w hepatocytach. HBx wiąże się i stymuluje aktywność enzymatyczną kinazy PI3KC3 – enzymu odpowiedzialnego za indukcję autofagii [132]. Enzym ten jednocześnie zwiększa ilość autofagosomów i hamuje ich kierowanie do de-

gradacji, prowadząc do akumulacji *cargo* znajdujących się w tych strukturach [134]. Ponadto HBx stymuluje replikację HBV oraz indukuje autofagię w wyniku oddziaływania z komórkowym białkiem onkogennym c-MYC. Prowadzi to do spadku ekspresji miR-192-3p, którego celem jest inhibitor apoptozy XIAP, Becliny-1 i szlaki sygnałowe zależne od NF-κB [135]. *Beclin-1* jest genem indukującym autofagię, który ulega nadekspresji w nowotworach zależnych od HBV [136]. Wykazano także, że sam proces autofagii stymuluje zakażenie komórek i replikację wirusa HBV [132].

Wydaje się, że kluczowy udział w kancerogenezie HBV zależnej mają również zaburzenia w sygnalizacji zależnej od prozapalnych i sprzyjających transformacji nowotworowej czynników NF-κB oraz STAT3 [137]. Wirusowe białko HBx stymuluje proces fosforylacji STAT3, aktywując szlaki sygnalizacyjne Jak-STAT oraz indukując zależną od STAT3 transkrypcję [138]. Ponadto, polimeraza wirusa HBV powoduje supresję szlaków zależnych od NF-κB, obniżając syntezę i osłabiając aktywność IFN-α oraz hamując transkrypcję genów aktywowanych przez NF-κB [139]. Przeciwny efekt wywołuje białko HBx, które aktywuje bezpośrednio lub pośrednio, w wyniku indukcji tworzenia ROS, szlaki zależne od NF-κB, stymulując jednocześnie transkrypcję oraz prowadząc do utrzymania replikacji wirusa [140-142]. Aktywacja transdukcji sygnału zależnego od NF-κB powoduje wzrost syntezy i sekrecji prozapalnych cytokin, np. IL-6 [139]. Jednocześnie obecność IL-6 i EGF jest sygnałem aktywującym STAT3, który może wiązać się do wzmacniacza transkrypcji (enhancera) w sekwencji DNA wirusa HBV i indukować ekspresję genów wirusowych [143]. Istnienie takiej zależności wskazuje na ważną rolę czynnika STAT3 w procesach tworzenia prozapalnego środowiska sprzyjającego rozwojowi HCC oraz hamowaniu apoptozy, aktywacji angiogenezy i zwiększania potencjału proliferacyjnego zainfekowanych komórek [144].

Innym onkowirusem hepatotropowym jest wirus zapalenia wątroby typu C (HCV).

#### Wirus zapalenia wątroby typu C

Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV, ang. *Hepatitis C virus*) należy do rodziny *Flaviviridae* i rodzaju *Hepacivirus*. Podobnie jak wirus HBV, wykazuje tropizm do hepatocytów. Zakażenia HCV są najczęściej przetrwałe (w około 80% przypadków), a ich konsekwencją może być wzrost o 15-30% rozwoju marskości wątroby, zwłóknienia i rak wątrobowokomórkowy (HCC). Jest to proces trwający do 20 lat. W około 30% przypadków zakażeń wirus jest spontanicznie usuwany z organizmu, bez wdrożenia leczenia. Raporty WHO wskazują, że około 71 milionów osób na świecie jest zakażonych HCV, a corocznie diagnozuje się 2 miliony nowych przypadków. Rozwój przewlekłego zakażenia HCV i jego tempo zależą od różnych czynników dodatkowych. Zwiększone ryzyko stanowią m.in. wiek powyżej 25 lat w momencie infekcji, płeć męska, określony genotyp wirusa, bezobjawowy przebieg infekcji, koinfekcja wirusem HIV, czy immunokompetencja [145]. Do infekcji HCV dochodzi najczęściej poprzez kontakt z zakażonym materiałem, np. igłami podczas transfuzji, dializy, zabiegów kosmetycznych oraz drogą płciową.



Rycina 6. Schemat budowy genomu HCV.

Materiałem genetycznym wirusa HCV jest jednoniciowy RNA o dodatniej polarności (+ssRNA, kodujący 10 białek. Bliżej końca 5' znajdują się geny kodujące białka strukturalne: białko rdzeniowe (C) oraz glikoproteiny otoczki (E1, E2). Pozostałe 7 genów koduje białka niestrukturalne, którymi są: wiroporyna p7; proteaza cyteinowa NS2; bifunkcyjny enzym NS3, o aktywności proteazy serynowej i helikazy; wielofunkcyjne białka NS4A i NS4B, białko kompleksu replikacyjnego NS5A oraz białko NS5B, będące polimerazą RNA zależną od RNA. W proces kancerogenezy zależnej od HCV zaangażowane są wszystkie z wymienionych białek.

Uważa się, że nawet 80% przypadków HCC jest związanych z infekcją HCV [146-148]. Przewlekłe zakażenie HCV może być również czynnikiem w etiologii innych nowotworów, takich jak mieszana krioglobulinemia, chłoniak niezłośliwy, nowotwory głowy i szyi, dróg żółciowych, pęcherza, nerek, trzustki, tarczycy, piersi, czy prostaty [2, 149-150]. Jednak dokładna rola wirusa HCV w ich rozwoju nie została wyjaśniona.

HCV jest wirusem osłoniętym otoczką, którego materiał genetyczny stanowi ssRNA o dodatniej polarności ((+)ssRNA), zbudowany z około 6 kbp. Genom HCV koduje 3 białka strukturalne budujące cząstkę wirusową (białko rdzeniowe, glikoproteiny otoczki E1, E2) oraz 7 białek niestrukturalnych (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B), pełniących rolę m.in. w procesach transkrypcji, translacji wirusowych białek, czy składaniu cząstek potomnych [149,150] (Ryc. 6). W komórce wirus lokalizuje się w cytoplazmie. Jego replikacja jest związana z błonami siateczki śródplazmatycznej, zewnętrznej błony mitochondrium i kroplami tłuszczowymi [151,152].

Do tej pory rozpoznano 7 genotypów HCV (1-7), podzielonych na 67 subtypów, występujących w różnych miejscach geograficznych, różniących się w około 30% składem nukleotydowym i wrażliwością na terapię interferonem [153,154]. Duża zmienność genetyczna HCV wynika z wysokiego tempa replikacji i braku aktywności *proofreading* wirusowej polimerazy RNA, zależnej od RNA (NS5B) [154].

#### Mechanizm kancerogenezy z udziałem HCV

Udział wirusa HCV w kancerogenezie raka wątrobowokomórkowego jest dobrze udokumentowany. W znaczącej większości przypadków rozwój nowotworu poprzedza zwłóknienie lub marskość wątroby, które uznaje się za stadium przedrakowe, gdzie procesy komórkowe są zaburzone m.in. w wyniku nagromadzenia mutacji. Jednak nie każda przetrwała infekcja kończy się rozwojem nowotworu. Proces kancerogenezy związanej z wirusem HCV zależy od złożonych interakcji czynników wirusowych i komórkowych oraz ich wpływu na funkcjonowanie układu immunologicznego gospodarza [155]. Onkogenne właściwości wirusa HCV wynikają z bezpośredniego wpływu wirusowych białek na procesy detekcji i naprawy uszkodzeń DNA, przebieg szlaków sygnalizacyjnych, proliferacji czy apoptozy

komórek. Większość białek wirusa HCV może wiązać się z czynnikami komórkowymi i wpływać na przebieg licznych szlaków komórkowych [156]. Jedynie wirusowa polimeraza RNA zależna od RNA (NS5B) nie ma bezpośredniego potencjału onkogennego, ale poprzez współdziałanie z innymi białkami bierze również udział w powstawaniu stransformowanych komórek.

Przetrwale zakażenie HCV prowadzi do utrzymywania się stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego oraz postępującego stłuszczenia.

Rak wątrobokomórkowy charakteryzuje się dużą zmiennością genetyczną, jednak wspólną cechą wszystkich typów jest duża niestabilność genomu komórek gospodarza, wynikająca m.in. z powstających uszkodzeń DNA [156]. Uszkodzenia te mogą powstawać pośrednio, na skutek produkcji reaktywnych form tlenu (ROS) i stresu oksydacyjnego w odpowiedzi na zakażenie. HCV może także bezpośrednio zaburzać przebieg szlaków naprawy uszkodzeń DNA. Wirusowe białko rdzeniowe, NS3/NS4A oraz NS5B mogą oddziaływać w komórkach z białkiem NBS1 i kinazami ATM oraz Chk4 zaangażowanymi w detekcję uszkodzeń DNA oraz przebieg szlaków sygnalizacyjnych zależnych od ATM. Skutkuje to zaburzeniem naprawy DNA, większą wrażliwością na uszkodzenia oraz stabilizacją replikacji materiału genetycznego wirusa [157].

Zakażenie wirusem HCV i transformacja nowotworowa komórki związana jest również ze zmianami w profilu ekspresji genów gospodarza, które spowodowane są przede wszystkim zaburzeniem modyfikacji epigenetycznych. Zaobserwowano, że w warunkach *in vitro* w komórkach zakażonych HCV dochodzi do zahamowania metylacji i acetylacji histonu H4 oraz fosforylacji histonu  $\gamma$ H2AX – kluczowych modyfikacji epigenetycznych odpowiedzialnych za remodelowanie chromatyny, wyznakowanie miejsc uszkodzeń DNA i rekrutację enzymów naprawczych [158]. Ponadto, zmiany w ekspresji genów mogą być także związane z wpływem wirusa HCV na ekspresję, stabilność i funkcjonowanie mikroRNA [146].

Białka wirusa HCV oddziałują także na procesy proliferacji, angiogenezy i apoptozy w komórkach gospodarza, co sprzyja replikacji wirusowego RNA i jego przetrwaniu w hepatocytach. Odbywa się to poprzez bezpośredni wpływ białek wirusowych na szlaki sygnałowe oraz przebieg cyklu komórkowego [156]. Celem wirusa HCV jest wzmacnianie sygnalizacji poprzez receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu EGF (EGFR), który pełni kluczową rolę we wnikaniu HCV do komórek [155]. Udział w tym procesie bierze wirusowe białko NS5A, wpływające na redystrybucję EGFR w komórkach [159]. Ponadto, białka NS3/4A wzmacniają szlaki sygnałowe indukowane przez EGF, przyczyniając się do utrzymywania replikacji wirusowego RNA i uwalniają komórki na stres oksydacyjny [160]. Wykazano także, że białko rdzeniowe wirusa hamuje aktywność białka STAT1, natomiast aktywuje czynnik transkrypcyjny STAT3, co wpływa na regulację szlaku sygnalizacyjnego JAK-STAT, indukując procesy regeneracji i proliferacji hepatocytów, chroniąc komórki przed śmiercią [161, 162]. W komórkach zakażonych wirusem HCV zaobserwowano

wzrost transkrypcji miR-135a-5p, skierowanego przeciwko komórkowym czynnikiem antywirusowym, skutkującą wzmożoną aktywnością STAT3 jako czynnika transkrypcyjnego i wzrostem replikacji HCV [163]. Zakażenie komórek HCV wpływa również na szlaki zależne od transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) [164]. Ponadto, białko rdzeniowe NS3 oddziałując z białkiem Smad3 prowadzi do inhibicji transkrypcji zależnej od szlaków TGF- $\beta$ /Smad3, blokując sygnał zahamowania wzrostu i wejścia komórek w apoptozę [165].

Również szlak Wnt/ $\beta$ -katenina, determinujący los komórek, ulega nadmiernej aktywacji w wyniku zakażenia HCV, prowadząc do wzmożonej ekspresji genów kodujących np. onkogen *c-MYC* [166]. Odbywa się to poprzez aktywację kinazy Akt przez białko NS5A oraz wzrost i stabilizację poziomu  $\beta$ -katenin przez białko rdzeniowe HCV [167, 168]. Ekspresja *c-MYC* jest czynnikiem aktywującym produkcję reaktywnych form tlenu, prowadzących do uszkodzenia mitochondriów oraz DNA, jak i zaburzającym przebieg cyklu komórkowego [166].

Promowanie proliferacji i regulacja przebiegu cyklu komórkowego w wyniku zakażenia wirusem HCV odbywa się głównie poprzez hamowanie aktywności białek supresorowych nowotworu, np. p53, p21, p73, Rb [2]. Na przykład, wirusowa polimeraza RNA NS5B wiąże i kieruje do degradacji białko Rb, aktywując ekspresję genów zależną od czynnika transkrypcyjnego E2F, co stymuluje proliferację komórek i progresję cyklu komórkowego [169-171].

W zależną od HCV transformację nowotworową zaangażowany jest również supresor nowotworzenia p53, którego mutacje i spadek aktywności obserwowano w trakcie rozwoju HCC [172]. Wykazano m.in. oddziaływanie p53 z wirusowymi białkami NS2, NS3, NS5A oraz białkiem rdzeniowym wirusa – E [173]. W większości przypadków rola białek wirusowych polega na supresji działania p53, jednak nieliczne publikacje sugerują aktywację tego supresora w wyniku zakażenia HCV [170].

Zarówno infekcja wirusowa, jak i transformacja nowotworowa są nieodłącznie związane z ukrywaniem się zmodyfikowanych komórek przed apoptozą. Supresja apoptozy jest obserwowana w warunkach *in vitro* po nadekspresji wirusowych białek: rdzeniowego, E2, NS2, NS3, NS5A [173]. Jednakże, apoptoza może mieć także inne znaczenie. Powtarzające się cykle destrukcji i regeneracji komórek związane są z generowaniem stresu oksydacyjnego, który tworzy mikrośrodowisko sprzyjające kancerogenezie, a w połączeniu z wysokim poziomem replikacji wirusa świadczy o aktywnej infekcji i uwalnianiu wirusów potomnych. Badania pokazują, że infekcja wirusem HCV może także sprzyjać zahamowaniu przebiegu cyklu komórkowego i promowaniu apoptozy, np. w wyniku aktywacji kaspazy 3 [174,175].

Zakażenie komórek wirusem HCV w warunkach *in vivo* i *in vitro* aktywuje także proces neoangiogenezy. Jest to związane z indukowaną białkiem rdzeniowym nadekspresją TGF- $\beta$ 2 oraz czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) [176,177]. Wzrost syntezy VEGF ułatwia wnikanie

HCV do komórek. Aktywacja VEGF może być regulowana także poprzez angiotensynę 2 (Ang2), której ekspresję indukuje wirus HCV [178]. Infekcja HCV związana jest również z regulacją procesu metastazy, a dokładniej – przejściem epithelialno-mezenchymalnym (EMT, ang. *Epithelial-Mesenchymal Transition*). Kontrola EMT wynika z aktywacji przez białko NS5A kluczowego regulatora tego procesu Twist 2 lub białek E1/E2, indukujących szlaki sygnalizacyjne zależne od TGF- $\beta$  i VEGF [179,180].

W zakażeniach HCV istotną rolę odgrywa także układ odpornościowy. Wirus HCV indukuje zarówno wrodzoną, jak i adaptacyjną odpowiedź immunologiczną, jednak hamuje produkcję interferonu 1 (IFN-1), zaburza transformację pomocniczych limfocytów T i funkcjonowanie cytotoksycznych limfocytów T i komórek NK [181-183]. Aktywne komórki w stanie zapalnym wytwarzają ogromne ilości chemokin i cytokin prozapalnych (TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-23, IL-6, LT- $\alpha$  i  $\beta$ ), reaktywnych form tlenu (ROS) i azotu (RNS) oraz indukują peroksydację lipidów, przyczyniając się do powstawania uszkodzeń DNA [184-187].

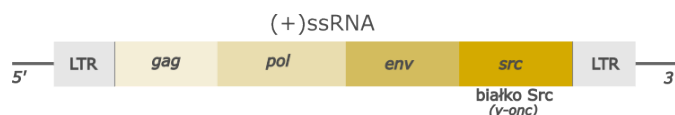
Zakażenia HCV indukuje również stan zapalny poprzez aktywację komórek gwiaździstych wątroby (HSC). Komórki te, poprzez stymulację cytokinami, rozpoczynają następną transformację do komórek przypominających miofibroblasty i zwiększają stopień zwłóknienia wątroby. Ponadto, wirusowe białka aktywują uwalnianie indukującej fibrogenezę cytokiny TGF- $\beta$ , będącej jednocześnie czynnikiem immunosupresyjnym [188].

Zmiany w metabolizmie komórek gospodarza, np. na skutek cukrzycy czy otyłości, związane są także z czynnikami ryzyka rozwoju raka wątrobowokomórkowego w przypadku przetrwałej infekcji HCV. Dochodzić może np. do zmian w metabolizmie tłuszczowców, prowadzącej do zwiększenia produkcji lipidów, zmniejszenia ich sekrecji i degradacji, przyczyniając się do akumulacji kwasów tłuszczowych i rosnącego stłuszczenia tkanki [189]. Akumulacja kwasów tłuszczowych generuje m.in. powstawanie ROS, uszkodzenie mitochondriów i stres siateczki śródplazmatycznej, co w konsekwencji prowadzi do powstania stresu oksydacyjnego, peroksydacji lipidów, uwalniania cytokin prozapalnych i utrzymywania się stanu zapalnego [146,148].

Aby przetrwać w niekorzystnym mikrośrodowisku i zminimalizować uszkodzenia, wirus HCV ma jednak do dyspozycji mechanizm indukowany produktami peroksydacji lipidów. Chroni materiał genetyczny spowalniając replikację RNA wirusa poprzez zmianę konformacji białek kompleksu replikacyjnego NS3/4A oraz NS5B [190].

## RETROWIRUSY

Retrowirusy są pierwszymi poznanymi wirusami onkogennymi. Na ich udział w procesie kancerogenezy zwrócił uwagę Peyton Rous w 1911 roku, badając mięsaka u kurcząt [191]. Genom retrowirusów stanowią dwie nici ssRNA o polarności dodatniej, zawierające trzy zasadnicze geny (*gag*, *pol* i *env*), kodujące białka strukturalne i niestrukturalne wirusa. Niektóre retrowirusy zawierają dodatkowe geny niestrukturalne (*v-onc*), odpowiedzialne za transformację



Rycina 7. Schemat genomu RSV.

W obrębie genomu wyróżnia się gen *gag* kodujący białka strukturalne kapsydu; gen *pol* kodujący prekursor odwrotnej transkryptazy i integrazy; gen *env* kodujący prekursor glikoprotein otoczki oraz gen *src* kodujący białko Src. Na końcach genomu zaznaczono sekwencje LTR.

komórek zakażonych wirusem. Na przykład, retrowirus powodujący mięsaka u kurcząt RSV zawiera gen *v-src* pochodzenia komórkowego, odpowiedzialny za powstanie mięsaka u kurcząt (Ryc. 7).

Niektóre retrowirusy mogą także indukować proces nowotworowy w wyniku integracji ich materiału genetycznego do genomu komórkowego (tzw. forma prowirusa), co może prowadzić do utraty kontroli nad ekspresją komórkowych białek regulatorowych i rozwoju nowotworu. Retrowirusy kodują również białka aktywujące ekspresję genów komórkowych, jak np. białko tax ludzkiego wirusa T-limfotropowego.

### Ludzki wirus T-limfotropowy typu -1

Ludzki wirus T-limfotropowy typu 1 (HTLV-1, ang. *Human T-Cell Lymphotropic Virus-1*) jest retrowirusem należącym do rodzaju deltaretrowirusów, wyizolowanym po raz pierwszy w 1979 roku [192]. Jest on endemiczny dla Japonii, Iranu, Karaibów, Hondurasu, Peru, Brazylii, Ekwadoru, Papui-Nowej Gwinei i Zachodniej Afryki, gdzie jego częstość występowania w populacji waha się między 1-5% [193]. Transmisja wirusa następuje przez mleko matki, kontakty seksualne oraz zakażoną krew i jej produkty. HTLV-1 wywołuje białaczkę T-komórkową dorosłych (ATL, ang. *adult T-cell leukemia*), zwaną również chłoniakiem T-komórkowym dorosłych (ATLL, ang. *adult T-cell lymphoma*), a także m.in. syndrom neurologiczny HAM/TSP (HTLV-1, ang. *associated myelopathy/tropical spastic paraparesis*) [194,195].

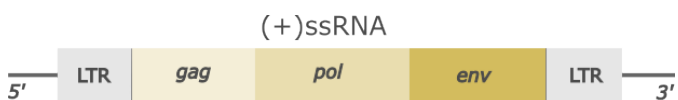
HTLV-1 ma bardzo długi okres latencji – objawy ATLL pojawiają się zazwyczaj 40-60 lat po początkowej infekcji, u osób pomiędzy 20. a 80. rokiem życia, ze średnią wieku 58 lat [196]. Z powodu długiego okresu latencji wirusa, objawy białaczki T-limfotropowej są często wynikiem zakażenia podczas karmienia danej osoby piersią przez matkę HTLV-1 dodatnią w okresie niemowlęcym [197]. ATLL jest bardzo złośliwym nowotworem, charakteryzującym się klonalnym rozrostem limfocytów T CD4+ [198]. Jego klinicznymi objawami są limfadenopatia, powiększenie śledziony i wątroby, zmiany skórne, hiperkalcemia, lityczne zmiany kostne, także zmiany w obrębie układu nerwowego i przewodów pokarmowych [199]. Częste w przebiegu ATLL są także zakażenia patogenami oportunistycznymi, np. drożdżakami *Candida*, grzybem *Pneumocystis jirovecii*, węgorkiem jelitowym *Strongyloides stercoralis*, czy cytomegalowirusem [200]. Zmiany skórne w przebiegu ATLL są różnorodne, w tym wysypki, płytki, grudki oraz zmiany erytdermiczne i plamiczne [201].

HTLV-1 zakaża głównie limfocyty T CD4+, CD8+ oraz komórki dendrytyczne [2]. Przyłączenie się wirusowej cząstki oraz rozprzestrzenianie u gospodarza wymaga współdziałania wielu białek. Wirusowy gen *env* koduje białko prekursorowe, które jest rozcinane do dwóch białek – transbłonowego (TU) i powierzchniowego (SU), niezbędnych dla infekcyjności wirusa. Cząstka wirusowa nabywa oba białka w czasie jego uwolnienia z zakażonej komórki [202-203]. Podczas infekcji białko SU przyłącza się receptorów na komórce gospodarza, do których należą transporter glukozy 1, neuropilina-1 i proteoglikany siarczanu heparanu, co wywołuje fuzję błony komórkowej z otoczką wirusową i wniknięcie rdzenia wirionu do wnętrza komórki [204].

Wirus przemieszcza się z komórki do komórki gospodarza poprzez dwa mechanizmy: podczas mitozy oraz wirusowego transferu synaptycznego [205,206]. W mechanizmie mitotycznym zainfekowane komórki dzielą się, a po podziale obydwie komórki potomne zawierają prowirusowy DNA w genomie komórki gospodarza. Z uwagi na to, że wirus HTLV-1 jest bardzo słabo zakaźny, w jego rozprzestrzenianiu ważny jest nie-mitotyczny transfer z komórki do komórki. Taki typ transmisji poprzez kontakt komórek jest 10 tysięcy razy bardziej wydajny, niż infekcja poprzez przyłączenie wirionu do receptora. Wyjaśnia to również dużą zakaźność płynów ustrojowych i wydzielin ludzkich zawierających komórki, jak krew, nasienie i mleko matki [207,208]. Transmisja międzykomórkowa wirusa przebiega z udziałem białek Gag i Env, które przemieszczają się do rejonu kontaktu z drugim limfocytom, przyspieszając fuzję. Zakażona komórka przejściowo produkuje duże ilości wirusowych białek Tax i ICAM-1 (ang. *intracellular adhesion molecule-1*), tworzących tzw. wirusową synapsę (VS, ang. *virological synapse*) lub wirusowy biofilm [2,202], poprzez które wiriony, łącząc się z receptorami kolejnej komórki, przedostają się do niej, formując nowego prowirusa [207].

Wirus HTLV-1 ma genom w formie (+)ssRNA o wielkości 9 tpz, kodujący trzy poliproteiny Gag (prekursor białek strukturalnych kapsydu), Pol (prekursor odwrotnej transkryptazy i integrazy) i Env (prekursor glikoprotein otoczki), a także sześć dodatkowych białek: Tax, Rex, p12, p13, p30 i HBZ [208] (Ryc. 8). Po wniknięciu do komórki i odpłaszczeniu, wirusowy genom ulega odwrotnej transkrypcji do dsDNA i integruje do genomu gospodarza jako prowirus, przechodząc w stan latencji [209].

W procesie nowotworzenia i rozwoju ATLL bardzo ważne są białka Tax i HBZ. Tax pełni rolę białka transaktywatora, kodowane w rejonie pX nici sensownej prowirusowego



Rycina 8. Schemat budowy genomu HTLV-1.

W obrębie genomu wyróżnia się gen *gag* kodujący białka strukturalne kapsydu; gen *pol* kodujący prekursor odwrotnej transkryptazy i integrazy; gen *env* kodujący prekursor glikoprotein otoczki. Na końcach genomu zaznaczono sekwencje LTR.

DNA. Białko Tax oddziałuje z ponad setką białek komórkowych, takich jak AP-1, NF-κB, CREB/ATF, czy CBP/p300, bezpośrednio lub pośrednio wpływając na regulację cyklu komórkowego, transkrypcję, czy proces naprawy DNA komórkowego. Na przykład, interakcja Tax z CREB/ATF obniża poziom białek p53, cykliny A i c-myb. Tax aktywuje szlak NF-κB, prowadzący do nieuregulowanego rozwoju limfocytów, a także wzmacnia przejście z fazy G1/S przez aktywację cyklin D/CDK i G0/G1 przez hiperfosforylację hDLG. Tax przyczynia się także do zaburzeń w procesach naprawy DNA komórkowego, indukując niestabilność genetyczną komórki [210-212].

HBZ jest kodowane przez nić antysensowną rejonu pX prowirusa HTLV-1. Jego główna funkcja polega na stymulacji proliferacji limfocytów przez wpływ na zwiększenie ekspresji genu *E2F1*, a także zapobieganiu apoptozie przez hamowanie pro-apoptotycznego genu *Bim*. HBZ przeciwdziała również starzeniu poprzez hamowanie klasycznego szlaku NF-κB. MikroRNA indukowane przez HBZ zagrażają integralności genomu gospodarza, przyczyniając się w ten sposób do transformacji ATLL. Te różne funkcje wskazują na onkogenne właściwości HBZ [209,210].

#### Mechanizm kancerogenezy z udziałem wirusa HTLV-1

Aby komórki zakażone HTLV-1 rozwinęły ATLL, musi wystąpić wiele zdarzeń komórkowych, a w procesie tym główną rolę pełnią białka Tax i HBZ. Tax ma kluczowe znaczenie dla inicjowania transformacji nowotworowej poprzez promowanie proliferacji komórek, niestabilności genetycznej i rozregulowania cyklu komórkowego [2,194], podczas gdy HBZ wydaje się konieczne do rozprzestrzeniania się transformowanych komórek [2]. Chociaż nieprawidłowości chromosomalne pojawiają się w praktycznie wszystkich przypadkach ATLL, nie wszystko jeszcze o nich wiadomo. Znane zmiany na poziomie genetycznym mają tendencję do występowania w pobliżu genów regulujących przejście faz G1/S, włączając w to inhibitory CKD, takie jak p15 (INK4A), p16 (INK4B), p18 (INK4C), p19 (INK4D), p21 (WAF1), p27 (KIP1) i p57 (KIP2), a także p53 i Rb [2]. Mutacje p53 występują w 10-50% ATLL, a supresor nowotworzenia Rb nie występuje w 50% ATLL [213-215]. Nieprawidłowości epigenetyczne, w tym zmiany we wzorach metylacji DNA i modyfikacje histonów, również odgrywają rolę w transformacji ATLL [199].

#### PODSUMOWANIE

Mechanizm kancerogenezy z udziałem znanych wirusów onkogennych jest bardzo złożony i zróżnicowany. Jakkolwiek opisane wirusy uznawane są za istotne czynniki w kancerogenezie, to do rozwoju nowotworu dochodzi najczęściej po długim okresie zakażenia. Zakażenie to prowadzi do uszkodzenia systemu naprawy DNA w komórce, nagromadzenia mutacji w genach związanych z regulacją wzrostu i proliferacji komórek, jak również stanu zapalnego. Wirus w procesie kancerogenezy współdziała z licznymi czynnikami komórkowymi i może być stymulowany przez czynniki środowiskowe. Poznanie tych czynników ma duże znaczenie dla zapobiegania rozwojowi infekcji i w konsekwencji nowotworu. Istotne znaczenie w rozwoju nowotworu mają

także predyspozycje genetyczne. W przypadku kancerogenezy indukowanej przez onkowirusy ważną rolę pełni układ odpornościowy, receptory wirusowe, jak również mechanizmy komórkowe biorące udział w odpowiedzi na kancerogeny środowiskowe. Neoplazja indukowana przez onkowirusy odzwierciedla tropizm wirusa do komórek określonych typów. Na przykład, zakażenia wirusem HBV są ograniczone do hepatocytów, a HTLV-1 – do określonego podtypu T CD4 limfocytów T. Z kolei wirus HPV wykazuje tropizm do komórek nabłonkowych i doprowadza do rozwoju raka szyjki macicy, jak również nowotworów głowy i szyi. W niektórych typach nowotworów wirus wydaje się być czynnikiem niezbędnym w kancerogenezie, np. HPV w raku szyjki macicy, podczas gdy rak wątroby może się rozwijać pod wpływem działania alkoholu, mykotoksyn, które działają same lub synergistycznie z czynnikami wirusowymi. Rak wywodzący się z komórek Merkel może być MCV pozytywny, jak również MCV negatywny (około 20% nowotworów). Jednakże, nowotwory MCV pozytywne mają bardziej agresywną formę. W celu zapobiegania rozwojowi zakażeń onkowirusami i w konsekwencji rozwojowi procesu nowotworowego, istotne znaczenie ma odpowiedź układu odpornościowego gospodarza. Odpowiedź gospodarza na zakażenie jest zarówno niespecyficzna – związana z syntezą interferonu, apoptozą, lub wysoce specyficzna – łącząca się np. z syntezą swoistych przeciwciał, cytotoksycznymi limfocytami typu T. Zrozumienie i poznanie tych procesów ma istotne znaczenie w immunoterapii przeciwwirusowej, jak i nowotworowej.

## PIŚMIENNICTWO

- Zur Hausen H (2009) The search for infection causes of human cancers: Where and why. *Virology* 392: 1-10
- Mui UN, Haley CT, Tyring ST (2017) Viral Oncology: molecular biology and pathogenesis. *J Clin Med* 6:11
- Chang Y., Moore PS, Weiss RA (2017) Human oncogenic viruses: nature and discovery. *Phil Trans R Soc B* 372: 20160254
- Moore PS, Chang Y (2010) Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumor virology. *Nat Rev Cancer* 10: 878-889
- Truyen U, Lochelt M (2006) Relevant oncogenic viruses in veterinary medicine: original pathogens and animal models for human disease. *Contrib Microbiol* 13: 101-117
- Sevik M (2012) Oncogenic viruses and mechanism of oncogenesis. *Turk J vet Anim Sci* 4: 323-329
- McFadden K, Luftig MA (2013) Interplay between DNA tumor viruses and the host DNA damage response. *Curr Top Microbiol Immunol* 371: 229-25
- Schiller JT, Lowy DR (2014) Virus infection and human cancer: An overview. *Recent Results Cancer Res* 193: 1-10
- Akram N, Imran M, Noreen M, Ahmed F, Atif M, Fatima Z, Bilal Waqar A (2017) Oncogenic role of tumor viruses in humans. *Viral Immunol* 30: 20-27
- Bartek, Bartkova J, Lukas J (2007) DNA damage signaling guards against activated oncogenes and tumor progression. *Oncogene* 26: 7773-7779
- Zhu K, Liu Q, Tao C, Zhao Z, Sun J, XU H (2015) Oncogenes and tumor suppressor genes: comparative genomics and network perspectives. *BMC Genomics* 16 (Suppl): S8 <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/S7/S8>
- Wang LH, Wu CF, Rajasekaran N, Shin YK (2018) Loss of tumor suppressor gene function in human cancer: an overview. *Cellular Physiology and Biochemistry* 51: 2648-2693
- Butel JS (2000) Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 21: 405-426
- Epstein MA, Achong B, Barr YM (1964) Virus particle in cultured lymphoblast from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1: 702-703
- Mui UN, Haley CT, Vangipuram R, Tyring SK (2019) Human oncoviruses: Mucocutaneous manifestations, pathogenesis, therapeutics, and prevention: Hepatitis viruses, human T-cell leukemia viruses, herpesviruses, and Epstein-Barr virus. *J Am Acad Dermatol* 81: 23-41
- Cai Q, Chen K & Young K (2015) Epstein-Barr virus-positive T/NK-cell lymphoproliferative disorders. *Exp Mol Med* 47: e133
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Biological Agents. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2012. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 100B.) EPSTEIN-BARR VIRUS. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304353/>
- Sathiyamoorthy K, Hu Y, Mohl B, Hen J, Longnecker R, Jardetzky J (2016) Structural basis for Epstein-Barr virus host cell tropism mediated by 42 and gHgL entry glycoproteins. *Nat Commun* 7: 13557
- Kanda T (2018) EBV-Encoded Latent Genes. *Adv Exp Med Biol* 1045: 377-394
- Murata T (2018) Encyclopedia of EBV-encoded lytic genes: an update. *Adv Exp Med Biol* 1045: 395-412.
- Münz C (2019) Latency and lytic replication in Epstein-Barr virus-associated oncogenesis. *Nat Rev Microbiol* 11:691-700
- Petrara MR, Giunco S, Serrano D, Dolcetti R, De Rossi A (2015) Post-transplant lymphoproliferative disorders: from epidemiology to pathogenesis-driven treatment. *Cancer Lett* 1: 37-44
- Damania B (2004) Oncogenic gamma-herpesviruses: comparison of viral proteins involved in tumorigenesis. *Nat Rev Microbiol* 2: 656-68
- Kieser A, Sterz KR (2015) The latent membrane protein 1 (LMP1). *Curr Top Microbiol Immunol* 391:119-49
- Chu EA, Wu JM, Tunkel DE, Ishman SL (2008) Nasopharyngeal carcinoma: the role of the Epstein-Barr virus. *Medscape J Med* 16: 165
- Liu Y, Yang W, Pan Y, Ji J, Lu Z, Ke Y (2016) Genome-wide analysis of Epstein-Barr virus (EBV) isolated from EBV-associated gastric carcinoma (EBVaGC). *Oncotarget* 26: 4903-14
- Grömminger S, Mautner J, Bornkamm GW (2012) Burkitt lymphoma: the role of Epstein-Barr virus revisited. *Br J Haematol* 156(6): 719-29
- Boudreault S, Armero VES, Scott MS, Perreault JP, Bisailon M (2019) The Epstein-Barr virus EBNA1 protein modulates the alternative splicing of cellular genes. *Virology* 16: 29
- Yin H, Qu J, Peng Q, Gan R (2019) Molecular mechanisms of EBV-driven cell cycle progression and oncogenesis. *Med Microbiol Immunol* 208(5): 573-583
- Fitzsimmons L, Kelly GL (2017) EBV and apoptosis: the viral master regulator of cell fate? *Viruses* 9: 339
- Huang JT, Chen JN, Gong LP, Bi YH, Liang J, Zhou L, He D, Shao CK (2019) Identification of virus-encoded circular RNA. *Virology* 529: 144-151
- Wang M, Yu F, Wu W, Wang Y, Ding H, Qian L (2018) Epstein-Barr virus-encoded microRNAs as regulators in host immune responses. *Int J Biol Sci* 14(5): 565-576
- Herbert KM, Pimienta G (2016) Consideration of Epstein-Barr virus-encoded noncoding RNAs EBER1 and EBER2 as a functional backup of viral oncoprotein latent membrane protein 1. *mBio* 7(1): e01926-15
- Shinozaki-Ushiku A, Kunita A, Fukayama M (2015) Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (review). *Int J Oncol* 46(4): 1421-34
- Gallo A, Bulati M, Miceli V, Amodio N, Conaldi PG (2020) Non-coding RNAs: strategy for viruses' offensive. *Noncoding RNA* 6(3): E38
- Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, Lee F, Culpepper J, Knowles DM, Moore PS (1994) Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 16: 1865-9
- Giffin L, Damania B (2014) KSHV: pathways to tumorigenesis and persistent infection. *Adv Virus Res* 88: 111-59

38. Cavallin LE, Goldschmidt-Clermont P, Mesri EA (2014) Molecular and cellular mechanisms of KSHV oncogenesis of Kaposi's sarcoma associated with HIV/AIDS. *PLoS Pathog* 10(7): e1004154
39. De Paoli P, Carbone A (2016) Kaposi's Sarcoma Herpesvirus: twenty years after its discovery. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 20(7): 1288-94
40. Yan L, Majerciak V, Zheng ZM, Lan K (2019) Towards better understanding of KSHV life cycle: from transcription and posttranscriptional regulations to pathogenesis. *Virology* 534: 135-161
41. Dittmer DP, Damania B (2016) Kaposi sarcoma-associated herpesvirus: immunobiology, oncogenesis, and therapy. *J Clin Invest* 126(9): 3165-75
42. Ueda K (2018) KSHV Genome replication and maintenance in latency. *Adv Exp Med Biol* 1045 :299-320
43. Okada S, Goto H, Yotsumoto M (2014). Current status of treatment for primary effusion lymphoma. *Intractable Rare Dis Res* 3: 65-74
44. Wang S, Liu S, Wu MH, Geng Y, Wood C (2001) Identification of a cellular protein that interacts and synergizes with the RTA (ORF50) protein of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in transcriptional activation. *J Virol* 75(24): 11961-73
45. Sarek G, Järviuoma A, Moore HM, Tojkander S, Vartia S, Biberfeld P, Laiho M, Ojala PM (2010) Nucleophosmin phosphorylation by v-cyclin-CDK6 controls KSHV latency. *PLoS Pathog*. 19: e1000818
46. Bittel M, Kremer AE, Stürzl M, Wirtz S, Stolzer I, Neurath MF, Ballon G, Günther C (2019) Modulation of the extrinsic cell death signaling pathway by viral Flip induces acute-death mediated liver failure. *Cell Death Dis* 10(12): 878
47. McCormick C, Ganem D (2005) The kaposin B protein of KSHV activates the p38/MK2 pathway and stabilizes cytokine mRNAs. *Science* 307(5710): 739-41
48. Gallo A, Miceli V, Bulati M, Iannolo G, Contino F, Conaldi PG (2020) Viral miRNAs as Active Players and Participants in Tumorigenesis. *Cancers* 12(2): 358
49. Douglas JL, Whitford JG, Moses AV (2009) Characterization of c-Kit expression and activation in KSHV-infected endothelial cells. *Virology* 390(2): 174-85
50. Zhang Z, Chen W, Sanders MK, Brulois KF, Dittmer DP, Damania B (2016) The K1 protein of Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus augments viral lytic replication. *J Virol* 90(17): 7657-66
51. Velazquez-Salinas L, Verdugo-Rodriguez A, Rodriguez LL, Borca MV (2019) The Role of interleukin 6 during viral infections. *Front Microbiol* 10: 1057
52. DeCaprio JA (2017) Merkel cell polyomavirus and Merkel cell carcinoma. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 372(1732): 20160276
53. Pietropaolo V, Prezioso C, Moens U (2020) Merkel Cell Polyomavirus and Merkel Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)* 12(7): 1774
54. Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS (2008) Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science* 319(5866): 1096-100
55. Liu W, Yang R, Payne AS, Schowalter RM, Spurgeon ME, Lambert PF, Xu X, Buck CB, You J (2016) Identifying the target cells and mechanisms of merkel cell polyomavirus infection. *Cell Host Microbe* 19(6): 775-87
56. Peretti A, Borgogna C, Rossi D, De Paoli L, Bawadekar M, Zavattaro E, Boldorini R, De Andrea M, Gaidano G, Gariglio M (2014) Analysis of human  $\beta$ -papillomavirus and Merkel cell polyomavirus infection in skin lesions and eyebrow hair bulbs from a cohort of patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Dermatol* 171(6): 1525-8
57. Schowalter RM, Pastrana DV, Buck CB (2011) Glucosaminoglycans and sialylated glycans sequentially facilitate Merkel cell polyomavirus infectious entry. *PLoS Pathog* 7: e1002161
58. Foulongne V, Courgnaud V, Champeau W, Segondy M (2011) Detection of Merkel cell polyomavirus on environmental surfaces. *J Med Virol* 83: 1435-1439
59. Babakir-Mina M, Ciccozzi M, Lo Presti A, Greco F, Perno CF, Ciotti M (2010) Identification of Merkel cell polyomavirus in the lower respiratory tract of Italian patients. *J Med Virol* 82: 505-509141
60. Bialasiewicz S, Lambert SB, Whitley DM, Nissen MD, Sloots TP (2009) Merkel cell polyomavirus DNA in respiratory specimens from children and adults. *Emerg Infect Dis* 15:492-494
61. Goh S, Lindau, Tiveljung-Lindell A, Allander T (2009) Merkel cell polyomavirus in respiratory tract secretions. *Emerg Infect Dis* 15: 489-491
62. Kantola K, Sadeghi M, Lahtinen A, Koskenvuo M, Aaltonen LM, Möttönen M, Rahiala J, Saarinen-Pihkala U, Riikonen P, Jartti T, et al. (2009) Merkel cell polyomavirus DNA in tumor-free tonsillar tissues and upper respiratory tract samples: Implications for respiratory transmission and latency. *J Clin Virol* 45: 292-295
63. Loyo M, Guerrero-Preston R, Brait M, Hoque MO, Chuang A, Kim MS, Sharma R, Liégeois NJ, Koch WM, Califano JA. et al. (2010) Quantitative detection of Merkel cell virus in human tissues and possible mode of transmission. *Int J Cancer* 126: 2991-2996
64. Sharp CP, Norja P, Anthony I, Bell JE, Simmonds P (2009) Reactivation and mutation of newly discovered WU, KI, and Merkel cell carcinoma polyomaviruses in immunosuppressed individuals. *J Infect Dis* 199: 398-404
65. Shuda M, Arora R, Kwun HJ, Feng H, Sarid R, Fernández-Figueras MT, Tolstov Y, Gjoerup O, Mansukhani MM, Swerdlow SH, et al. (2009) Human Merkel cell polyomavirus infection I. MCV T antigen expression in Merkel cell carcinoma, lymphoid tissues and lymphoid tumors. *Int. J. Cancer* 125: 1243-1249
66. Toracchio S, Foyle A, Sroller V, Reed JA, Wu J, Kozinetz CA, Butel JS (2010) Lymphotropism of Merkel cell polyomavirus infection, Nova Scotia, Canada. *Emerg Infect Dis* 16: 1702-1709
67. Hussein MI, Anastasi B, Singer J, Lacey SF (2010) A comparative study of Merkel cell, BK and JC polyomavirus infections in renal transplant recipients and healthy subjects. *J Clin. Virol* 49: 137-140
68. Campello C, Comar M, D'Agaro P, Minicozzi A, Rodella L, Poli A (2011) A molecular case-control study of the Merkel cell polyomavirus in colon cancer. *J Med Virol* 83:721-724.
69. Wieland U, Mauch C, Kreuter A, Krieg T, Pfister H (2009) Merkel cell polyomavirus DNA in persons without merkel cell carcinoma. *Emerg. Infect Dis* 15: 1496-1498.
70. Comerford SA, Schultz N, Hinnant EA, Klapproth S, Hammer RE (2012) Comparative analysis of SV40 17kT and LT function in vivo demonstrates that LT's C-terminus re-programs hepatic gene expression and is necessary for tumorigenesis in the liver. *Oncogenesis* 1: e28
71. Carter JJ, Daugherty MD, Qi X, Bheda-Malge A, Wipf GC, Robinson K, Roman A, Malik HS, Galloway DA (2013) Identification of an overprinting gene in Merkel cell polyomavirus provides evolutionary insight into the birth of viral genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 12744-12749
72. Schowalter RM, Buck CB (2013) The Merkel cell polyomavirus minor capsid protein. *PLoS Pathog* 9: e1003558
73. Samimi M, Gardair C, Nicol JT, Arnold F, Touzé A, Coursaget P (2015) Merkel cell polyomavirus in merkel cell carcinoma: Clinical and therapeutic perspectives. *Semin Oncol* 42: 347-358
74. Stakaityte G, Wood JJ, Knight LM, Abdul-Sada H, Adzahar NS, Nwogu N, Macdonald A, Whitehouse A (2014) Merkel cell polyomavirus: Molecular insights into the most recently discovered human tumour virus. *Cancers* 6: 1267-1297
75. Sastre-Garau X, Peter M, Avril MF, Laude H, Couturier J, Rozenberg F, Almeida A, Boitier F, Carlotti A, Couturaud B et al (2009) Merkel cell carcinoma of the skin: Pathological and molecular evidence for a causative role of MCV in oncogenesis. *J Pathol* 218: 48-56
76. Wendzicki JA, Moore PS, Chang Y (2015) Large T and small T antigens of Merkel cell polyomavirus. *Curr Opin Virol* 11:38-43Wendzicki JA, Moore PS, Chang Y (2015) Large T and small T antigens of Merkel cell polyomavirus. *Curr Opin Virol* 11: 38-43
77. Álvarez-Argüelles, ME, Melón S, Rojo S, Fernández-Blázquez A, Boga JA, Palacio A, Vivanco B, de Oña M (2017) Detection and quantification of Merkel cell polyomavirus. Analysis of Merkel cell carcinoma cases from 1977 to 2015. *J Med Virol* 89(12): 2224-2229.
78. Rodig SJ, Cheng J, Wardzala J, DoRosario A, Scanlon JJ, Laga AC, Martinez-Fernandez A, Barletta JA, Bellizzi AM, Sadasivam S, et al.



- (2012) Improved detection suggests all Merkel cell carcinomas harbor Merkel polyomavirus. *J Clin Invest* 122: 4645–4653
79. Tolstov YL, Pastrana DV, Feng H, Becker JC, Jenkins FJ, Moschos S, Chang Y, Buck CB, Moore PS (2009) Human Merkel cell polyomavirus infection II. MCV is a common human infection that can be detected by conformational capsid epitope immunoassays. *Int J Cancer* 125: 1250–1256
  80. Tolstov YL, Knauer A, Chen JG, Kensler TW, Kingsley LA, Moore PS, Chang Y (2011) Asymptomatic primary Merkel cell polyomavirus infection among adults. *Emerg Infect Dis* 17: 1371–1380
  81. Fitzgerald TL, Dennis S, Kachare SD, Vohra NA, Wong JH, Zervos EE (2015) Dramatic increase in the incidence and mortality from merkel cell carcinoma in the United States. *Am Surg* 81: 802–806
  82. Heath M, Jaimes N, Lemos B, Mostaghimi A, Wang LC, Peñas PF, Nghiem P (2008) Clinical characteristics of Merkel cell carcinoma at diagnosis in 195 patients: The AEIOU features. *J Am Acad Dermatol* 58: 375–381
  83. Engels EA, Frisch M, Goedert JJ, Biggar RJ, Miller RW (2002) Merkel cell carcinoma and HIV infection. *Lancet* 359: 4974–4998
  84. Clarke CA, Robbins HA, Tatalovich Z, Lynch CF, Pawlish KS, Finch JL, Hernandez BY, Fraumeni JFJ, Madeleine MM, Engels EA (2015) Risk of merkel cell carcinoma after solid organ transplantation. *J Natl Cancer Inst* 107: dju382
  85. Demetriou SK, Ona-Vu K, Sullivan EM, Dng TK, Hsu SW, Oh DH (2012) Defective DNA repair and cell cycle arrest in cells expressing Merkel cell polyomavirus T antigen. *Int J Cancer* 131: 1818–1827
  86. zur Hausen H (2002) Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2: 342–350
  87. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA (2012) The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, 30 Suppl 5: F55–70
  88. Gao G, Smith DI (2016) Human papillomavirus and the development of different cancers. *Cytogenet Genome Res* 150(3–4): 185–194
  89. Brianti P, De Flammineis E, Mercuri SR (2017) Review of HPV-related diseases and cancers. *New Microbiol* 40(2): 80–85
  90. Graham SV (2017) The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci (Lond)* 131(17): 2201–2221
  91. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H (2004) Classification of papillomaviruses. *Virology* 324: 17–27
  92. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers EM (2010) Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 401: 70–77
  93. Ganti K, Broniarczyk J, Manoubi W, Massimi P, Mittal S, Pim D, Szalmas A, Thatte J, Thomas M, Tomaić V, Banks L (2015) The human papillomavirus E6 PDZ binding motif: from life cycle to malignancy. *Viruses* 7(7): 3530–51
  94. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189: 12–19
  95. Stanley M (2010) Pathology and epidemiology of HPV infection in females. *Gynecol Oncol* 117: S5–S10
  96. Moody CA, Laimins LA (2010) Human papillomavirus oncoproteins: Pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 10: 550–56
  97. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC (2013) Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*;382: 889–899
  98. Dyson N, Howley PM, Münger K, Harlow E. (1989) The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 243(4893): 934–941
  99. Chen, J (2015) Signaling pathways in HPV-associated cancers and therapeutic implications. *Rev Med Virol* 25: 24–51
  100. Thomas M, Narayan N, Pim D, Tomaić V, Massimi P, Nagasaka K, Kranjec C, Gammoh N, Banks L (2008) Human papillomaviruses, cervical cancer and cell polarity. *Oncogene* 27(55): 7018–7033
  101. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Plummer M et al. (2012) Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine* 30: F12–F23
  102. Lowy DR (2016) HPV vaccination to prevent cervical cancer and other HPV-associated disease: From basic science to effective interventions. *J Clin. Invest* 126: 5–11.
  103. Marrone A, Ciotti M, Rinaldi L, Adinolfi LE, Ghany M (2020) Hepatitis B and C virus infection and risk of haematological malignancies. *J Vir Hepatitis* 27: 4–12
  104. Liang TJ (2009) Hepatitis B: the virus and disease. *Hepatology* 49: S13–S21
  105. An P, Xu J, Yu Y, Winkler CA (2018) Host and viral genetic variation in HBV-related hepatocellular carcinoma. *Front Genet* 9: 261
  106. McNaughton, AL D'Arienzo V, Ansari MA, Lumley SF, Littlejohn M, Revill P, McKeating JA, Matthews PC (2019) Insights from deep sequencing of the HBV genome – unique, tiny, and misunderstood. *Gastroentero* 156: 384–399
  107. Tong S, Revill P (2016) Overview of viral replication and genetic variability. *J Hepatol* 64: S4–S16
  108. Kramvis A (2014) Genotypes and genetic variability of hepatitis B virus. *INT* 57: 141–150
  109. Sayiner M, Golabi P, Younossi ZM (2019) Disease burden of hepatocellular carcinoma: a global perspective. *Dig Dig Sci* 64: 910–917
  110. Sagnelli E, Macera M, Russo A, Coppola N, Sagnelli C (2020) Epidemiological and etiological variations in hepatocellular carcinoma. *Infection* 48:7–17
  111. Sun CA, Wu DM, Lin CC, Lu SN, You SN, Wang LY, Wu MH, Chen CJ (2003) Incidence and cofactors of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma: a prospective study of 12,008 men in Taiwan. *Am J Epidemiol* 157: 674–682
  112. Li X, Zhang J, Yang Z, Kang J, Jiang S, Zhang T, Chen T, Li M, Lv Q, Chen X, McCrae MA, Zhuang H, Lu F (2014) The function of targeted host genes determines the oncogenicity of HBV integration in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 60: 975–984
  113. Zhao LH, I in. (2016) Genomic and oncogenic preference of HBV integration in hepatocellular carcinoma. *Nature Communications* 7:
  114. Yang L, Ye S, ZhaoX, Ji L, Zhang Y, Zhou P, Sun J, Guan Y, Han Y, Ni Ch, Hu X, Liu W, Wang H, Zhou B, Huang J (2018)Molecular Characterization of HBV DNA integration in patients with hepatitis and hepatocellular carcinoma. *J Cancer* 9: 3225–3235
  115. Liu S, Zhang H, Gu Ch, Yin J, He Y, Xie J, Cao G (2009) Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 101: 1066–1082
  116. Pollicino T, Cacciola I, Saffioti F, Raimondo G (2014) Hepatitis B virus PreS/S gene variants: pathobiology and clinical implications. *J Hepatol* 61: 408–417
  117. Geng M, Xin X, Bi LQ, Zhou LT, Liu XH (2015) Molecular mechanism of hepatitis B virus X protein function in hepatocarcinogenesis. *World J Gastroenterol* 21: 10732–10738
  118. Cheng B, Zheng Y, Guo X, Wang Y, Liu C (2010) Hepatitis B viral X protein alters the biological features and expressions of DNA repair enzymes in LO2 cells. *Liver Int* 30: 319–326
  119. Tian Y, Yang W, Song J, Wu J, Ni B (2013) Hepatitis B virus X protein-induced aberrant epigenetic modifications contributing to human hepatocellular carcinoma pathogenesis. *Mol Cell Biol* 33: 2810–2816
  120. Zhu YZ, Zhu R, Shi LG, Mao Y, Zheng GJ, Chen Q, Zhu HG (2010) Hepatitis B virus X protein promotes hypermethylation of p16(IN-K4A) promoter through upregulation of DNA methyltransferases in hepatocarcinogenesis. *Exp Mol Pathol* 89: 268–275
  121. Wei X, Xiang T, Ren G, Tan C, Liu R, Xu X, Wu Z (2013) miR-101 is down-regulated by the hepatitis B virus x protein and induces aberrant DNA methylation by targeting DNA methyltransferase 3A. *Cell Signal* 25: 439–446
  122. Bandopadhyay M, Banerjee A, Sarkar S, Panigrahi R, Datta S, Pal A, Singh SP, Biswas A, Chakrabarti S, Chakravarty R (2014)Tumor suppressor micro RNA miR-145 and onco micro RNAs miR-21 and

- miR-222 expressions are differentially modulated by hepatitis B virus X protein in malignant hepatocytes. *BMC Cancer* 14: 714-721
123. Slagle BL, Bouchard MJ (2016) Hepatitis B virus X and regulation of viral gene expression. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6(3): a021402
  124. Tse APW, et al. (2018) Hepatitis transactivator protein X promotes extracellular matrix modification through HIF/LOX pathway in liver cancer. *Oncogenesis* 7: 1-12
  125. Grigoryan T, Wend P, Klaus A, Birchmeier W (2008) Deciphering the function of canonical Wnt signals in development and disease: conditional loss - and gain-of-function mutations of beta-catenin in mice. *Genes Dev.* 22: 2308-2341
  126. Lim KH, Choi HS, Park YK, Park ES, Shin GCh, Kim DH, Ahn SH, Kim KH (2013) HBx-induced NF- $\kappa$ B signaling in liver cells is potentially mediated by the ternary complex of HBx with p22-FLIP and NEMO. *PLoS ONE* 8(3): e57331
  127. Wang Q, Xu Y, Zhou W, Zhong L, Wen Z, Yu H, Chen S, Shen J, Chen H, She Q, Jiang J, Miao J, Wei W (2014) The viral oncoprotein HBx of hepatitis B virus promotes the growth of hepatocellular carcinoma through cooperating with the cellular oncoprotein RMP. *Int J Biol Sci* 10: 1181-1192
  128. Jiang W, et al. (2010) Cooperation of tumor-derived HBx mutants and p53-249(ser) mutant in regulating cell proliferation, anchorage-independent growth and aneuploidy in a telomerase-immortalized normal human hepatocyte-derived cell line. *Int J Cancer* 127: 1011-1020
  129. Elmore LW, Hancock AR, Chang SF, Wang XW, Chang S, Callahan CP, Geller D, Will H, Harris CC (1997) Hepatitis B virus X protein and p53 tumor suppressor interactions in the modulation of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci* 94: 14707-14712
  130. Chan C, Thurnherr T, Wang J, Gallart-Palau X, Sze SK, Rozen S, Lee CG (2016) Global re-wiring of p53 transcription regulation by the hepatitis B virus X protein. *Mol Oncol* 10: 1183-1195
  131. Xian L, Zhao J, Wang J, Fang Z, Peng B, Wang W, Ji X, Yu L (2010) p53 Promotes proteasome-dependent degradation of oncogenic protein HBx by transcription of MDM2. *Mol Biol Rep* 37: 2935-2940
  132. Sir D, Tian Y, Chen W, Ann DK, Yen T-SB, Ou J-HJ (2010) The early autophagic pathway is activated by hepatitis B virus and required for viral DNA replication. *Proc Natl Acad Sci* 107: 4383-4388
  133. Yang S, Yang L, Li X, Li B, Li Y, Zhang X, Ma Y, Peng X, Jin H, Li H (2019) New insights into autophagy in hepatocellular carcinoma: mechanisms and therapeutic strategies. *Am J Cancer Res* 9: 1329-1353
  134. Liu B, Fang M, Hu Y, Huang B, Li N, Chang C, Huang R, Xu X, Yang Z, Chen Z, Liu W (2014) Hepatitis B virus X protein inhibits autophagic degradation by impairing lysosomal maturation. *Autophagy* 10: 416-430
  135. Wang J, Chen J, Liu Y, Zeng X, Wei M, Wu S, Xiong Q, Song F, Yuan X, Xiao Y, Cao Y, Li C, Chen L, Guo M, Shi Y-B, Sun G, Guo D (2019) Hepatitis B virus induces autophagy to promote its replication by the axis of miR-192-3p-XIAP through NF kappa B Signaling. *Hepatology* 69: 974-992
  136. Zhang H-T, Chen GG, Hu B-G, Zhang Z-Y, Yun J-P, He M-L, Lai PBS (2014) Hepatitis B virus x protein induces autophagy via activating death-associated protein kinase. *J Viral Hepat.* 21: 642-649
  137. Hodge DR, Hurt EM, Farrar WL (2005) The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *Eur. J. Cancer* 41: 2502-2512
  138. Lee YH, Yun Y (1998) HBx protein of hepatitis B virus activates Jak1-STAT signaling. *J Biol Chem* 273: 25510-25515
  139. Liu D, Wu A, Cui L, Hao R, Wang Y, He J, Guo D (2014) Hepatitis B virus polymerase suppresses NF- $\kappa$ B signaling by inhibiting the activity of IKKs *via* interaction with Hsp90 $\beta$ . *PLoS One* 9(3): e91658
  140. Lucito R, Schneider RJ (1992) Hepatitis B virus X protein activates transcription factor NF-kappa B without a requirement for protein kinase C. *J Virol* 66: 983-991
  141. Han J-M, Kang J-A, Han M-H, Chung K-H, Lee C-R, Song W-K, Jun Y, Park S-G (2014) Peroxisome-localized hepatitis Bx protein increases the invasion property of hepatocellular carcinoma cells. *Arch Virol* 159: 2549-2557
  142. Xu F, Song H, An B, Xiao Q, Cheng G, Tan G (2019) NF- $\kappa$ B-Dependent IFIT3 induction by HBx promotes hepatitis b virus replication. *Front Microbiol* 10: 2382
  143. Brasier AR (2010) The nuclear factor- $\kappa$ B-interleukin-6 signalling pathway mediating vascular inflammation. *Cardiovasc Res* 86: 211-218
  144. Yang Y, Zheng B, Han Q, Zhang C, Tian Z, Zhang J (2016) Targeting blockage of STAT3 inhibits hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Cancer Biol Ther* 17: 449-456
  145. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, Everson GT, Lindsay KL, Lee WM, Bonkovsky HL, Dienstag JL, Ghany MG, Morishima C, Goodman ZD (2009) Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. *Gastroenterol* 136: 138-148
  146. Vescovo T, Refolo G, Vitagliano G, Fimia GM, Piacentini M (2016) Molecular mechanisms of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *Clinical Microbiology and Infection* 22: 853-861
  147. Liu B, Zhang Y, Li Y, Zhang W (2019) Hepatitis C virus and risk of extrahepatic malignancies: a case-control study. *Scientific Reports* 19(1): 19444
  148. Xu J-H, Fu J-J, Wang X-L, Zhu Y-H, Ye X-H, Chen S-D (2013) Hepatitis B or C viral infection and risk of pancreatic cancer: a meta-analysis of observational studies. *World J. Gastroenterol* 19: 4234-4241
  149. Tsukiyama-Kohara K, Kohara M (2018) Hepatitis C virus: viral quasispecies and genotypes. *Int J Mol Sci* 19(1): 23
  150. Lapa D, Garbuglia AR, Capobianchi MR, Del Porto P (2019) Hepatitis C virus genetic variability, human immune response, and genome polymorphisms: which is the interplay? *Cells* 8: 305
  151. Bartenschlager R, Cosset F-L, Lohmann V (2010) Hepatitis C virus replication cycle. *Journal of Hepatology* 53: 583-585
  152. Suzuki T (2017) Hepatitis C Virus Replication, W: Tagaya M, Simmen T (red) *Organelle Contact Sites: From Molecular Mechanism to Disease* Springer, Singapore, str. 199-209
  153. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, Simmonds P (2014) Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology* 59: 318-327
  154. Pietschmann T, Brown RJP (2019) Hepatitis C virus. *Trends Microb* 27: 379-380
  155. Mitchell J, Lemon SM, McGivern DR (2015) How do persistent infections with hepatitis C virus cause liver cancer? *Curr Opin Virol* 14: 101-108
  156. Goto K, Roca Suarez AA, Wrensch F, Baumert TF, Lupberger J (2020) Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma: when the host loses its grip. *Int J Mol Sci* 21: 3057
  157. Machida K, McNamara G, Cheng KT-H, Huang J, Wang C-H, Comai L, Ou J-HJ, Lai MMC (2010) Hepatitis C virus inhibits DNA damage repair through reactive oxygen and nitrogen species and by interfering with the ATM-NBS1/Mre11/Rad50 DNA repair pathway in monocytes and hepatocytes. *J Immunol* 185: 6985-6998
  158. Duong FHT, Christen V, Lin S, Heim MH (2010) Hepatitis C virus-induced up-regulation of protein phosphatase 2A inhibits histone modification and DNA damage repair. *Hepatology* 51: 741-751
  159. Mankouri J, Griffin S, Harris M (2008) The hepatitis C virus non-structural protein NS5A alters the trafficking profile of the epidermal growth factor receptor. *Traffic* 9: 1497-1509
  160. Brenndörfer ED, Karthe J, Frelin L, Cebula P, Erhardt A, Esch JS, Hengel H, Bartenschlager R, Sällberg M, Häussinger D, Bode JG (2009) Nonstructural 3/4A protease of hepatitis C virus activates epithelial growth factor-induced signal transduction by cleavage of the T-cell protein tyrosine phosphatase. *Hepatology* 49: 1810-1820
  161. Kawamura H, Govindarajan S, Aswad F, Machida K, Lai MMC, Sung VM-H, Denner G (2006) HCV core expression in hepatocytes protects against autoimmune liver injury and promotes liver regeneration in mice. *Hepatology* 44: 936-944

162. Suarez AA, Van Renne N, Baumert TF, Lupberger J (2018) Viral manipulation of STAT3: Evade, exploit, and injure. *PLoS Pathog* 14: e1006839
163. Van Renne N I in. (2018) miR-135a-5p-mediated downregulation of protein tyrosine phosphatase receptor delta is a candidate driver of HCV-associated hepatocarcinogenesis. *Gut* 67: 953–962
164. Kotsiri I, Hadziyannis E, Georgiou A, Papageorgiou M-V, Vlachogiannakos I, Papatheodoridis G (2016) Changes in serum transforming growth factor- $\beta$ 1 levels in chronic hepatitis C patients under antiviral therapy. *Ann Gastroenterol* 29: 79–84
165. Cheng P-L, Chang M-H, Chao C-H, Lee Y-HW (2004) Hepatitis C viral proteins interact with Smad3 and differentially regulate TGF- $\beta$  / Smad3-mediated transcriptional activation. *Oncogene* 23: 7821–7838
166. Higgs MR, Lerat H, Pawlowsky J-M (2013) Hepatitis C virus-induced activation of  $\beta$ -catenin promotes c-Myc expression and a cascade of pro-carcinogenic events. *Oncogene* 32: 4683–4693
167. Street A, Macdonald A, McCormick C, Harris M (2005) Hepatitis C virus NS5A-mediated activation of phosphoinositide 3-kinase results in stabilization of cellular  $\beta$ -catenin and stimulation of  $\beta$ -catenin-responsive transcription. *J Virol* 79: 5006–5016
168. Liu J, Ding X, Tang J, Cao Y, Hu P, Zhou F, Shan X, Cai X, Chen Q, Ling N, Zhang B, Bi Y, Chen K, Ren H, Huang A, He T-C, Tang N (2011) Enhancement of canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling activity by HCV core protein promotes cell growth of hepatocellular carcinoma cells. *PLoS ONE* 6 (11) e27496
169. Munakata T, Nakamura M, Liang Y, Li K, Lemon SM (2005) Down-regulation of the retinoblastoma tumor suppressor by the hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci* 102: 18159–18164
170. Munakata T, Liang Y, Kim S, McGivern DR, Huibregtse J, Nomoto A, Lemon SM (2007) Hepatitis C virus induces E6AP-dependent degradation of the retinoblastoma protein. *PLoS Pathog.* 3: 1335–1347
171. McGivern DR, Villanueva RA, Chinnaswamy S, Kao CC, Lemon SM (2009) Impaired replication of hepatitis C virus containing mutations in a conserved NS5B retinoblastoma protein-binding motif. *J Virol* 83: 7422–7433
172. Hussain SP, Schwank J, Staib F, Wang XW, Harris CC (2007) TP53 mutations and hepatocellular carcinoma: insights into the etiology and pathogenesis of liver cancer. *Oncogene* 26: 2166–2176
173. McGivern DR, Lemon SM (2011) Virus-specific mechanisms of carcinogenesis in hepatitis C virus associated liver cancer. *Oncogene* 30: 1969–1983
174. Walters K-A, Syder AJ, Lederer SL, Diamond DL, Paepfer B, Rice CM, Katze MG (2009) Genomic analysis reveals a potential role for cell cycle perturbation in HCV-mediated apoptosis of cultured hepatocytes. *PLoS Pathog* 5: e1000269
175. Kannan RP, Hensley LL, Evers LE, Lemon SM, McGivern DR (2011) Hepatitis C virus infection causes cell cycle arrest at the level of initiation of mitosis. *J Virol* 85: 7989–8001
176. Kanda T, Steele R, Ray R, Ray RB (2008) Hepatitis C virus core protein augments androgen receptor-mediated signaling. *J Virol* 82: 11066–11072
177. Hassan M, Selimovic D, Ghozlan H, Abdel-kader O (2009) Hepatitis C virus core protein triggers hepatic angiogenesis by a mechanism including multiple pathways. *Hepatology* 49: 1469–1482
178. Li Y, Chen J, Wu C, Wang L, Lu M, Chen X (2010) Hepatitis B virus/hepatitis C virus upregulate angiopoietin-2 expression through mitogen-activated protein kinase pathway. *Hepato Res* 40: 1022–1033
179. Akkari L, Grégoire D, Floc'h N, Moreau M, Hernandez C, Simonin Y, Rosenberg AR, Lassus P, Hibner U (2012) Hepatitis C viral protein NS5A induces EMT and participates in oncogenic transformation of primary hepatocyte precursors *J Hepatol* 57: 1021–1028
180. Wilson GK, et al. (2012) A dual role for hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  in the hepatitis C virus lifecycle and hepatoma migration. *J Hepato.* 56: 803–809
181. Urbani S, Amadei B, Fiscaro P, Tola D, Orlandini A, Sacchelli L, Mori C, Missale G, Ferrari C (2006) Outcome of acute hepatitis C is related to virus-specific CD4 function and maturation of antiviral memory CD8 responses. *Hepatology* 44: 126–139
182. Rehermann B (2013) Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nat Med* 19: 859–868
183. Lee H-C, Sung S-SJ, Krueger P D, Jo Y-A, Rosen HR, Ziegler SF, Hahn YS (2013) Hepatitis C virus promotes Th17 responses through TSLP production by infected hepatocytes. *Hepatology* 57: 1314–1324
184. Tanaka H, Fujita N, Sugimoto R, Urawa N, Horiike S, Kobayashi Y, Iwasa M, Ma N, Kawanishi S, Watanabe S, Kaito M, Takei Y (2008) Hepatic oxidative DNA damage is associated with increased risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *Br J Cancer* 98: 580–586
185. Haybaeck J, et al. (2009) A lymphotoxin-driven pathway to hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 16: 295–308
186. Nakagawa H, Maeda S, Yoshida H, Tateishi R, Masuzaki R, Ohki T, Hayakawa Y, Kinoshita H, Yamakado M, Kato N, Shiina S, Omata M (2009) Serum IL-6 levels and the risk for hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients: an analysis based on gender differences. *Int J Cancer* 125: 2264–2269
187. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M (2010) Immunity, Inflammation, and Cancer *Cell* 140: 883–899
188. Matsuzaki K, Murata M, Yoshida K, Sekimoto G, Uemura Y, Sakaida N, Kaibori M, Kamiyama Y, Nishizawa M, Fujisawa J, Okazaki K, Seki T (2007) Chronic inflammation associated with hepatitis C virus infection perturbs hepatic transforming growth factor beta signaling, promoting cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 46: 48–57
189. Wolf MJ i in. (2014) Metabolic activation of intrahepatic CD8+ T cells and NKT cells causes nonalcoholic steatohepatitis and liver cancer via cross-talk with hepatocytes. *Cancer Cell* 26: 549–564
190. Yamane D i in. (2014) Regulation of the hepatitis C virus RNA replicase by endogenous lipid peroxidation. *Nat Med* 20: 927–935
191. Bister K (2015) Discovery of oncogenes: The advent of molecular cancer research. *Proc Natl Acad Sci* 112: 15259–15260
192. Gallo RC (2005) History of the discoveries of the first human retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. *Oncogene* 24: 5926–5930
193. Gessain A, Cassar O (2012) Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. *Front Microbiol* 3: 388
194. Iwanaga M (2020) Epidemiology of HTLV-1 Infection and ATL in Japan: An Update. *Front Microbiol* 11: 1124
195. Gessain A, Mahieux R (2012) Tropical spastic paraparesis and HTLV-1 associated myelopathy: clinical, epidemiological, virological and therapeutic aspects. *Rev Neurol (Paris)* 168: 257–269
196. Bangham CR, Ratner L (2015) How does HTLV-1 cause adult T-cell leukaemia/lymphoma (ATL)? *Curr Opin Virol* 14: 93–100
197. do Valle AC, Galhardo MC, Leite AC, Araujo AQC, Cuzzi-Maya T, Maceira JP, Dobbin J (2001) Adult T-cell leukemia/lymphoma associated with HTLV-1 infection in a Brazilian adolescent. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 43: 283–286
198. Tsukasaki K, Tobinai K (2013) Biology and treatment of HTLV-1 associated T-cell lymphomas. *Best Pract Res Clin Haematol* 26: 3–14
199. Watanabe T (2017) Adult T-cell leukemia: molecular basis for clonal expansion and transformation of HTLV-1-infected T cells. *Blood* 129: 1071–1081
200. Bittencourt AL, Barbosa HS, Vieira MDG, Farréet L et al (2009) Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) presenting in the skin: clinical, histological and immunohistochemical features of 52 cases. *Acta Oncol* 48: 598–604
201. Ishitsuka K, Tamura K (2014) Human T-cell leukaemia virus type I and adult T-cell leukaemia-lymphoma. *Lancet Oncol* 15: e517–e526
202. Nejmeddine M, Negi VS, Mukherjee S, Tanaka Y, Orth K, Taylor GP, Bangham CRM (2009) HTLV-1-Tax and ICAM-1 act on T-cell signal pathways to polarize the microtubule-organizing center at the virological synapse. *Blood* 114: 1016–1025
203. Nejmeddine M, Bangham CR (2010) The HTLV-1 virological synapse. *Viruses* 2: 1427–1447

204. Gross C, Thoma-Kress AK (2016) Molecular mechanisms of HTLV-1 cell-to-cell transmission. *Viruses* 8(3): 74
205. Pique C, Jones KS (2012) Pathways of cell-cell transmission of HTLV-1. *Front Microbiol* 3: 378
206. Dutartre H, Clavière M, Journo C, Mahieux R (2016) Cell-free *versus* cell-to-cell infection by human immunodeficiency virus type 1 and human t-lymphotropic virus type 1: exploring the link among viral source, viral trafficking, and viral replication. *J Virol* 90: 7607-7617
207. Jolly C, Sattentau QJ (2004) Retroviral spread by induction of virological synapses. *Traffic* 5: 643-650
208. Giam CZ, Semmes OJ (2016) HTLV-1 infection and adult T-cell leukemia/lymphoma—a tale of two proteins: Tax and HBZ. *Viruses* 8: 161
209. Zhao T (2016) The role of HBZ in HTLV-1-induced oncogenesis. *Viruses* 8: 34
210. Ma G, Yasunaga J, Matsuoka M (2016) Multifaceted functions and roles of HBZ in HTLV-1 pathogenesis. *Retrovirology* 13: 16
211. Fochi S, Ciminale V, Trabetti E, Bertazzoni U, D'Agostino DM, Zippeto D, Romanelli MG (2019) NF- $\kappa$ B and MicroRNA Deregulation mediated by HTLV-1 Tax and HBZ. *Pathogens* 8: 290 .
212. Mohanty S, Harhaj EW (2020) Mechanisms of oncogenesis by HTLV-1 tax. *Pathogens* 9: 543
213. Ratner L (2020) Molecular biology of human T cell leukemia virus. *Semin Diagn Pathol* 37: 104-109
214. Hangaishi A, Ogawa S, Imamura N, Miyawaki S, Miura Y, Uike N, Shimazaki C, Emi N, Takeyama K, Hirose S, Kamada N, Kobayashi Y, Takemoto Y, Kitani T, Toyama K, Ohtake S, Yazaki Y, Ueda R, Hirai H (1996) Inactivation of multiple tumor-suppressor genes involved in negative regulation of the cell cycle, MTS1/p16INK4A/CDKN2, MTS2/p15INK4B, p53, and Rb genes in primary lymphoid malignancies. *Blood* 87: 4949-4958
215. Nicot C (2015) Tumor suppressor inactivation in the pathogenesis of adult T-cell leukemia. *J Oncol* 18: 3590

## Oncogenic viruses and cancer

Alicja Warowicka<sup>1\*</sup>, Robert Nawrot<sup>2</sup>, Justyna Broniarczyk<sup>2</sup>, Martyna Węglewska<sup>2</sup>, Anna Goździcka-Józefiak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Physiology and Developmental Biology, Adam Mickiewicz University in Poznań, Poland

<sup>2</sup>Molecular Virology Research Unit, Adam Mickiewicz University in Poznań, Poland

\*corresponding author: alicja@amu.edu.pl

**Key words:** oncoviruses, carcinogenesis

### ABSTRACT

Oncogenic viruses (oncoviruses) are implicated in approximately 12% of all human cancers. Currently, the viruses known to cause human cancer are: Hepatitis B and C viruses (HBV and HCV), Human Papillomaviruses (HPV), Merkel Cell Polyomavirus (MCV), Human Herpesvirus-8 (HHV-8), Epstein-Barr Virus (EBV) and Human T-cell lymphotropic virus-1 (HTLV-1). However, oncoviruses are not complete carcinogens, need additional factors and display different roles in transformation. Oncoviruses can directly disrupt important regulatory cell genes by inserting virus genome into the DNA of the host cell. They also contain their own genes that damage the regulation of the cell. Some viruses have *v-onc* that cause dysregulation of cellular processes and can lead to cancerous growth.