



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Human papillomavirus targets crossroads in immune signaling

Tummers, Bart

Citation

Tummers, B. (2016, January 21). *Human papillomavirus targets crossroads in immune signaling*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/37233>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/37233>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/37233> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Tummers, Bart

Title: Human papillomavirus targets crossroads in immune signaling

Issue Date: 2016-01-21

7

Samenvatting in het Nederlands

Het humaan papillomavirus (HPV) onderdrukt signalen in cellen om te ontsnappen aan het immuunsysteem.

Humaan papillomavirus (HPV) is een klein DNA virus dat epitheelcellen van mucosa en de huid - keratinocyten - infecteert. Er zijn momenteel ongeveer 200 HPV types bekend. De meeste types zijn ongevaarlijk en veroorzaken bijvoorbeeld wratten op handen, voeten of genitaliën. Sommige types, echter veroorzaken kanker in het hoofd-hals gebied en de genitaliën. Het bekendst is baarmoederhalskanker. Deze laatste types worden de hoog-risico HPV's (hrHPV's) genoemd. Infecties met hrHPV komen over de gehele wereld voor en ongeveer 80% van alle mensen is ooit met een hrHPV geïnfecteerd geraakt. Het is dan ook de meest voorkomende seksueel overdraagbare aandoening. Het virus kan zich lang weren tegen het afweersysteem maar na een periode van een tot twee jaar verdwijnen de meeste infecties spontaan. Bij iets minder dan 1% van de infecties komt het virus niet onder controle van het afweersysteem. Dan ontstaan er afwijkingen aan het epitheel die, wanneer niet tijdig behandeld, kunnen uitmonden in kanker. Wereldwijd zijn de hrHPV typen verantwoordelijk voor ongeveer 530.000 nieuwe kankergevallen en 275.000 doden per jaar.

Het afweersysteem kan virus-geïnfecteerde cellen herkennen en opruimen wanneer het eerst geattendeerd wordt op de aanwezigheid van een infectie. Om het afweersysteem te alarmeren zijn de cellen in het lichaam uitgerust met sensoren - receptoren - die de aanwezigheid van een virus kunnen herkennen. Als een cel geïnfecteerd raakt reageren de receptoren op specifieke structuren van het virus waardoor allerlei signaleringsroutes op gang komen die leiden tot de aanmaak van verschillende eiwitten in de geïnfecteerde cel. Deze eiwitten kunnen de infectie onderdrukken door onder andere a) de cel in een staat van verdediging te brengen, b) de virus productie te voorkomen, en c) afweercellen - lymfocyten - aan te trekken. Wanneer de aangetrokken lymfocyten het virus herkennen reageren ze door eiwitten te produceren die nog meer afweercellen kunnen aantrekken (cytokines) en eiwitten die verschillende uitwerkingen hebben op de geïnfecteerde cel. Zo kunnen eiwitten zoals interferon gamma (IFN γ) en tumor necrosis factor alpha (TNF α) ervoor zorgen dat de geïnfecteerde cel stopt met delen of dat de cel dood gaat, zodat de verspreiding van het virus voorkomen wordt.

Om zich te weren tegen een aanval van het afweersysteem hebben virussen verschillende methodes ontwikkeld die ingrijpen op verschillende fases van de aanval. Door de expressie van de sensoren te onderdrukken, de signaleringsroutes te blokkeren, of de productie van cytokines te onderdrukken proberen virussen te voorkomen dat het afweersysteem reageert. Daarnaast kunnen virussen proberen te voorkomen dat de geïnfecteerde cellen worden herkend door gealarmeerde lymfocyten of dat de geïnfecteerde cel adequaat kan reageren op de door lymfocyten uitgescheiden eiwitten die de cel instrueren om te stoppen met groeien of om dood te gaan. Vanuit eerdere studies weten we dat het afweersysteem pas laat op gang komt tegen HPV en ook dat het virus nog lang resistent is tegen een aanval. Dit duidt erop dat HPV ook methodes heeft om zichzelf in ieder geval een tijdje te beschermen tegen aanvallen van het afweersysteem. Hoe HPV in staat is om het afweersysteem om de tuin te leiden is in dit proefschrift bestudeerd voor de twee meest voorkomende hoog-risico types, HPV16 en 18.

Voorheen was al aangetoond dat bepaalde viruseiwitten van HPV verschillende signaleringsroutes in de keratinocyt onderdrukken of de interactie tussen geïnfecteerde cel en afweercel verhinderen (**hoofdstuk 1**). In dit proefschrift tonen we aan dat hrHPVs ook cellulaire eiwitten uitbuit om te ontsnappen aan het immuunsysteem.

In **hoofdstuk 2** wordt aangetoond dat een infectie met hrHPV leidt tot de verhoogde expressie van het cellulaire eiwit UCHL1. Dit eiwit hindert verdere activering van de IRF3 en NF- κ B signaleringsroutes als deze worden aangezet door binding van virale structuren aan de virussensoren TLR3, RIG-I en Mda5. Signalering van deze receptoren naar de kern verloopt onder meer door de ubiquïtineren van enkele signaal eiwitten. UCHL1 verhindert de ubiquïtineren van de eiwitten TRAF3 en TRAF6 en beïnvloedt de expressie van NEMO. Hierdoor verloopt de signalering minder efficiënt met als resultaat dat de geïnfecteerde keratinocyt minder cytokines uitscheidt die het afweersysteem kunnen alarmeren en activeren.

Hoofdstuk 3 laat zien dat een infectie met een hrHPV leidt tot de verhoogde expressie van het cellulaire eiwit IFRD1. Dit cellulaire eiwit blijkt de activatie

van NF- κ B te onderdrukken als deze wordt aangezet via de virussensor TLR3, of via de IFN γ en/of TNF α receptoren. IFRD1 vormt een brug tussen het NF- κ B complex en een de-acetylase (HDAC3) waardoor de acetylatie van NF- κ B, welke belangrijk is voor het functioneren van dit eiwit complex, kan verhinderen. Ook hierdoor verloopt de signalering minder efficiënt waardoor de geïnfecteerde cel minder eiwitten maakt die het afweersysteem kunnen aantrekken en activeren.

Het was eerder bekend dat hrHPV de expressie van de epidermal growth factor receptor (EGFR) verhoogt en EGFR signalering versterkt. Deze signalering verhoogt ook de expressie van IFRD1, waardoor er een link kan worden gemaakt tussen de remming van de aanmaak van afweersysteem aantrekkende eiwitten en de expressie van EGFR. In de kliniek worden momenteel tests gedaan met stoffen die de werking van de EGFR en diens signalering kunnen remmen en met stoffen die de werking van HDAC3 kunnen tegengaan. Als geïnfecteerde keratinocyten behandeld worden met deze stoffen gaan deze meer afweersysteem aantrekkende cytokines produceren. Deze resultaten zijn therapeutisch zeer interessant, maar er is nog veel meer onderzoek nodig om te bepalen of deze stoffen ook daadwerkelijk de afweerreactie tegen HPV infecties en HPV-geïnduceerde kankers stimuleren.

In **hoofdstuk 4** laten we het gen expressie profiel zien van keratinocyten wanneer signalering door de receptor CD40 wordt aangezet. CD40 is een receptor van de keratinocyt dat het molecuul CD154 (CD40L) herkent dat aanwezig is op bepaalde afweercellen. Snel na het activeren van CD40 worden er door de keratinocyt cytokines geproduceerd die ervoor kunnen zorgen dat de afweercellen geactiveerd en naar het geïnfecteerde gebied gerekruteerd worden. In een latere fase van CD40 activatie worden er cellulaire programma's aangezet die ertoe leiden dat de cel stopt met groeien. HrHPV verandert dit gen expressie profiel op zich niet, maar onderdrukt de intensiteit van de expressie. Dit leidt ertoe dat de CD40-geïnduceerde aanmaak van cytokines onderdrukt is en dat lokale versterking van de afweerreactie minder goed plaatsvindt.

De eiwitten IFN γ en TNF α worden gemaakt door de lymfocyten van het afweersysteem. Deze cytokines hebben verscheidene effecten op de cellen die daar receptoren voor hebben, zo kunnen zij de mate van celgroei beïnvloeden

en de dood van cellen veroorzaken. In **hoofdstuk 5** is de invloed van hrHPV op de reactie van keratinocyten na stimulatie met IFN γ en TNF α bepaald. Niet-geïnficeerde keratinocyten stopten met groeien. Dit bleek minder het geval te zijn met hrHPV geïnficeerde cellen, deze groeiden veel gemakkelijker door. HPV onderdrukte onder andere de expressie van de genen IFITM1 en RARRES1 die bij de normale regulatie van celgroei betrokken zijn.

Het is duidelijk dat HPV er veel aan doet om te ontsnappen aan het immuunsysteem. HPV onderdrukt verschillende signaleringsroutes die ervoor zorgen dat de geïnficeerde cel tegen het virus op kan treden. Met name de activatie van het NF- κ B complex blijkt te worden aangepakt op verschillende niveaus in de verschillende routes die allemaal tot NF- κ B activatie leiden. Hierdoor verhindert HPV dat de geïnficeerde keratinocyt eiwitten aanmaakt die het afweersysteem kunnen alarmeren en activeren wanneer de cel het virus herkent. HPV zorgt er ook voor dat de afweercellen die toch worden aangetrokken de geïnficeerde cellen moeilijk kunnen herkennen. Zelfs als de afweercellen op de geïnficeerde cel reageren beïnvloedt HPV de reactie van zijn gastheercel door signaleringsroutes te onderdrukken die ervoor zorgen dat de cel stopt met groeien.

In het kort wordt in dit proefschrift aangetoond dat hrHPV cellulaire eiwitten exploiteert om tijdelijk te kunnen ontsnappen aan het immuunsysteem.

