



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Biological properties of the oncoproteins E6 and E7 from mucosal and cutaneous HPV types

Dong, W.L.

Citation

Dong, W. L. (2006, November 14). *Biological properties of the oncoproteins E6 and E7 from mucosal and cutaneous HPV types*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4979>

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/1887/4979>

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

Samenvatting

Bepaalde typen humane papilloma virussen (HPVs) infecteren de mucosa van het genitaalbereik en worden beschouwd als één van de belangrijkste oorzaken van baarmoederhalskanker. Uitgebreide studies in de loop van de laatste 30 jaren, hebben aangetoond dat het product van twee vroege genen, E6 en E7, een belangrijke rol spelen in de kwaadaardige transformatie van cellen. Deze eiwitten kunnen de cellulaire tumorsuppressor eiwitten p53 en pRb binden en inactiveren, wat leidt tot deregulatie van het celcyclus en de cellulaire reactie op ongecontroleerde proliferatie. Zwakke activiteit of onvermogen van E6 en E7 om p53 en pRb te binden of te inactiveren leidt tot een onvermogen van een HPV type om kwaadaardige transformatie te veroorzaken. In het laatste decennium hebben verscheidene studies gesuggereerd dat bepaalde cutane HPV typen, behorende tot de beta groep van de HPV familie, met non-melanoma huidkanker (NMSC) kan worden geassocieerd. Nochtans, moet hun directe rol in deze ziekte nog worden bewezen. Karakterisatie van de biologische eigenschappen van E6 en E7 proteïnen van de cutane HPV typen is daarom een goede methode om de rol van deze virussen in carcinogenese te verduidelijken.

Het onderzoek in dit proefschrift beschrijft de karakterisatie van de biologische eigenschappen van E6 en E7 proteïnen van mucosale en cutane HPV typen door gebruik te maken van nieuwe of eerder beschreven analysemethoden en modellen. Nadruk werd vooral gelegd op de cutane HPV type 38 dat in *in vitro* experimenten carcinogene eigenschappen vertoont en vaak in NMSC aanwezig is.

De capaciteit van E7 om pRb te binden en te degraderen is de eerste stap die tot deregulatie van de celcyclus leidt. Wij hebben een analysemethode ontwikkeld die ons in de staat stelt om de affiniteit van de E7 voor pRb te analyseren, het „plate-binding“ systeem. Door gebruik te maken van dit systeem, beschreven in Hoofdstuk 2, konden wij de affiniteit van verschillende E7 eiwitten voor pRb bepalen en met elkaar vergelijken. Wij tonen aan dat HPV38 E7, net zoals HPV16 E7, een hoge affiniteit voor pRb heeft, wat correleert met de capaciteit van dit HPV type om de levensduur van primaire keratinocytes te verlengen.

In Hoofdstuk 3 wordt aangetoond dat HPV32 E7, ondanks zijn hoge affiniteit voor pRb, geen degradatie van pRb kan veroorzaken en ook niet een door de cyclin-afhankelijke kinase-inhibitor p16^{INK4a} geïnduceerde inhibitie van de celcyclus kan overkomen. Desondanks, kan HPV32 E7 wel geïmmortaliseerde knaagdiercellen transformeren, wat erop wijst dat er andere eigenschappen van E7 belangrijk zijn in cellulaire transformatie. Bovendien tonen wij aan dat HPV32 E6 niet p53 kan

binden of inactiveren en dat E6 en E7 samen niet in staat zijn om primaire keratinocyten te immortaliseren. Overeenkomstig met deze *in vitro* experimenten, worden de HPV32-besmettingen uitsluitend met goedaardige infecties geassocieerd.

E6 en E7 van de cutane EV HPV type 38 is in staat om primaire menselijke keratinocyten te immortaliseren. In Hoofdstuk 4 evalueren wij de carcinogene activiteiten van deze virale eiwitten in een *in vivo* model,. Hiervoor hebben wij transgene muizen gemaakt die HPV38 E6 en E7 in hun huid tot expressie brengen. De expressie van deze transgenen veroorzaakte hyperproliferatie, hyperplasie, dysplasie en verlies van de UV-veroorzaakte inhibitie van de celcyclus in de keratinocyten van de huid. Bovendien zijn HPV38 E6E7 transgene muizen meer gevoelig voor ontwikkeling van huidtumoren wanneer ze worden blootgesteld aan carcinogene producten. Deze gegevens bevestigen dat HPV38 het risico tot ontwikkeling van huidkanker beduidend kan verhogen en een potentieel cutaan hoog risico HPV type is.

In overeenstemming met deze conclusie kan HPV38 E6 en E7 de transcriptionele functies van de tumorsuppressor p53 in menselijke keratinocyten en in keratinocyten in de huid van transgenic muizen veranderen. In beide experimentele modellen zorgt HPV38 E6 en E7 expressie voor een accumulatie van een specifieke p53 vorm, die selectieve transcriptie van $\Delta Np73$ veroorzaakt, een isoform van p53 gerelateerde protein 73. $\Delta Np73$ remt de capaciteit van p53 om de transcriptie van genen te induceren die betrokken zijn bij de differentiatie en apoptosis. Dit is een nieuw mechanisme van de wijziging van p53 functie van een cutaan HPV type en ondersteunt de rol van HPV38 en $\Delta Np73$ in carcinogenesis (Hoofdstuk 5)

Samenvattend zijn de activiteiten van zowel E6 als E7 vereist voor immortalisatie en transformatie van primaire cellen. Wij toonden aan dat HPV38 E6 en E7 primaire keratinocyten immortaliseren kan en het risico tot ontwikkeling van huidkanker verhoogt. Onze studies steunen sterk de betrokkenheid van cutane HPV typen in de ontwikkeling van huidkanker en baant de weg voor zowel epidemiologische als biologische studies op HPV.