

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Adéla Cirbusová

Role BK polyomaviru v lidských nádorech
The role of BK polyomavirus in human cancer

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Martina Saláková, Ph.D.

Praha, 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 10.5.2019

Adéla Cirbusová

Podpis:

Poděkování:

Tímto bych ráda poděkovala především mé školitelce RNDr. Martině Salákové, Ph.D., za veškerou ochotu, pomoc a rady, které mi v průběhu psaní této bakalářské práce poskytla. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině za nesmírnou podporu během celého studia.

Abstrakt

BK polyomavirus (BKV) je malý neobalený ubikvitně rozšířený DNA virus, který u imunosuprimovaných jedinců může způsobovat závažná onemocnění, konkrétně BK polyomaviróvou nefropatii (BKVaN) a hemoragickou cystitidu. Mimo toho se o BKV uvažuje jako o možném původci některých nádorových onemocnění u člověka. Je zde několik skutečností, které by tomuto spojení nasvědčovaly. BKV ve svém genomu kóduje tři onkoproteiny, díky kterým u hlodavců indukuje vznik celé řady nádorů. Onkogenní potenciál byl prokázán i na buněčných kulturách. Současně byl BKV genetický materiál detekován v lidských nádorových tkáních. Tato fakta tedy podporují myšlenku, že by BKV mohl být onkogenní i u člověka. Jako pravděpodobná se prozatím zdá možná účast BKV v karcinomu močového měchýře u pacientů po transplantaci ledvin a je uvažována možnost, že je BKV jedním z faktorů, které mohou zapříčinit vznik adenokarcinomu prostaty. Avšak doposud nebyl předložen stoprocentní důkaz, který by tyto souvislosti potvrdil a je tedy nutná řada dalších studií, které by mohly přinést nové poznatky a roli BKV jako možného původce některého z těchto nádorových onemocnění potvrdit či naopak vyvrátit.

klíčová slova: BKV, rakovina, LTag, prostata, močový měchýř

Abstract

BK polyomavirus is small uncoated DNA virus which is ubiquitous in human population. In immunosuppressed individuals can cause severe diseases, specifically BK polyomavirus associated nephropathy (BKVaN) and hemoragic cystitis. Except that, it is presumed that BKV may be responsible for some cases of human cancer. Some features of BKV could support this idea. There are three encoded oncoproteins in BKV genome. BKV is oncogenic in rodents, where induces multiple types of tumors and it can transform cell lines as well. Moreover, BKV DNA was found in many types of human cancer. All these facts suggest a possible role of BKV in human cancer. Bladder carcinoma in patients after transplantation and prostate adenocarcinoma are the most likely candidates to link with BKV participation. There is no complete evidence though. Therefore, future studies are necessary to prove or even exclude BKV as a possible cause of human cancer.

key words: BKV, cancer, LTag, prostate, bladder

Obsah

1. Úvod.....	1.
2. Polyomaviry.....	1.
3. BK polyomavirus.....	4.
3.1. Kapsida a virion.....	4.
3.2. Genom a exprimované proteiny.....	5.
3.2.1. Nekódující regulační oblast (NCCR).....	6.
3.2.2. Oblast časných genů.....	6.
3.2.3. Oblast pozdních genů.....	7.
3.2.4. microRNA.....	8.
3.3. Tkáňový tropismus a životní cyklus BKV.....	8.
3.4. Epidemiologie BKV.....	10.
3.5. Onemocnění asociovaná s BKV infekcí.....	11.
3.5.1. BKV asociovaná nefropatie (BKVaN).....	11.
3.5.2. BKV hemoragická cystitida.....	12.
4. Role BKV v nádorech.....	12.
4.1. Mechanismy nádorové transformace.....	12.
4.2. Mechanismy, jimiž je BKV schopen navodit nádorovou transformaci.....	13.
4.2.1. LTag.....	14.
4.2.2. sTag.....	15.
4.3. BKV a nádorová transformace u experimentálních modelů.....	16.
4.3.1. Laboratorní zvířata.....	16.
4.3.2. Buněčné linie odvozené z hlodavčích tkání.....	17.
4.3.3. Buněčné linie odvozené z lidských tkání.....	18.
4.4. Role BKV v lidských nádorech.....	19.
4.4.1. Karcinom močového měchýře.....	19.
4.4.2. Karcinom močového měchýře u pacientů po transplantaci.....	20.
4.4.3. Karcinom prostaty.....	23.
4.4.4. Další nádorová onemocnění.....	26.
4.4.5. Protilátková odpověď proti LTag.....	27.
5. Závěr.....	28.
6. Seznam použitých zdrojů.....	29.

Seznam použitých zkratk

BHK-21 - baby hamster kidney fibroblasts 21, označení buněčné linie odvozené z ledvin křeččích mláďat

BKV - BK polyomavirus

BKVaN – BKV associated nephropathy, BKV asociovaná nefropatie

bp – base pair, pár bazí

Cdk – cyklin-dependent kinase, cyklin-dependetní kináza

CD4⁺ - CD4 positive T-cells, CD4⁺ pozitivní T-lymfocyty

CD25⁺ - CD25 positive T-cells, CD25⁺ pozitivní T-lymfocyty

DNA - deoxyribonucleic acid, deoxyribonukleová kyselina

FoxP3⁺ - forkhead box P3 positive T-cells, FoxP3⁺ pozitivní T-lymfocyty

HEK - human embryonic kidney cells, lidské embryonální ledvinové buňky

HEF - human embryonal fibroblasts, lidské embryonální fibroblasty

HPyV - human polyomavirus, lidský polyomavirus

IFN- γ – interferon gamma

IgG – immunoglobulin G, imunoglobulin G

IL-10 - Interleukin 10

JCV – JC polyomavirus

kDa - kilodalton

LTag – large tumor antigen, velký nádorový antigen

MCC – Merkel cell carcinoma, karcinom Merkelových buněk

MCPyV – Merkel cell polyomavirus, Polyomavirus Merkelových buněk

MPyV - Mus musculus polyomavirus, Myší polyomavirus

mRNA - messenger RNA, informační RNA

miRNA - microRNA

NCCR – non-coding control region, nekódující kontrolní oblast

NK - natural killer cell, buňka „přirozený zabiják“

nm - nanometr

ori – origin, replikační počátek

PCNA - proliferating cell nuclear antigen, svírací protein figurující v lidských buňkách

PCR – polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce

PIA - proliferative inflammatory atrophy, proliferativní zánětlivá atrofie

PIN - prostatic intraepithelial neoplasia, prostatická intraepiteliální neoplázie

PP2A - protein phosphatase 2A, protein fosfatáza 2A

pRb – protein Rb

p21 – protein p21

p53 – protein p53

p107 – protein p107

p130 – protein p130

sTag - small tumor antigen, malý nádorový antigen

SV40 - Simian virus 40

Tag – tumor antigen, nádorový antigen

trunc-Tag – truncated tumor antigen, zkrácený nádorový antigen

ULBP3 - UL16 binding protein 3, UL16 vázající protein 3

VP1 – viral protein 1, virový protein 1

VP2 – viral protein 2, virový protein 2

VP3 – viral protein 3, virový protein 3

1. Úvod

BK polyomavirus je u imunosuprimovaných jedinců spojen se vznikem závažných onemocnění. Svými vlastnostmi se prokázal také jako onkogenní virus. S pomocí exprimovaných onkoproteinů je schopen vyvolávat nádory u hlodavců i způsobit nádorovou transformaci z hlodavců odvozených buněčných kultur. Přítomnost BKV DNA byla zjištěna i v některých lidských nádorech, což společně s prokázanou onkogenní způsobilostí u experimentálních modelů vede k myšlence, zda BKV nemůže hrát roli v jejich vzniku. Tuto domněnku navíc podpořilo nedávné spojení blízkce příbuzného polyomaviru Merkelových buněk (MCPyV) se vznikem karcinomu z Merkelových buněk (MCC). Pro všechna tato fakta určila Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) BKV jako 2B "možný karcinogen". (Malaria and Some Polyomaviruses, 2014)

Cílem této práce bude shromáždit všechny doposud dostupné informace, které by jako celek mohly přinést na tuto problematiku jasnější pohled. V první části práce budou charakterizovány základní vlastnosti BKV. Druhá část bude věnována mechanismům a onkogenním schopnostem u experimentálních modelů. V samotném závěru práce budou představeny důkazy a modely, které svědčí pro i proti možné roli BKV v lidských nádorech.

2. Polyomaviry

Viry z čeledi *Polyomaviridae* jsou malé neobalené dsDNA viry, jež mají napříč čeledí velmi podobné vlastnosti. Ikosahedrální kapsida o velikosti 40 – 45 nm je složena ze tří strukturálních proteinů - VP1, VP2 a VP3. Uvnitř kapsidy je genom se třemi funkčními oblastmi: oblastí časných genů, kódující T-antigeny, oblastí pozdních genů, kódující strukturální proteiny, a nekódující kontrolní oblastí. (Dalianis *et al.*, 2013). Velikost genomu se napříč jednotlivými druhy drobně liší, obecně se ale pohybuje v rozmezí 4 700 – 5 400 bp. (Moens *et al.*, 2016)

Polyomaviry infikují především savce a ptáky. Nově však byly objeveny druhy, jejichž přirozenými hostiteli jsou i ryby. (Van Doorslaer *et al.*, 2018). Z celkem 73 současně známých druhů, bylo doposud popsáno 14 lidských (Moens *et al.*, 2016), přičemž více než třetina z nich je asociována s některým z lidských onemocněních. (Dalianis *et al.*, 2013). Přehled všech lidských polyomavirů a jimi způsobených patologií je uveden v tabulce č. 1. S nádorovým onemocněním byl prozatím prokazatelně spojen jen jeden lidský polyomavirus. MCPyV, *Merkel cell polyomavirus*, který způsobuje vzácnou agresivní formu rakoviny kůže nazývanou

karcinom z Merkelových buněk. (Feng *et al.*, 2008). U BK viru a JC viru (JCV) byl prokázán nádorový potenciál *in vitro* a na experimentálních zvířecích modelech, avšak jejich role v lidských nádorech je stále předmětem výzkumu. (Dalianis *et al.*, 2013)

Jako modeloví zástupci jsou pro studium polyomavirů často využívány MPyV, *Mus musculus polyomavirus 1*, z rodu *Alphapolyomavirus* a SV40, *Macaca mulatta polyomavirus 1* neboli *Simian virus 40*, z rodu *Betapolyomavirus*. U obou těchto zástupců byl také prokázán nádorový potenciál. MPyV u novorozených či imunosuprimovaných hlodavců způsobuje mnohočetné nádory slinných žláz. (Gross, 1953). SV40 patří do stejného rodu jako BKV či JCV a sdílí s nimi, především pak s BKV, poměrně velkou sekvenční homologii. U přirozeného hostitele, jímž je makak rhesus (*Macaca mulatta*), je infekce SV40 asymptomatická. U hlodavců však způsobuje široké spektrum nádorových onemocnění. (Bouchard *et al.*, 1984). Na modelu SV40 byla zjištěna a prokázána řada funkcí časných genových produktů, včetně jejich onkogenních účinků, například interakce malého T-antigenu (sTag) s protein fosfatázou 2A. (Cho *et al.*, 2007). Vzhledem k podobné struktuře časných proteinů lze stejné funkce předpokládat i u příbuzných druhů.

TABULKA č. 1 – Lidské polyomaviry a onemocnění, která způsobují, (Dalianis *et al.*, 2013), (Moens *et al.*, 2016), (Gheit *et al.*, 2017)

NÁZEV POLYOMAVIRU	ROD	ASOCIOVANÉ ONEMOCNĚNÍ
<i>Human polyomavirus 1</i>, BK polyomavirus, (BKV)*	<i>Betapolyomavirus</i>	BKV nefropatie a BKV hemoragická cystitida u imunosuprimovaných jedinců, možná souvislost s některými nádorovými onemocněními
<i>Human polyomavirus 2</i>, JC polyomavirus, (JCV)	<i>Betapolyomavirus</i>	progresivní multifokální leukoencefalopatie u imunosuprimovaných jedinců, možná souvislost s některými nádorovými onemocněními
<i>Human polyomavirus 3</i> , KI polyomavirus, (KIPyV)	<i>Betapolyomavirus</i>	prozatím nebyl spojen s žádným z lidských onemocnění
<i>Human polyomavirus 4</i> , WU polyomavirus, (WUPyV)	<i>Betapolyomavirus</i>	prozatím nebyl spojen s žádným z lidských onemocnění

<i>Human polyomavirus 5, Merkel cell polyomavirus, (MCPyV)</i>	<i>Alphapolyomavirus</i>	karcinom z Merkelových buněk
<i>Human polyomavirus 6, (HPyV6)</i>	<i>Deltapolyomavirus</i>	možné spojení se vznikem kožních lézí u imunosuprimovaných pacientů
<i>Human polyomavirus 7, (HPyV7)</i>	<i>Deltapolyomavirus</i>	možné spojení se vznikem kožních lézí u imunosuprimovaných pacientů
<i>Human polyomavirus 8, Trichodysplasia spinulosa polyomavirus, (TSPyV)</i>	<i>Alphapolyomavirus</i>	Trichodysplasia spinulosa u imunosuprimovaných jedinců
<i>Human polyomavirus 9, (HPyV9)</i>	<i>Alphapolyomavirus</i>	prozatím nebyl spojen s žádným z lidských onemocnění
<i>Human polyomavirus 10, MW polyomavirus polyomavirus, (MWPyV)</i>	<i>Deltapolyomavirus</i>	prozatím nebyl spojen s žádným z lidských onemocnění
<i>Human polyomavirus 11, STL polyomavirus, (STLPyV)</i>	<i>Deltapolyomavirus</i>	prozatím nebyl spojen s žádným z lidských onemocnění
<i>Human polyomavirus 12, (HPyV12)</i>	<i>Alphapolyomavirus</i>	prozatím nebyl spojen s žádným z lidských onemocnění
<i>Human polyomavirus 13, New Jersey polyomavirus, (NJPyV)</i>	<i>Alphapolyomavirus</i>	prozatím nebyl spojen s žádným z lidských onemocnění
<i>Human polyomavirus 14 Lyon IARC polyomavirus, (LIPyV)</i>	<i>Alphapolyomavirus</i>	prozatím nebyl spojen s žádným z lidských onemocnění

*tučně jsou zvýrazněni ti zástupci, kteří jsou, nebo by mohli být spojeni s některým z nádorových onemocnění u lidí

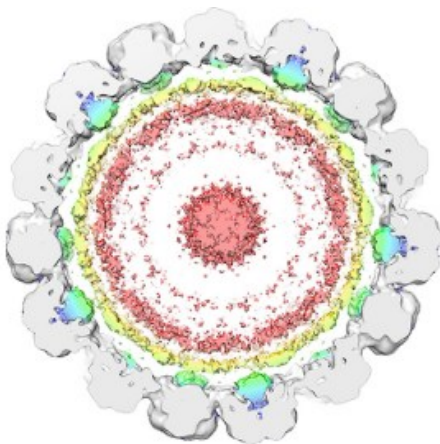
3. BK polyomavirus

BK polyomavirus (BKV) byl objeven roku 1971 v moči imunosuprimovaného pacienta po transplantaci ledvin. (Gardner *et al.*, 1971). Dle platné virové taxonomie nese označení *Human Polyomavirus I* (HPyV I) a řadí se do rodu *Betapolyomavirus*. (Moens *et al.*, 2016). Svůj název, BK, dostal podle iniciál pacienta, ze kterého byl prvně izolován. (Gardner *et al.*, 1971)

3.1. Kapsida a virion

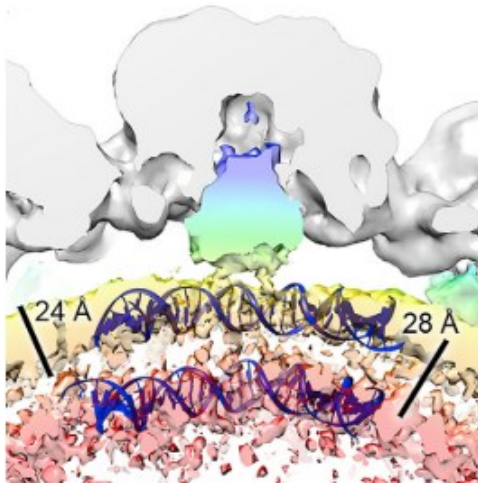
BKV je malý neobalený virus, jehož virion má v průměru 45 nm. Ikosahedrální kapsida se skládá ze tří strukturních proteinů - majoritního VP1 a dvou minoritních VP2 a VP3. Tři sta šedesát VP1 proteinů oligomerizuje v pentamery a vytváří tak jednotlivé kapsomery. Šedesát z nich je hexavalentních a zbývajících dvanáct pentavalentních. (Rayment *et al.*, 1982). Interakce kapsomer s pěti či šesti sousedy přes dlouhé C-konce VP1 proteinu tvoří charakteristickou ikosahedrální strukturu. Opačný, N-konec VP1 proteinu interaguje s virovým minichromozomem uvnitř kapsidy. (Barouch and Harrison, 1994)

VP1 proteiny mohou vytvořit kapsidu i bez účasti minoritních proteinů. Tato struktura se označuje jako viru podobná částice (VLP). (Li *et al.*, 2003). Přítomnost VP2 a VP3 je však nutná pro efektivní virovou infekci. (Forstova *et al.*, 1993). VP2/3 jsou uloženy v dutině kapsomery, přičemž v každé z nich je pouze jeden z minoritních proteinů. C-konec VP2 a VP3 je identický a interaguje se specifickou oblastí VP1 proteinu. Stabilitu vzniklého komplexu mezi majoritním a minoritním proteinem udržují hydrofobní interakce. (Chen *et al.*, 1998). Struktura kapsidy a komplex majoritního a minoritního proteinu jsou znázorněny na obrázcích č. 1 a 2.



OBRÁZEK č.1 – Struktura virové kapsidy, převzato z (Macdonald *et al.*, 2016)

Na obrázku je znázorněna ikosahedrální kapsida BKV na základě elektronové hustoty jednotlivých interakcí. V dutinách, na obrázku šedých pentamerů VP1, jsou modře znázorněny minoritní proteiny VP2 nebo VP3. Červeně a žlutě je vyobrazen virový genom, tedy ds DNA v komplexu s histony.

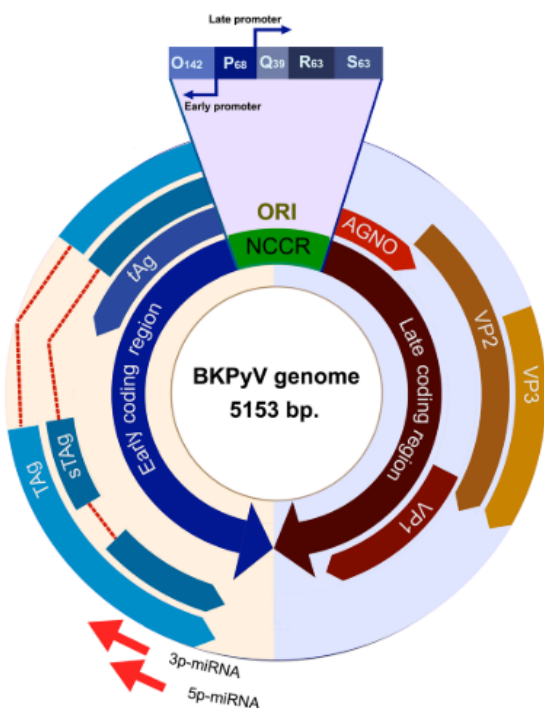


OBRÁZEK č.2 – Interakce mezi majoritním a minoritním proteinem, převzato z (Macdonald *et al.*, 2016)

Na obrázku je detailně znázorněna interakce mezi majoritním VP1 proteinem a minoritním VP2 proteinem. VP2 uložen uvnitř dutiny kapsomery, složené z VP1 proteinu. Stejná situace platí i pro VP3.

3.2. Genom a exprimované proteiny

Genom BKV tvoří cirkulární dvouvláknová molekula DNA o velikost 5 153 bp. Ve virové kapsidě se nevyskytuje samostatně, nýbrž v komplexu s histony, které získává od hostitelské buňky. Můžeme jej rozdělit na tři funkční oblasti. Oblast časných genů, oblast pozdních genů a nekódující regulační oblast neboli non-coding control region (NCCR). Oblasti časných i pozdních genů jsou exprimovány z promotorů v NCCR a jejich transkripce běží v opačném směru. V časné genové oblasti vznikají celkem tři produkty - LTag, sTag a trunc-Tag. V pozdní genové oblasti jsou kódovány čtyři proteiny – Agnoprotein, VP1, VP2 a VP3. (Seif, Khoury and Dhar, 1979). Mimo proteinů se v časné oblasti nachází i sekvence pro dvě miRNA - 3p-miRNA a 5p-miRNA. (Hsu *et al.*, 2014). Pro lepší představu je genom schematicky znázorněn níže na obrázku č.3.



OBRÁZEK č.3 – Genom BKV, převzato z (Levican *et al.*, 2018)

Přerušovaná čára značí alternativně vystřižené introny z primárního transkriptu. V NCCR jsou popsány její jednotlivé segmenty společně s jejich velikostmi v bp. Červenými šipkami jsou vyznačeny miRNA molekuly 3p-miRNA a 5p-miRNA

3.2.1. Nekódující regulační oblast (NCCR)

V nekódující regulační oblasti je umístěný replikační počátek a promotory s regulačními oblastmi pro transkripci časných a pozdních genů. Jedná se o oblast genomu, která je velmi variabilní a může procházet nejrůznějšími přestavbami ve formě bodových mutací, delecí a duplikací. Je rozdělena do několika sekcí označených písmeny O, P, Q, R a S. Posloupnost jednotlivých segmentů i jejich velikost v bp je uvedena v obrázku č. 3. V oblasti O se nachází replikační počátek (ori), v oblastech P – S jsou promotory a regulační sekvence pro transkripci časných i pozdních genů. Výše uvedená skladba i velikost NCCR platí pouze pro takzvaný archetyp, tedy nejběžnější typ BKV. (Olsen *et al.*, 2009). Mimo archetypu se BKV vyskytuje i ve formách s přestavěnými NCCR. Tyto přestavby umožňují viru lepší přizpůsobení se rozdílným buněčným typům. (Hanssenet *et al.*, 2005)

3.2.2. Oblast časných genů

Produkty časné genové oblasti se uplatňují v rané fázi virové infekce. Geny, kódující proteinové produkty velký T-antigen (LTag), malý t-antigen (sTag) a také nedávno objevený zkrácený truncated T-antigen (trunc-Tag), jsou prvními exprimovanými geny při vstupu viru do jádra. Všechny tři výše zmíněné proteiny vznikají z jedné pre-mRNA alternativním sestřihem. Mají schopnost řídit buněčný cyklus hostitelské buňky a LTag se podílí na replikaci virového genomu. Na rozdíl od NCCR, jsou oblasti časných i pozdních genů konzervované a je zde poměrně velká homologie s ostatními druhy čeledi *Polyomaviridae*.

Velký T-antigen o velikosti 80,505 kDa (www.uniprot.org, 2019) je protein s řadou pro virus nezbytných funkcí. Je členěn do několika domén s různými vazebnými místy. DNA vazebná doména umožňuje vazbu LTag na replikační počátek v NCCR. Zároveň na svém N-konci obsahuje vazebné místo pro velkou podjednotku hostitelské DNA polymerázy α , kterou tak přitáhne do místa počátku replikace. Mimo toho disponuje také helikázovou aktivitou, díky které dvouvláknovou DNA v místě ori rozplétá. Všechny tyto funkce jsou nutné pro zahájení replikace virového genomu (Dornreiter *et al.*, 1990). Další vazebná místa a motivy umožňují interakci LTag s buněčnými proteiny zodpovědnými za regulaci buněčného cyklu. (Harris *et al.*, 1996). Tyto interakce mohou vést k maligní transformaci buňky a budou podrobně rozebrány v kapitole číslo 4.

Malý T-antigen o velikosti 20,455kDa (www.uniprot.org, 2019) je sekvenčně shodný s N-koncem LTag, ale v důsledku alternativního sestřihu se jejich C-konce liší. Stejně jako LTag i sTag hraje roli v deregulaci buněčného cyklu a i jeho podrobné funkce budou rozebrány v kapitole číslo 4. (Schüchner and Wintersberger, 1999)

Poměrně nedávno byl objeven další protein, vznikající třetí možností alternativního sestřihu. Tento produkt je označován jako zkrácený, truncated, T-antigen (trunc-Tag). Jedná se o kratší, 17-20 kDa velkou, upravenou formu velkého T-antigenu. S LTag sdílí totožnou N-koncovou oblast, a tedy i některá vazebná místa a domény, jmenovitě například pRb vazebnou doménu. I trunc-Tag tedy hraje roli v možné nádorové transformaci buňky. (Abend *et al.*, 2009)

3.2.3. Oblast pozdních genů

Promotory pro pozdní geny se taktéž nacházejí v NCCR, ale jejich transkripce probíhá v opačném směru a je zahájena až v pozdní fázi virové infekce. Geny pro jednotlivé strukturální proteiny se v určitých oblastech překrývají, tedy i některé jejich části jsou shodné. (Seif *et al.*, 1979)

VP1 (45 kDa) je majoritní kapsidový protein, který tvoří povrch virové částice. Při vstupu viru do buňky zprostředkovává kontakt mezi virem a hostitelskou buňkou - konkrétně interaguje se zbytkem kyseliny sialové, která je součástí gangliosidových receptorů na povrchu buněčné membrány. (Low *et al.*, 2006). VP2 (35kDa) a VP3 (23kDa) jsou minoritní kapsidové proteiny, jejichž geny se vzájemně překrývají. Oba tyto proteiny jsou důležité pro efektivní virovou infekci, kdy napomáhají translokaci virového genomu do jádra hostitelské buňky. (Forstova *et al.*, 1993), (Bennett *et al.*, 2015)

Čtvrtým proteinem exprimovaným z oblasti pozdních genů je agnoprotein, u kterého stále nejsou známy všechny jeho funkce. Mimo BKV ho exprimují také JCV a SV 40, přičemž jeho sekvence je napříč těmito druhy konzervována. Agnoprotein je 8 kDa velký, silně bazický protein, který má v buňce regulační funkci a nedávno bylo prokázáno, že má roli i v konečné fázi virové infekce. Do dnešní doby nalezeno několik hostitelských vazebných partnerů agnoproteinu. Bylo prokázáno, že agnoprotein svými 37 N-terminálními aminokyselinovými zbytky interaguje s α -SNAP proteinem, který se účastní fúzí váčků v buňce. Tato vazba napomáhá uvolnění infekčních virových částic z napadené buňky. Mimo toho se agnoprotein podílí i na uvolnění nových virových částic z jádra. Bylo zjištěno, že v případě, kdy agnoprotein

není virem exprimován, je infekční schopnost daného mutanta mnohonásobně nižší. (Dragset *et al.*, 2011), (Müller *et al.*, 2018)

Dalším vazebným partnerem pro agnoprotein, je v jádře se vyskytující protein, PCNA, který působí jako kofaktor DNA-polymerázy δ , čímž napomáhá opravným procesům v průběhu replikace hostitelské DNA. Agnoprotein svou interakcí s PCNA negativně ovlivňuje jeho funkci, čímž reguluje PCNA-závislou DNA replikaci. Má se za to, že virus tento mechanismus využívá v pozdní fázi virové infekce, kdy takto vypíná replikaci virového genomu. Agnoprotein by mohl být i dalším potenciálním virovým onkoproteinem, vzhledem k tomu, že negativní regulací PCNA zvyšuje pravděpodobnost chybovosti v hostitelské DNA replikaci. (Gerits *et al.*, 2015)

3.2.4. microRNA

Mimo proteinových produktů genom kóduje i dvě regulační microRNA (miRNA) molekuly 3p-miRNA a 5p-miRNA. Obě jsou plně komplementární s mRNA pro LTag. Vzhledem k tomu, že LTag slouží jako aktivační element pro zahájení replikace virového genomu, tyto miRNA jsou schopny skrze degradaci LTag mRNA negativně regulovat replikaci virového genomu. (Hsu *et al.*, 2014)

Další uplatnění nachází miRNA při obraně BKV před imunitním systémem hostitele. Bylo zjištěno, že virová miRNA je komplementární k ULBP3 mRNA. ULBP3 je stresový protein, který je exprimován při napadení buňky virem. Váže NK620, což je molekula produkovaná NK buňkami, které jsou na základě této interakce schopny rozeznat napadenou buňku. Mimo NK buňky však NK620 exprimují také T-buňky. Virus je takto chráněn před přirozenou i adaptivní imunitou a mohl by to být tak jeden z mechanismů udržení persistence. (Bauman *et al.*, 2011)

3.3. Tkáňový tropismus a životní cyklus BKV

Přesný způsob vstupu viru do těla doposud není známý. Po primární infekci je virus přenesen mononukleárními periferními buňkami do míst persistence, kde v případě zdravého jedince navozuje doživotní bezpříznakovou infekci. Hlavním místem persistence je pro BKV epitel vylučovací soustavy, především pak epitel ledvin (An *et al.*, 2019), ale ukázalo se, že může persistovat i v periferních mononukleárních krevních buňkách a mozkové tkáni. (Elsner *et al.*, 1992), (Dorries *et al.*, 1994)

Infekce buňky BK virem začíná interakcí VP1 kapsidového proteinu se zbytkem kyseliny sialové α -2-8 vázané na gangliosidové receptory GD1b a GT1b přítomné v hostitelské membráně. Tato vazba indukuje endocytózu virionu. (Low *et al.*, 2006). Endocytóza je zprostředkována calveolinovým váčkem (Eash *et al.*, 2004), avšak nedávno bylo prokázáno, že virus dokáže vstoupit do buňky i cestou nezávislou na calveolinu. (Zhao *et al.*, 2016). Po vstupu do buňky je virus dopraven pomocí mikrotubulů do endoplasmatického retikula. (Moriyama and Sorokin, 2008). Při této cestě dochází k částečnému rozbalení kapsidy následkem nízkého pH ve váčku. Váček pak fúzuje s membránou endoplasmatického retikula, kam vstupuje virus s odhalenými VP2 a VP3 kapsidovými proteiny. (Jiang *et al.*, 2008). Virus poté endoplasmatické retikulum opouští a vystupuje do cytosolu. Za pomoci jaderných lokalizačních signálů na minoritních kapsidových proteinech VP2 a VP3 vstupuje do konečného místa určení, tedy do jádra. (Bennett *et al.*, 2015)

V jádře dochází k replikaci virového genomu a k expresi genů pro časné i pozdní proteiny. Virus nekóduje vlastní enzymy a je tak zcela závislý na replikačním a transkripčním aparátu hostitelské buňky. Z promotoru v NCCR nejprve dochází k expresi genů časné oblasti. Vzniká jeden primární transkript, z kterého pak pomocí alternativního sestřihu vznikají LTag, tTag nebo také trunc-Tag. Tyto proteiny jsou velmi důležité v souvislosti s regulací buněčného cyklu buňky – deregulují buněčný cyklus a ženou buňku do S-fáze, díky které je možná replikace virového genomu. (Seif *et al.*, 1979). Podstatnou roli zde hraje LTag, který svou vazbou na replikační počátek společně s interakcí s hostitelskou DNA-polymerázou zahajuje a zároveň reguluje replikaci virového genomu. (Dornreiter *et al.*, 1990). Replikace virového genomu je následována expresí pozdních genů. Vzniklé kapsidové proteiny jsou translatovány v cytoplasmě. Komplex minoritního a majoritního proteinu je translokován zpět do jádra pomocí jaderného lokalizačního signálu. V jádře pak dochází ke skládání kompletního virionu. (Forstova *et al.*, 1993). Mechanismus, kterými maturované virové částice opouští buňku, není přesně známý, ale jak bylo uvedeno výše v kapitole o pozdních proteinových produktech, nejspíše za ním stojí agnoprotein, který interakcí s α -SNAP proteinem umožňuje uvolnění virionů z buňky. (Müller *et al.*, 2018)

Výše uvedená situace platí pro permissivní buňky, tedy buňky, ve kterých je virus schopen dokončit celý životní cyklus a opustit hostitelskou buňku. V nepermissivních buňkách nedochází k expresi pozdních strukturních proteinů. Kontinuálně jsou produkovány časné virové produkty, což vede k nádorové transformaci infikované buňky. (Abend *et al.*, 2010)

3.4. Epidemiologie BKV

BKV je ubikvitně rozšířený napříč lidskou populací. K infekci dochází v brzkém dětském věku. Dle séroprevalence je uváděno, že v dospělém věku je infikováno až 90% lidské populace. BKV séroprevalence je shrnuta v tabulce č. 2.

TABULKA č.2 - Prevalence BKV dle séroprevalence – převzato, upraveno a doplněno z (Malaria and Some polyomaviruses, 2014)

STUDIE	TESTOVANÍ JEDINCI	LOKACE STUDIE	METODA	POČET JEDINCŮ	PREVALENCE PROTILÁTEK PROTI BKV (%)
Brown <i>et al.</i> (1975)	dospělí a děti	28 izolovaných populací	HAI	1544	0 – 90% v závislosti na populaci
Knowles <i>et al.</i> (2003)	dospělí a děti	Anglie	HAI	2435	<u>celkem 81%</u> 1 – 4 roky - 64% 5 – 59 let - 91% 60 – 69 let - 68%
Stolt <i>et al.</i> (2003)	děti a těhotné ženy	Švédsko (děti) Finsko (ženy)	ELISA na základě VLP	290 dětí 1656 žen	děti: 1 – 3 roky - 20% 3 – 13 let – 63 – 98% ženy: 14 – 31 let – 80 – 96%
Egli <i>et al.</i> (2009)	dospělí krevní dárči	Švýcarsko	ELISA na základě VLP	400	<u>celkem 82%</u> 20 – 29 let – 87% 50 – 59 let - 71%
Kean <i>et al.</i> (2009)	dospělí krevní dárči a skupina dětí a mladistvých do 21 let	Denver, Colorado, USA	ELISA na základě VLP	1501 721	děti a mladiství: 1 – 21 let – 73% krevní dárči: 21 let a starší – 82%
Antonsson <i>et al.</i> (2010)	dospělí s dětmi	Austrálie	ELISA na základě VLP/ Luminex	458	4 – 24 let – 97% 25 – 60 let - 99% starší 60 let – 94%

Viscidi <i>et al.</i> (2011)	dospělí a děti	Itálie	ELISA na základě VLP	947	mladší 10 let – 62% 10 – 39 let – 75 – 79% 40 – 69 let – 60 – 64% starší 70 let – 55%
(Šroller <i>et al.</i> , 2014)	dospělí a děti v rozmezí 6 – 64 let	Česká republika	ELISA na základě VLP	991	6 – 9 let - 72.9 % 10 – 19 let - 79.9% 20 – 29 let - 79,7% 30 – 39 let - 64.7% 40 – 49 let – 56.0 % 50 – 59 let - 57.2% starší 59 let - 55.7%

Způsob přenosu BKV není doposud přesně známý, avšak zcela jistě se jedná o antroponózu. Jako možné se zdají fekálně-orální i respirační forma přenosu. Virus je vylučován v moči i stolici. (Vanchiere *et al.*, 2005). Na různých místech světa byly testovány vzorky odpadních vod na přítomnost BKV DNA, přičemž virus byl v těchto vzorcích detekován v poměrně velké míře. (Bofill-Mas *et al.*, 2001), (Bofill-Mas *et al.*, 2000). Avšak nálezy viru v mandlích svědčí i pro respirační přenos. (Goudsmit *et al.*, 1982). Jako možný se zdá i přenos tělními tekutinami, zejména krví a slinami. (Jeffers *et al.*, 2009), (Lavorino *et al.*, 2015). Mimo to je možná i transplacentární forma přenosu viru. (Pietropaolo *et al.*, 1998), (Boldorini *et al.*, 2010)

3.5. Onemocnění asociována s BKV infekcí

U zdravých jedinců je BKV infekce bezpříznaková. Občasná reaktivace viru se může projevit výskytem virových částic v moči, ale další klinické příznaky pozorovány nejsou. Problém nastává v případě imunoprese infikovaného jedince, kdy v důsledku virové reaktivace může dojít k vývoji vážných onemocnění. (Dalianis and Hirsch, 2013)

3.5.1. BKV asociovaná nefropatie (BKVaN)

BKV asociovaná nefropatie je komplikace, se kterou se potýkají pacienti po transplantaci ledvin. Toto onemocnění se začalo objevovat v polovině 90. letech jako důsledek podávání silnější imunopresivní léčby. V případě, že u takového pacienta dojde k reaktivaci viru, imunitní systém není schopen adekvátně zareagovat. Následuje masivní virová replikace v epiteliálních ledvinových buňkách. V důsledku lytické infekce postupně dochází k nekróze ledvinové tkáně, která v posledním stádiu způsobuje selhání samotné ledviny. (Bohl and Brennan, 2007)

Tato komplikace se objevuje asi u 8% pacientů. (Hirsch *et al.*, 2002). Je však možné jí předcházet. V případě časného zjištění virové replikace lze snížit míru imunosuprese daného pacienta a zabránit tak progresi BKV reaktivace do nefropatie. (Gouvêa *et al.*, 2016)

3.5.2. BKV hemoragická cystitida

BKV hemoragická cystitida postihuje 5 – 40% pacientů po alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby. Po alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby je daný jedinec imunosuprimován. V důsledku imunosuprese může dojít reaktivaci BKV, na kterou zareaguje imunitní systém. Tato imunitní reakce způsobuje krvácivý zánět močového měchýře s různou formou závažnosti. Potransplantační léčba pacientů se tak zkomplikuje a ve zlomku těžkých případů může toto onemocnění končit i smrtí. (Fioriti *et al.*, 2005), (Gilis *et al.*, 2014)

4. Role BKV v nádorech

4.1. Mechanismy nádorové transformace

Vznik nádoru je podmíněn řadou událostí, které se v buňce musí odehrát, přičemž od prvotního impulzu až do vzniku samotného nádorového onemocnění uběhne zpravidla mnoho let. Celý proces začíná mutací v jednom z regulačních genů, která buňce poskytne proliferační výhodu. Tato genetická změna může být způsobena širokou škálou faktorů. Mimo fyzikálních a chemických vlivů, jsou karcinogenními faktory také některé viry. V důsledku neustálého dělení a hromadění dalších mutací dojde k maligní transformaci buňky. V této fázi buňka přestává reagovat na regulační mechanismy, ať už z vnějšího prostředí, či své vlastní, a stává se buňkou nádorovou. Následuje fáze progresu, při které dochází k růstu nádoru v primárním ložisku. Konečnou etapou je takzvané metastazování, kdy nádorové buňky opouští místo vzniku a šíří se do dalších tkání.

Nádorová buňka se vyznačuje specifickými vlastnostmi. Ztrácí kontaktní inhibici, má schopnost růst i bez interakce s podkladem, jsou pozměněny její metabolické pochody a má tak snížené nároky na příjem živin, mění se její morfologie, nereaguje na signály, které by inhibovaly její růst, a má schopnost se neustále dělit. Apoptóza, která by za běžných okolností následovala po projevení těchto vlastností je také negativně regulována a buňky se tak dělí bez jakékoliv kontroly. (Hanahan and Weinberg, 2011)

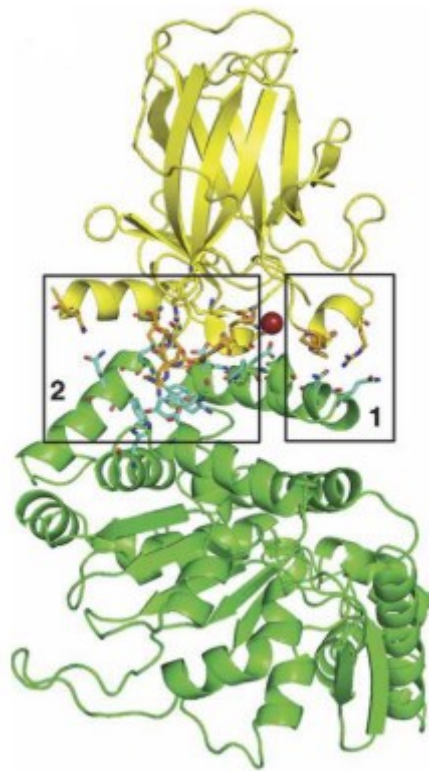
Klíčovou roli pro vznik nádorů hrají mutace ve dvou skupinách genů – protoonkogenech a tumor supresorových genech. Expresí onkogenů vznikají proteiny, které mají schopnost vyvolat nádorovou transformaci buňky. V buňce se za běžných okolností vyskytují ve formě protoonkogenů, které kódují proteiny regulující buněčnou proliferaci, diferenciaci i apoptózu. Mutací v protoonkogenu může dojít k jeho aktivaci v onkogen. Produkty tumor supresorových genů zamezují buněčné proliferaci a naopak podporují diferenciaci a apoptózu. (Kleener, 2002)

4.2. Mechanismy, kterými je BKV schopen navodit nádorovou transformaci

Produkty kódované časnou oblastí BKV genomu jsou vzhledem ke svým vlastnostem označovány jako onkoproteiny. Interagují s produkty tumor supresorových genů, čímž zamezují jejich funkci. Virus je tak s jejich pomocí schopen zahájit a udržet proliferační aktivitu hostitelské buňky, díky níž se může v S fázi společně s hostitelským genomem replikovat.

4.2.1. LTag

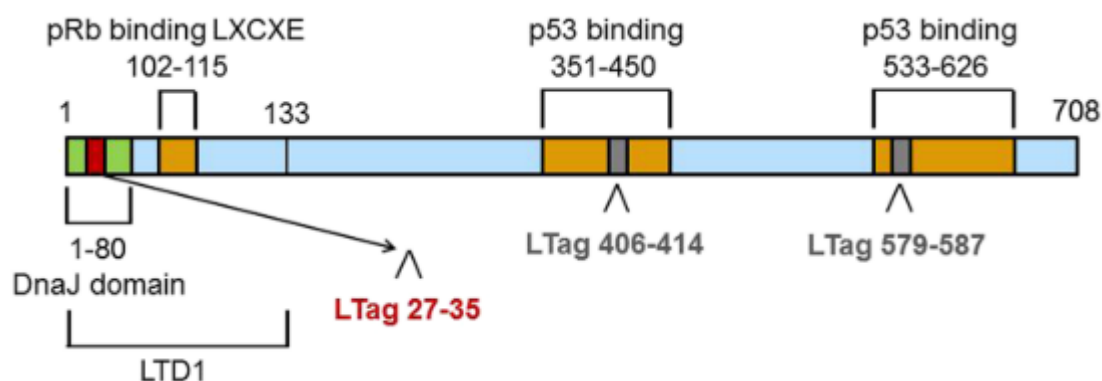
Jedním z nejdůležitějších vazebných partnerů LTag je fosfoprotein p53. Tento protein má v regulaci buněčného cyklu mnoho podstatných úloh a jeho dysfunkce či porucha exprese je spojena s řadou nádorových onemocnění. V případě poškození DNA indukuje expresi p21, který blokuje Cdk2-cyklinD a Cdk4-cyklinE komplexy a buňka je tak zastavena v G1 fázi do té doby, dokud není poškozená DNA opravena. (He *et al.*, 2005). V případě, že je poškození DNA nevratné, iniciuje apoptózu. (Chipuk *et al.*, 2004). LTag váže p53 v jeho aktivní fosforylované formě. K interakci dochází mezi aminokyselinovými zbytky helikázové domény LTag a DNA-vazebné domény p53. Vytvořením komplexu LTag-p53 dochází ke konformační změně p53 DNA vazebné domény, stabilizaci p53 a inhibici jeho funkce jako transkripčního faktoru. Mimo to navázaný p53 působí i opačně na LTag. LTag v komplexu s p53 ztrácí svou helikázovou aktivitu a není tedy možné zahájit virovou replikaci. (Lilyestrom *et al.*, 2006). Komplex LTag-p53 je zobrazen na obrázku č. 4. Vzhledem k tomu, že se p53 v buňce vyskytuje ve velmi nízké koncentraci, množství exprimovaného BKV LTag je dostatečné k vyvázání většiny přítomného p53, (Harris *et al.*, 1996)



OBRÁZEK č. 4 – Interakce mezi p53 a LTag, převzato z (Lilyestrom *et al.*, 2006)

LTag váže i další tumor supresorové proteiny. Na svém N-konci obsahuje specifický vazebný motiv LXCXE, nazývaný také jako pRb-vazebná doména, díky níž je schopen interagovat s proteiny retinoblastomové rodiny pRb, p107 a p130, které vážou transkripční faktory z rodiny E2F (E2F1 - E2F5). Tyto transkripční faktory aktivují řadu proteinů nutných pro buněčnou proliferaci. (Du and Pogoriler, 2006). V případě, že je v buňce přítomný LTag, svým LXCXE motivem interaguje s vazebnou doménou Rb proteinu, čímž tak uvolňuje transkripční faktor E2F z komplexu pRb-E2F, který je poté neustále aktivní. (Harris *et al.*, 1996), (Harris *et al.*, 1998).

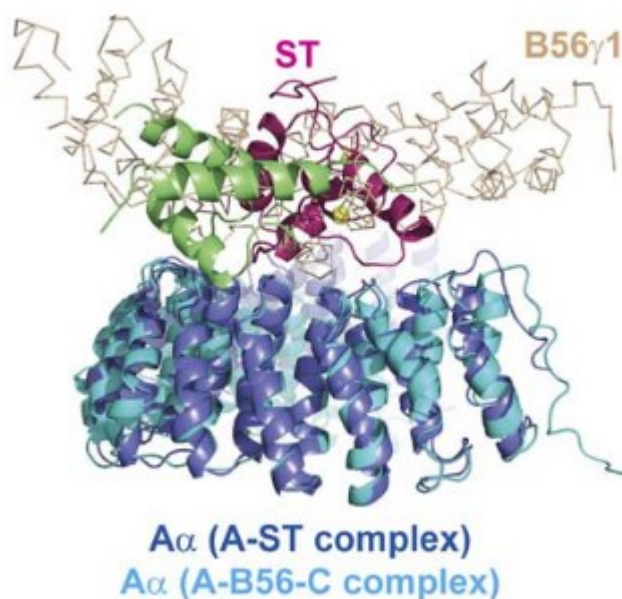
Schéma LTag s vazebnými doménami a motivy je znázorněno na obrázku č. 5.



OBRÁZEK č. 5 – Struktura LTag, převzato z (Keller *et al.* , 2015)

4.2.2. sTag

K navození proliferační aktivity hostitelské buňky částečně přispívá i malý T-antigen. Tento onkoprotein má dvě domény, N-terminální J-doménu shodnou s LTag a C-terminální unikátní doménu. Prostřednictvím cystein bohaté C-terminální unikátní domény sTag váže $A\alpha$ podjednotku protein fosfatázy 2A (PP2A). Protein fosfatáza 2A v buňce enzymaticky reguluje řadu pochodů, včetně negativní regulace některých signálních drah vedoucích k buněčné proliferaci. Jedná se tedy u tumor supresorový protein. Navázáním na strukturní $A\alpha$ podjednotku PP2A sTag zablokuje vazebné místo pro regulační B56 γ 1 podjednotku, což způsobí inhibici aktivity tohoto enzymu. Interakce mezi sTag a $A\alpha$ podjednotkou PP2A je znázorněna na obrázku č. 6 . (Cho *et al.*, 2007)



OBRÁZEK č. 6 – sTag v komplexu s $A\alpha$ podjednotkou PP2A, převzato z (Cho *et al.*, 2007)

4.3. BKV a nádorová transformace u experimentálních modelů

Onkogenní potenciál BKV byl testován na řadě experimentálních modelů. U hlodavců i u z hlodavců odvozených buněčných kultur BKV svou onkogenní schopnost prokázal. U lidských buněčných liniích však samotná exprese virových onkoproteinů k maligní transformaci nestačí a pro vytvoření úplného nádorového fenotypu jsou potřebné ještě další faktory.

4.3.1. Laboratorní zvířata

Onkogenní schopnost BKV byla *in vivo* testována na hlodavcích. Nejčastěji využívaným modelem v této souvislosti byl křeček syrský (*Mesocricetus auratus*), některé studie však jako model použily i myš domácí (*Mus musculus*) nebo laboratorní potkany (*Rattus norvegicus*).

U novorozených nebo mladých křečků byla po inokulaci BK viru pozorována různá míra vzniku nejruznějších typů nádorových onemocnění. Charakter nádoru a jeho incidence byly dány především způsobem injekce viru a jeho množstvím v očkovací látce, případně ještě dalšími okolnostmi, například mírou imunosuprese daného jedince. Ke vzniku nádorů docházelo zpravidla do jednoho roku po inokulaci. V případě podkožního vpichu BK viru měli infikovaní jedinci tendence k vývoji nádorů pojivových tkání, nejčastěji fibrosarkomů, ale vývoj nádorů nebyl tak častý v porovnání s ostatními způsoby podání. (Shah *et al.*, 1975), (Nase *et al.*, 1975), (Dougherty *et al.*, 1976). V případě intracerebrálního vpichu BKV se často objevovaly ependymomy v mozku (Costa *et al.*, 1976), (Corallini *et al.*, 1978b), ale docházelo i k vývoji vzácných nádorových onemocnění, například insulinosomů (nádory beta buněk) či papilomů choroidálního plexu a dalších nádorů neurálních tkání. (Uchida *et al.*, 1979), (Greenlee *et al.*, 1977). Mimo toho se ukázalo, že jedinci, u kterých byla navozena imunosuprese, například pomocí využití antithymocytového séra (Greenlee *et al.*, 1977) či provedením thymektomie (Noss *et al.*, 1984) mají k vývoji nádorů mnohem větší tendenci. Velká frekvence nádorů byla pozorována i u mladých jedinců, u kterých bylo podání viru provedeno nitrožilně. Nádory byly typově stejné, jako u intracerebrálního vpichu, ale nádor se vyvinul u více než 80% jedinců. (Corallini *et al.*, 1978b.). Vzhledem k umístění nádorů po injekci BKV u mladých křečků v tkáních mozku, kostí a slinivky lze předpokládat, že je BKV schopen tyto tkáně infikovat a exprimovat alespoň časnou oblast virového genomu. U myší a potkanů se vyskytovali po injekci BKV stejné typy nádorů.

Onkogenní aktivita BKV byla prokázána na i modelu transgenních myší. U dvou ze tří transgenních myší s časnou genovou oblastí BKV v genomu, došlo k vývoji nádorů v oblasti jater a ledvin a v obou typech nádorů byla nalezena virová mRNA. (Small *et al.*, 1986). Podobný pokus provedli i Dalrymple a kol., kteří použily více pokusných subjektů než v předešlém experimentu. Z celkem šedesáti pozorovaných transgenních myší došlo u více než poloviny z nich také k vývoji nádorů v oblasti ledvin. (Dalrymple and Beemon, 1990)

4.4.2. Buněčné linie odvozené z tkání hlodavců

Schopnost BKV nádorově transformovat buněčné linie odvozené z hlodavců (křeček, myš) byla prokázána i na *in vitro* modelech. Buňky po transfekci s kompletní virovou DNA či částí genomu obsahujícími časnou oblast, jevíly známky nádorově transformovaných buněk. Byly schopné růst bez pevného podkladu, měly snížené nároky na sérum a po jejich naočkování do laboratorních zvířat často docházelo u daných jedinců k vývoji nádorů, shrnuto v (Tognon *et al.*, 2003).

Major a kol. pro svůj výzkum použili buněčnou linii BHK-21 (Clone 13) odvozenou z křeččích ledvinových buněk. Buňky byly po transfekci BKV DNA schopny růst na měkkém agaru a vykazovaly nádorově transformovanou aktivitu. Po injekci těchto buněk do mladého křečka docházelo u daných jedinců k vývoji nádorů v místě vpichu. (Major and Mayorca, 1973). K podobným výsledkům došla i další výzkumná skupina. V křeččích ledvinových buňkách byla po transfekci virové DNA detekována nepřetržitá exprese virových onkoproteinů, buňky vykazovaly nádorově transformovaný fenotyp a po injekci těchto buněk do mladých a dospělých křečků se po krátké době u 100 % mladých a více než poloviny dospělých jedinců začaly objevovat nádory, které byly pro postižené jedince letální. (Portolani, 1975). Grossi a kol. zkoumali křeččí ledvinové buňky po jejich transfekci celkovou BKV DNA a subgenomovými fragmenty obsahujícími časnou genovou oblast. Dokázali, že i subgenomové fragmenty s kompletní časnou genovou oblastí mají schopnost indukovat maligní transformaci buňky a navíc, že část virové DNA byla schopna integrace přímo do hostitelského genomu. (Grossi *et al.*, 1982). Stejně výsledků bylo dosaženo i při výzkumu myších a krysích buněčných linií. (Corallini *et al.*, 1978a), (Seehafer *et al.*, 1979)

4.4.3. Buněčné kultury odvozené z lidských tkání

Buněčné kultury odvozené z lidských tkání na infekci BKV reagují jinak než buněčné linie z hlodavčích tkání. Běžně dochází k lytické infekci, projevuje se cytopatický efekt a buňka nevykazuje transformovaný fenotyp. (Abend *et al.*, 2010)

Jsou však zaznamenány případy, nejspíše způsobené selháním lytické infekce, kdy k transformaci buňky dojde. Tato transformace je ale aboritivní a buňka nevykazuje plně transformovaný fenotyp. Corallini a kol. popsali takovouto aboritivní transformaci u lidských embryonálních ledvinových buněk (HEK). Buňky po infekci BK virem vykazovaly změněnou morfologii, ale další známky transformace pozorovány nebyly. Navíc v buňkách nebyla detekována přítomnost BKV časných proteinů. Tato kultura po několika pasážích zahynula. (Corallini *et al.*, 1978a). Grossi a kol. studovali lidské embryonální fibroblasty (HEF) po transfekci subgenomovými fragmenty i celogenomovou BKV DNA. Nejprve došlo k běžné lytické infekci. Většina buněk zahynula, ale malá část přeživších buněk začala po několika týdnech růst. Tyto buňky po izolaci vytvořily novou buněčnou kulturu, která měla velmi dobré růstové schopnosti. Buňky měly změněnou morfologii, rostly i při snížené koncentraci séra, ale nebyly schopny růst bez pevného podkladu a při injekci do novorozenech myší neindukovaly vznik nádorů. (Grossi *et al.*, 1982). Podobné výsledky získali i Takemoto a kol. s využitím lidských fetálních mozkových buněk. Většina buněk po infekci zahynula, ale malá část, která infekci přežila, velmi dobře rostla. Z buněk byla vytvořena permanentní buněčná linie. Buňky vykazovaly všechny vlastnosti plně transformované buňky, včetně indukce nádorů po inokulaci do novorozenech myší bez thymu. (Takemoto *et al.*, 1979). Rinaldo a kol. využili pro výzkum osteosarkomovou buněčnou linii U-20S, závislou na růstu na pevném podkladu. Buňky po infekci BKV získaly schopnost růst na měkkém agaru. Po několika pasážích však tato schopnost zmizela a buňky se vrátily ke svému předchozímu fenotypu. (Rinaldo *et al.*, 2003)

Výše uvedené výsledky ukazují, že BKV v permisivních buňkách není běžně schopen indukovat stabilní transformaci a pro vytvoření úplného transformovaného fenotypu buňky jsou potřebné ještě další faktory. Jako jeden z těchto faktorů se ukázala být exprese některého z buněčných onkogenů. Corallini a kol. vytvořili rekombinantní DNA molekuly obsahující časnou genovou oblast BKV společně s jedním z buněčných onkogenů c-HRas či c-myc. Těmito konstrukty transformoval HEF a HEK buňky. V případě, že rekombinantní molekula obsahovala aktivovaný buněčný onkogen i časnou genovou oblast, došlo ke stabilní nádorové transformaci buněčné linie. (Corallini *et al.*, 1991). K podobným výsledkům došli i Pater a kol.

HEK buňky za koexprese časných virových proteinů a aktivovaného c-HRas onkoproteinu byly schopny růstu na měkkém agaru. V případě, že byl exprimován jen jeden z nich nebo byl c-HRas onkoprotein v neaktivní formě, buňka tuto schopnost ztratila. (Pater *et al.*, 1986)

4.4. BKV a jeho role v lidských nádorech

Prokázat souvislost mezi nádorovým onemocněním a virem, jako jeho původcem, je velmi obtížný úkol. Jedním z možných kritérií, které bylo pro určení této souvislosti stanoveno, je zvýšená frekvence výskytu virového genetického materiálu v nádorové tkáni, v porovnání se zdravou kontrolní tkání. (Vonka, 2000)

4.4.1. Karcinom močového měchýře

Hlavním místem persistence BK viru je epitel vylučovací soustavy. Vzhledem k tomu byla pozornost, v souvislosti s možnou rolí BKV v lidských nádorech, zaměřena především na tuto oblast. Několik výzkumných skupin našlo BKV DNA ve vzorcích získaných z nádorů močového měchýře. Monini a kol. detekovali pomocí PCR sekvenci velkého T-antigenu BKV v nádorových i zdravých tkáních vylučovací soustavy, přičemž ve vzorcích močového měchýře, byla BKV DNA přítomna v největší míře. Frekvence nálezů byla podobná ve zdravé i nádorové tkáni, avšak v nádorové tkáni byla virová DNA v mnohonásobně větším počtu kopií. (Monini *et al.*, 1995). Fioriti a kol. s využitím PCR zjišťovali přítomnost BKV DNA v 32 vzorcích primární neoplasie močového měchýře, ke kterým přiřadili 20 kontrol zdravé tkáně. Více než polovina nádorových vzorků se ukázala být BKV DNA pozitivní, naproti tomu v žádné z kontrol BKV DNA nalezena nebyla. (Fioriti *et al.*, 2003). Avšak, další studie došly k rozdílným výsledkům.

Studie případů a kontrol provedená Poleselem a kol., ve které se pomocí PCR pokusili detekovat BKV DNA u 113 vzorků odebraných z karcinomu močového měchýře, nenaznačuje možnou souvislost BKV se vznikem tohoto onemocnění. BKV DNA byla nalezena jen u 7 vzorků rakoviny a 5 vzorků zdravých kontrol. (Polesel *et al.*, 2012). S podobnými výsledky přišli i další výzkumné skupiny v předchozích letech. Rollison a kol. našli BKV DNA jen v 7, z celkem 76 vzorků karcinomu močového měchýře. Všechny vzorky kontroly ze zdravé tkáně močového měchýře byly negativní. U pozitivních nálezů následně pomocí imunohistochemie testovali přítomnost LTag, který by indikoval probíhající aktivní infekci, ale v žádném vzorku nebyl protein LT detekován. (Rollison *et al.*, 2007). Přítomnost LTag nepotvrdila u žádného z 20 vzorků pocházejících z urotheliálního karcinomu ani další

provedená studie, taktéž využívající imunohistochemickou detekci. (Roberts *et al.*, 2008). Je však nutné zmínit, že ve výše uvedené výsledky platí pro pacienty bez jakýkoliv známek imunosuprese.

Zdá se tedy, že u imunokompetentních pacientů není mezi BKV infekcí a vznikem rakoviny močového měchýře souvislost. Výsledky, které by pro tuto možnost svědčily, byly získány jen s malým počtem vzorků. Navíc v žádném z BKV pozitivních nádorů nebyla detekována exprese T-antigenů, která by indikovala aktivní infekci. Přítomná BKV DNA tedy byla nejspíše důsledkem rozšíření viru v populaci, který v dané tkáni, byť se jednalo o tkáň nádorovou, pouze persistoval a se vznikem nádorového onemocnění neměla žádnou souvislost.

4.4.2. Karcinom močového měchýře u pacientů po transplantaci

Avšak získané výsledky za poslední roky vysoce nasvědčují tomu, že BKV působí v tumorigenezi močové soustavy u pacientů po transplantaci ledvin (pozn.: nejčastěji ledvin, avšak byly hlášeny případy, kdy se nádorová onemocnění objevila i po transplantaci jiných solidních orgánů, viz tabulka č. 3). Svědčí pro to jednotlivé popsání případů, které mají společnou charakteristiku. Jedná se o pacienty, u kterých byla po transplantaci detekována BKV reaktivace či vyvinuta BKV asociovaná nefropatie (BKVaN). Následně u některých z nich dochází k vývoji karcinomů ledvin či močového měchýře, ve kterých je detekovatelná silná exprese velkého T-antigenů. Geetha a kol. publikovali případ pacienta, u kterého po prodělané transplantaci ledvin vznikl karcinom močového měchýře metastázující do okolních tkání. Tkáň z tohoto karcinomu a i tkáň metastáze byla imunohistochemicky pozitivní na přítomnost LTag, přičemž v okolní zdravé tkáni detekován nebyl. (Geetha *et al.*, 2002). Všechny případy s podobnou charakteristikou jsou shrnuty v tabulce č. 3.

Tuto spojitost potvrzují i provedené studie sledující incidenci nádorového onemocnění u pacientů po transplantaci ledvin. Chen a kol. v retrospektivní studii za posledních 25 let zahrnuli 864 pacientů po transplantaci ledvin. Šest pacientů z tohoto souboru prodělalo BKV asociovanou nefropatii, přičemž u pěti z nich se později objevilo nádorové onemocnění. U dvou to byl právě karcinom močového měchýře. (Chen *et al.*, 2010) Gupta a kol. v kohortě 55 697 pacientů po transplantaci ledvin, zaznamenali 3.6% pacientů s vyvinutou BKVaN. Když poté u pacientů z celého souboru, u kterých se objevilo některé z nádorových onemocněních vylučovacího traktu, porovnávali incidenci nádorů u BKVaN pozitivních a BKVaN negativních pacientů, zjistili, že pacienti s prodělanou BKVaN, měli ke vzniku nádorových onemocnění, především pak karcinomu močového měchýře, mnohem větší tendenci. (Gupta, 2017)

TABULKA č. 3 – Případy nádorových onemocnění u pacientů po transplantaci s následnou BKV reaktivací či vyvinutou BKVaN, převzato a upraveno z (Papadimitriou *et al.*, 2016)

STUDIE	TRANSPLANTOVANÝ ORGÁN	TYP VYVINUTÉHO NÁDORU
(Alexiev <i>et al.</i> , 2013)	ledvina ledvina společně se slinivkou	karcinom močového měchýře karcinom močového měchýře
(Alexiev <i>et al.</i> , 2013)	ledvina	karcinom močového měchýře
(Alexiev <i>et al.</i> , 2015)	srdce	karcinom močového měchýře
(Bialasiewicz <i>et al.</i> , 2013)	ledvina ledvina společně se slinivkou	karcinom močového měchýře karcinom močového měchýře
(Dufek <i>et al.</i> , 2013)	příče	karcinom sběrných kanálků v ledvině
(Emerson <i>et al.</i> , 2008)	ledvina	karcinom sběrných kanálků v transplantované ledvině
(Geetha <i>et al.</i> , 2002)	ledvina	karcinom močového měchýře
(Hill <i>et al.</i> , 2009)	ledvina	karcinom močového měchýře
(Li <i>et al.</i> , 2013)	ledvina	karcinom v transplantované ledvině
(Narayanan <i>et al.</i> , 2007)	ledvina společně se slinivkou	karcinom v transplantované ledvině
(Neirynek, <i>et al.</i> , 2012)	ledvina	karcinom v transplantované ledvině
(McDaid <i>et al.</i> , 2013)	ledvina	karcinom v transplantované ledvině
(Oikawa <i>et al.</i> , 2014)	ledvina	karcinom močové trubice
(Pino <i>et al.</i> , 2013)	ledvina	karcinom močového měchýře
(Roberts <i>et al.</i> , 2008)	ledvina	karcinom močového měchýře
(Saquib <i>et al.</i> , 2009)	ledvina	karcinom v transplantované ledvině
(Saleeb <i>et al.</i> , 2015)	ledvina	karcinom v transplantované ledvině
(Van Aalderen <i>et al.</i> , 2013)	ledvina	karcinom močového měchýře

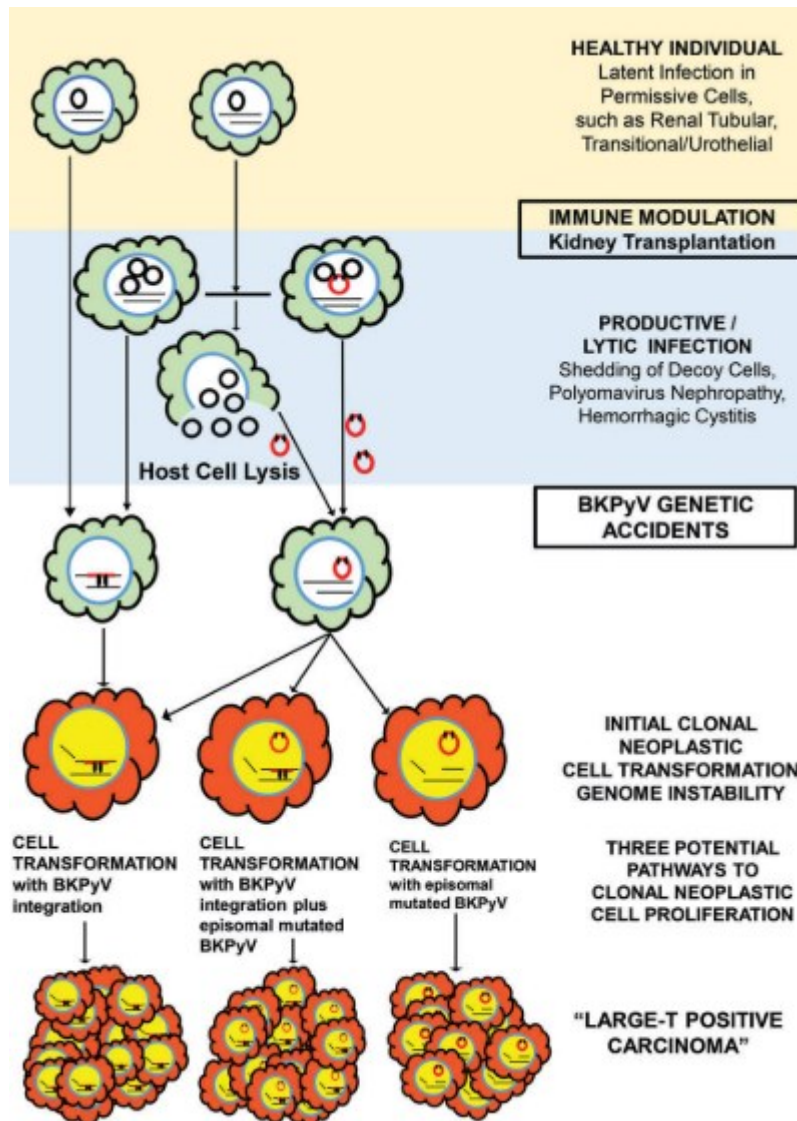
Přesný mechanismus, kterým BKV v těchto nádorech působí, není prozatím přesně znám, avšak nedávno provedené studie přichází s možnými modely. Kenan a kol. provedli celogenomovou sekvenaci DNA z nádorové tkáně pocházející z ledviny pacienta po transplantaci. Identifikovali novou variantu BKV, označenou *Chapell Hill BK polyomavirus 2*, integrovanou do lidského chromozomu v oblasti pozdních genů. V důsledku rozdělení pozdní oblasti virového genomu při integraci byla znemožněna replikace virového genomu a exprese pozdních proteinů, naopak byla zvýšena exprese LTag díky deregulaci transkripce virových miRNA. (Kenan *et al.*, 2017).

Müller a kol. také analyzovali genom v LTag pozitivním vzorků urotheliálního karcinomu pacienta po transplantaci ledvin, přičemž BKV DNA byla nalezena ve dvou formách, v epizomální formě a i integrované formě. Obě tyto formy měly 17 bp delecí v P-segmentu NCCR. Byla provedena funkční analýza této NCCR, která prokázala, že delece posílila expresi časných genů a zároveň snížila replikační schopnost a následnou expresi pozdních genů. NCCR segment vložili do reporterového genu obousměrného plasmidu phRG1. Po transfekci tohoto konstruktů do HEK293 buněk byla potvrzena pouze exprese časného virového regionu. Vzhledem k tomu, že byla tato delece pozorována v obou formách virové DNA, se předpokládá, že nejdříve došlo k mutaci v epizomální formě a až poté došlo k integraci virové DNA do hostitelského genomu. (Müller *et al.*, 2018). V souvislosti se zjištěním těchto mechanismů, byly navrženy modely, které popisují možnou funkci BKV v karcinogenezi u imunosuprimovaných pacientů po transplantaci.

První navržený model je následující. V důsledku imunoprese dojde k reaktivaci viru a produktivní virové infekci, při které mohou vzniknout změny v NCCR, které ovlivní replikační schopnost viru a zároveň podpoří expresi časných genových produktů. Nadměrná exprese virových onkoproteinů umožní kontinuální buněčnou proliferaci společně s hromaděním mutací, které v určitém bodě zapříčiní maligní zvrát buňky. Integrace virového genomu tedy nemusí být pro nádorovou transformaci nezbytná. (Müller *et al.*, 2018). Jiný model předpokládá, že právě integrace virové DNA do genomu, je zodpovědná za zvýšenou expresi časných onkoproteinů, což poté opět vede ke vzniku nádoru. (Kenan *et al.*, 2017).

Schéma předpokládaných modelů je znázorněno na obrázku č. 7.

Nicméně, úspěšnost výše představených modelů je závislá na imunopresi. Díky absenci imunitních funkcí nemůže být regulována BKV reaktivace a poté ani následně se vyvíjejí nádorové onemocnění. Lze tedy předpokládat, že u imunokompetentního pacienta by za stejných okolností k vývoji nádorového onemocnění nejspíše nedošlo



OBRÁZEK č. 7 – Možné modely, kterým BKV působí ve vývoji nádorových onemocnění u imunosuprimovaných pacientů, převzato z (Nickeleit *et al.*, 2018)

4.4.3. Karcinom prostaty

BKV by mohl být také jedním z faktorů při vzniku rakoviny prostaty. Vědecké poznatky z nedávné doby naznačují, že by se BKV se mohl podílet na transformaci během vícestupňového procesu vývoje adenokarcinomu prostaty. Dosavadní poznatky nepřinášejí přímý důkaz, který by potvrdil spojení mezi BKV infekcí a vznikem tohoto nádorového onemocnění. Další studium pomocí moderních technik tedy může pomoci k objasnění konkrétních událostí při vývoji karcinomu.

Stejně jako v případě karcinomu močového měchýře, byla BKV DNA detekována jak ve zdravé, tak nádorové tkáni prostaty. Martinez-Fierro *et al.* testoval 55 vzorků z histopatologicky určeného adenokarcinomu prostaty. K nim přiřadil 75 kontrol ze zdravé tkáně prostaty. Žádný ze vzorků nebyl na BKV DNA pozitivní. (Martinez-Fierro *et al.*, 2010). Groom *et al.* došel ke stejným výsledkům, přičemž ale postrádal kontrolní zdravou skupinu. (Groom *et al.*, 2012) Sfanos *et al.* detekoval BKV DNA pouze v jednom z 200 testovaných vzorků získaných od pacientů po radikální prostatektomii. (Sfanos *et al.*, 2008). Naopak u 26 pacientů po radikální prostatektomii adenokarcinomu bez metastáz, BKV DNA byla v nádorových buňkách nalezena ve vysoké frekvenci, p53 byl lokalizován v cytoplasmě, ale LTag protein detekován pomocí imunohistochemie nebyl. (Russo *et al.*, 2008). I Monini *et al.* prokázal přítomnost BKV DNA v nádoru prostaty pomocí Southern blot hybridizace. Frekvence nálezu byla velmi podobná u nádorové tkáně v porovnání s kontrolou, ale v nádorové tkáni bylo virové DNA signifikantně více. (Monini *et al.*, 1995). Přítomnost BKV DNA v nádorové tkáni, která by indikovala jeho roli jako původce rakoviny prostaty, byla potvrzena i dalšími skupinami. (Zambrano *et al.*, 2002 ; Balis *et al.*, 2007 ; Das, Shah and Imperiale, 2004). Jak je z výše uvedeného patrné, získané výsledky jsou poměrně rozdílné. Tuto diverzitu výsledků by mohl vysvětlit mechanismus, který byl pro působení BKV viru v rakovině prostaty navržen.

Rakovina prostaty je pomalu se rozvíjející onemocnění, k jehož vzniku přispívá řada faktorů. Za hlavní z nich je předpokládán chronický zánět. Zánětlivé léze, konkrétně proliferativní zánětlivá atropie (PIA), jsou považovány za první krok ke vzniku prostatické intraepiteliální neoplázie (PIN) a poté již samotného adenokarcinomu. (Wang, Bergh and Damber, 2009). Na tomto chronickém zánětu se mohou podílet i různé infekční agens, včetně BKV.

V této souvislosti byl navržen následující model. Infekce BKV v PIA lézích je abortivní. LTag zde působí jiným mechanismem, než byl běžně popsán na experimentálních modelech. Exprimovaný LTag váže p53 již v cytoplasmě. Společně v tomto komplexu nemohou být translokovány do jádra, kde mají originálně své funkce. Bez LTag v jádře nemůže dojít k virové replikaci a p53 nemůže uplatnit své tumor supresorové funkce. (Das, Shah and Imperiale, 2004). Jsou tedy exprimovány pouze časné geny, buňka je proliferačně aktivní a zároveň postrádá kontrolní mechanismy. Dochází tak k hromadění mutací, které v určitém bodě způsobí nádorovou transformaci. Poté, co je buňka transformována, už ale onkogenní aktivita viru není dále potřeba a z nádorové tkáně mizí, pravděpodobně v důsledku imunitní reakce zacílené na LTag. (Das *et al.*, 2008). Tento způsob nádorové transformace je konzistentní "hit and run" mechanismem, který byl popsán i u jiných onkogenních virů (Nevels *et al.*, 2001). Navíc byl

navržen i u blízce příbuzého MCPyV a jeho roli při vzniku karcinomu z Merkellových buněk. (Houben *et al.*, 2012).

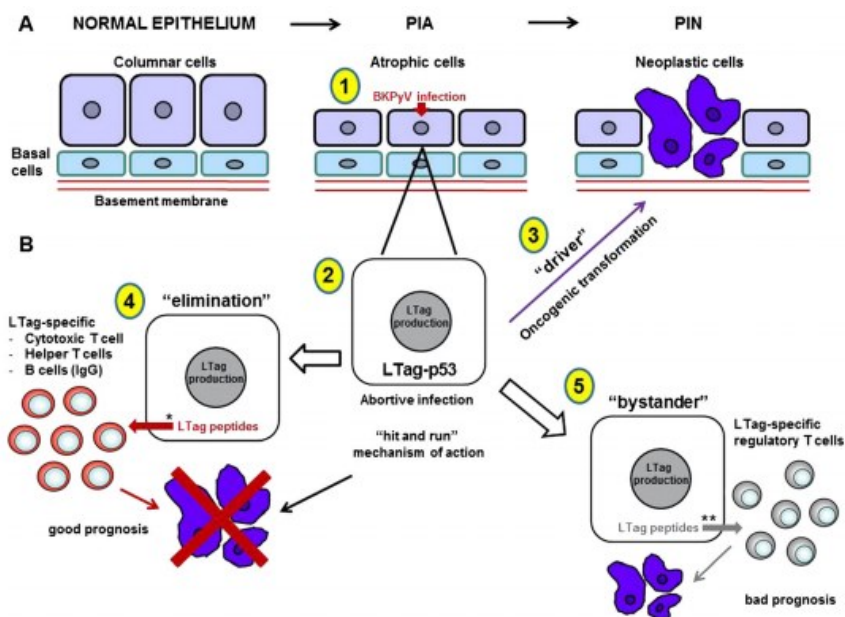
Pokud by tento model platil, vyplývá z toho, že BKV DNA již není možné ve velké frekvenci detekovat v pozdějších stádiích rakoviny prostaty a zároveň je nutné při posuzování vzorků brát v potaz, že PIA není vhodná kontrola, nýbrž tkáň, kterou je nutné brát jako cíl zkoumání. Delbue, *et al.* provedli analýzu relevantních výsledků získaných ve studiích, které detekovaly BKV DNA v nádorových i zdravých vzorcích. Výsledky těchto studií ale upravili tak, aby splňovaly kritéria pro "hit and run" mechanismus. Upravené výsledky po provedené analýze ukazují, že se BKV DNA vyskytuje v atrofické tkáni se signifikantně větší pravděpodobností v porovnání s okolní tkání, což by mohlo ukazovat na to, že BKV v těchto nádorech skutečně figuruje jako jeden z možných faktorů vzniku. (Delbue, Ferrante and Provenzano, 2015)

Navíc současné studie (Delbue *et al.*, 2013 ; Zhong *et al.*, 2013) zaměřené na přítomnost BKV DNA v nádorové tkáni prostaty, požadavky na vzorky v souladu s "hit and run" mechanismem splňují a jejich výsledky taktéž podporují hypotézu, že je BKV jedním z faktorů, který napomáhá vzniku rakoviny prostaty v její časně fázi, ale pro další zvládnutí nádoru již není potřeba.

S výsledky získanými studií imunitní odpovědi na LTag byl navržen i jiný model. Počáteční mechanismus, kterým BKV způsobí maligní transformaci buňky je totožný jako "hit and run" modelu. Avšak bylo dokázáno, že BKV je schopen pomocí LTag modulovat specifickou imunitní odpověď proti sobě samému. U buněk imunitního systému indukuje zvýšenou expresi cytokinů IL-10 a TGF- β a zároveň snižuje expresi IFN- γ . Navíc je schopen zvýšit množství CD4⁺, CD25⁺, FoxP3⁺ LTag specifických buněčných populací regulačních T-lymfocytů. Všechny tyto procesy vedou k toleranci virové infekce a exprese LTag, který tak v nádorové tkáni zůstává a svými funkcemi přispívá k příznivému vývoji nádoru. (Sais *et al.*, 2012). Tento model by tak mohl vysvětlit možnou přítomnost virového genetického materiálu v pozdějších fázích rakoviny prostaty.

Avšak přijatelná je i možnost, že BKV je pouhým "pasažérem", který benefituje z proliferativního prostředí nádorové tkáně, ale jeho přítomnost nemá na vzniku nádorového onemocnění žádný podíl. Otázka, zda BKV skutečně působí v karcinogenezi prostaty, je tedy stále otevřená a jsou nutné další studie, které by blíže pomohly pochopit přesné mechanismy a tak i možnou roli BKV v tomto nádorovém onemocnění.

Navržené mechanismy, kterými BKV v rakovině prostaty působí, jsou shrnuty na obrázku č. 8.



OBRÁZEK č. 8 - Předpokládané funkce BKV ve vývoji rakoviny prostaty, převzato z (Keller, 2015)

4.4.4. Další nádorové tkáně

Mimo nádorů odvozených z tkáně vylučovací soustavy byla BKV DNA detekována i v jiných nádorových a zdravých tkáních. Několik výzkumných skupin zaměřilo svou pozornost na nádory centrální nervové soustavy, vzhledem k tomu, že v ní může BKV v ojedinělých případech persistovat. Dörries a kol. pomocí Southern blot hybridizace v 11 z 24 vzorků detekovali BKV DNA. Z 29 zdravých kontrol nebyla BKV pozitivní žádná. (Dörries *et al.*, 1978). Flaegstad a kol. potvrdili v 16 z 18 neuroblastomů přítomnost LTag. (Flaegstad *et al.*, 1999). Avšak v jiné studii došli k rozdílným výsledkům. V některých byla BKV DNA přítomna v podobné frekvenci jak ve vzorku, tak v kontrole (DeMattei, 1995). V některých nebyla v mozkových nádorech detekována vůbec (Arthur, 1994 ; Greenlee, 1978). Tyto protichůdné výsledky mohou být zapříčiněny několika důvody - malým počtem testovaných vzorků, nevhodným výběrem kontrolní skupiny či rozdílnou citlivostí používaných metod. Rollison a kol. v této souvislosti testovali 225 totožných vzorků nádorové tkáně z mozku ve dvou různých laboratořích, přičemž každá pro detekci virové DNA použila jinou metodu. V první laboratoři využili Southern blot hybridizaci, která ukázala 9% vzorků pozitivních. Naopak druhá laboratoř, využívající real-time PCR, označila všechny vzorky jako BKV DNA negativní. Toto je tedy důkaz, že výsledky mohou mít v závislosti na citlivosti použité metody poměrně velkou odchylku, což může vést k chybné interpretaci výsledků. (Rollison *et al.*, 2005).

Zdá se tedy, že podobně jako u imunokompetentních jedinců a rakoviny močového měchýře, nemá přítomnost BKV v nádorech CNS podstatnou roli a možná detekce virového genetického materiálu je způsobena vysokou prevalencí viru nebo některým z důvodů uvedených výše.

BKV DNA byla detekována i v dalších nádorových tkáních. Avšak, jedná se spíše o jednotlivé případy, než konzistentní skupiny studií, které by přímo pro roli BKV v daném nádorovém onemocnění svědčily. Tyto případy jsou shrnuty v (Abend, 2009). Přítomná BKV DNA v daných nádorových tkáni je nejspíše důsledkem ubikvitního rozšíření BKV či možné BKV preference pro infekci nádorové tkáně.

4.4.5. Protilátková odpověď proti LTag

Ukázalo se, že studium LTag seroprevalence u pacientů s nádorovým onemocněním by mohlo být užitečným nástrojem, který by mohl pomoci vysvětlit mechanismy, kterými BKV v lidských nádorech působí a možná tak i roli BKV v daných nádorech objasnit.

Protilátková odpověď na LTag by mohla být dalším směrem ve výzkumu BKV a jeho možné úlohy v rakovině prostaty. Získané výsledky sice nijak roli BKV v rakovině prostaty nepotvrzují, ale dokazují, že přítomnost BKV ovlivňuje klinický průběh tohoto nádorového onemocnění. Sais a kol. ukázali, že u pacientů, u kterých byla v atrofických lézích detekována exprese LTag i u pacientů, kterým byla po radikální prostatektomie diagnostikována biochemická recidiva, byla detekována zvýšená hladina IgG protilátek proti LTag. Zároveň u nich byla pozorována schopnost pomocí LTag indukovat u periferních mononukleárních krevních buněk atypickou cytokinovou expresi, která dále vedla k imunitní toleranci LTag. Je předpokládáno, že v důsledku tohoto mechanismu, by pak mohl BKV figurovat i v progresi rakoviny prostaty. (Sais *et al.*, 2012) Keller a kol. prokázal, že pacienti, kteří měli před radikální prostatektomií protilátky proti T-antigenu, měli po zákroku mnohem menší pravděpodobnost biochemické recidivy tohoto onemocnění, což by naopak mohlo ukazovat na možnou účinnou imunitní odpověď proti LTag. (Keller *et al.*, 2015).

5. Závěr

Určit spojitost mezi nádorovým onemocněním a virem jako jeho původcem, je velmi obtížný úkol. Komplikuje ho především fakt, že nádorová onemocnění jsou většinou multifaktoriální a pomalu se rozvíjející a je tedy řada hypotéz, jež se s každým z nich pojí. Byla snaha vytvořit kritéria, která by určovala, že je daný virus onkogenní. Detekce virového genetického materiálu ve vzorcích nádorové tkáně, schopnost nádorové transformace u *in vitro* i *in vivo* modelů, exprese onkoproteínů a existence příbuzných onkogenních druhů, jsou hlavními kritérii. (Vonka, 2000). BKV větší část z nich splňuje. Má schopnost vyvolat nádorovou transformaci u experimentálních zvířecích modelů *in vitro* i *in vivo*. Byla u něj prokázána exprese proteinů, jejichž účinek je onkogenní a blízký příbuzný MCPyV nádorové onemocnění u člověka prokazatelně způsobuje.

Splnění dalších kritérií už je však poněkud problematické. Onkogenní aktivita BKV v lidských buněčných kulturách sice prokázána byla, avšak pouze za spoluúčasti dalších pomocných faktorů. Ani přítomnost virové DNA v nádorové tkáni, byť ve větší frekvenci v porovnání s okolní zdravou tkání, není dostatečným důkazem, že virus dané nádorové onemocnění skutečně způsobuje. Řada studií detekovala BKV DNA v různých nádorových tkáních. Avšak je nutné si uvědomit, že BKV infikuje až 90% lidské populace. Je tedy pravděpodobné, že bude přítomen i u většiny pacientů, u kterých se objevilo některé z nádorových onemocnění a jeho následná přítomnost v nádorové tkáni tedy nemusí znamenat, že je za dané onemocnění zodpovědný. Navíc ani zvýšená frekvence výskytu BKV DNA v nádoru v porovnání se zdravou tkání, nepředstavuje spolehlivý důkaz. BKV replikace je závislá na replikaci hostitelského genomu. Je tedy možné, že virus v případě infekce preferuje nádorové buňky, jejichž proliferativní prostředí je pro něj výhodné. A naopak, nepřítomnost virové DNA v nádorové tkáni ještě nutně neznamena, že virus nemůže hrát roli při jeho vzniku, což platí v případě "hit and run" mechanismu, který byl pro BKV také navržen.

Otázka, jestli BKV skutečně figuruje jako jeden z faktorů ve vzniku některého z lidských nádorů, je tedy stále otevřená. Jak se nyní ukazuje, genomová analýza BKV pozitivních nádorů i studium protilátkové odpovědi na LTag, se zdají být správnými směry pro další studie, které by mohly pomoci přesně objasnit možné mechanismy, kterými BKV v nádorech působí a tuto otázku tak konečně zodpovědět. Případné potvrzení by mohlo přispět k novým možným terapeutickým přístupům v léčbě a prevenci BKV způsobených nádorových onemocnění.

6. Seznam použitých zdrojů

- Abend, J. R. *et al.* (2009) 'A truncated T antigen expressed from an alternatively spliced BK virus early mRNA', *Journal of General Virology*, 90(5), pp. 1238–1245. doi: 10.1099/vir.0.009159-0.
- Abend, J. R., Low, J. A. and Imperiale, M. J. (2010) 'Global effects of BKV infection on gene expression in human primary kidney epithelial cells', *Virology*. Elsevier Inc., 397(1), pp. 73–79. doi: 10.1016/j.virol.2009.10.047.
- An, P. *et al.* (2019) 'Human polyomavirus BKV infection of endothelial cells results in interferon pathway induction and persistence', *PLOS Pathogens*, 15(1), pp. 1–24. doi: 10.1371/journal.ppat.1007505.
- Balis, V. *et al.* (2007) 'Prevalence of BK virus and human papillomavirus in human prostate cancer', *International Journal of Biological Markers*, 22(4), pp. 245–251. doi: 10.5301/JBM.2008.3639.
- Barouch, D. H. and Harrison, S. C. (1994) 'Interactions among the major and minor coat proteins of polyomavirus', *Journal of Virology*, 68(6), pp. 3982–3989.
- Bauman, Y. *et al.* (2011) 'An identical miRNA of the human JC and BK polyoma viruses targets the stress-induced ligand ULBP3 to escape immune elimination', *Cell Host and Microbe*. Elsevier Inc., 9(2), pp. 93–102. doi: 10.1016/j.chom.2011.01.008.
- Bennett, S. M., Zhao, L. and Imperiale, M. J. (2015) 'Role of a Nuclear Localization Signal on the Minor Capsid Proteins VP2 and VP3 in BKPyV Nuclear Entry Shauna', *Virology*, 474(1), pp. 110–116. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4002.BONE.
- Bofill-Mas, S. and Formiga-cruz, M. (2001) 'Potential Transmission of Human Polyomaviruses through the Gastrointestinal Tract after Exposure to Virions or Viral DNA', *Journal of V*, 75(2), pp. 10290–10299. doi: 10.1128/JVI.75.21.10290.
- Bofill-Mas, S., Pina, S. and Girones, R. (2000) 'Documenting the epidemiologic patterns of polyomaviruses in human populations by studying their presence in urban sewage', *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), pp. 238–245. doi: 10.1128/AEM.66.1.238-245.2000.
- Bohl, D. L. and Brennan, D. C. (2007) 'BK virus nephropathy and kidney transplantation', *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2(SUPPL. 1). doi: 10.2215/CJN.00920207.
- Boldorini, R., Allegrini, S., Miglio, U., Nestasio, I., Paganotti, A., Veggiani, C., Monga, G. and Pietropaolo, V. (2010). BK virus sequences in specimens from aborted fetuses. *Journal of Medical Virology*, 82(12), pp.2127-2132.
- Bouchard, L., Gelin, C., Asselin, C. and Bastin, M. (1984). Tumorigenic activity of polyoma virus and SV40 DNAs in newborn rodents. *Virology*, 135(1), pp.53-64.
- Chen, C. H. *et al.* (2010) 'High incidence of malignancy in polyomavirus-associated nephropathy in renal transplant recipients', *Transplantation Proceedings*, 42(3), pp. 817–818. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.02.068.
- Chen, X. S., Stehle, T. and Harrison, S. C. (1998) 'Interaction of polyomavirus internal protein VP2 with the major capsid protein VP1 and implications for participation of VP2 in viral entry', *EMBO Journal*, 17(12), pp. 3233–3240. doi: 10.1093/emboj/17.12.3233.
- Chipuk, J. E. *et al.* (2004) 'Direct Activation of Bax by p53 Mediates Mitochondrial Membrane Permeabilization and Apoptosis', *Science*, 303, pp. 1010–1013.

- Cho, U.-S. *et al.* (2007) 'Structural basis of PP2A inhibition by small t antigen', *PLoS Biology*, 5(8), pp. 1810–1819. doi: 10.1371/journal.pbio.0050202.
- Corallini, A. *et al.* (1978a) 'Stable transformation of mouse, rabbit and monkey cells and abortive transformation of human cells by BK virus, a human papovavirus', *Journal of General Virology*, 38(2), pp. 369–374.
- Corallini, A., Altavilla, G., Cecchetti, M. G., Fabris, G., Grossi, M. P., Balconi, P. G., Lanza, G., and Barbanti Brodano, G. (1978b) 'Ependymomas, malignant tumors of pancreatic islets and osteosarcomas induced in hamsters by BK virus, a human papovavirus.' *Journal of the National Cancer Institute*, 61, pp. 875-883.
- Corallini A., Gianni M., Mantovani C. (1991) 'Transformation of human cells by recombinant DNA molecules containing BK virus early region and the human activated c-H-ras or c-myc oncogenes.' *Cancer*, 4(1), pp. 24-34
- Costa, J., Yee, C., Tralka, T. and Rabson, A. (1976). Hamster Ependymomas Produced by Intracerebral Inoculation of a Human Papovavirus (MMV). *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 56(4), pp.863-864.
- Dalrymple, S. A. and Beemon, K. L. (1990) 'BK virus T antigens induce kidney carcinomas and thymoproliferative disorders in transgenic mice', *Journal of Virology*, 64(3), pp. 1182–1191.
- Das, D., Shah, R. B. and Imperiale, M. J. (2004) 'Detection and expression of human BK virus sequences in neoplastic prostate tissues', *Oncogene*, 23(42), pp. 7031–7046. doi: 10.1038/sj.onc.1207920.
- Das, D., Wojno, K. and Imperiale, M. J. (2008) 'BK Virus as a Cofactor in the Etiology of Prostate Cancer in Its Early Stages', *Journal of Virology*, 82(6), pp. 2705–2714. doi: 10.1128/jvi.02461-07.
- Delbue, S. *et al.* (2013) 'Evidence supporting the association of polyomavirus BK genome with prostate cancer', *Medical Microbiology and Immunology*, 202(6), pp. 425–430. doi: 10.1007/s00430-013-0304-3.
- Delbue, S., Ferrante, P. and Provenzano, M. (2015) 'Polyomavirus BK and prostate cancer: an unworthy scientific effort?', *Oncoscience*, 1(4), pp. 296–303. doi: 10.18632/oncoscience.32.
- Dolei, A. *et al.* (2000) 'Polyomavirus persistence in lymphocytes: prevalence in lymphocytes from blood donors and healthy personnel of a blood transfusion centre', *Journal of General Virology*, 81(8), pp. 1967–1973. doi: 10.1099/0022-1317-81-8-1967.
- Van Doorslaer, K. *et al.* (2018) 'Fish polyomaviruses belong to two distinct evolutionary lineages', *Journal of General Virology*, 99(4), pp. 567–573. doi: 10.1099/jgv.0.001041.
- Dorries K, Vogel E, Gunther S, Czub S. (1994) 'Infection of human polyomaviruses JC and BK in peripheral blood leukocytes from immunocompetent individuals.' *Virology*, 198(1), pp. 59–70.
- Dornreiter, I. *et al.* (1990) 'SV40 T antigen binds directly to the large subunit of purified DNA polymerase alpha.', *The EMBO Journal*, 9(10), pp. 3329–3336. doi: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb07533.x.
- Dougherty, R. (1976). Induction of Tumors in Syrian Hamsters by a Human Renal Papovavirus, RF Strain2. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 57(2), pp.395-400.

- Dragset, M. *et al.* (2011) 'BKV Agnoprotein Interacts with α -Soluble N-Ethylmaleimide-Sensitive Fusion Attachment Protein, and Negatively Influences Transport of VSVG-EGFP', *PLoS ONE*, 6(9), pp. 1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0024489.
- Eash, S., Querbes, W. and Atwood, W. J. (2004) 'Infection of Vero Cells by BK Virus Is Dependent on Caveolae', *Journal of Virology*, 78(21), pp. 11583–11590. doi: 10.1128/jvi.78.21.11583-11590.2004.
- Elsner C, Dorries K. (1992) 'Evidence of human polyomavirus BK and JC infection in normal brain tissue.' *Virology*, 191(1), pp. 72–80.
- Feng, H. *et al.* (2008) 'Clonal Integration of a Polyomavirus in Human Merkel Cell Carcinoma', *Science*, 319, pp. 1096–1100. doi: 10.1126/science.1152586.
- Fioriti, D. *et al.* (2003) 'Urothelial bladder carcinoma and viral infections: Different association with human polyomaviruses and papillomaviruses', *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 16(3), pp. 283–288. doi: 10.1177/039463200301600315.
- Fioriti, D. *et al.* (2005) 'BKV infection and hemorrhagic cystitis after allogeneic bone marrow transplant', *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 18(2), pp. 309–316. doi: 10.1177/039463200501800213.
- Forstova, J. *et al.* (1993) 'Cooperation of Structural Proteins during Late Events in the Life Cycle of Polyomavirus', *Journal of Virology*, 67(3), pp. 1405–1413.
- Geetha, D. *et al.* (2002) 'Bladder carcinoma in a transplant recipient: evidence to implicate the BK human polyomavirus as a causal transforming agent.', *Transplantation*, 73(12), pp. 1933–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12131691>.
- Gerits, N. *et al.* (2015) 'Agnoprotein of polyomavirus BK interacts with proliferating cell nuclear antigen and inhibits DNA replication', *Virology Journal*, 12(1). doi: 10.1186/s12985-014-0220-1.
- Gheit, T. *et al.* (2017) 'Isolation and characterization of a novel putative human polyomavirus', *Virology*. Elsevier Inc., 506(January), pp. 45–54. doi: 10.1016/j.virol.2017.03.007.
- Gilis, L. *et al.* (2014) 'High burden of BK virus-associated hemorrhagic cystitis in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation', *Bone Marrow Transplantation*, 49(5), pp. 664–670. doi: 10.1038/bmt.2013.235.
- Goudsmit, J. *et al.* (1982) 'The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils', *Journal of Medical Virology*, 10(2), pp. 91–99. doi: 10.1002/jmv.1890100203.
- Gouvêa, A. L. F. *et al.* (2016) 'Pilot Study of Early Monitoring Using Urinary Screening for BK Polyomavirus as a Strategy for Prevention of BKV Nephropathy in Kidney Transplantation', *Transplantation Proceedings*. Elsevier Inc., 48(7), pp. 2310–2314. doi: 10.1016/j.transproceed.2016.06.023.
- Greenlee J. E., Narayan O., Johnson R. T., Herndon R. M. (1977), 'Induction of brain tumors in hamsters with BK virus, a human papovavirus', *Lab Invest*, 36, pp. 636–641.
- Groom, H. C. T. *et al.* (2012) 'No evidence for infection of uk prostate cancer patients with xmrV, bk virus, trichomonas vaginalis or human papilloma viruses', *PLoS ONE*, 7(3), pp. 1–8. doi: 10.1371/journal.pone.0034221.
- Gross, L. (1953). Neck tumors, or leukemia, developing in adult C3H mice following inoculation, in early infancy, with filtered (Berkefeld N), or centrifugated (144,000 \times g), Ak-leukemic extracts. *Cancer*, 6(5), pp. 948-957.

- Grossi, M. P. *et al.* (1982) 'Transformation of Human Embryonic Fibroblasts by BK Virus , BK Virus DNA and a Subgenomic BK Virus DNA Fragment fusion of transformed cells with normal HEF or Veto cells and by transfection of transformed cells . Blot hybridization analysis of DNA from tr', *Journal of General Virology*, 63, pp. 393–403.
- Grossi, M. P., Corallini, A. and Valieri, A. (1982) 'Transformation of Hamster Kidney Cells by Fragments of BK Virus DNA', *Journal of Virology*, 41(1), pp. 319–325.
- Gupta, G. (2017) 'Treatment for Presumed BK Polyomavirus Nephropathy and Risk of Urinary Tract Cancers among Kidney Transplant Recipients in the United States', 37(4), pp. 784–790. doi: 10.1183/09031936.00063810.The.
- Hanssen Rinaldo, C., Hansen, H. and Traavik, T. (2005) 'Human endothelial cells allow passage of an archetypal BK virus (BKV) strain - A tool for cultivation and functional studies of natural BKV strains', *Archives of Virology*, 150(7), pp. 1449–1458. doi: 10.1007/s00705-005-0511-3.
- Harris, K. F. *et al.* (1998) 'Novel Mechanisms of E2F Induction by BK Virus Large-T Antigen: Requirement of Both the pRb-Binding and the J Domains', *Molecular and Cellular Biology*, 18(3), pp. 1746–1756. doi: 10.1128/mcb.18.3.1746.
- Harris, K. F., Christensen, J. B. and Imperiale, M. J. (1996) 'BK virus large T antigen: interactions with the retinoblastoma family of tumor suppressor proteins and effects on cellular growth control.', *Journal of virology*, 70(4), pp. 2378–86.
- He, G. *et al.* (2005) 'Induction of p21 by p53 following DNA damage inhibits both Cdk4 and Cdk2 activities', *Oncogene*, 24(18), pp. 2929–2943. doi: 10.1038/sj.onc.1208474.
- Hirsch, H. H. *et al.* (2002) 'Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients', *The New England Journal of Medicine*, 347(7), pp. 488–496.
- Houben, R. *et al.* (2012) 'Merkel cell carcinoma and merkel cell polyomavirus: Evidence for hit-and-run oncogenesis', *Journal of Investigative Dermatology*, 132(1), pp. 254–256. doi: 10.1038/jid.2011.260.
- Hsu, H.-H. *et al.* (2014) 'Polyomavirus BK-encoded microRNA suppresses autoregulation of viral replication', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 447(3), pp. 543–549. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.030.
- Jeffers, L. K., Madden, V. and Webster-Cyriaque, J. (2009) 'BK virus has tropism for human salivary gland cells in vitro: Implications for transmission', *Virology*. Elsevier Inc., 394(2), pp. 183–193. doi: 10.1016/j.virol.2009.07.022.
- Jiang, M. *et al.* (2008) 'Early Events during BK Virus Entry and Disassembly', *Journal of Virology*, 83(3), pp. 1350–1358. doi: 10.1128/jvi.02169-08.
- Keller, X. E. *et al.* (2015) 'Antibody response to BK polyomavirus as a prognostic biomarker and potential therapeutic target in prostate cancer', *Oncotarget*, 6(8). doi: 10.18632/oncotarget.3363.
- Kenan, D. J. *et al.* (2017) 'BK Polyomavirus Genomic Integration and Large T Antigen Expression: Evolving Paradigms in Human Oncogenesis', *American Journal of Transplantation*, 17(6), pp. 1674–1680. doi: 10.1111/ajt.14191.
- Lau S. K., Lacey S. F., Chen Y.Y. *et al.* (2007) 'Low frequency of BK virus in prostatic adenocarcinomas.' *APMIS*, 115, pp. 743–749. doi:10.1111/j.1600-0463.2007.apm_601.x PMID:17550383

- Li, T. C. *et al.* (2003) 'Characterization of self-assembled virus-like particles of human polyomavirus BK generated by recombinant baculoviruses', *Virology*, 311(1), pp. 115–124. doi: 10.1016/S0042-6822(03)00141-7.
- Lilyestrom, W. *et al.* (2006) 'Crystal structure of SV40 large T-antigen bound to p53: Interplay between a viral oncoprotein and a cellular tumor suppressor', *Genes and Development*, 20(17), pp. 2373–2382. doi: 10.1101/gad.1456306.
- Low, J. A. *et al.* (2006) 'Identification of Gangliosides GD1b and GT1b as Receptors for BK Virus', *Journal of Virology*, 80(3), pp. 1361–1366. doi: 10.1128/jvi.80.3.1361-1366.2006.
- Macdonald, A. *et al.* (2016) 'New Structural Insights into the Genome and Minor Capsid Proteins of BK Polyomavirus using Cryo-Electron Microscopy', *Structure*. The Authors, 24(4), pp. 528–536. doi: 10.1016/j.str.2016.02.008.
- Major, E. O. and Mayorca, G. D. (1973) 'Malignant Transformation of BHK21 Clone 13 Cells by BK Virus--A Human Papovavirus', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(11), pp. 3210–3212. doi: 10.1073/pnas.70.11.3210.
- Martinez-Fierro, M. L. *et al.* (2010) 'Identification of viral infections in the prostate and evaluation of their association with cancer', *BMC Cancer*, 10. doi: 10.1186/1471-2407-10-326.
- Moens, U. *et al.* (2016) 'A taxonomy update for the family Polyomaviridae', *Archives of Virology*, 161(6), pp. 1739–1750. doi: 10.1007/s00705-016-2794-y.
- Monini, P. *et al.* (1995) 'DNA Rearrangements Impairing BK Virus Productive Infection in Urinary Tract Tumors', *Virology*, 214(1), pp. 273–279. doi: 10.1006/viro.1995.9928.
- Moriyama, T. and Sorokin, A. (2008) 'Intracellular trafficking pathway of BK virus in human renal proximal tubular epithelial cells', *Virology*, 371(20), pp. 336–349. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4002.BONE.
- Müller, D. C. *et al.* (2018) 'Donor-derived, metastatic urothelial cancer after kidney transplantation associated with a potentially oncogenic BK polyomavirus', *Journal of Pathology*, 244(3), pp. 265–270. doi: 10.1002/path.5012.
- Müller, M. *et al.* (2018) 'Agnoprotein Is an Essential Egress Factor during BK Polyomavirus Infection', *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), pp. 1–16. doi: 10.3390/ijms19030902.
- Nase, L. M., Karkkainen, M., and Mantylarvi, J. D. (1975) 'Transplantable hamster tumors induced with the BK virus', *Acta Pathologica Microbiology*, pp. 347-352.
- Nevels, M., Tauber, B. and Spruss, T. (2001) "'Hit-and-Run" Transformation by Adenovirus Oncogenes MICHAEL', *Journal of Virology*, 75(7), pp. 1–2. doi: 10.1128/JVI.75.7.3089.
- Nickeleit, V. *et al.* (2018) 'The two-faced nature of BK polyomavirus: lytic infection or non-lytic large-T-positive carcinoma', *Journal of Pathology*, 246(1), pp. 7–11. doi: 10.1002/path.5127.
- Noss, G., Stauch, G. and Drescher, J. (1984). Oncogenic activity of the BK type of human papova virus in inbred rat strains. *Archives of Virology*, 81(1-2), pp.41-51.
- Olsen, G.-H., Hirsch, H. H. and Rinaldo, C. H. (2009) 'Functional Analysis of Polyomavirus BK Non-Coding Control Region Quasispecies From Kidney Transplant Recipients Gunn-Hege', *Journal of Medical Virology*, 81(7), pp. 915–921. doi: 10.1002/jmv.
- Pater, A. and Pater, M. M. (1986) 'Transformation of primary amines Transformation of Primary Human Embryonic Kidney Cells to Anchorage Independence by a Combination of BK Virus DNA and the Harvey-ras Oncogene', *Journal of Virology*, 58(2), pp. 680–683.

- Pietropaolo, V., Di Taranto, C., Degener, A., Jin, L., Sinibaldi, L., Baiocchini, A., Melis, M. and Orsi, N. (1998). Transplacental transmission of human polyomavirus BK. *Journal of Medical Virology*, 56(4), pp.372-376
- Polesel, J. *et al.* (2012) 'Urinary human polyomavirus and papillomavirus infection and bladder cancer risk', *British Journal of Cancer*. Nature Publishing Group, 106(1), pp. 222–226. doi: 10.1038/bjc.2011.519.
- Portolani, M. (1975) 'Malignant Transformation of Hamster Kidney Cells by BK Virus', *Journal of Virology*, 15(2), pp. 420–422.
- Rayment, I. *et al.* (1982) 'Polyoma virus capsid structure at 22.5 Å resolution', *Nature*, 295(5845), pp. 110–115. doi: 10.1038/295110a0.
- Rinaldo, C. H. *et al.* (2003) 'Human polyomavirus BK (BKV) transiently transforms and persistently infects cultured osteosarcoma cells', *Virus Research*, 93(2), pp. 181–187. doi: 10.1016/S0168-1702(03)00096-0.
- Roberts, I. S. D. *et al.* (2008) 'Polyoma virus infection and urothelial carcinoma of the bladder following renal transplantation', *British Journal of Cancer*, 99(9), pp. 1383–1386. doi: 10.1038/sj.bjc.6604711.
- Rollison, D. E. *et al.* (2007) 'Lack of BK virus DNA sequences in most transitional-cell carcinomas of the bladder', *International Journal of Cancer*, 120(6), pp. 1248–1251. doi: 10.1002/ijc.22494.
- Rollison, D. E. M. *et al.* (2005) 'Investigation of human brain tumors for the presence of polyomavirus genome sequences by two independent laboratories', *International Journal of Cancer*, 113(5), pp. 769–774. doi: 10.1002/ijc.20641.
- Russo, G. *et al.* (2008) 'p53 Gene Mutational Rate, Gleason Score, and BK Virus Infection in Prostate Adenocarcinoma: Is There a Correlation? Giuseppe', *Journal of Medical Virology*, 80, pp. 2100–2107. doi: 10.1002/jmv.
- Sais, G. *et al.* (2012) 'Differential Patterns of Large Tumor Antigen-Specific Immune Responsiveness in Patients with BK Polyomavirus-Positive Prostate Cancer or Benign Prostatic Hyperplasia', *Journal of Virology*, 86(16), pp. 8461–8471. doi: 10.1128/jvi.00005-12.
- Schüchner, S. and Wintersberger, E. (1999) 'Binding of polyomavirus small T antigen to protein phosphatase 2A is required for elimination of p27 and support of S-phase induction in concert with large T antigen.', *Journal of virology*, 73(11), pp. 9266–9273.
- Seehafer, J., Downer, D. N. and Salmi, A. (1979) 'Isolation and Characterization of BK Virus-Transformed Rat and Mouse Cells By', *Journal of General Virology*, 42, pp. 567–578.
- Seif, I., Khoury, G. and Dhar, R. (1979) 'The genome of human papovavirus BKV', *Cell*, 18(4), pp. 963–977. doi: 10.1016/0092-8674(79)90209-5.
- Sfanos, K. S. *et al.* (2008) 'A Molecular Analysis of Prokaryotic and Viral DNA Sequences in Prostate Tissue From Patients With Prostate Cancer Indicates the Presence of Multiple and Diverse Microorganisms', *The Prostate*, 66(August 2007), pp. 129–138. doi: 10.1002/pros.
- Shah, K. V., Daniel, R. W., and Strandberg, J. D. (1975) 'Sarcoma in a hamster inoculated with BK virus, a human papovavirus.' *J. Nati. Cancer Inst.*, 54, pp. 945-949.
- Small, J. A. *et al.* (1986) 'Early regions of JC virus and BK virus induce distinct and tissue-specific tumors in transgenic mice.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(21), pp. 8288–8292. doi: 10.1073/pnas.83.21.8288.

Šroller, V. *et al.* (2014) 'Seroprevalence Rates of BKV, JCV, and MCPyV Polyomaviruses in the General Czech Republic Population', *Journal of Medical Virology*, 86, pp. 1560–1568. doi: 10.1002/jmv.

Takemoto, K. K. *et al.* (1979) 'Persistent BK Papovavirus Infection of Transformed Human Fetal Brain', *J Virol*, 29(3), pp. 1177–1185.

Uchida, S., Watanabe, S., Aizawa, T., Furuno, A., and Muto, T., (1979) 'Polyonco- genicity and insulinoma-inducing ability of BK virus, a human papovavirus, in Syrian golden hamsters.', *J. Natl. Cancer Inst.*, 63, pp. 119-126.

Vanchiere, J. A. *et al.* (2005) 'Detection of Polyomaviruses in Stool Samples from Hospitalized Children', *The Journal of Infectious Diseases*, 192(4), pp. 658–664.

Vonka, V. (2000) 'Causality in medicine: The case of tumours and viruses', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355(1404), pp. 1831–1841. doi: 10.1098/rstb.2000.0738.

Wang, W., Bergh, A. and Damber, J. E. (2009) 'Morphological transition of proliferative inflammatory atrophy to high-grade intraepithelial neoplasia and cancer in human prostate', *Prostate*, 69(13), pp. 1378–1386. doi: 10.1002/pros.20992.

Zambrano, A. *et al.* (2002) 'Detection of human polyomaviruses and papillomaviruses in prostatic tissue reveals the prostate as a habitat for multiple viral infections', *Prostate*, 53(4), pp. 263–276. doi: 10.1002/pros.10157.

Zhao, L. *et al.* (2016) 'Caveolin- and clathrin-independent entry of BKPyV into primary human proximal tubule epithelial cells', *Virology*. Elsevier, 492, pp. 66–72. doi: 10.1016/j.virol.2016.02.007.

Sekundární informační zdroje:

Abend, J. R., Jiang, M. and Imperiale, M. J. (2009) 'BK Virus and Human Cancer: Innocent until Proven Guilty', 19(4), pp. 252–260. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4002.BONE.

Dalianis, T. and Hirsch, H. H. (2013) 'Human polyomaviruses in disease and cancer', *Virology*. Elsevier, 437(2), pp. 63–72. doi: 10.1016/j.virol.2012.12.015.

Du, W. and Pogoriler, J. (2006) 'Retinoblastoma family genes', *Oncogene*, (2), pp. 5190–5200. doi: 10.1016/j.pestbp.2011.02.012.Investigations.

Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2011) 'Hallmarks of cancer: the next generation.', *Cell*. Elsevier Inc., 144(5), pp. 646–74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

Keller, X. E., Delbue, S. and Tognon, M. (2015) 'Polyomavirus BK and prostate cancer: a complex interaction of potential clinical relevance', *Reviews in Medical Virology*, 25(9), pp. 366–378.

Klener, P. (2002). *Klinická onkologie*. Praha: Galén.

Levican, J. *et al.* (2018) 'Role of BK human polyomavirus in cancer', *Infectious Agents and Cancer*. Infectious Agents and Cancer, 13(1), pp. 1–8. doi: 10.1186/s13027-018-0182-9.

Malaria and some polyomaviruses (SV40, BK, JC, and merkel cell viruses). (2014). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, pp.215 - 251.

Papadimitriou, J. C. *et al.* (2016) 'BK Polyomavirus Infection and Renourinary Tumorigenesis', *American Journal of Transplantation*, 16(2), pp. 398–406. doi: 10.1111/ajt.13550.

Tognon, M. *et al.* (2003) 'Oncogenic transformation by BK virus and association with human tumors', *Oncogene*, 22(33 REV. ISS. 2), pp. 5192–5200. doi: 10.1038/sj.onc.1206550.

Internetové odkazy:

Uniprot.org. (2019). *Large T antigen - BK polyomavirus (BKPyV)*. [online] Available at: <https://www.uniprot.org/uniprot/P03071> [Accessed 5 Apr. 2019].

Uniprot.org. (2019). *Small t antigen - BK polyomavirus (BKPyV)*. [online] Available at: <https://www.uniprot.org/uniprot/P03082> [Accessed 5 Apr. 2019].