

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů

Studijní obor: B-MOBIBO (0511RA030015)



**Kryštof Žabka**

Mechanismy, kterými papilomavirové proteiny přispívají k úniku nádorů imunitnímu systému

Mechanisms by which papillomavirus proteins contribute to tumor evasion  
of the immune system

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Michal Šmahel, Ph.D.

Praha, 2025

## Poděkování

Děkuji svému školiteli RNDr. Michalu Šmahelovi, Ph.D., za cenné rady a trpělivý přístup při zpracování mé bakalářské práce.

## **Prohlášení:**

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

V Praze 29. 4. 2025

Kryštof Žabka

## Abstrakt

Lidské papilomaviry (HPV), zejména jejich vysokorizikové typy, hrají klíčovou roli v rozvoji řady maligních onemocnění, včetně anogenitálních karcinomů, jako je karcinom děložního hrdla, a nádorů hlavy a krku. Onkoproteiny HPV, především E6, E7 a E5, zasahují do regulačních drah buněčného cyklu a potlačují apoptózu, čímž přispívají k nádorové transformaci. Zásadním faktorem onkogenního potenciálu infekce HPV je schopnost buněk infikovaných tímto virem uniknout imunitnímu dohledu hostitele. Tato práce shrnuje současné poznatky o molekulárních mechanismech, kterými virové proteiny modulují prezentaci antigenů, inhibují aktivitu přirozených zabíječských buněk, tlumí odpověď interferonů a narušují dráhy cGAS–STING a *toll-like* receptorů (TLR). Pozornost je věnována i využití těchto poznatků při vývoji cílené léčby a imunoterapie. Lepší pochopení těchto mechanismů přináší nové možnosti pro léčebné postupy proti onemocněním spojeným s HPV.

**Klíčová slova:** HPV, onkoproteiny, únik imunitě, imunoterapie, cGAS–STING dráha

## Abstract

Human papillomaviruses (HPV), particularly high-risk types, play a key role in the development of various malignancies, including cervical cancer, anogenital cancers, and head and neck tumors. HPV oncoproteins, especially E6, E7, and E5, interfere with cell cycle regulatory pathways and suppress apoptosis, thereby contributing to tumorigenesis. A crucial factor in the oncogenic potential of HPV infection is the ability of infected cells to evade host immune surveillance. This thesis summarizes current knowledge of the molecular mechanisms by which viral proteins modulate antigen presentation, inhibit the activity of natural killer cells, suppress interferon responses, and disrupt the cGAS–STING and toll-like receptor (TLR) pathways. Attention is also given to the application of these findings in the development of targeted therapies and immunotherapies. A better understanding of these mechanisms offers new opportunities for therapeutic strategies against HPV-associated diseases.

**Key words:** HPV, oncoproteins, immune evasion, immunotherapy, cGAS–STING signaling pathway

# Obsah

1. Úvod.....	1
2. Lidské papilomaviry (HPV).....	2
2.1 Klasifikace HPV .....	2
2.2 Funkce proteinů HPV .....	2
2.3 Onkogenní vlastnosti proteinů vysokorizikových HPV.....	3
2.3.1 E6.....	3
2.3.2 E7.....	5
2.3.3 E5.....	5
2.3.4 E2.....	6
3. Mechanismy ovlivnění imunitního systému hostitele proteiny HPV.....	7
3.1 Modulace komplexů MHC.....	8
3.2 Inhibice přirozených zabíječských (NK) buněk.....	9
3.3 Ovlivnění interferonů.....	10
3.3.1 Ovlivnění tvorby interferonů .....	10
3.3.2 Ovlivnění signalizace IFN- $\alpha$ a IFN- $\beta$ .....	11
3.3.3 Ovlivnění signalizace IFN- $\gamma$ .....	11
3.4 Ovlivnění dráhy cGAS-STING.....	12
3.5 Ovlivnění <i>toll-like</i> receptorů (TLR).....	14
3.6 Ovlivnění detekce virové RNA.....	14
3.7 Ovlivnění TGF- $\beta$ signální dráhy .....	15
4. Imunoterapie .....	16
4.1 Terapeutické vakcíny .....	16
4.1.1 Vakcíny založené na živých vektorech .....	16
4.1.2 Vakcíny založené na peptidech a proteinech.....	16
4.1.3 Vakcíny založené na nukleových kyselinách .....	17
4.1.4 Vakcíny založené na dendritických buňkách.....	17
4.2 Blokáda imunitních kontrolních bodů.....	18
4.3 Buněčná terapie.....	18
4.4 Úvaha o zlepšení léčby poznáním únikových mechanismů.....	18
5. Závěr .....	20
6. Použitá literatura .....	21

# 1. Úvod

Lidské papilomaviry (HPV) jsou malé neobalené viry s dvouvláknovou DNA o velikosti přibližně 8 kbp a průměru virové částice kolem 55 nm, patřící do čeledi *Papillomaviridae*. Infekce HPV patří k nejčastějším virovým infekcím u lidí a mohou mít široké spektrum klinických projevů. Nízkorizikové typy HPV jsou spojeny především s benigními lézemi, jako jsou genitální bradavice (*condylomata acuminata*), rekurentní respirační papilomatóza a benigní nádory kůže a sliznic. Vysoce rizikové typy HPV, zejména HPV16 a HPV18, jsou úzce spojeny se vznikem maligních onemocnění, jako je karcinom děložního hrdla, anální karcinom, karcinomy vulvy, vaginy a penisu a některé typy orofaryngeálních karcinomů (Brianti et al., 2017).

Přirozeným cílem infekce HPV je epitel, kde virus využívá diferenciaci hostitelských buněk k dokončení svého životního cyklu. Za normálních okolností infekce probíhá asymptomaticky nebo vyústí v benigní léze, přičemž imunitní systém je obvykle schopen infekci eliminovat nebo omezit. Vznik maligních nádorů je vzácnou komplikací, která se obvykle rozvíjí až po dlouhodobé perzistenci infekce a akumulaci genetických a epigenetických změn. Klíčovou roli v této patologické progresi sehrávají virové onkoproteiny E2, E5, E6 a E7, které narušují regulační mechanismy buněčného cyklu, potlačují apoptózu a zasahují do imunitního dohledu.

Cílem této práce je objasnit, jak jednotlivé virové onkoproteiny přispívají k úniku nádorových buněk před imunitním systémem hostitele. Práce se zaměřuje na molekulární mechanismy, jimiž HPV ovlivňuje vrozenou i adaptivní imunitní odpověď, a na jejich význam v kontextu nádorové transformace.

## 2. Lidské papilomaviry (HPV)

### 2.1 Klasifikace HPV

Na základě rozdílů v sekvenci genu pro kapsidový protein L1 (de Villiers et al., 2004) lze rozlišit více než 200 typů HPV. HPV se také dají rozdělit podle spojení s karcinomem děložního hrdla a premaligními lézemi do dvou skupin. Nízkorizikové typy HPV 6, 11, 42, 43 a 44 způsobují hlavně benigní léze, které zřídka progredují na karcinomy děložního hrdla. Vysokorizikové typy HPV 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, a 70 se nejčastěji vyskytují ve spojení se zhoubnými nádory (Burd, 2003).

### 2.2 Funkce proteinů HPV

Genové produkty HPV lze rozdělit na „rané“ (E) a „pozdní“ (L) proteiny v závislosti na době jejich exprese během virového životního cyklu (Tabulka 1; Boulet et al., 2007).

Tabulka 1: Produkty genů HPV (upraveno podle Boulet et al., 2007)

Genový produkt	Popis
E1	Helikázová funkce; nezbytný pro replikaci viru a regulaci genové transkripce
E2	Virový transkripční faktor; nezbytný pro replikaci viru a regulaci genové transkripce
E4	Interakce s proteiny cytoskeletu; podíl na sestavování virionu
E5	Stimulace růstu interakcí s receptory růstových faktorů; snížení exprese povrchových molekul HLA I. třídy
E6	Imortalizace buněk; vyvolání degradace p53; aktivace telomerázy; potlačení apoptózy; indukce genomové nestability
E7	Imortalizace buněk; interakce s retinoblastomovým proteinem (pRb) a příbuznými proteiny s kapsovou doménou; transaktivace E2F-dependntních promotorů; indukce genomové nestability
E8	Varianta E8 <sup>E2</sup> funguje jako negativní regulátor replikace a exprese virových genů; jeho hladina může ovlivnit průběh HPV infekce (Dreer et al., 2017)
L1	Hlavní kapsidový protein
L2	Minoritní kapsidový protein; podíl na náboru virových genomů pro zabalení do kapsidy; účast na jaderném transportu virové DNA

## 2.3 Onkogenní vlastnosti proteinů vysokorizikových HPV

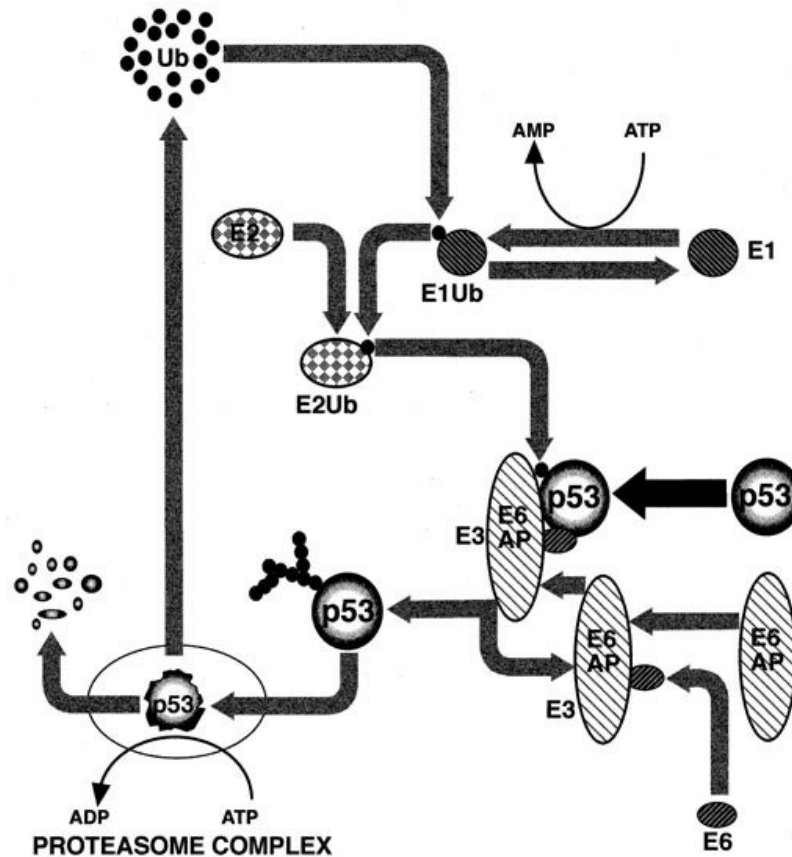
HPV potřebují ke svému pomnožení aktivně se dělicí keratinocyty bazální vrstvy epitelu, kam se dostávají po narušení epitelu. U HPV16 bylo prokázáno, že využívá poranění epitelu k proniknutí do bazální vrstvy, kde se tyto buňky nacházejí (Aksoy et al., 2017). Kromě produkce proteinů E1 a E2 nezbytných pro replikaci virové DNA, se HPV zcela spoléhají na replikační aparát hostitelské buňky (Steenbergen et al., 2005). Virové onkoproteiny E6 a E7 narušují buněčné regulační dráhy a podporují dělení infikovaných keratinocytů, čímž vytvářejí prostředí příznivé pro perzistenci infekce a potenciálně i pro vznik malignit (Münger et al., 1989). Kromě této klasické onkogenní dráhy může k nádorové transformaci přispívat také alternativní mechanismus zahrnující zvýšenou expresi genů *E2*, *E4* a *E5* (Ren et al., 2020).

### 2.3.1 E6

Protein HPV16 E6 je schopný vázat buněčný protein p53. Tato schopnost byla pozorována i u proteinů E6 jiných typů HPV (Werness et al., 1990). p53 je účinný inhibitor buněčného růstu, který indukuje zástavu buněčného cyklu nebo apoptotickou buněčnou smrt v závislosti na typu buňky a prostředí (Vousden, 2002). Po navázání p53 stimuluje HPV16 E6 a HPV18 E6 jeho degradaci. Tato degradace je závislá na ATP a probíhá prostřednictvím proteazomového systému závislého na ubiquitinu (Scheffner et al., 1990). Navázání proteinů E6 z HPV typů 16 a 18 na p53 je zprostředkováno dalším buněčným faktorem, označeným jako protein asociovaný s E6 (E6-AP), který působí jako E3 ubiquitinová ligáza (Huibregtse et al., 1991).

HPV18 E6 dokáže narušit apoptózu indukovanou proteinem Bak i bez interakce s p53, což ukazuje, že E6 ovlivňuje apoptózu více než jedním mechanismem. Proteiny E6 a Bak spolu přímo interagují, což vede ke zvýšené degradaci a následné inaktivaci proteinu Bak. Tato degradace nejspíše probíhá prostřednictvím ubiquitinace proteinem E6-AP (Obr. 1; Thomas and Banks, 1998). E6 také dokáže chránit před apoptózou indukovanou faktorem nádorové nekrózy (TNF). Tato ochrana je částečně zajištěna přítomností PSD95/Dlg/ZO-1 (PDZ)-vazebného motivu v proteinu E6, který umožňuje interakci s buněčnými PDZ doménovými proteiny zodpovědnými za udržení polarity, adheze a integrity epitelu. Narušením těchto interakcí může E6 destabilizovat buněčné struktury a narušit přenos proapoptotických signálů, čímž snižuje citlivost buněk na apoptózu indukovanou TNF. E6 dále zesiluje ochranu před apoptózou tím, že aktivuje transkripční faktor NF- $\kappa$ B, jehož aktivita následně podporuje

buněčné přežití a proliferaci. Aktivace NF- $\kappa$ B navíc vede ke zvýšené expresi inhibitoru apoptózy proteinu 2 (c-IAP2), který blokuje aktivitu kaspáz a tím ještě více potlačuje apoptotickou odpověď (James et al., 2006). Další studie poukazuje na to, že E6 umí chránit buňky před apoptózou zprostředkovanou Fas dráhou. Mechanismus ochrany spočívá v navázání HPV16 E6 na doménu smrti asociovanou s Fas (FADD), kde urychluje degradaci FADD a tím brání přenášení apoptických signálů pomocí Fas dráhy (Filippova et al., 2004).



Obr. 1: HPV E6 indukuje degradaci p53. Enzym aktivující ubiquitin (E1) aktivuje ubiquitin (Ub), který je následně přenesen enzymem konjugujícím ubiquitin (E2) na ubiquitin-protein ligázu E3. V tomto případě je E3 ligázou protein E6-AP, na který se váže HPV E6, a tento komplex pak specificky rozpoznává a ubiquitínuje p53. Polyubikvitinovaný p53 je poté degradován komplexem proteazomu 26S (převzato z Thomas et al., 1999).

Onkoprotein E6 vysokorizikových typů HPV, zejména HPV16 a HPV18, blokuje apoptózu také inhibicí mitochondriální dráhy. E6 potlačuje p53-dependentní expresi proapoptického proteinu modulátoru apoptózy regulovaného p53 (PUMA), čímž zabraňuje aktivaci a translokaci proteinu Bax na mitochondrie. Tím je zabráněno permeabilizaci mitochondriální membrány, uvolnění cytochromu c a aktivaci kaspázy 3. Udržení nízké aktivity Bax tak představuje klíčový mechanismus, kterým E6 podporuje přežití infikovaných buněk (Vogt et al., 2006).

### 2.3.2 E7

HPV16 E7 narušuje kontrolu buněčného cyklu tím, že podporuje degradaci proteinu kódovaného tumor-supresorovým genem retinoblastomu (pRb) prostřednictvím ubikvitin-proteazomového systému (Gonzalez et al., 2001). Protein pRb inhibuje aktivitu transkripčních faktorů rodiny E2F, a tím reguluje expresi genů nezbytných pro přechod z G1 do S fáze buněčného cyklu. Jeho ztráta tak vede k deregulaci buněčné proliferace (Weinberg, 1995). Degradace pRb zprostředkovaná E7 je nezbytná pro efektivní narušení funkce tohoto tumor-supresorového proteinu (Gonzalez et al., 2001). Degradace pRb vede k uvolnění transkripčního faktoru E2F, který se za normálních okolností váže na pRb a zůstává neaktivní. Aktivovaný E2F následně podporuje expresi genů nezbytných pro progresi buněčného cyklu. Důkazem této deregulace je zjištění, že ve většině buněčných linií cervikálního karcinomu exprimujících E7 není detekovatelný komplex E2F-pRb, což potvrzuje, že degradace pRb vede ke ztrátě této regulační vazby (Chellappan et al., 1992).

Protein HPV16 E7 je schopen narušit apoptózu zprostředkovanou faktorem nádorové nekrózy (TNF), což koreluje s jeho schopností transformovat buňky. E7 inhibuje signalizaci zprostředkovanou receptorem pro tumor nekrotizující faktor 1 (TNF R1), čímž snižuje aktivaci prokaspázy 8, klíčové iniciační kaspázy apoptózy. Tento účinek je spojen s narušením sestavení adaptorového komplexu tvořeného proteiny TNF receptor-associated death domain (TRADD), receptor-interacting protein (RIP) a TNF receptor-associated factor 2 (TRAF2), který je nezbytný pro efektivní aktivaci prokaspázy 8 (Thompson et al., 2001). Kromě toho E7 zpomaluje apoptózu indukovanou stimulací receptoru Fas, který je součástí stejné signální dráhy smrti jako TNF R1, jelikož Fas ligand (FasL) je strukturálně příbuzný TNF a aktivuje apoptózu prostřednictvím Fas receptoru (Thompson et al., 2001).

### 2.3.3 E5

Proteiny HPV16 a HPV6 E5 transformují buňky tím, že zesilují signalizaci zprostředkovanou receptory pro epidermální růstový faktor (EGFR). V lidských keratinocytech E5 zvyšuje počet funkčních EGFR na dvojnásobek až čtyřnásobek a zároveň zpomaluje jejich degradaci. Díky tomu zůstává na buněčném povrchu významné množství receptorů i po navázání ligandu, což prodlužuje účinek růstového signálu. Tímto způsobem E5 podporuje mitogenní stimulaci a přispívá k buněčné proliferaci (Straight et al. 1993).

Kromě toho E5 přispívá k přežití buněk tím, že narušuje dvě odlišné apoptotické dráhy: jednak snižuje citlivost buněk k apoptóze zprostředkované receptorem Fas a dále ovlivňuje signalizaci iniciovanou ligandem indukujícím apoptózu příbuzným TNF (TRAIL (Kabsch and Alonso, 2002)). U buněk exprimujících HPV16 E5 byla hladina receptoru Fas přibližně poloviční, což snižovalo náchylnost buněk k apoptóze indukované FasL. Na rozdíl od receptoru Fas není hladina receptorů pro TRAIL v buňkách exprimujících E5 snížena. Přestože tedy receptory pro TRAIL nejsou prostřednictvím E5 přímo degradovány, tento protein narušuje sestavení apoptotického signalizačního komplexu (DISC), který se aktivuje po vazbě TRAIL na svůj receptor, a to prostřednictvím interference s adaptorem FADD, čímž brání efektivnímu náboru prokaspázy 8 a inhibuje aktivaci apoptózy (Kabsch and Alonso, 2002).

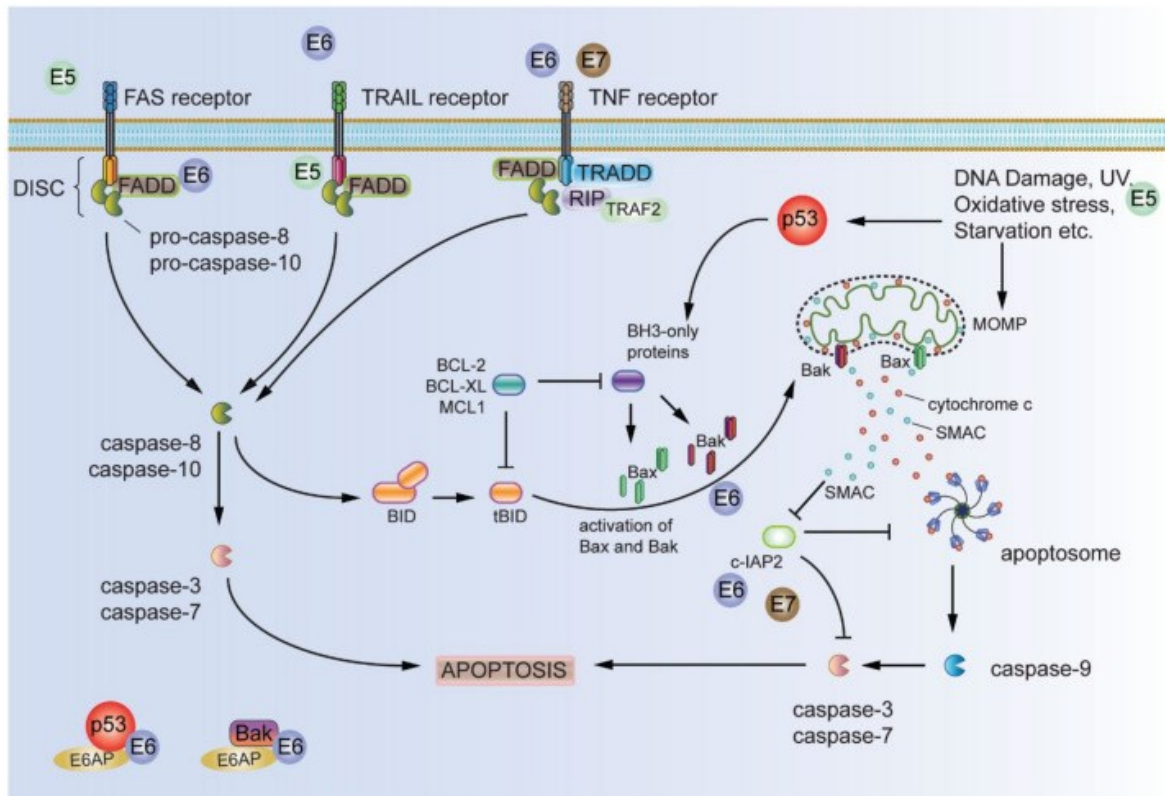
### 2.3.4 E2

E2 je klíčovým regulačním proteinem lidských papilomavirů, který se podílí na virové replikaci i na modulaci buněčných funkcí. E2 může mít i přímý transformační potenciál a přispívá k nádorové progresi nezávisle na integraci virové DNA do genomu hostitele a bez nutnosti nadměrné exprese E6 a E7, která je integrací obvykle vyvolána. Zvýšená exprese E2 je spojena se zvýšenou proliferací buněk závislou na p53 a se zvýšenou náchylností k nádorové transformaci (Ren et al., 2020). V procesu replikace virové DNA spolupracuje s virovou helikázou E1, kterou navádí na replikační počátek, čímž umožňuje zahájení syntézy virového genomu (Blachon et al., 2005). Kromě toho E2 interaguje s různými buněčnými proteiny, a tím ovlivňuje biologii infikovaných buněk a jejich buněčný cyklus. Vysoké hladiny E2 mohou vést k aktivaci iniciační kaspázy 8, čímž je spuštěna apoptóza hostitelské buňky (Blachon et al., 2005).

Exprese E2 proteinu HPV18 je regulována během buněčného cyklu a dosahuje nejvyšších hladin ve fázi G1. Na konci G1 fáze je E2 rozpoznáván a ubikvitinován ubikvitin-ligázovým komplexem SCF<sup>Skp2</sup>, což vede k jeho proteasomální degradaci (Bellanger et al., 2010). Akumulace Skp2 v důsledku změn v regulaci buněčného cyklu podporuje degradaci E2 prostřednictvím negativní zpětné vazby, čímž umožňuje zvýšenou expresi virových onkogenů E6 a E7 a přechod buněk do S-fáze (Bellanger et al., 2010).

E2 vysokorizikových typů HPV inhibuje aktivitu anafázového promotorového komplexu (APC/C), čímž stabilizuje jeho substráty, například cyklin B2, a přispívá k indukci chromozomální nestability a nadměrné duplikaci centrozomů (Bellanger et al., 2005). K

inhibici APC/C dochází již při velmi nízkých hladinách E2, což je charakteristické pro proliferující bazální buňky epitelu. Naopak vyšší hladiny E2, které se vyskytují ve více diferencovaných vrstvách epitelu, mohou aktivovat apoptózu prostřednictvím kaspázy 8 (Blachon et al., 2005). Tyto poznatky naznačují, že inhibice APC/C zprostředkovaná E2 může přispívat k rozvoji genomové nestability, což podporuje hypotézu, že E2 protein vysokorizikových HPV může mít vlastní onkogenní potenciál (Bellanger et al., 2005). Schéma hlavních mechanismů narušení apoptózy onkoproteiny HPV je znázorněno na obr. 2.



Obr. 2: Schéma znázorňuje hlavní mechanismy, jimiž onkoproteiny HPV E5, E6 a E7 ovlivňují apoptotické signální dráhy. Vliv těchto proteinů na komponenty apoptózy je detailně popsán v textu práce. Protein druhý mitochondriální aktivátor kaspáz (SMAC) je zde zahrnut jako součást mitochondriální signalizace, nicméně přímý vliv HPV proteinů na jeho regulaci zatím nebyl experimentálně potvrzen (převzato z Basukala and Banks, 2021).

### 3. Mechanismy ovlivnění imunitního systému hostitele proteiny HPV

HPV si během evoluce vyvinuly řadu sofistikovaných mechanismů, které jim umožňují uniknout imunitní detekci a narušovat efektivní imunitní odpověď hostitele. Tyto strategie zahrnují jak ovlivnění vrozené imunity, tak cílené zásahy do adaptivního imunitního systému.

V této kapitole budou popsány hlavní mechanismy, kterými HPV moduluje různé složky imunitního dohledu a podporuje tak svou perzistenci a přispívá k rozvoji onemocnění spojených s infekcí HPV.

### 3.1 Modulace komplexů MHC

Lymfocyty T rozpoznávají cizorodé antigeny prostřednictvím interakce se specializovanými antigen-prezentujícími buňkami (APC), které na svém povrchu prezentují antigenní peptidy navázané na molekuly hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) I. nebo II. třídy. Tyto antigenní peptidy pocházejí buď z vlastních nebo cizorodých (např. virových) proteinů. Tato prezentace umožňuje T lymfocytům detekovat a reagovat na patologické změny v organismu. T buněčný receptor (TCR), primární mediátor aktivace T buněk, rozpoznává peptidový antigen pouze tehdy, je-li vázán v kontextu odpovídající molekuly MHC I. nebo II. třídy. Každý TCR je navíc asociován s koreceptorem CD4 nebo CD8, přičemž právě přítomnost jednoho z těchto koreceptorů určuje typ T buňky. Tyto molekuly se vážou na MHC (CD8 na MHC I a CD4 na MHC II), čímž dále stabilizují interakci mezi T buňkou a APC. CD4<sup>+</sup> T buňky zastávají zejména pomocnou a regulační funkci, zatímco CD8<sup>+</sup> T buňky plní většinou cytotoxickou roli. CD4<sup>+</sup> T buňky ovlivňují imunitní odpověď produkcí cytokinů a chemokinů. Cytotoxické CD8<sup>+</sup> T buňky se zaměřují na eliminaci hostitelských buněk infikovaných patogeny. Tohoto procesu je nejčastěji dosaženo doručením obsahu cytotoxických granulí CD8<sup>+</sup> T buňkou do cytosolu infikované buňky, kterou CD8<sup>+</sup> T buňka rozpoznává prostřednictvím vazby svého TCR na peptid/MHC komplex na cílové buňce (Pennock et al., 2013). Přestože je cytokinová pomoc typická pro CD4<sup>+</sup> T buňky a cytotoxická aktivita pro CD8<sup>+</sup> T buňky, v různých podmínkách byly popsány také cytotoxické CD4<sup>+</sup> T buňky a pomocné či regulační CD8<sup>+</sup> T buňky (Pennock et al., 2013).

E7 z HPV16 a HPV18 snižuje expresi klíčových složek dráhy zpracování a prezentace antigenů, čímž podporuje únik nádorových buněk imunitnímu systému hostitele. E7 z HPV18 potlačuje promotor genu těžkého řetězce MHC I a obousměrný promotor, který reguluje expresi genů podjednotky transportéru asociovaného se zpracováním antigenů 1 (*TAP1*) a podjednotky proteazomu, nízkomolekulárního proteinu 2 (*LMP2*), což omezuje prezentaci virových antigenů cytotoxickým CD8<sup>+</sup> T lymfocytům (Georgopoulos et al., 2000).. E7 z HPV16 snižuje aktivitu promotoru genu těžkého řetězce MHC I, ale nemá žádný efekt na promotor *TAP1/LMP2*. Naopak E7 z nízkorizikového HPV6b zvyšuje expresi promotoru genu

těžkého řetězce MHC I, ale potlačuje promotor *TAP1/LMP2*, což by mohlo souviset s tvorbou benigních lézí (Georgopoulos et al., 2000).

E5 také dokáže snížit povrchovou expresi molekul MHC I, přičemž přesný mechanismus není zcela objasněn. Zahrnuje však dva kroky: prvním krokem je inhibice okyselení Golgiho aparátu (Schapiro et al., 2000) a druhým je interakce mezi E5 a těžkým řetězcem MHC I (Ashrafi et al., 2006). E5 proteiny HPV6 a HPV16 interagují se 16kDa podjednotkou vakuolární  $H^+$ -ATPázy lokalizovanou ve vezikulech obalených klatrinem, lyzozomech, endozomech a Golgiho aparátu (Conrad et al., 1993). Tato interakce narušuje okyselení endocytických kompartmentů (Straight et al., 1995). Nedostatečné okyselení pozdních endozomů následně brání degradaci invariantního řetězce (Ii), který normálně funguje jako chaperon a zajišťuje správné směrování MHC II molekul do endocytické dráhy (Chapman, 1998). Degradace Ii je dále nezbytná pro uvolnění vazebného místa pro antigenní peptidy; některé proteázy zodpovědné za tuto degradaci jsou však aktivní pouze v kyselém prostředí (Blum et al., 1991). Dalším mechanismem, kterým může E5 protein ovlivňovat endocytický transport, je narušení aktinového cytoskeletu (Thomsen et al., 2000). Tyto aktivity E5 vedou k nedostatečnému zrání MHC II komplexů a k jejich snížené expresi na povrchu buněk. Výsledkem je oslabená schopnost prezentace antigenů  $CD4^+$  T lymfocytům, což může přispět k imunitnímu úniku infikovaných buněk (Zhang et al., 2003).

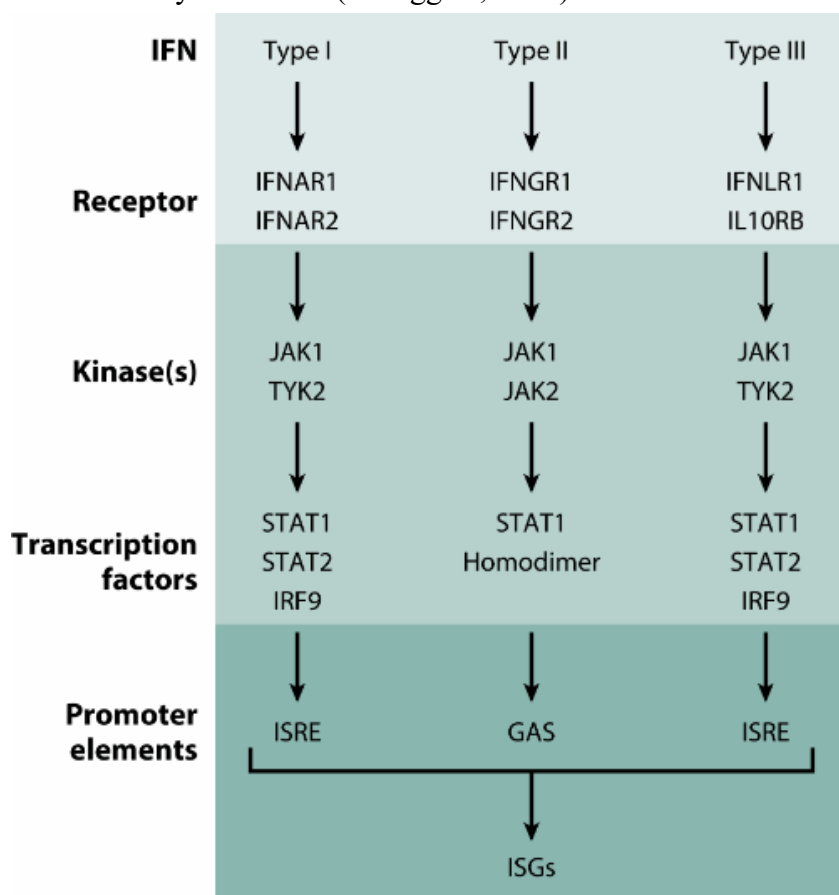
### 3.2 Inhibice přirozených zabíječských (NK) buněk

NK buňky jsou klíčovým prvkem vrozené imunity, schopné eliminovat buňky infikované virem nebo nádorové buňky. Jejich aktivita je řízena různými stimuly, včetně receptorů rozpoznávajících ligandy na povrchu cílových buněk. Poté NK buňky exocytují cytotoxické granule, přičemž klíčovým receptorem spouštějícím jejich cytotoxicitu je CD16 (Bryceson et al., 2005). Kromě toho mohou NK buňky podporovat adaptivní imunitu produkcí cytokinů, jako jsou  $IFN-\gamma$ ,  $TNF-\alpha$  a IL-12 (Márquez et al., 2010).

Onkoprotein E7 snižuje expresi MHC I molekul na povrchu infikovaných buněk, což zvyšuje náchylnost těchto buněk k eliminaci NK buňkami (Bottley et al., 2008). Současně však HPV zároveň omezuje účinnost této imunitní odpovědi tím, že snižuje expresi aktivačních receptorů NK buněk. U pacientek s invazivním karcinomem děložního hrdla infikovaných HPV16 byla pozorována redukováná exprese receptorů NKp30, NKp46 a NKG2D na povrchu NK buněk, což přispívá k jejich snížené schopnosti zabít nádorové buňky (Garcia-Iglesias et al., 2009).

### 3.3 Ovlivnění interferonů

Interferony představují klíčovou skupinu cytokinů v obraně proti virovým infekcím a regulaci imunitní odpovědi. Rozdělují se na tři typy: typ I (zejména IFN- $\alpha$  a IFN- $\beta$ ), typ II (IFN- $\gamma$ ) a typ III (IFN- $\lambda$ ; Obr. 3). Tyto typy interferonů se liší jak v typech buněk, které je produkují, tak i v charakteru jejich receptorů a následně aktivovaných signálních drah. Signalizace je zprostředkována interakcí receptorů s Janus kinázami (JAK) a přenašeči signálu a aktivátory transkripce (STAT), což vede k regulaci exprese rozsáhlé sady interferonem stimulovaných genů (ISG). Produkty těchto genů vykazují antivirové, antiproliferační, proapoptické a imunomodulační účinky, čímž významně přispívají k obraně organismu proti virovým infekcím a nádorovým buňkám (Schoggins, 2019).



Obr. 3: Signální dráhy interferonů. Tři typy interferonů využívají rozdílné receptory a intracelulární signální cesty, které vedou k aktivaci promotorových elementů ISRE nebo GAS a expresi genů ISG. Zkratky: GAS – gama-aktivovaná sekvence; ISRE – element odpovídající na interferonovou stimulaci (převzato z Schoggins, 2019).

#### 3.3.1 Ovlivnění tvorby interferonů

E7 narušuje signalizaci vedoucí k syntéze IFN- $\beta$ , a to fyzickou interakcí s nádorovým supresorem, interferonovým regulačním faktorem 1 (IRF-1; Park et al., 2000). IRF-1 je

transkripční faktor, jehož exprese je indukována signálními drahami aktivovanými interferony typu I a II. Pro uvedenou interakci je nezbytná karboxylová transaktivační doména zmíněného IRF-1 a u proteinu E7 část, která se váže na pRb. E7 narušuje transaktivační aktivitu IRF-1 tím, že rekrutuje histon deacetylázu (HDAC) prostřednictvím vazby na komplex pro remodelaci nukleozomů a deacetylaci (NURD) obsahující HDAC, čímž dochází k navázání HDAC k promotoru IFN- $\beta$ . Tímto mechanismem E7 potlačuje transkripční aktivitu IRF-1 na tomto promotoru, což vede k inhibici exprese IFN- $\beta$  a následně k oslabení antivirové a protinádorové imunitní odpovědi (Park et al., 2000).

### 3.3.2 Ovlivnění signalizace IFN- $\alpha$ a IFN- $\beta$

Protein HPV18 E6 inhibuje aktivaci dráhy JAK-STAT v reakci na IFN- $\alpha$ . K této inhibici nedochází u nízkorizikového HPV11 E6. Mechanismus této inhibice zahrnuje fyzickou interakci E6 s proteinem TYK2, která narušuje jeho aktivitu. Dochází při tom ke snížení tyrosinové fosforylace proteinů TYK2, STAT2 a STAT1 po stimulaci IFN- $\alpha$ , což způsobuje snížení vazebné a transaktivační schopnosti transkripčního komplexu interferonem stimulovaného genového faktoru 3 (ISGF3; Li et al., 1999).

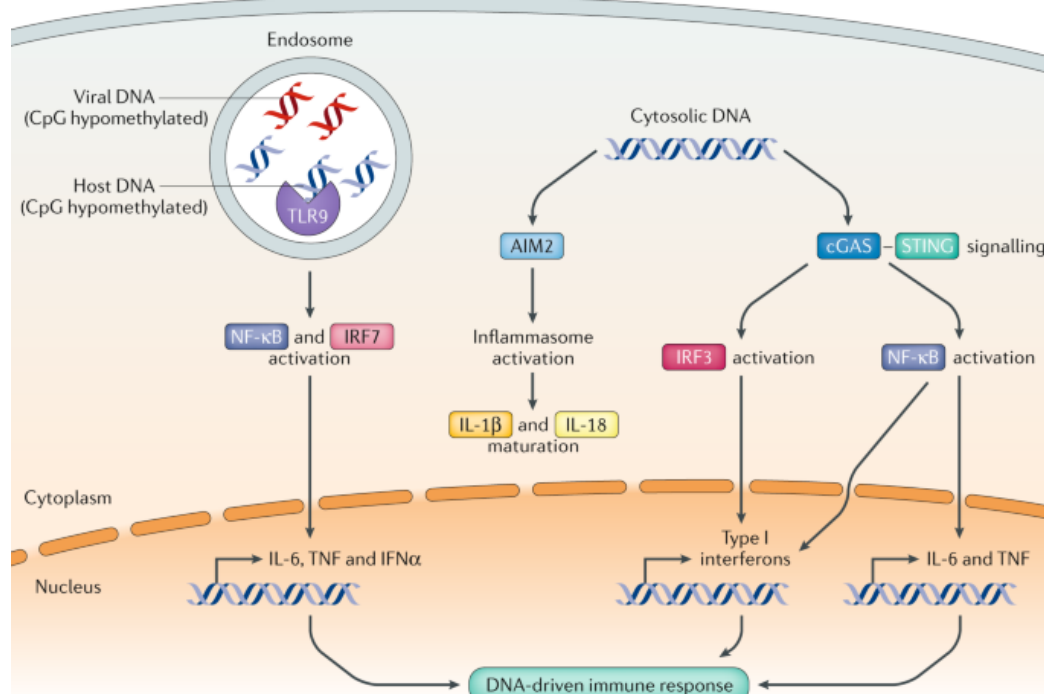
HPV16 E7 přispívá k inhibici exprese genů stimulovaných IFN- $\alpha$  tím, že narušuje funkci transkripčního komplexu ISGF3, složeného z proteinů STAT1, STAT2 a IRF-9. E7 se váže na IRF-9, čímž brání jeho translokaci do jádra po stimulaci IFN- $\alpha$ . Tato interakce zabraňuje tvorbě funkčního ISGF3 komplexu v jádře a následné aktivaci interferonem stimulovaných genů, čímž HPV16 E7 účinně narušuje antivirovou odpověď zprostředkovanou IFN- $\alpha$  (Barnard and McMillan, 1999).

### 3.3.3 Ovlivnění signalizace IFN- $\gamma$

Onkoprotein E7 vysokorizikového HPV16 narušuje signalizaci IFN- $\gamma$  tím, že inhibuje fosforylaci proteinu STAT1, což vede k zablokování exprese IRF-1 a transportéru TAP1. Tímto mechanismem HPV16 E7 snižuje prezentaci antigenů prostřednictvím MHC I a umožňuje infikovaným keratinocytům uniknout cytotoxickým T lymfocytům (Zhou et al., 2013).

### 3.4 Ovlivnění dráhy cGAS-STING

Syntéza cyklického GMP-AMP (cGAS) je cytosolický senzor DNA, který aktivuje adaptér stimulator interferonových genů (STING) prostřednictvím produkce druhého posla cGAMP. STING je transmembránový protein asociovaný s translokou endoplazmatického retikula, který iniciuje transkripci obranných genů v reakci na cytoplazmatickou DNA (Obr. 4). Uspadňuje tak adaptivní odpovědi nezbytné pro ochranu hostitele (Abe et al., 2013). Dráha cGAS–STING nejenže zprostředkovává imunitní odpověď proti široké škále patogenů obsahujících DNA, ale také rozpoznává nádorovou DNA a vyvolává vnitřní protinádorovou imunitu (Motwani et al., 2019). Aktivace cGAS–STING dráhy vede ke zvýšení exprese PD-L1 na úrovni mRNA i proteinu, což přispívá k modulaci imunitní odpovědi (Shen et al., 2024).



Obr. 4: Senzory DNA. V savčích buňkách existují tři hlavní senzory cizorodé DNA, které spouštějí imunitní odpověď: Toll-like receptor 9 (TLR9), absent in melanoma 2 (AIM2) a cGAS. TLR9, lokalizovaný na endozomální membráně, rozpoznává CpG-hypometylovanou DNA a následně aktivuje transkripční faktory NF-κB a IRF-7, což vede k expresi genů kódujících pro zánětlivé cytokiny a interferony. AIM2, působící v cytosolu, detekuje přítomnost dvouvláknové DNA a formuje multiproteinový komplex zvaný inflamazom. Aktivací kaspázy 1 pak dochází k maturaci a sekreci interleukinů IL-1β a IL-18, které podporují zánětlivou odpověď a pyroptózu. Aktivace cGAS cytosolickou DNA vede k endogenní syntéze cGAMP, unikátního druhého posla, který se váže na adaptor STING. Tato vazba vede k aktivaci TANK-vazebné kinázy 1 (TBK1) a IRF-3, což následně spouští transkripci genů pro interferony typu I. Dráha cGAS–STING rovněž aktivuje NF-κB a produkci prozánětlivých cytokinů, jako jsou IL-6 a TNF (převzato z Motwani et al., 2019).

Protein E7 vysokorizikového HPV18 inhibuje dráhu cGAS–STING přímou vazbou na adaptorový protein STING, čímž blokuje jeho funkci (Lau et al., 2015). Tento supresivní

účinek E7 je zprostředkován vysoce konzervovaným motivem LXCXE, který je rovněž klíčový pro degradaci pRb, což naznačuje, že mechanismus inhibice cGAS–STING je analogický mechanismu inaktivace pRb. Naopak onkoprotein HPV18 E6 pouze mírně oslabuje signalizaci cGAS–STING a genu indukovaného retinovou kyselinou I (RIG-I), pravděpodobně nepřímým mechanismem. Studie Lau et al. (2015) ukázala, že expresí E7 (ale nikoliv E6) v primárních embryonálních fibroblastech dochází k významnému snížení produkce interferonu typu I v reakci na cytosolickou DNA. Podobný mechanismus byl popsán i u E7 proteinu HPV16, který oslabuje odpověď cGAS–STING v HPV-pozitivních buňkách spinocelulárního karcinomu hlavy a krku (HNSCC) i v immortalizovaných normálních orálních keratinocytech (NOK), a to prostřednictvím vysoce konzervovaného motivu LXCXE. V HPV-negativních HNSCC buňkách tento efekt pozorován nebyl (Shaikh et al., 2019). Další studie popisuje strategii HPV16, při níž E7 nepůsobí přímo na STING, ale využívá NLRX1, mitochondriální člen rodiny NOD-like receptorů (NLR), k jeho destabilizaci. E7 podporuje aktivitu NLRX1, který se váže na STING (Guo et al., 2016) a zprostředkovává jeho rozklad prostřednictvím autofagie, čímž dochází k tlumení cGAS–STING signalizace (Luo et al., 2020).

HPV8 E6 narušuje signalizaci cGAS–STING prostřednictvím posttranslačního zásahu. Bylo prokázáno, že tento onkoprotein inhibuje aktivaci STING po jeho fosforylaci, což vede ke snížení fosforylace následných efektorových molekul, jako jsou kináza TBK1 a transkripční faktor IRF-3. Tím dochází k omezené produkci interferonů typu I a oslabení antivirové odpovědi. Přesný mechanismus, jakým E6 tuto inhibici zprostředkovává, dosud není plně objasněn (Tolbert et al., 2024)

Také proteiny E5 a E2 některých typů HPV ovlivňují signální dráhu cGAS–STING podobným mechanismem. HPV16 E5 a HPV18 E5 zasahuje do časných fází aktivace STING, a to opět inhibicí fosforylace TBK1 a IRF-3, čímž dochází k blokování aktivace těchto klíčových signálních molekul a snížené expresi interferonem stimulovaných genů (ISG), což oslabuje antivirovou odpověď (Li et al., 2025). HPV11 E2 a HPV16 E2 působí obdobně a přispívají k perzistenci virové infekce (Miyachi et al., 2023). Navíc bylo u E5 prokázáno, že může narušovat funkci imunoproteazomu, čímž dále omezuje efektivní prezentaci virových antigenů a podporuje únik před imunitním dohledem (Li et al., 2025).

HPV se vyznačuje unikátním vezikulárním transportem do jádra během rané fáze infekce. Po rozbalení kapsidy v kyselém prostředí endozomálních kompartmentů kapsidový protein L2 pronikne přes membránu vezikul a usnadní transport virového genomu (vDNA) do

Golgiho aparátu využitím vezikulárního membránového transportu. Uvnitř Golgiho aparátu čeká L2 s vDNA na G2/M fázi, kdy je vezikulární komplex L2/vDNA transportován podél dělicích se mikrotubulů a připojuje se ke chromozomům, aby se mohla vDNA dostat do jader dceřiných buněk. Na základě tohoto unikátního transportu uniká HPV vDNA před detekcí cGAS-STING (Uhlorn et al., 2020).

HPV využívají STING k indukci chemokinu CCL22 za účelem náboru regulačních T buněk (Treg). Produkce CCL22 indukovaná aktivací STING závisí na transkripčním faktoru c-Jun, a proto může být inhibitor c-Jun potenciálním prostředkem léčby HPV<sup>+</sup> spinocelulárního karcinomu jazyka (TSCC). Tato skutečnost také naznačuje, že snížená exprese miR-27b, která negativně reguluje expresi genu *TMEM173* kódujícího STING, přispívá ke zvýšení aktivity signalizační dráhy STING, což vede k vyšší expresi CCL22 a následnému zvýšenému náboru Treg u pacientů s HPV<sup>+</sup> TSCC (Liang et al., 2015).

### 3.5 Ovlivnění *toll-like* receptorů (TLR)

Hlavní úlohou receptorů TLR je obrana hostitele regulováním vrozené imunitní odpovědi prostřednictvím epiteliálních buněk. TLR hrají klíčovou roli ve funkci vrozeného imunitního systému tím, že rozpoznávají specifické exogenní molekulární vzory spojené s patogeny (PAMP) a endogenní ligandy spojené s poškozením (DAMP), čímž vrozenou imunitní odpověď indukují (Sato et al., 2009).

Proteiny HPV16 E6 a E7 snižují transkripci genu *TLR9* a tím inhibují dráhy stimulované TLR9. Nízké hladiny TLR9 v buněčných liniích odvozených z cervikálního karcinomu HPV16 pozitivních patientek i v samotných cervikálních nádorech, představují důležitý důkaz významu tohoto jevu *in vivo*. HPV18 E6 a E7 mají sníženou schopnost potlačovat hladiny TLR9 ve srovnání s proteiny HPV16. Nízkorizikový HPV6 transkripci *TLR9* neovlivňuje (Hasan et al., 2007; Hasan et al., 2013).

### 3.6 Ovlivnění detekce virové RNA

Jedním z mechanismů, kterým HPV narušuje antivirovou a protinádorovou imunitní odpověď, je inhibice detekce virové RNA. Příkladem je dráha aktivovaná senzorem RIG-I, který rozeznává cizorodou RNA. V této souvislosti je zajímavé, že HPV16 E6 cílí na dva aktivátory, TRIM25 a USP15, v horní části signální dráhy cytoplazmatického senzoru RNA

RIG-I. E6 s nimi tvoří komplex a tím inhibuje imunitní odpověď vyvolanou RIG-I (Chiang et al., 2018).

Kromě cílení na aktivační faktory RIG-I bylo zjištěno, že E6 a E7 proteiny HPV16 snižují také expresi senzorů RIG-I a protein 5 spojený s diferenciací melanomu (MDA5), což vede k oslabení aktivace mitochondriálního antivirového signálního proteinu (MAVS), který zprostředkovává přenos signálu z cytoplazmatických RNA senzorů k následným kinázám. Tím dochází ke snížené fosforylaci a aktivaci transkripčních faktorů IRF-3 a NF- $\kappa$ B, což omezuje produkci interferonů typu I a prozánětlivých cytokinů (Lo Cigno et al., 2020).

### 3.7 Ovlivnění TGF- $\beta$ signální dráhy

Transformující růstový faktor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) je klíčový cytokin, který reguluje celou řadu buněčných procesů, včetně proliferace, diferenciaci, apoptózy a imunitní odpovědi. V raných fázích vývoje nádorů potlačuje TGF- $\beta$  nádory tím, že inhibuje buněčné dělení a podporuje diferenciaci (Massagué, 2008). Proto není překvapivé, že viry, včetně HPV, vyvinuly mechanismy, jak tuto signální dráhu narušit ve svůj prospěch.

Proteiny HPV16 E7 a HPV18 E7 narušují signalizaci TGF- $\beta$  prostřednictvím interakce se Smad proteiny, což jsou intracelulární přenašeče signálů TGF- $\beta$  do jádra buňky. Studie ukázala, že E7 proteiny různých typů HPV, včetně HPV16, se přímo vážou na Smad2, Smad3 a Smad4 a potlačují jejich transkripční aktivitu (Habig et al., 2006). HPV16 E7 například brání tomu, aby komplex Smad účinně vázal DNA v cílových sekvencích, čímž narušuje buněčné odpovědi zprostředkované TGF- $\beta$ , které normálně tlumí proliferaci buněk. Tento mechanismus přispívá k podpoře buněčného dělení potřebného pro životní cyklus viru a pravděpodobně i k raným fázím vzniku nádorového onemocnění (Habig et al., 2006).

Protein HPV16 E5 také hraje významnou roli v narušování signalizace TGF- $\beta$ . Bylo prokázáno, že exprese E5 vede k postupnému snižování hladin mRNA a proteinu receptoru TGF- $\beta$  typu II (TGFBR2) v lidských keratinocytech přičemž míra poklesu koreluje se zvýšenou expresí E5 a délkou expozice (French et al., 2013). Tento pokles receptoru je doprovázen sníženou fosforylací Smad2 a omezenou jadernou translokací Smad4 po stimulaci TGF- $\beta$ 1, což naznačuje oslabení TGF- $\beta$ /Smad signální dráhy.

## 4. Imunoterapie

Imunoterapie představuje slibný přístup k léčbě nádorů spojeným s HPV, který využívá schopnosti imunitního systému cíleně rozpoznávat a eliminovat nádorové buňky. Některé imunoterapeutické strategie jsou navrženy tak, aby obnovily nebo posílily protinádorovou imunitu, která může být narušena mechanismy imunitního úniku vyvolanými expresí virových onkoproteinů. Zvláště adaptivní imunitní odpověď hraje zásadní roli při rozpoznání virových antigenů, jako jsou E6 a E7, a je tak klíčovým cílem většiny současných imunoterapeutických přístupů.

### 4.1 Terapeutické vakcíny

Terapeutické vakcíny se snaží stimulovat imunitní systém k rozpoznání a eliminaci buněk infikovaných HPV. Zaměřují se zejména na virové onkoproteiny E6 a E7, které jsou nezbytné pro udržení maligního fenotypu. Pro tento účel byly vyvinuty různé platformy, jako jsou DNA vakcíny, virové vektory nebo vakcíny založené na peptidech (Lee and Allen, 2021).

#### 4.1.1 Vakcíny založené na živých vektorech

Vakcíny založené na živých vektorech využívají rekombinantní viry nebo bakterie k doručení genů kódujících antigeny do hostitele, kde indukují specifickou imunitní odpověď. Příkladem takové strategie je vakcína TA-HPV, která využívá živý rekombinantní virus vakcinie exprimující modifikované formy proteinů E6 a E7 typů HPV16 a HPV18. Jediná dávka TA-HPV vakcíny může indukovat účinnou imunitní odpověď u pacientek s cervikálním karcinomem. Byly detekovány jak humorální, tak buněčné odpovědi, avšak snížení exprese MHC I v nádorech může omezovat účinnost cytotoxických T lymfocytů (CTL) *in vivo* (Kaufmann et al., 2002). Kombinace s vakcínou TA-CIN, což je fúzní protein HPV16 L2E6E7, může být výhodnější než použití jednotlivých složek samostatně při imunoterapii vulvární intraepiteliální neoplazie (VIN) spojené s HPV16 (Davidson et al., 2004). Existuje také další vakcína, založená na rekombinantním vakciniovém viru s modifikovanými sekvencemi genů HPV16 E6 a E7 a genem pro lidský IL-2, která se jmenuje *TG4001*. Tato vakcína vyvolala regresi cervikální intraepiteliální neoplazie (CIN) 2/3 u 7 z 10 pacientek (Brun et al., 2011).

#### 4.1.2 Vakcíny založené na peptidech a proteinech

Vakcíny založené na peptidech a proteinech využívají krátké syntetické peptidy nebo rekombinantní virové proteiny k indukci specifické imunitní odpovědi. Antigeny jsou dodávány v hotové formě a podporují aktivaci cytotoxických i pomocných T lymfocytů.

Jednou z nejvíce studovaných vakcín namířených proti HPV je ISA101, složená ze syntetických dlouhých peptidech (SLP) odvozených z HPV16 E6 a E7. Ve studii zahrnující pacientky s HPV16 pozitivní vysokostupňovou VIN nebo vaginální intraepiteliální neoplazií (VaIN) bylo dosaženo klinické odpovědi u 53 % pacientek po 3 měsících a u 52 % po 12 měsících, přičemž u 8 z nich byla zaznamenána úplná histologická regrese. Imunitní odpověď, zejména aktivita CD8<sup>+</sup> T lymfocytů, byla výrazně silnější u pacientek s úplnou odpovědí (van Poelgeest et al., 2016).

#### **4.1.3 Vakcíny založené na nukleových kyselinách**

Vakcíny založené na nukleových kyselinách využívají DNA nebo RNA kódující virové antigeny, které po podání do organismu slouží jako templát pro vlastní syntézu antigenních proteinů buňkami hostitele. Tento přístup umožňuje indukci buněčné i humorální imunitní odpovědi. Příkladem takové strategie je vakcína MEDI0457, která obsahuje DNA kódující onkoproteiny HPV16 E6, HPV16 E7, HPV18 E6 a HPV18 E7, spolu s plazmidem pro IL-12, a je podávána pomocí elektroporace. Ve fázi Ib/II klinické studie byla tato imunoterapie podána 22 pacientům s lokálně pokročilým, HPV pozitivním HNSCC, přičemž pozitivita byla potvrzena expresí proteinu p16, který slouží jako nepřímý marker infekce HPV. Vakcína byla dobře tolerována, bez výskytu závažných nežádoucích účinků a u 86 % hodnotitelných pacientů (18 z 21) vyvolala antigenně specifickou odpověď T buněk přetrvávající i po 1 roce. Navíc bylo pozorováno zvýšení počtu cytotoxických T lymfocytů v nádorovém mikroprostředí (Aggarwal et al., 2019).

#### **4.1.4 Vakcíny založené na dendritických buňkách**

Dendritické buňky (DC) patří mezi nejúčinnější APC a jejich využití v rámci protinádorové imunoterapie se ukazuje jako slibná strategie. Ve studii zaměřené na pacientky s karcinomem děložního hrdla stadia IB nebo IIA byla hodnocena bezpečnost a imunogenita vakcinace zralými autologními DC, které byly stimulovány rekombinantními antigeny E7 virů HPV16 a HPV18. Buňky byly podávány v pěti podkožních dávkách v třítýdenních intervalech po předchozí radikální operaci, kdy již nebyly přítomny známky onemocnění. Vakcína byla dobře tolerována a nezpůsobila žádné významné nežádoucí účinky. U všech pacientek byla

zaznamenána aktivace CD4<sup>+</sup> T buněk a tvorba protilátek, přičemž u 8 z 10 pacientek došlo také ke zvýšení hladiny CD8<sup>+</sup> T buněk specifických pro antigen E7. Na dávce vakcíny nezávisela ani síla, ani rychlost vyvolané imunitní odpovědi (Santin et al., 2008).

## 4.2 Blokáda imunitních kontrolních bodů

Blokáda imunitních kontrolních bodů představuje klíčový přístup v léčbě nádorů asociovaných s HPV (CITACE). Novou možností je bifunkční fúzní protein M7824 (bintrafusp alfa), který kombinuje monoklonální protilátku proti PD-L1 s extracelulárními doménami receptoru TGF- $\beta$ RII. Tímto způsobem cílí současně na dvě důležité dráhy, které napomáhají nádorové buňce unikat imunitnímu dohledu. Ve fázi I/II klinické studie u pacientů s HPV pozitivními malignitami (karcinom děložního hrdla, anální karcinom a spinocelulární karcinom hlavy a krku) byla zaznamenána klinická odpověď u 35,6 % pacientů. U některých pacientů byla odpověď dlouhodobá a přetrvávala i po ukončení léčby. Nežádoucí účinky byly převážně zvládnutelné a léčba byla celkově dobře tolerována (Strauss et al., 2020).

## 4.3 Buněčná terapie

Buněčná terapie představuje přístup, který využívá imunitní buňky k cílenému rozpoznání a likvidaci nádorových buněk. V případě nádorů spojených s HPV nabízí buněčná terapie možnost specifického zásahu proti virovým antigenům. Jedním z příkladů využití buněčné terapie u nádorů vyvolaných HPV je léčba pomocí T buněk s geneticky modifikovaným TCR specifickým pro epitop E7 proteinu HPV16. Klinická studie ukázala, že podání těchto TCR-modifikovaných T buněk pacientům s pokročilými nádory vedlo k objektivním odpovědím u 50 % pacientů, přičemž u dvou pacientů byla dosažena kompletní remise. Některé léčebné odpovědi přetrvávaly více než jeden rok. Terapeutická účinnost souvisela s úspěšnou persistencí přenesených T buněk a s imunitní odpovědí proti nádorovým buňkám exprimujícím E7 antigen (Nagarsheth et al., 2021).

## 4.4 Úvaha o zlepšení léčby poznáním únikových mechanismů

Poznání molekulárních mechanismů, kterými HPV proteiny ovlivňují imunitní odpověď, otevírá nové možnosti pro zlepšení léčby nádorů spojených s HPV. Virové proteiny, jako E6, E7, E5 a E2, zasahují do klíčových drah buněčné regulace a imunity, čímž umožňují

perzistenci infekce a nádorovou transformaci. Cílené narušení těchto únikových mechanismů by mohlo výrazně zvýšit účinnost stávajících terapeutických přístupů.

Například obnovení funkce tumor-supresorového proteinu p53, narušené působením proteinu E6, by mohlo posílit apoptotickou odpověď v nádorových buňkách. Tento efekt by mohl být dosažen použitím molekul, které blokují degradaci p53 zprostředkovanou proteiny E6 a E6-AP, například inhibitory interakce E6–E6-AP. Tyto inhibitory brání navázání E6 na E6-AP a tím zabraňují ubikvitinaci a následné degradaci p53, což vede k obnovení jeho funkce (Malecka et al., 2014).

Podobně by aktivace signalizačních drah narušených onkoproteinem E7, jako je signalizace JAK-STAT, mohla být podpořena použitím exogenních interferonů (např. IFN- $\alpha$  nebo IFN- $\beta$ ), které posilují antivirovou odpověď a podporují eliminaci infikovaných buněk (He et al., 2022).

Zásahy do dráhy cGAS–STING, kterou HPV často tlumí prostřednictvím svých onkoproteinů, představují nadějnou strategii pro obnovení antivirové a protinádorové imunity. Moderní agonisté STING, například diABZI, dokážou silně aktivovat produkci interferonů typu I a indukovat robustní imunitní odpověď včetně aktivace cytotoxických T lymfocytů. V preklinických modelech bylo prokázáno, že stimulace STING pomocí diABZI může vést k výrazné regresi nádorů (Messaoud-Nacer et al., 2022). Je však třeba vzít v úvahu, že v nádorových buňkách infikovaných HPV bývá signalizace cGAS–STING aktivně utlumena virovými onkoproteiny. Proto by efektivní obnovení této dráhy mohlo vyžadovat kombinaci STING agonistů s inhibicí virových genů, například pomocí siRNA proti E6 a E7, což se ukázalo jako účinné při **obnově funkcí nádor supresorových proteinů**, jako je p53, a při zpomalení růstu nádorů (Jiang and Milner, 2002). Kombinace STING agonistů s inhibitory imunitních kontrolních bodů (např. protilátkami anti-PD-1/PD-L1 ) navíc vykazuje synergický efekt, který překonává imunosupresivní mikroprostředí a zvyšuje účinnost protinádorové odpovědi (Li et al., 2024).

Důležité je také zaměřit se na proteiny E2 a E5, jejichž role v imunitním úniku je stále předmětem intenzivního výzkumu. Bylo například prokázáno, že alkylované iminosacharidy mohou částečně zvrátit účinky proteinu E5, což může přispět k obnovení prezentace antigenů a posílení protinádorové imunitní odpovědi (Wetherill et al., 2018). Tyto přístupy by bylo

vhodné kombinovat s terapeutickými vakcínami cílenými na E6/E7 antigeny a s imunoterapií zaměřenou na posílení T buněčných odpovědí.

## 5. Závěr

Vysokorizikové typy HPV představují významný rizikový faktor pro rozvoj několika typů malignit, včetně karcinomu děložního hrdla, análního karcinomu a nádorů hlavy a krku. Klíčovou součástí jejich onkogenního působení je schopnost virových onkoproteinů E6, E7, E5 a E2 zasahovat do buněčných regulačních drah a zároveň narušovat imunitní dohled.

Z provedené analýzy vyplývá, že E6 a E7 proteiny hrají dominantní roli v narušení antivirové a protinádorové imunity. E6 například tlumí odpovědi zprostředkované interferony a brání aktivaci proapoptotických drah, zatímco E7 inhibuje detekci virové DNA prostřednictvím cGAS–STING a TLR9. Naproti tomu E5 a E2 plní podpůrné role v modulaci imunitní odpovědi, zejména ovlivněním prezentace antigenu a některých signálních drah vrozené imunity. Více virových proteinů cílí na stejné buněčné procesy, jako je exprese MHC molekul, produkce interferonů nebo detekce virové DNA a RNA. Tento funkční překryv naznačuje, že inhibice těchto procesů je pro HPV velmi důležité, takže využívá redundantní strategie, které zajišťují efektivní únik před imunitním dohledem a podporují perzistenci infekce.

Z hlediska terapie se jako nejperspektivnější jeví cílení na E6 a E7, neboť tyto proteiny zasahují klíčové kontrolní body buněčné imunity i proliferace. Kombinace jejich cílené inhibice s aktivací oslabených imunitních drah, například cGAS–STING nebo JAK-STAT, by mohla představovat účinný přístup k léčbě malignit spojených s HPV. Hlubší pochopení unikových mechanismů zprostředkovaných HPV onkoproteiny nejen rozšiřuje naše znalosti o patogenezi virových nádorů, ale zároveň poskytuje konkrétní cíle pro nové terapeutické přístupy, zejména v oblasti imunoterapie.

Porozumění těmto mechanismům má zásadní význam pro základní výzkum biologie HPV i pro klinickou praxi, kde může přispět k vývoji cílených imunoterapií a personalizovaných léčebných strategií. Přesná identifikace a terapeutické ovlivnění virových unikových drah tak představují nadějnou cestu k účinnější kontrole nádorů asociovaných s HPV a k obnovení imunitního dohledu nad infikovanými a transformovanými buňkami.

## 6. Použitá literatura

Poznámka: Přehledové články jsou v seznamu označeny slovem (*review*) za bibliografickou citací.

- Abe, T., Harashima, A., Xia, T., Konno, H., Konno, K., Morales, A., Ahn, J., Gutman, D. and Barber, G. N.** (2013). STING Recognition of Cytoplasmic DNA Instigates Cellular Defense. *Molecular Cell* **50**, 5–15.
- Aggarwal, C., Cohen, R. B., Morrow, M. P., Kraynyak, K. A., Sylvester, A. J., Knoblock, D. M., Bauml, J. M., Weinstein, G. S., Lin, A., Boyer, J., et al.** (2019). Immunotherapy Targeting HPV16/18 Generates Potent Immune Responses in HPV-Associated Head and Neck Cancer. *Clinical Cancer Research* **25**, 110–124.
- Aksoy, P., Gottschalk, E. Y. and Meneses, P. I.** (2017). HPV entry into cells. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* **772**, 13–22. (*review*)
- Ashrafi, G. H., Brown, D. R., Fife, K. H. and Campo, M. S.** (2006). Down-regulation of MHC class I is a property common to papillomavirus E5 proteins. *Virus Research* **120**, 208–211.
- Barnard, P. and McMillan, N. A. J.** (1999). The Human Papillomavirus E7 Oncoprotein Abrogates Signaling Mediated by Interferon- $\alpha$ . *Virology* **259**, 305–313.
- Basukala, O. and Banks, L.** (2021). The Not-So-Good, the Bad and the Ugly: HPV E5, E6 and E7 Oncoproteins in the Orchestration of Carcinogenesis. *Viruses* **13**, 1892. (*review*)
- Bellanger, S., Blachon, S., Mechali, F., Bonne-Andrea, C. and Thierry, F.** (2005). High-Risk But Not Low-Risk HPV E2 Proteins Bind to the APC Activators Cdh1 and Cdc20 and Cause Genomic Instability. *Cell Cycle* **4**, 1608–1615.
- Bellanger, S., Tan, C. L., Nei, W., He, P. P. and Thierry, F.** (2010). The Human Papillomavirus Type 18 E2 Protein Is a Cell Cycle-Dependent Target of the SCFSkp2 Ubiquitin Ligase. *Journal of Virology* **84**, 437–444.
- Blachon, S., Bellanger, S., Demeret, C. and Thierry, F.** (2005). Nucleo-cytoplasmic Shuttling of High Risk Human Papillomavirus E2 Proteins Induces Apoptosis. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 36088–36098.
- Blum, J. S., Fiani, M. L. and Stahl, P. D.** (1991). Proteolytic cleavage of ricin A chain in endosomal vesicles. Evidence for the action of endosomal proteases at both neutral and acidic pH. *Journal of Biological Chemistry* **266**, 22091–22095.
- Bottley, G., Watherston, O. G., Hiew, Y.-L., Norrild, B., Cook, G. P. and Blair, G. E.** (2008). High-risk human papillomavirus E7 expression reduces cell-surface MHC class I molecules and increases susceptibility to natural killer cells. *Oncogene* **27**, 1794–1799.
- Boulet, G., Horvath, C., Broeck, D. V., Sahebali, S. and Bogers, J.** (2007). Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **39**, 2006–2011. (*review*)

- Brianti, P., De Flammoneis, E. and Mercuri, S. R.** (2017). Review of HPV-related diseases and cancers. *The new microbiologica* **40**, 80–85. (review)
- Brun, J.-L., Dalstein, V., Leveque, J., Mathevet, P., Raulic, P., Baldauf, J.-J., Scholl, S., Huynh, B., Douvier, S., Riethmuller, D., et al.** (2011). Regression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia with TG4001 targeted immunotherapy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **204**, 169.e1-169.e8.
- Bryceson, Y. T., March, M. E., Barber, D. F., Ljunggren, H.-G. and Long, E. O.** (2005). Cytolytic granule polarization and degranulation controlled by different receptors in resting NK cells. *Journal of Experimental Medicine* **202**, 1001–1012.
- Burd, E. M.** (2003). Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clinical Microbiology Reviews* **16**, 1–17. (review)
- Chapman, H. A.** (1998). Endosomal proteolysis and MHC class II function. *Current Opinion in Current Opinion in Immunology* **10**, 93–102. (review)
- Chellappan, S., Kraus, V. B., Kroger, B., Munger, K., Howley, P. M., Phelps, W. C. and Nevins, J. R.** (1992). Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America U S A* **89**, 4549–4553.
- Chiang, C., Pauli, E.-K., Biryukov, J., Feister, K. F., Meng, M., White, E. A., Münger, K., Howley, P. M., Meyers, C. and Gack, M. U.** (2018). The Human Papillomavirus E6 Oncoprotein Targets USP15 and TRIM25 To Suppress RIG-I-Mediated Innate Immune Signaling. *Journal of Virology* **92**, e01737-17.
- Conrad, M., Bubb, V. J. and Schlegel, R.** (1993). The human papillomavirus type 6 and 16 E5 proteins are membrane-associated proteins which associate with the 16-kilodalton pore-forming protein. *Journal of Virology* **67**, 6170–6178.
- Davidson, E. J., Faulkner, R. L., Sehr, P., Pawlita, M., Smyth, L. J. C., Burt, D. J., Tomlinson, A. E., Hickling, J., Kitchener, H. C. and Stern, P. L.** (2004). Effect of TA-CIN (HPV 16 L2E6E7) booster immunisation in vulval intraepithelial neoplasia patients previously vaccinated with TA-HPV (vaccinia virus encoding HPV 16/18 E6E7). *Vaccine* **22**, 2722–2729.
- de Villiers, E.-M., Fauquet, C., Broker, T. R., Bernard, H.-U. and zur Hausen, H.** (2004). Classification of papillomaviruses. *Virology* **324**, 17–27. (review)
- Dreer, M., van de Poel, S. and Stubenrauch, F.** (2017). Control of viral replication and transcription by the papillomavirus E8<sup>E2</sup> protein. *Virus Research* **231**, 96–102.
- Filippova, M., Parkhurst, L. and Duerksen-Hughes, P. J.** (2004). The Human Papillomavirus 16 E6 Protein Binds to Fas-associated Death Domain and Protects Cells from Fas-triggered Apoptosis. *Journal of Biological Chemistry* **279**, 25729–25744.
- French, D., Belleudi, F., Mauro, M. V., Mazzetta, F., Raffa, S., Fabiano, V., Frega, A. and Torrisi, M. R.** (2013). Expression of HPV16 E5 down-modulates the TGFβ signaling pathway. *Molecular Cancer* **12**, 38.

- Garcia-Iglesias, T., del Toro-Arreola, A., Albarran-Somoza, B., del Toro-Arreola, S., Sanchez-Hernandez, P. E., Ramirez-Dueñas, M. G., Balderas-Peña, L. Ma. A., Bravo-Cuellar, A., Ortiz-Lazareno, P. C. and Daneri-Navarro, A.** (2009). Low NKp30, NKp46 and NKG2D expression and reduced cytotoxic activity on NK cells in cervical cancer and precursor lesions. *BMC Cancer* **9**, 186.
- Georgopoulos, N. T., Proffitt, J. L. and Blair, G. E.** (2000). Transcriptional regulation of the major histocompatibility complex (MHC) class I heavy chain, TAP1 and LMP2 genes by the human papillomavirus (HPV) type 6b, 16 and 18 E7 oncoproteins. *Oncogene* **19**, 4930–4935.
- Gonzalez, S. L., Stremmlau, M., He, X., Basile, J. R. and Münger, K.** (2001). Degradation of the retinoblastoma tumor suppressor by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein is important for functional inactivation and is separable from proteasomal degradation of E7. *Journal of Virology* **75**, 7583–7591.
- Guo, H., König, R., Deng, M., Riess, M., Mo, J., Zhang, L., Petrucelli, A., Yoh, S. M., Barefoot, B., Samo, M., et al.** (2016). NLRX1 Sequesters STING to Negatively Regulate the Interferon Response, Thereby Facilitating the Replication of HIV-1 and DNA Viruses. *Cell Host & Microbe* **19**, 515–528.
- Habig, M., Smola, H., Dole, V. S., Derynck, R., Pfister, H. and Smola-Hess, S.** (2006). E7 proteins from high- and low-risk human papillomaviruses bind to TGF- $\beta$ -regulated Smad proteins and inhibit their transcriptional activity. *Archives of Virology* **151**, 1961–1972.
- Hasan, U. A., Bates, E., Takeshita, F., Biliato, A., Accardi, R., Bouvard, V., Mansour, M., Vincent, I., Gissmann, L., Iftner, T., et al.** (2007). TLR9 Expression and Function Is Abolished by the Cervical Cancer-Associated Human Papillomavirus Type 16. *The Journal of Immunology* **178**, 3186–3197.
- Hasan, U. A., Zannetti, C., Parroche, P., Goutagny, N., Malfroy, M., Roblot, G., Carreira, C., Hussain, I., Müller, M., Taylor-Papadimitriou, J., et al.** (2013). The Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein induces a transcriptional repressor complex on the Toll-like receptor 9 promoter. *The Journal of Experimental Medicine* **210**, 1369–1387.
- He, C., Song, C., Li, M., Ma, W. and Sun, S.** (2022). Meta-analysis of the effect and safety of recombinant human interferon  $\alpha$ -2b combined with Baofukang suppository in the treatment of HPV infection. *American Journal of Translational Research* **14**, 7632–7642.
- Huibregtse, J. M., Scheffner, M. and Howley, P. M.** (1991). A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus types 16 or 18. *The EMBO Journal* **10**, 4129–4135.
- James, M. A., Lee, J. H. and Klingelutz, A. J.** (2006). Human papillomavirus type 16 E6 activates NF- $\kappa$ B, induces cIAP-2 expression, and protects against apoptosis in a PDZ binding motif-dependent manner. *Journal of Virology* **80**, 5301–5307.
- Jiang, M. and Milner, J.** (2002). Selective silencing of viral gene expression in HPV-positive human cervical carcinoma cells treated with siRNA, a primer of RNA interference. *Oncogene* **21**, 6041–6048.
- Kabsch, K. and Alonso, A.** (2002). The Human Papillomavirus Type 16 E5 Protein Impairs TRAIL- and FasL-Mediated Apoptosis in HaCaT Cells by Different Mechanisms. *Journal of Virology* **76**, 12162–12172.

- Kaufmann, A. M., Stern, P. L., Rankin, E. M., Sommer, H., Nuessler, V., Schneider, A., Adams, M., Onon, T. S., Bauknecht, T., Wagner, U., et al.** (2002). Safety and Immunogenicity of TA-HPV, a Recombinant Vaccinia Virus Expressing Modified Human Papillomavirus (HPV)-16 and HPV-18 E6 and E7 Genes, in Women with Progressive Cervical Cancer. *Clinical Cancer Research* **8**, 3676–3685.
- Lau, L., Gray, E. E., Brunette, R. L. and Stetson, D. B.** (2015). DNA tumor virus oncogenes antagonize the cGAS-STING DNA-sensing pathway. *Science* **350**, 568–571.
- Lee, M. Y. and Allen, C. T.** (2021). Immunotherapy for HPV Malignancies. *Seminars in Radiation Oncology* **31**, 361–370. (review)
- Li, S., Labrecque, S., Gauzzi, M. C., Cuddihy, A. R., Wong, A. H., Pellegrini, S., Matlashewski, G. J. and Koromilas, A. E.** (1999). The human papilloma virus (HPV)-18 E6 oncoprotein physically associates with Tyk2 and impairs Jak-STAT activation by interferon- $\alpha$ . *Oncogene* **18**, 5727–5737.
- Li, T., Zhang, W., Niu, M., Wu, Y., Deng, X. and Zhou, J.** (2024). STING agonist inflames the cervical cancer immune microenvironment and overcomes anti-PD-1 therapy resistance. *Frontiers in Immunology* **15**, 1342647.
- Li, J.-X., Zhang, J., Li, C.-H., Zhang, Q., Kong, B. and Wang, P.-H.** (2025). Human papillomavirus E2 proteins suppress innate antiviral signaling pathways. *Frontiers in Immunology* **16**, 1555629.
- Liang, D., Xiao-Feng, H., Guan-Jun, D., Er-Ling, H., Sheng, C., Ting-Ting, W., Qin-Gang, H., Yan-Hong, N. and Ya-Yi, H.** (2015). Activated STING enhances Tregs infiltration in the HPV-related carcinogenesis of tongue squamous cells via the c-jun/CCL22 signal. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **1852**, 2494–2503.
- Lo Cigno, I., Calati, F., Borgogna, C., Zevini, A., Albertini, S., Martuscelli, L., De Andrea, M., Hiscott, J., Landolfo, S. and Gariglio, M.** (2020). Human Papillomavirus E7 Oncoprotein Subverts Host Innate Immunity via SUV39H1-Mediated Epigenetic Silencing of Immune Sensor Genes. *Journal of Virology* **94**, e01812-19.
- Luo, X., Donnelly, C. R., Gong, W., Heath, B. R., Hao, Y., Donnelly, L. A., Moghbeli, T., Tan, Y. S., Lin, X., Bellile, E., et al.** (2020). HPV16 drives cancer immune escape via NLRX1-mediated degradation of STING. *The Journal of Clinical Investigation* **130**, 1635–1652.
- Malecka, K. A., Fera, D., Schultz, D. C., Hodawadekar, S., Reichman, M., Donover, P. S., Murphy, M. E. and Marmorstein, R.** (2014). Identification and Characterization of Small Molecule Human Papillomavirus E6 Inhibitors. *ACS Chemical Biology* **9**, 1603–1612.
- Márquez, M.-E., Millet, C., Stekman, H., Conesa, A., Deglesne, P.-A., Toro, F., Sanctis, J. D. and Blanca, I.** (2010). CD16 cross-linking induces increased expression of CD56 and production of IL-12 in peripheral NK cells. *Cellular Immunology* **264**, 86–92.
- Massagué, J.** (2008). TGF $\beta$  in Cancer. *Cell* **134**, 215–230. (review)
- Messaoud-Nacer, Y., Culerier, E., Rose, S., Maillet, I., Rouxel, N., Briault, S., Ryffel, B., Quesniaux, V. F. J. and Togbe, D.** (2022). STING agonist diABZI induces PANoptosis and DNA mediated acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Cell Death Dis* **13**, 1–17.

- Miyauchi, S., Kim, S. S., Jones, R. N., Zhang, L., Guram, K., Sharma, S., Schoenberger, S. P., Cohen, E. E. W., Califano, J. A. and Sharabi, A. B.** (2023). Human papillomavirus E5 suppresses immunity via inhibition of the immunoproteasome and STING pathway. *Cell Reports* **42**, 112508.
- Motwani, M., Pesiridis, S. and Fitzgerald, K. A.** (2019). DNA sensing by the cGAS–STING pathway in health and disease. *Nature Reviews Genetics* **20**, 657–674. (review)
- Münger, K., Phelps, W. C., Bubb, V., Howley, P. M. and Schlegel, R.** (1989). The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *Journal of Virology* **63**, 4417–4421.
- Nagarsheth, N. B., Norberg, S. M., Sinkoe, A. L., Adhikary, S., Meyer, T. J., Lack, J. B., Warner, A. C., Schweitzer, C., Doran, S. L., Korrapati, S., et al.** (2021). TCR-engineered T cells targeting E7 for patients with metastatic HPV-associated epithelial cancers. *Nature Medicine* **27**, 419–425.
- Park, J.-S., Kim, E.-J., Kwon, H.-J., Hwang, E.-S., Namkoong, S.-E. and Um, S.-J.** (2000). Inactivation of Interferon Regulatory Factor-1 Tumor Suppressor Protein by HPV E7 Oncoprotein: IMPLICATION FOR THE E7-MEDIATED IMMUNE EVASION MECHANISM IN CERVICAL CARCINOGENESIS. *Journal of Biological Chemistry* **275**, 6764–6769.
- Pennock, N. D., White, J. T., Cross, E. W., Cheney, E. E., Tamburini, B. A. and Kedi, R. M.** (2013). T cell responses: naïve to memory and everything in between. *Advances in Physiology Education* **37**, 273–283.
- Ren, S., Gaykalova, D. A., Guo, T., Favorov, A. V., Fertig, E. J., Tamayo, P., Callejas-Valera, J. L., Allevato, M., Gilardi, M., Santos, J., et al.** (2020). HPV E2, E4, E5 drive alternative carcinogenic pathways in HPV positive cancers. *Oncogene* **39**, 6327–6339.
- Santin, A. D., Bellone, S., Palmieri, M., Zanolini, A., Ravaggi, A., Siegel, E. R., Roman, J. J., Pecorelli, S. and Cannon, M. J.** (2008). Human papillomavirus type 16 and 18 E7-pulsed dendritic cell vaccination of stage IB or IIA cervical cancer patients: a phase I escalating-dose trial. *Journal of Virology* **82**, 1968–1979.
- Sato, Y., Goto, Y., Narita, N. and Hoon, D. S. B.** (2009). Cancer Cells Expressing Toll-like Receptors and the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenvironment* **2**, 205–214. (review)
- Schapiro, F., Sparkowski, J., Adduci, A., Supryniewicz, F., Schlegel, R. and Grinstein, S.** (2000). Golgi Alkalinization by the Papillomavirus E5 Oncoprotein. *Journal of Cell Biology* **148**, 305–316.
- Scheffner, M., Werness, B. A., Huibregtse, J. M., Levine, A. J. and Howley, P. M.** (1990). The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* **63**, 1129–1136.
- Schoggins, J. W.** (2019). Interferon-Stimulated Genes: What Do They All Do? *Annual Review of Virology* **6**, 567–584. (review)
- Shaikh, M. H., Bortnik, V., McMillan, N. AJ. and Idris, A.** (2019). cGAS-STING responses are dampened in high-risk HPV type 16 positive head and neck squamous cell carcinoma cells. *Microbial Pathogenesis* **132**, 162–165.

- Shen, J., Guillén Mancina, E., Chen, S., Manolakou, T., Gad, H., Warpman Berglund, U., Sanjiv, K. and Helleday, T.** (2024). Mitotic MTH1 inhibitor TH1579 induces PD-L1 expression and inflammatory response through the cGAS-STING pathway. *Oncogenesis* **13**, 1–9.
- Steenbergen, R. D. M., de Wilde, J., Wilting, S. M., Brink, A. A. T. P., Snijders, P. J. F. and Meijer, C. J. L. M.** (2005). HPV-mediated transformation of the anogenital tract. *Journal of Clinical Virology* **32**, 25–33. (review)
- Straight, S. W., Hinkle, P. M., Jewers, R. J. and McCance, D. J.** (1993). The E5 oncoprotein of human papillomavirus type 16 transforms fibroblasts and effects the downregulation of the epidermal growth factor receptor in keratinocytes. *Journal of Virology* **67**, 4521–4532.
- Straight, S. W., Herman, B. and McCance, D. J.** (1995). The E5 oncoprotein of human papillomavirus type 16 inhibits the acidification of endosomes in human keratinocytes. *Journal of Virology* **69**, 3185–3192.
- Strauss, J., Gatti-Mays, M. E., Cho, B. C., Hill, A., Salas, S., McClay, E., Redman, J. M., Sater, H. A., Donahue, R. N., Jochems, C., et al.** (2020). Bintrafusp alfa, a bifunctional fusion protein targeting TGF- $\beta$  and PD-L1, in patients with human papillomavirus-associated malignancies. *Journal for Immunotherapy of Cancer* **8**, e001395.
- Thomas, M. and Banks, L.** (1998). Inhibition of Bak-induced apoptosis by HPV-18 E6. *Oncogene* **17**, 2943–2954.
- Thomas, M., Pim, D. and Banks, L.** (1999). The role of the E6-p53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. *Oncogene* **18**, 7690–7700.
- Thompson, D. A., Zacny, V., Belinsky, G. S., Classon, M., Jones, D. L., Schlegel, R. and Münger, K.** (2001). The HPV E7 oncoprotein inhibits tumor necrosis factor  $\alpha$ -mediated apoptosis in normal human fibroblasts. *Oncogene* **20**, 3629–3640.
- Thomsen, P., van Deurs, B., Norrild, B. and Kayser, L.** (2000). The HPV16 E5 oncogene inhibits endocytic trafficking. *Oncogene* **19**, 6023–6032.
- Tolbert, E., Dacus, D., Pollina, R. and Wallace, N. A.** (2024). Cutaneous human papillomavirus E6 impairs the cGAS-STING pathway. bioRxiv: *The Preprint Server for Biology* 2024.11.29.625575
- Uhlorn, B. L., Jackson, R., Li, S., Bratton, S. M., Doorslaer, K. V. and Campos, S. K.** (2020). Vesicular trafficking permits evasion of cGAS/STING surveillance during initial human papillomavirus infection. *PLOS Pathogens* **16**, e1009028.
- van Poelgeest, M. I. E., Welters, M. J. P., Vermeij, R., Stynenbosch, L. F. M., Loof, N. M., Berends-van der Meer, D. M. A., Löwik, M. J. G., Hamming, I. L. E., van Esch, E. M. G., Hellebrekers, B. W. J., et al.** (2016). Vaccination against Oncoproteins of HPV16 for Noninvasive Vulvar/Vaginal Lesions: Lesion Clearance Is Related to the Strength of the T-Cell Response. *Clinical Cancer Research* **22**, 2342–2350.
- Vogt, M., Butz, K., Dymalla, S., Semzow, J. and Hoppe-Seyler, F.** (2006). Inhibition of Bax activity is crucial for the antiapoptotic function of the human papillomavirus E6 oncoprotein. *Oncogene* **25**, 4009–4015.

- Vousden, K. H.** (2002). Activation of the p53 tumor suppressor protein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* **1602**, 47–59. (review)
- Weinberg, R. A.** (1995). The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* **81**, 323–330. (review)
- Werness, B. A., Levine, A. J. and Howley, P. M.** (1990). Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* **248**, 76–79.
- Wetherill, L. F., Wasson, C. W., Swinscoe, G., Kealy, D., Foster, R., Griffin, S. and Macdonald, A.** (2018). Alkyl-imino sugars inhibit the pro-oncogenic ion channel function of human papillomavirus (HPV) E5. *Antiviral Research* **158**, 113–121.
- Zhang, B., Li, P., Wang, E., Brahmi, Z., Dunn, K. W., Blum, J. S. and Roman, A.** (2003). The E5 protein of human papillomavirus type 16 perturbs MHC class II antigen maturation in human foreskin keratinocytes treated with interferon- $\gamma$ . *Virology* **310**, 100–108.
- Zhou, F., Chen, J. and Zhao, K.-N.** (2013). Human papillomavirus 16-encoded E7 protein inhibits IFN- $\gamma$ -mediated MHC class I antigen presentation and CTL-induced lysis by blocking IRF-1 expression in mouse keratinocytes. *Journal of General Virology* **94**, 2504–2514.