

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



Kateřina Ryšavá

Role T antigenů polyomaviru Merkelových buněk (MCPyV) v kancerogenezi
Role of Merkel cell polyomavirus (MCPyV) T antigens in carcinogenesis

Bakalářská práce

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

Praha, 2025

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala 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 24.4. 2025

Kateřina Ryšavá

Poděkování

Chtěla bych v první řadě poděkovat své školitelce RNDr. Martině Salákové, Ph.D. za trpělivost, ochotu a čas, který mi v průběhu vypracování mé práce poskytla. Dále chci poděkovat své rodině za emocionální oporu.

Abstrakt

Polyomavirus Merkelových buněk (MCPyV) je virus s dvouřetězcovým DNA genomem, který způsobuje nejčastěji bezpříznakovou primární infekci, po které dochází k ustavení perzistence a virus se stává součástí běžné kožní mikroflóry. Za určitých okolností může dojít k mutacím virového genomu, spojených s integrací do genomu hostitele. Tyto události vedou k rozvoji karcinomu z Merkelových buněk (MCC), velmi vzácného, ale agresivního typu kožního karcinomu. Tato práce se soustředí na charakteristiku MCPyV a popis proteinů velký T antigen (LT), malý T antigen (ST), 57kT a ALTO. Jsou popsány funkce T antigenů během aktivního virového cyklu, spolu s charakteristikou jejich domén. Důraz je kladen především na vybrané molekulární mechanismy, prostřednictvím kterých T antigeny moduluji buněčné signální dráhy, metabolismus a přispívají k dysregulaci buněčného cyklu. Tyto procesy hrají důležitou roli během transformace buněk a rozvoje MCC.

Klíčová slova: MCPyV, T antigen, karcinom

Abstract

Merkel cell polyomavirus (MCPyV) is a virus with double-stranded DNA genome that mostly causes an asymptomatic primary infection, followed by the establishment of viral persistence, making this virus a part of normal skin microbiota. Under certain circumstances, mutations of the viral genome may occur, which are associated with its integration into the host genome. These events lead to the development of Merkel cell carcinoma (MCC), a very rare but aggressive type of skin cancer. This thesis focuses on the characterization of MCPyV and the description of proteins large T antigen (LT), small T antigen (ST), 57kT and ALTO. The functions of T antigens during the active viral cycle are described, along with the characterization of their functional domains. Emphasis is placed primarily on selected molecular mechanisms through which T antigens modulate cellular signaling pathways and metabolism, and contribute to the cell cycle dysregulation. These processes play an important role during cellular transformation and the development of MCC.

Key words: MCPyV, T antigen, carcinoma

Obsah

| | | |
|-----|---|----|
| 1 | Úvod..... | 1 |
| 2 | Polyomavirus Merkelových buněk - MCPyV..... | 2 |
| 3 | Karcinom z Merkelových buněk..... | 3 |
| 3.1 | Původ buněk MCC..... | 4 |
| 4 | Kapsida MCPyV..... | 6 |
| 5 | Životní cyklus MCPyV..... | 8 |
| 6 | Genom MCPyV..... | 8 |
| 7 | Vlastnosti T antigenů..... | 9 |
| 7.1 | Velký T antigen..... | 9 |
| 7.2 | Malý T antigen..... | 12 |
| 7.3 | ALTO protein..... | 15 |
| 7.4 | 57kT..... | 17 |
| 8 | Role T antigenů při rozvoji MCC..... | 17 |
| 8.1 | Interakce s pRb a p53..... | 18 |
| 8.2 | Stimulace glykolýzy prostřednictvím ST..... | 20 |
| 8.3 | ATOH1 a miR-375 regulace..... | 21 |
| 9 | Závěr..... | 23 |
| 10 | Seznam použitých zdrojů..... | 24 |

Seznam použitých zkratk

| zkratka | anglický název | český název |
|----------------|--|---|
| 4E-BP1 | 4E-binding protein 1 | 4E-vazebný protein 1 |
| AK | amino acid | aminokyselina |
| ALTO | alternate large T open reading frame | alternativní čtecí rámec velkého T antigenu |
| ARF | alternate reading frame | alternativní čtecí rámec |
| ASXL1 | additional sex combs like 1 | protein podobný additional sex combs 1 |
| ATM | ataxia telangiectasia mutated | mutovaná ataxia telangiectasia |
| ATOH1 | atonal homolog 1 | atonální homolog 1 |
| ATP | adenosine triphosphate | adenosintrifosfát |
| ATR | ataxia telangiectasia and Rad3-related protein | protein spojený se syndromem ataxia telangiectasia a s proteinem Rad3 |
| BKPyV | BK polyomavirus | BK polyomavirus |
| bp | base pair | pár bazí |
| BRCA1 | breast cancer 1 | karcinom prsu 1 |
| C-konec | carboxyl-terminus | karboxylový konec |
| CD56 | cluster of differentiation 56 | diferenční klastr 56 |
| CDKN1A | cyclin dependent kinase inhibitor 1A | cyklin-dependentní inhibitor kináz 1A |
| CK1 α | casein kinase 1 alpha | kaseinová kináza 1 alfa |
| CK20 | cytokeratin 20 | cytokeratin 20 |
| CpG | cytosin-phosphate-guanin dinucleotide | cytosin-fosfát-guanin dinukleotid |
| CR1 | conserved region 1 | konzervovaný region 1 |
| DDR | DNA damage response | odpověď na poškození DNA |
| DMPs | DNA-methylation patterns | DNA methylační značky |
| DNA | deoxyribonucleic acid | deoxyribonukleová kyselina |
| DnaJ | Hsp70 binding domain | doména pro vazbu Hsp70 |
| DSBs | double stranded breaks | dvouřetězcové zlomy |
| E2F | E2 promoter-binding region | faktor vázající promotor E2 |
| EP400 | E1-binding protein p400 | E1 vazebný protein p400 |

| | | |
|--------------------|---|--|
| ER | endoplasmic reticulum | endoplazmatické retikulum |
| Fe/S | iron/sulfur | železitosirné |
| GAGs | glycosaminoglycans | glykosaminoglykany |
| GLUT1/3 | glucose transporter 1/3 | glukózový přenašeč 1/3 |
| Hsc70 | heat shock protein 70 | protein tepelného šoku 70 |
| Chk1/2 | checkpoint kinase 1/2 | kináza kontrolního bodu 1/2 |
| I κ B | inhibitor of kappa B | inhibitor kappa B |
| IgG | immunoglobulin G | immunoglobulin G |
| IKK α/β | I kappa B kinase complex alpha/beta | I kappa B kinázový komplex alfa/beta |
| INF β | interferon beta | interferon beta |
| INSM1 | insulinoma-associated protein 1 | s inzulinomem asociovaný protein 1 |
| JCPyV | JC polyomavirus | JC polyomavirus |
| JNK | c-Jun N-terminal kinase | c-Jun N-koncová kináza |
| kbp | kilobase pair | kilopár bází |
| KRT8/18/20 | keratin 8/18/20 | keratin 8/18/20 |
| LDHB | lactate dehydrogenase b | laktátdehydrogenáza b |
| LT | large tumour antigen | velký nádorový antigen |
| LTSD | LT stabilization domain | LT stabilizační doména |
| MAP3K1 | mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1 | mitogenem aktivovaná protein kináza kináza kináza 1 |
| MCC | Merkel cell carcinoma | karcinom z Merkelových buněk |
| MCPyV | Merkel cell polyomavirus | polyomavirus Merkelových buněk |
| MCs | Merkel cells | Merkelovy buňky |
| MCT1 | monocarboxylate transporter 1 | monokarboxylátový transportér 1 |
| MDM2 | mouse double minute 2 | myší „double minute“ 2 |
| MDM4/X | mouse double minute 4/X | myší „double minute“ 4/X |
| miR-375 | microRNA 375 | mikroRNA 375 |
| miRNA | microRNA | mikroRNA |
| MLL2/3 | mixed lineage leukemia 2/3 | leukémie smíšených linií 2/3 |
| MLX | max-like protein X | max-podobný protein X |
| MLXIP | MLX interacting protein | protein interagující s MLX |

| | | |
|---------|---|--|
| MMBIR | microhomology-mediated break-induced repair | mikrohomologií zprostředkovaná zlomem indukovaná oprava |
| MREs | microRNA response elements | elementy mikroRNA odpovědi |
| MSH2 | MutS homolog 2 | MutS homolog 2 |
| MT | middle tumour antigen | střední nádorový antigen |
| MuPyV | murine polyomavirus | myší polyomavirus |
| MUR | MCPyV unique region | MCPyV unikátní oblast |
| MYCL | v-myc (avian myelocytomatosis viral oncogene), lung carcinoma derived homolog | v-myc (virový onkogen ptačí myelocytomatózy), homolog odvozený od plicního karcinomu |
| N-konec | amino-terminus | konec s aminoskupinou |
| NADH | nicotinamide adenine dinucleotide (reduced form) | nikotinamid adenin dinukleotid (redukovaná forma) |
| NCAM | neural cell adhesion molecule | neurální adhezní molekula |
| NCCR | non-coding control region | nekódující kontrolní oblast |
| NEMO | NF kappa B essential modulator | esenciální modulátor NF kappa B |
| NF-κB | nuclear factor kappa B | nukleární faktor kappa B |
| NHEJ | non-homologous end joining | nehomologní spojování volných konců |
| NLS | nuclear localization signal | jaderný lokalizační signál |
| NTAR1 | N-terminal activating region 1 | N-koncová aktivační oblast 1 |
| NTAR2 | N-terminal activating region 2 | N-koncová aktivační oblast 2 |
| OBD | origin binding domain | doména vázající se na počátek replikace |
| ori | origin of replication | počátek replikace |
| PAX5 | paired box 5 | párový box 5 |
| pH | potential of hydrogen | vodíkový potenciál |
| PLCγ1 | phospholipase C, gamma 1 | fosfolipáza C, gamma 1 |
| PP1 | protein phosphatase 1 | proteinfosfatáza 1 |
| PP2A/B | protein phosphatase 2A/B | proteinfosfatáza 2A/B |
| PP4C | protein phosphatase 4, catalytic subunit | katalytická podjednotka proteinfosfatázy 4 |
| pRb | retinoblastoma protein | retinoblastomový protein |

| | | |
|------------|--|---|
| Ran GTPáza | Ras-related nuclear protein GTPase | jaderná GTPáza příbuzná proteinům Ras |
| RB1 | RB transcriptional corepressor 1 | transkripční korepresor RB1 |
| RelA | RelA subunit of NF-κB | RelA podjednotka NF-κB |
| RISC | RNA-induced silencing complex | proteinový komplex vážící mikroRNA |
| RNA | ribonucleic acid | ribonukleová kyselina |
| SCC | spinocellular carcinoma | spinocelulární karcinom |
| SCF | Skp-cullin-F-box | Skp-cullin-F-box |
| SFKs | Src family kinases | kinázy z rodiny Src |
| SOC3 | supressor of cytokine signaling 3 | supresor cytokinové signalizace 3 |
| SQSTM1 | sequestosome 1 | sekvestozom 1 |
| SSNVs | somatic single nucleotide variants | somatické jednonukleotidové varianty |
| ST | small tumour antigen | malý nádorový antigen |
| STING | stimulator of interferon genes | stimulátor interferonových genů |
| SV40 | simian virus 40 | opičí virus 40 |
| t-LT | truncated large tumour antigen | zkrácená forma velkého nádorového antigenu |
| TBK1 | TANK-binding kinase 1 | TANK-vazebná kináza 1 |
| TdT | terminal deoxynucleotidyl transferase | koncová deoxynukleotidyl transferáza |
| TP53 | tumor protein 53 gene | gen tumorového proteinu 53 |
| TRAF2/3/7 | tumor necrosis factor receptor-associated factor 2/3/7 | s receptorem nádorové nekrózy asociovaný faktor 2/3/7 |
| TTF-1 | thyroid transcription factor 1 | thyroidní transkripční faktor 1 |
| UV | ultraviolet | ultrafialové |
| Vam6p | vacuolar assembly membrane 6 protein | membránový protein vakuolární fúze 6 |
| VLPs | virus-like particles | viru-podobné částice |
| VP1/2/3 | viral protein 1/2/3 | virový protein 1/2/3 |
| Vps39 | vacuolar protein sorting 39 | protein třídící vakuolární proteiny 39 |

1 Úvod

Polyomavirus Merkelových buněk je malý neobalený virus s dvouřetězcovým DNA genomem, jehož séroprevalence v populaci dosahuje 96,2 %, a který způsobuje typicky bezpříznakové infekce (Feng et al. 2008; Martel-Jantin et al. 2013; Tolstov et al. 2011). Po primární infekci dochází k ustavení virové perzistence, čímž se MCPyV stává běžnou součástí kožní mikroflóry u většinové populace (Tolstov et al. 2011; Foulongne et al. 2012). U imunosuprimovaných či starších osob nicméně může za určitých podmínek dojít k jeho reaktivaci a zvýšené replikaci, během níž se virová DNA integruje do hostitelského genomu (Wieland et al. 2011; Krump et al. 2021). Proces integrace je spojen s expresí zkrácené formy T antigenu (t-LT) a s rozvojem velice vzácného, ale agresivního typu maligního kožního karcinomu nazývaném karcinom z Merkelových buněk, který je v 80 % případů asociován právě s MCPyV (Feng et al. 2008; Shuda et al. 2008).

První část práce souhrnně pojednává o základní charakteristice MCPyV a MCC, včetně dosud ne zcela objasněného původu buněk MCC. Důraz je kladen hlavně na detailní charakteristiku proteinů časné virové exprese a jejich uplatnění při primární virové infekci. V druhé části práce je popsána role T antigenů během rozvoje kancerogeneze a cílem této práce je zejména poukázat na to, jakým způsobem MCPyV moduluje buněčný cyklus, podporuje buněčnou proliferaci a využívá buněčné proteiny ke stimulaci rozvoje MCC.

2 Polyomavirus Merkelových buněk - MCPyV

Polyomavirus Merkelových buněk (MCPyV) je první lidský virus z čeledi *Polyomaviridae* s prokázaným onkogenním potenciálem u člověka (Calvignac-Spencer et al. 2016). Poprvé byl identifikován v roce 2008 prostřednictvím analýzy transkriptomu karcinomu z Merkelových buněk (MCC – z angl. Merkel cell carcinoma). Jeho sekvence byla detekována v 8 z 10 případů MCC a tudíž byla prokázána přímá asociace s MCC (Feng et al. 2008).

Séroprevalence MCPyV v lidské populaci je poměrně vysoká a dosahuje hodnoty okolo 79–96,2 %, přičemž se zvyšuje s narůstajícím věkem a mezi muži a ženami se signifikantně neliší (Martel-Jantin et al. 2013; Nicol et al. 2013). Epidemiologická data ukazují, že k většině primárních infekcí MCPyV dochází již v raném dětství, jelikož u 60–70 % dětí mladších 6 let byly detekovány protilátky proti MCPyV (Martel-Jantin et al. 2013). Infekce MCPyV probíhají typicky bezpříznakově a po primární infekci dochází k ustanovení perzistentní infekce (Tolstov et al. 2011). Virus byl detekován zejména na kůži (Schowalter et al. 2010), ve slinách, ale i v respiračním traktu, vzorcích moči, krve a v trávicím traktu (Bialasiewicz et al. 2009; Pancaldi et al. 2011; Hussein et al. 2010). Foulong a kol. identifikovali MCPyV DNA v 80 % kožních stěrů zdravých jedinců, což naznačuje, že je MCPyV součástí běžné kožní mikroflóry (Foulongne et al. 2010; 2012). K přenosu dochází hlavně díky blízkému kontaktu osob prostřednictvím kůže a slin (Martel-Jantin et al. 2013), nicméně virus byl detekován i mimo kůži a také v kanalizaci nebo odpadních vodách (Di Bonito et al. 2015; Bofill-Mas et al. 2010). Nelze vyloučit ani respirační přenos nebo přenos fekálně-orální cestou (Loyo et al. 2010). Nejčastější přenos probíhá v rámci rodiny, především mezi sourozenci a matkou a jejími dětmi (Martel-Jantin et al. 2013).

MCPyV je obecně schopen infikovat a replikovat se v širokém spektru různých typů buněk, včetně keratinocytů, mezenchymálních buněk a fibroblastů. Nicméně za nejčastější buněčný typ, ve kterém probíhá aktivní replikace, jsou v současnosti považovány dermální fibroblasty. Fibroblasty jsou v kůži přítomny ve vysokém počtu, což koresponduje s velkým množstvím MCPyV DNA detekovaným na kůži. Tyto buňky si zároveň zachovávají schopnost proliferace, čímž umožňují nejen samotnou infekci MCPyV, ale současně podporují virovou transkripci a replikaci (W. Liu et al. 2016).

3 Karcinom z Merkelových buněk

Karcinom z Merkelových buněk (MCC – z angl. Merkel cell carcinoma) je velmi vzácná, ale agresivní forma maligního kožního nádoru, jejíž úmrtnost během prvních pěti let přesahuje 30 % (Harms et al. 2016). Ačkoli je MCC vzácný, mezi lety 2012 a 2016 došlo v USA k více než trojnásobnému zvýšení jeho incidence. Mezi lety 1987 až 1991 byla incidence 0,19 případů na 100 000 obyvatel. V období mezi rokem 2012 a 2016 vzrostlo toto číslo na hodnotu 0,66 (Jacobs et al. 2021). Postihuje zejména starší populaci bělošské rasy, ale vyšší riziko rozvoje je spojeno rovněž imunosupresí a s nadměrným vystavováním se UV záření (Heath et al. 2008; Wieland et al. 2011). Pod označením "trabekulární karcinom kůže" ji ve své publikaci z roku 1972 poprvé popsal Cyril Toker, který tento karcinom charakterizoval především rychle rostoucími maligními buňkami v neuroendokrinních buňkách dermis (Toker 1972).

MCC se projevuje tvorbou nebolestivých, nejčastěji červeně či růžově zbarvených kožních lézí o velikosti 0,5-3 cm. Charakteristickým rysem je velmi rychlý růst nádoru s častou tvorbou lokálních recidiv, které mohou vytvářet metastáze, nejčastěji v přilehlých lymfatických uzlinách. Primární nádory jsou lokalizovány převážně v oblastech hlavy a krku nebo na dalších místech, která bývají častěji vystavena slunečnímu záření (Heath et al. 2008; Song et al. 2021).

Přibližně 80 % případů MCC je způsobeno integrací genomu MCPyV do DNA hostitelských buněk (Feng et al. 2008). MCPyV-negativní případy jsou, narozdíl od MCPyV-pozitivních případů, spojeny s častým výskytem mutací (jedná se o SSNVs – z angl. somatic single nucleotide variants), způsobených nejčastěji expozicí vůči UV záření. Tyto mutace se týkají převážně tumor supresorových genů *RBI* a *TP53*, ale i genů spojených s modifikací chromatinu (*ASXL1*, *MLL2* a *MLL3*), JNK signální dráhou (*MAP3K1* a *TRAF7*) a nebo s geny pro opravné mechanismy DNA (*ATM*, *MSH2* a *BRCA1*) (Goh et al. 2016).

Četnost výskytu MCPyV-pozitivních a MCPyV-negativních MCCs se liší na základě demografie. Zatímco například v USA převažují MCPyV-pozitivní případy, MCPyV-negativní případy jsou nejčastější v Austrálii, jejíž populace je celoročně mnohem více vystavena UV záření (Youlden et al. 2014). Tyto MCCs jsou ve srovnání s MCPyV-pozitivními případy agresivnější (Moshiri et al. 2017; Garneski et al. 2009). Zatímco hnací silou MCPyV-negativního MCC jsou zejména UV-indukované mutace, k rozvoji MCPyV-pozitivního MCC dochází prostřednictvím integrace MCPyV do genomu hostitele (Feng et al. 2008) (více viz kapitola Role T antigenů při rozvoji MCC).

MCC exprimuje jak epiteliální, tak i neuroendokrinní markery, kterými jsou například chromogranin A, synaptofyzin, CD56 – rovněž označovaná jako adhezní molekula nervových

buněk (NCAM – z angl. neural cell adhesion molecule) a INSM1 (z angl. – insulinoma-associated protein 1). Diagnostika MCC je obtížná. V současné době se využívá imunohistochemické vyšetření s pozitivní detekcí cytokeratinu 20 (CK20) a současnou negativní detekcí thyroideálního transkripčního faktoru-1 (TTF-1) (Kurokawa et al. 2003; Lilo et al. 2018; Cheuk et al. 2001).

3.1 Původ buněk MCC

V minulosti byly jako původní buňky zodpovědné za rozvoj MCC označovány Merkelovy buňky (MCs), zejména díky jejich podobné imunohistochemické charakteristice, společným neuroendokrinním vlastnostem a přítomnosti specifických neurosekrečních granulí (Tang a Toker 1978; Moll et al. 1992). Merkelovy buňky jsou vysoce specializované buňky, které se nacházejí v bazální vrstvě epidermis, kde plní funkci mechanoreceptorů, reagujících na mechanické podráždění (Merkel 1875). Většina MCs se nachází v diferencovaném stavu a nedochází u nich k proliferaci (Vaigot et al. 1987). Vzhledem k jejich funkci tvoří minoritní populaci kožních buněk, nacházející se především na dlaních a chodidlech, ale vyskytují se i v místech ochlupení (Lacour et al. 1991; Fradette et al. 1995). Charakteristickým rysem Merkelových buněk je exprese neuroendokrinních markerů, kterými jsou například CD56, synaptofyzin, chromogranin A a INSM1, ale rovněž i exprese epiteliálních markerů KRT8, KRT18 a KRT20. Pro vývoj Merkelových buněk je esenciální transkripční faktor ATOH1, který pomohl objasnit původ samotných Merkelových buněk. Delece ATOH1 v kožní linii vedla k úplnému zabránění vývoje MCs, zatímco delece ATOH1 v linii neurální lišty neměla na buněčnou populaci žádný vliv. Tato studie, provedená na myším modelu, tudíž vyvrátila teorii o původu Merkelových buněk z neurální lišty a naopak prokázala, že MCs jsou ve skutečnosti buňky epidermálního původu (Morrison et al. 2009).

Společnými charakteristikami mezi MCs a MCC je především exprese cytokeratinu 20, synaptofyzinu a dalších endokrinních markerů (Moll 1995; Moll et al. 1992; Eispert et al. 2009; Acebo et al. 2005; Tilling a Moll 2012). Na základě vzájemných četných podobností byly MCs označeny za původce MCC, nicméně v současnosti se původ MCC v MCs jeví jako nepravděpodobný a to z několika důvodů. Zralé MCs jsou post-mitotické buňky, u kterých nedochází k aktivní proliferaci a nejsou tudíž příliš senzitivní vůči onkogenním stimulům (Vaigot et al. 1987; Van Keymeulen et al. 2009). Na kůži zdravých jedinců byl zároveň identifikován příliš vysoký počet kopií MCPyV DNA, což neodpovídá zastoupení jednotlivých MCs, které tvoří méně než 1 % celkového počtu buněk v epidermis (Schowalter et al. 2010).

Další fakt, který svědčí o nepravděpodobnosti původu MCC v MCs, je místo výskytu MCs. Vzhledem k tomu, že MCs fungují jako senzitivní mechanoreceptory, se u lidí nachází především na dlaních a chodidlech, což nekoresponduje s výskytem MCC, který byl zaznamenán převážně v oblastech hlavy a krku, tedy v místech častěji vystavovaných slunečnímu záření (Lacour et al. 1991; Hitchcock et al. 1988). Současně se MCC téměř vždy vyskytuje v dermis nebo subcutis, narozdíl od MCs, nacházejících se v epidermis (Merkel 1875; Toker 1972).

V současnosti existují domněnky o původu MCC v epidermálních buňkách, dermálních fibroblastech či pre-/pro-B-lymfocytech (Gravemeyer et al. 2022; Sunshine et al. 2018; Hausen et al. 2013). Vysoký výskyt UV-indukovaných mutací, nacházejících se především v tumor supresorových genech *TP53* a *RBI*, naznačuje, že MCPyV-negativní MCCs mohou mít původ v epidermálních keratinocytech (Goh et al. 2015). Tato buněčná populace je totiž vystavena vysoké míře expozice vůči UV záření a UV-indukované mutace jsou současně typické pro rozvoj epidermálních typů nádorů (Sunshine et al. 2018). MCPyV-negativní MCC je zároveň často v blízké asociaci se spinocelulárním karcinomem (SCC – z angl. spinocellular carcinoma) (M. D. Carter et al. 2018) a určitá část MCPyV-negativních MCCs se vyskytuje ve formě kombinovaných karcinomů právě s SCC. Jednotlivé části těchto kombinovaných karcinomů vzájemně sdílí vysoký počet mutací, což potvrzuje, že MCC může vycházet z SCC. Toto zároveň podporuje myšlenku o možném původu MCPyV-negativních MCCs v keratinocytech (Kervarrec et al. 2022).

Původ v keratinocytech může mít i MCPyV-pozitivní MCC, jak navrhuje analýza provedená Gravemeyerem a kol. (Gravemeyer et al. 2022). V této analýze porovnávali DNA metylaci mezi MCPyV-pozitivními MCC a UV-indukovanými MCPyV-negativními MCC buněčnými liniemi. MCPyV-pozitivní MCC i MCPyV-negativní MCC vykazují podobné množství DMPs (z angl. DNA-methylation patterns). Při porovnání těchto methylačních značek s různými druhy epiteliálních a neuroendokrinních nádorů se ukázalo, že MCPyV-negativní i MCPyV-pozitivní MCC buněčné linie vykazují neuroendokrinní i epitheliální DMPs, ale metylační profil spíše odpovídá epiteliálním nádorům. Gravemeyer a kol. se tudíž domnívají, že MCPyV-negativní i MCPyV-pozitivní MCC buněčné linie jsou epiteliálního původu.

MCPyV-pozitivní MCC se (na rozdíl od MCPyV-negativních MCCs) vyznačuje velice nízkým počtem mutací (Goh et al. 2015). Podobnou mutační zátěž a mutační profil mají dermální fibroblasty (Milholland et al. 2017; Gore et al. 2011). Zároveň jsou buněčnou populací, kterou MCPyV snadno infikuje a poskytuje vhodné prostředí pro virový cyklus (Liu

et al. 2016). Sunshine a kol. tudíž dermální fibroblasty označují za možného původce MCPyV-pozitivních MCCs (Sunshine et al. 2018). Nízký počet mutací u MCPyV-pozitivních MCC může naznačovat i možný původ v buňkách, které nejsou exponovány vůči UV záření. Takovou buněčnou populací mohou být například progenitory buněk vlasového folikulu nebo progenitory MCs, nacházejících se ve vlasových folikulech v hlubších vrstvách kůže (Houben et al. 2023).

Zajímavý je i fakt, že značná část MCCs exprimuje terminální deoxynukleotidyl transferázu (TdT) a paired box 5 (PAX5), což jsou proteiny, jejichž koexprese je za fyziologických podmínek omezena pouze na pro-/pre-B-lymfocyty a pre-B-lymfocyty. Pro-/pre-B-lymfocyty a pre-B-lymfocyty jsou zároveň charakteristické expresí imunoglobulinů, jejichž výskyt byl detekován i v rámci MCC. Původ MCC v pre-/pro-B-lymfocytech by zároveň vysvětloval, proč je pouze velmi malá část MCC v kontaktu s epidermis a většinou je MCC lokalizován v dermis nebo podkoží (Hausen et al. 2013; Warner et al. 1983). V současné době zůstává původ MCC stále neobjasněný.

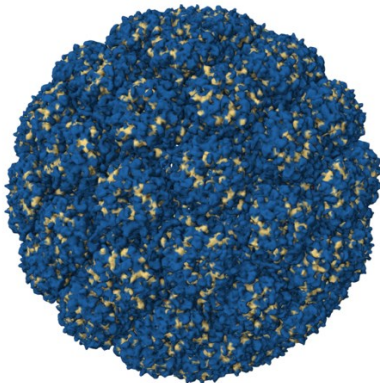
4 Kapsida MCPyV

MCPyV má neobalenou ikosahedrální kapsidu o velikosti přibližně 45 – 50 nm, skládající se ze dvou strukturních proteinů – konkrétně se jedná o 72 pentamerů majoritního proteinu VP1, z nichž každá asociuje přibližně se dvěma molekulami minoritního proteinu VP2. Narozdíl od jiných druhů polyomavirů nedochází u MCPyV k expresi druhého minoritního proteinu – VP3. Důvodem je pravděpodobně velice slabá sekvence Kozakové, nacházející se poblíž iniciačního kodonu (Schowalter a Buck 2013). MCPyV VP1 vytváří symetrický homopentamer prstencovitého tvaru, jehož jednotlivé monomery jsou organizovány kolem centrální osy s pětičetnou symetrií. Každý monomer se skládá ze dvou β -listů, které jsou vůči sobě v antiparalelní orientaci a jsou uspořádány do struktury β -sendviče s „jelly-roll“ topologií. Na povrchu pentameru se nachází smyčky, které jsou nejvariabilnějšími částmi VP1 napříč jednotlivými zástupci polyomavirů a vytváří tak na samotném povrchu viru unikátní interakční místa (Neu et al. 2012). VP1 proteiny mohou samy o sobě *in vitro* nebo *in vivo* formovat VLPs (z angl. virus-like particles – viru podobné částice) (viz obrázek č. 1A), avšak pro efektivní virovou infekci je potřeba účast minoritního proteinu VP2. I přes to, že VLPs neobsahují genom a nejsou tedy schopny produkovat infekční virové částice, u nich stále byla

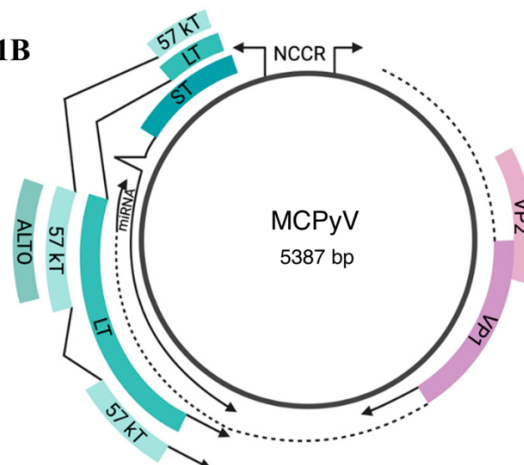
prokázána poměrně vysoká protilátková odpověď, a tudíž by mohly potenciálně sloužit pro vývoj vakcín cílených proti MCPyV (Schowalter a Buck 2013; Pastrana et al. 2009).

Zatímco jiné polyomairy (např. SV40, BKPyV a JCPyV) využívají jako primární receptory gangliosidy, obsahující kyselinu sialovou (Tsai et al. 2003; Low et al. 2006; Neu et al. 2010), první kontakt mezi kapsidou MCPyV a buňkou se uskutečňuje díky vazbě na glykosaminoglykany (GAGs) (Schowalter et al. 2011). Kyselina sialová se v případě MCPyV uplatňuje jako koreceptor a je důležitá zejména během transportu do ER. Bez interakce s kyselinou sialovou zůstává virová částice uvězněna v endozomu a virus se stává neinfekčním (Becker et al. 2019). Vazebná místa pro GAGs i kyselinu sialovou se nachází na VP1 a jsou oddělena, což dokazuje studie, kterou provedli Neu a kol., během níž mutace VP1, zabraňující vazbě kyseliny sialové nijak neomezily vazbu GAGs na povrchu buňky (Neu et al. 2012). VP2 má uplatnění nejspíše při pozdějším kroku vstupu viru do buňky (Schowalter a Buck 2013).

1A



1B



Obrázek č. 1A – znázornění 3D struktury MCPyV VLP; převzato z (RCSB Protein Data Bank: 6ZLZ 2020)

Obrázek č. 1B - Organizace genomu MCPyV: Obrázek znázorňuje rozdělení genomu prostřednictvím NCCR na časnou a pozdní oblast; zelenou barvou jsou vyznačeny časné sestříhové transkripty pro LT, ST, 57kT a ALTO. Fialově jsou vyobrazeny pozdní sestříhové transkripty pro strukturální proteiny virové kapsidy VP1 a VP2; převzato z (Ahmed et al. 2022); upraveno

5 Životní cyklus MCPyV

Vstup MCPyV částice do buňky je zprostředkován endocytózou, probíhající přes kaveoly/lipidové rafty, které jsou bohaté na cholesterol. Její internalizace silně závisí na dynamice aktinového cytoskeletu, jehož regulace se účastní GTPázy rodiny Rho, tyrosinové kinázy a fosfatázy PP1 (z angl. protein phosphatase 1) nebo PP2A/PP2B. Virová partikule následně putuje v endozomu endolysozomální cestou do endoplazmatického retikula (ER – z angl. endoplasmic reticulum), aniž by vstupovala do Golgiho aparátu. Redukční prostředí ER umožňuje uvolnění virového genomu z kapsidy, který je následně transportován do cytosolu. Transport do jádra neprobíhá přes jaderný pór, ale pravděpodobně k němu dochází až při rozpadu jaderné membrány během mitózy (Becker et al. 2019).

V jádře probíhá nejprve exprese časných genů, po které následuje replikace virového genomu. Po dokončení replikace dochází i k expresi pozdní oblasti genomu, díky níž vznikají strukturální proteiny virové kapsidy VP1 a VP2. Po sestavení virové kapsidy jsou neobalené virové částice uvolněny z buňky (Neumann et al. 2011; Feng et al. 2008).

6 Genom MCPyV

Genom MCPyV tvoří cirkulární dvouřetězcová DNA o velikosti přibližně 5 kbp. Skládá se z časné a pozdní oblasti, které jsou vzájemně odděleny nekódující kontrolní oblastí (NCCR – z angl. non-coding control region). Tato oblast obsahuje obousměrný promotor a počátek replikace (ori – z angl. origin of replication), který je velice konzervovaný napříč polyomaviry (Feng et al. 2008). Jeho součástí jsou (stejně jako u ostatních polyomavirů) tři subdomény – poly A/T oblast, doména pro vazbu velkého T antigenu a oblast označovaná jako časný palindrom. Poly A/T oblast se uplatňuje při zahájení rozvolňování virové DNA během replikace (Kwun et al. 2009).

Časnou oblast tvoří T antigen lokus, ze kterého se vytváří jeden transkript. Díky alternativnímu splicingu poté vznikají velký T antigen (LT), 57kT a malý T antigen (ST), které vzájemně sdílí exon 1 (Feng et al. 2008; Shuda et al. 2008; 2009). Prostřednictvím alternativního otevřeného čtecího rámce druhého exonu LT antigenu vzniká z časné oblasti také protein ALTO (z angl. alternate large T open reading frame) (Carter et al. 2013). Pozdní oblast je transkribována v opačném směru a její následnou translaci vznikají strukturální proteiny virové kapsidy VP1 a VP2 (Feng et al. 2008) (viz obrázek č. 1B).

Transkripce pozdní oblasti vzniká rovněž microRNA (miRNA) prekurzor, který produkuje dvě maturované miRNA označované jako MCV-miR-M1-5p a MCV-miR-M1-3p (Seo et al. 2009). MiRNAs jsou krátké úseky nekódující RNA o délce přibližně 22 nukleotidů. Po jejich inkorporaci do RISC (z angl. RNA-induced silencing complex) komplexu se na základě komplementarity bází váží na MREs (z angl. microRNA response elements), které jsou součástí cílových genů. Tímto způsobem se podílí na post-transkripční regulaci genové exprese (Lee et al. 1993; Hammond et al. 2000; Alshalalfa 2012). MCV-miR-M1 vykazuje komplementaritu vůči sekvencím LT transkriptů a svou vazbou na LT snižuje jejich expresi. Tento proces následně vede k omezení replikace MCPyV. MCV-miR-M1 se rovněž podílí na regulaci virové perzistence (Theiss et al. 2015).

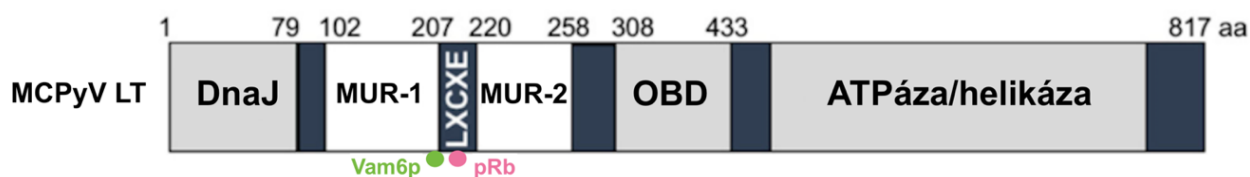
7 Vlastnosti T antigenů

7.1 Velký T antigen

Velký T antigen (LT) je protein o délce 817 aminokyselin, který vzniká alternativním sestřihem při expresi časně oblasti genomu MCPyV (Shuda et al. 2008; Feng et al. 2008). Mezi jeho nejvýznamnější funkce patří zahájení replikace virové DNA a modulace buněčného cyklu, zprostředkovaná protein-protein interakcemi (Li et al. 2013). Na N-konci LT se nachází DnaJ doména, obsahující CR1 motiv a HPDK sekvenci, která je schopna vázat Hsp70 (z angl. heat shock protein 70). DnaJ doména je nezbytná během virové replikace, jelikož mutace této domény výrazně snižuje replikační schopnost LT MCPyV (Feng et al. 2008; Kwun et al. 2009).

LT obsahuje sekvenci o přibližně 200 AK, nazývanou MUR oblast (z angl. MCPyV unique region), která odlišuje LT MCPyV od LT ostatních polyomavirů. Tato oblast je esenciální, jelikož reguluje stabilitu samotného LT a zároveň má vliv na buněčnou proliferaci. MUR se dělí na dvě části – MUR-1 a MUR-2, mezi kterými se nachází konzervovaný LXCXE motiv (X. Liu et al. 2011; Houben et al. 2015; Nwogu et al. 2020). Prostřednictvím motivu LXCXE dochází u MCPyV k vazbě retinoblastomového proteinu (pRb – z angl. retinoblastoma protein) (Shuda et al. 2008). Ten patří společně s proteiny p107 a p130 do rodiny proteinů, podílejících se na regulaci buněčného cyklu (Dyson 1998). V hypofosforylovaném stavu se pRb váže na E2F transkripční faktor, díky čemuž inhibuje buněčnou proliferaci. Naopak jeho fosforylace způsobí uvolnění E2F vedoucí k přechodu buňky do S fáze (Buchkovich et al. 1989; Chellappan et al. 1991). LT váže pRb v hypofosforylovaném stavu, čímž pRb inaktivuje a může tak navodit buněčnou proliferaci (Goodrich et al. 1991).

V MUR oblasti se nachází i doména pro vazbu Vam6p, což je původně cytosolický protein, ovlivňující shlukování a fúzi lysozomů, který vykazuje homologii s Vps39 (z angl. vacuolar protein sorting 39) u *Saccharomyces cerevisiae*. Místo vazby Vam6p těsně přiléhá k pRb vazebnému motivu a je specifické pro MCPyV LT (viz obrázek č. 2). Vazba Vam6p na MCPyV LT způsobí jeho translokaci do jádra, důsledkem čehož je inhibice funkce Vam6p. Při vzájemné interakci mezi Vam6p a LT dochází k inhibici replikace a ke snížení produkce virionů, což může být jeden z mechanismů, umožňující MCPyV perzistenci (X. Liu et al. 2011; N. Nakamura et al. 1997; Feng et al. 2011).



Obrázek č. 2 - Domény velkého T antigenu MCPyV: N-koncová DnaJ doména; MUR-1 a MUR-2 oblasti, mezi kterými je znázorněn LXCXE motiv s růžově značeným vazebným místem pro pRb; zelená barva vyznačuje vazebné místo pro Vam6p; C-koncová část obsahuje OBD doménu a ATPázovou/helikázovou oblast; převzato z (Nwogu et al. 2020); upraveno

Na aminokyselinových pozicích 277-280 se nachází jaderný lokalizační signál (NLS – z angl. nuclear localization signal), který u MCPyC odpovídá unikátní sekvenci RKRK (Nakamura et al. 2010). NLS je rozpoznáván specifickými transportními proteiny importiny a za účasti Ran GTPáz poté dochází k transportu LT do jádra (Görlich et al. 1994; Melchior et al. 1993).

Na C-konci LT se nachází oblasti důležité pro virovou replikaci (Gjørup et al. 1994) – OBD (z angl. origin binding domain) a ATPázová/helikázová doména, obsahující motiv zinkového prstu (z angl. zinc finger motiv) (Wendzicki et al. 2015). OBD je doména, která se nachází na aminokyselinových pozicích 309-428 (Harrison et al. 2011). Tato doména asociuje s pentanukleotidovými G(A/G)GGC sekvencemi, které se nacházejí v minimálně 71 bp dlouhém počátku replikace v NCCR oblasti MCPyV genomu. V MCPyV ori se nachází celkem deset potenciálních vazebných míst pro OBD, přičemž čtyři z nich jsou pro replikaci nezbytné (Kwun et al. 2009). Iniciační fáze replikace je zahájena asymetrickou vazbou tří molekul LT na pentanukleotidové sekvence, čímž se vytváří multimerní LT komplex (Harrison et al. 2011). Tento komplex následně v A/T bohaté oblasti ori zahajuje rozvolňování dvouřetězcové DNA.

Po částečném rozpletení dvoušroubovice dochází k oligomerizaci dvojitých hexamerů LT na jednořetězcových vlákních. Tyto hexamery následně prostřednictvím ATPázových/helikázových domén LT umožňují pokračující rozvolňování DNA (Wan et al. 2023).

U SV40 je součástí helikázové domény i vazebné místo pro tumor supresor p53 (Lilyestrom et al. 2006). Tento tumor supresor se váže na oblast SV40 DNA poblíž ori, čímž může inhibovat replikaci virové DNA (Bargonetti et al. 1991; Miller et al. 1995). Vazbou LT SV40 na p53 nicméně dochází k jeho inhibici, což brání vazbě p53 na specifickou sekvenci SV40 genomu (Bargonetti et al. 1991). V případě MCPyV LT ale namísto vazby a inhibice p53 dochází k jeho stimulaci (Cheng et al. 2013; Li et al. 2013). C-terminální doména MCPyV LT přímo aktivuje ATR/Chk1 signalizační dráhu, která je spojená s odpovědí na buněčné poškození (DDR – z angl. DNA damage response). Aktivace této dráhy prostřednictvím LT vede k fosforylaci p53, díky níž je inhibována interakce s MDM2 (z angl. mouse double minute 2) (Li et al. 2013; Mayo et al. 1997). MDM2 je E3 ubikvitin ligáza, která při interakci s p53 zprostředkovává jeho proteazomální degradaci (Honda et al. 1997). Omezením této vazby tudíž nedochází k degradaci p53, ale naopak k jeho stabilizaci. Aktivita LT tak způsobí p53-zprostředkované pozastavení buněčného cyklu a inhibuje buněčnou proliferaci (Li et al. 2013).

LT nicméně umožňuje navodit stav perzistentní virové infekce, při kterém je hladina LT v buňce, díky autoregulaci exprese, udržována na nízké úrovni (Kwun et al. 2017). Autoregulace MCPyV LT může probíhat více způsoby. Prvním z nich je již zmíněná regulace exprese LT prostřednictvím miRNA, které svou vazbou na LT snižují jeho expresi a omezují replikaci MCPyV (viz kapitola Genom MCPyV) (Seo et al. 2009).

Dalším mechanismem, kterým snižuje LT svoji vlastní expresi je aktivace specifických ubikvitin ligáz, degradujících LT. LT je fosfoprotein, který obsahuje ~ 82 potencionálních fosforylačních míst. Prostřednictvím post-translačních modifikací může dojít k fosforylaci serinů nacházejících se v LT. Tyto post-translačně modifikované seriny poté interagují s Skp-cullin-F-box (SCF) E3 ligázami, čímž dochází k degradaci LT. Jeho hladina tímto způsobem nepřekročí koncentraci potřebnou pro sestavení multimerního LT helikázového komplexu v ori, čímž je omezena virová replikace. Důsledkem SCF E3 ligáz je ustavení latentní virové infekce, při které MCPyV perzistuje v buňkách v podobě nereplikujícího se virového plazmidu. Ukázalo se, že při tomto mechanismu je esenciální již zmíněná MUR doména LT, jelikož interakce s SCF E3 ligázami zprostředkovávají seriny na pozicích 147, 220 a 239 (Kwun et al. 2017). Nwogu a kol. se proto ve své studii na tuto oblast více zaměřili a zkoumali nejen

její vliv na stabilitu LT, ale i na virovou replikaci a buněčný cyklus. Nwogu a kol. zaznamenali, že při delecí MUR-1 nebo MUR-2 došlo ke snížení míry virové replikace, způsobené převážně důsledkem změny DNA vazebných oblastí. Delece kompletní MUR oblasti u MCPyV způsobila rychlejší buněčnou proliferaci. Naopak inserce MUR oblasti do genomu SV40 proliferaci buněk zpomalila. Nwogu a kol. tímto prokázali, že MUR oblast má vliv nejen na stabilitu LT, ale také na virovou replikaci a buněčnou proliferaci (Nwogu et al. 2020).

7.2 Malý T antigen

Malý T antigen (ST) vzniká, stejně jako LT, expresí časně oblasti genomu (Feng et al. 2008). Jeho délka pouhých 186 AK z něj činí nejmenší protein, kódovaný MCPyV genomem (Lanclos et al. 2023). S LT sdílí exon 1, z čehož plyne, že ST i LT obsahují konzervovanou CR1 doménu a DnaJ doménu, umožňující vazbu Hsc70. Rozdílem nicméně je, že zatímco mutace této domény v ST neovlivňuje virovou replikaci a tato doména je tudíž pro ST postradatelná, v LT je DnaJ doména pro replikaci nezbytná (Kwun et al. 2009). ST disponuje rovněž doménou s motivem CXCXXC, vázajícím proteinfosfatázu 2A (PP2A – z angl. protein phosphatase 2A) a specifickou LTSD doménou (z angl. LT stabilization domain), umístěnou v oblasti mezi aminokyselinami na pozicích 91 a 95 (Kwun et al. 2009; 2013).

ST může ovlivňovat řadu buněčných procesů prostřednictvím potenciálních interakcí s cytoplazmatickými i jadernými proteiny. Jedná se o proteiny regulující zejména metabolismus nukleových kyselin, cytoskelet, metabolické přeměny, membránový transport, transkripci, modulaci vazby proteinů, enzymy modifikující proteiny, vazbu na chromatin, scaffold/adaptorové proteiny a translaci (Rapchak et al. 2022).

Mezi jeho nejdůležitější role patří zprostředkování virové replikace, regulace exprese časných i pozdních genů a ovlivňuje i virovou perzistenci. K podpoře virové replikace dochází prostřednictvím LTSD domény. Tato doména váže SCF E3 ligázy, aniž by došlo k degradaci ST. Díky této interakci je inhibována degradace LT a dochází tak k jeho stabilizaci, čímž zajišťuje ST aktivaci a udržení replikace virového genomu (Kwun et al. 2013; Rapchak et al. 2022). Avšak v současnosti existují i studie, naznačující nezávislost stabilizace LT na SCF ligázách (Dye et al. 2019). Zároveň je nutné podotknout, že ne vždy je pro podporu replikace nutná současná stabilizace LT, jak dokazují Tsang a kol. ve své studii, zkoumající vliv železitosirných (Fe/S) klastrů v ST na replikaci virové DNA. Jejich výsledky naznačují, že ST je protein, obsahující dva Fe/S klastry, z nichž jeden je [2Fe-2S] a druhý [4Fe-4S]. Fe/S klastry byly identifikovány v ST exprimovaném v bakteriích, ale pravděpodobně se nachází také v ST

exprimovaném savčími buňkami (Tsang et al. 2016). Fe/S klastry jsou poměrně často součástí různých enzymů, které mají vliv na zpracování DNA a hrají roli v mnoha aspektech metabolismu nukleových kyselin (White a Dillingham 2012). Dle Tsang a kol. je tudíž možné, že díky přítomnosti Fe/S klastrů, plní ST mechanickou funkci při zahájení replikace virové DNA prostřednictvím LT, aniž by došlo ke stabilizaci LT (Tsang et al. 2016). Tato domněnka byla později vyvrácena studií Rapchak a kol., kteří se podrobněji zaměřili na role ST během nativního virového cyklu. (Rapchak et al. 2022).

Jejich data ukazují, že MCPyV mutantní v genu ST dokázal zahájit replikaci, avšak nebyl schopen perzistovat v infikovaných buňkách. Zároveň došlo během šesti dní ke snížení exprese časných i pozdních genů o 95 % a snižování pokračovalo v průběhu celého experimentu. Z těchto dat vyplývá, že ST není nezbytný pro iniciaci replikace, jak se domnívali Tsang a kol., ale pomáhá udržovat perzistentní virovou infekci a expresi časných i pozdních genů. Pro ST zprostředkované udržení exprese genů je nicméně nutné, aby nejprve došlo k replikaci virového genomu prostřednictvím vazby LT na NCCR oblast. Na základě těchto poznatků Rapchak a kol. navrhuje, že replikace MCPyV genomu probíhá ve dvou fázích a ST má roli až při druhé (udržovací) fázi. Během této fáze reguluje ST expresi genů podle potřeb virového cyklu, včetně exprese samotného LT potřebného pro iniciaci virové replikace (Rapchak et al. 2022).

MCPyV ST interaguje i s PP2A a to podobným mechanismem jako SV40 ST (Kwun et al. 2015). PP2A je serin/threonin fosfatáza, hrající důležitou roli v mnoha buněčných procesech. Moduluje aktivitu enzymů, které se účastní metabolismu, reguluje buněčný cyklus, DNA replikaci, transkripci i translaci, ale podílí se i na regulaci dynamiky cytoskeletu a apoptózy. Rovněž byla prokázána souvislost mezi PP2A a nádorovou transformací. PP2A se ve své aktivní formě vyskytuje jako heterotrimerní komplex, složený z katalytické podjednotky C, regulační podjednotky A a regulační podjednotky B, která se nachází v mnoha izoformách a reguluje aktivitu celého komplexu PP2A (Seshacharyulu et al. 2013). Podjednotky A a C se vyskytují ve dvou izomerních formách α a β . V případě katalytické podjednotky C vykazují její izomery 95% homologii (Stone et al. 1987). Izomery regulační podjednotky A jsou vzájemně homologické z 86 % (Hemmings et al. 1990). Interakce mezi PP2A a MCPyV ST probíhá prostřednictvím obou izomerních forem podjednotek A i C. MCPyV ST kompetuje o vazebné místo s regulační podjednotkou B a tím inhibuje aktivitu PP2A. Schopnost MCPyV ST inhibovat PP2A je nicméně v porovnání s SV40 ST mnohem nižší (Kwun et al. 2015). Nutno však podotknout, že zatímco interakce mezi ST SV40 a PP2A

zajišťuje udržování vysokého množství kopií virového genomu, replikace i exprese virových genů je u MCPyV PP2A nezávislá (Fahrbach et al. 2008; Rapchak et al. 2022).

Vzhledem k výše zmíněným funkcím interaguje ST s transkripční faktory a proteiny vázajícími chromatin, které regulují genovou expresi (Rapchak et al. 2022). Mezi transkripční faktory, jejichž aktivita je modulována prostřednictvím exprese ST patří komplex NF- κ B (z angl. nuclear factor kappa B) (Griffiths et al. 2013). Stimulace kanonické či nekanonické signální dráhy vede k aktivaci NF- κ B. Kanonické dráhy se účastní podjednotky NF- κ B p50 a RelA, které jsou po degradaci I κ B translokovány do jádra. V jádře poté stimulují expresi širokého spektra genů, účastnících se nejčastěji zánětlivých procesů. Samotná degradace I κ B je zprostředkována díky IKK komplexu. Ten se skládá z katalytických podjednotek IKK α a IKK β a z regulační podjednotky NEMO. IKK komplex je aktivován různými stimuly, jedná se převážně o cytokiny, růstové faktory, mikrobiální komponenty nebo stres. Po aktivaci fosforylují katalytické podjednotky IKK komplexu I κ B podjednotku, vedoucí k její ubikvitinaci a následné proteazomální degradaci (Liu et al. 2017).

MCPyV ST váže kromě PP2A také proteinfosfatázu 4C (PP4C – z angl. protein phosphatase 4, catalytic subunit), díky čemuž zvyšuje interakci těchto fosfatáz s NEMO. Výsledkem je snížená fosforylace IKK α a IKK β vedoucí k inhibici degradace I κ B. Tímto způsobem poté dochází k blokaci translokace NF- κ B do jádra, což inhibuje expresi genů, asociovaných zejména s imunitní odpovědí (Griffiths et al. 2013).

MCPyV ST se může vyskytovat v cytoplazmě i v jádře a to navzdory tomu, že u ST nebyl identifikován žádný známý NLS. Zajímavé navíc je, že 62 % proteinů, interagujících s ST, patří mezi proteiny s jadernou lokalizací. Na základě analýzy, kterou provedli Thevenin a kol. lze předpokládat, že lokalizaci ST do jádra zprostředkovává doména (nebo více domén), vyskytující se ve strukturně odlišných smyčkách ST. Tyto smyčky se nachází v C-koncové oblasti ST, která je pro ST unikátní. Jaderná lokalizace ST zvyšuje import glukózy do buněk, čímž může stimulovat buněčný metabolismus. Navíc jsou buňky, u nichž je ST lokalizován v jádře, ve vyšší míře schopny růst nezávisle na podkladu. Tyto poznatky naznačují, že jaderná lokalizace ST má potenciál zvýšit jeho transformační schopnost (Thevenin et al. 2024).

Značná část identifikovaných proteinů, které potenciálně interagují s ST, patří mezi mikrotubulární proteiny a tudíž může mít ST vliv i na regulaci mitogeneze. Zároveň dokáže ST modulovat dynamiku a organizaci cytoskeletu a zvyšovat tak motilitu a migraci buněk. Je také pravděpodobné, že ST současně reguluje i transkripci MCV-miR-M1. Tímto způsobem

pak může docházet k již zmíněné regulaci exprese časných genů a zajištění dlouhodobého udržování virového genomu (Rapchak et al. 2022; Knight et al. 2015).

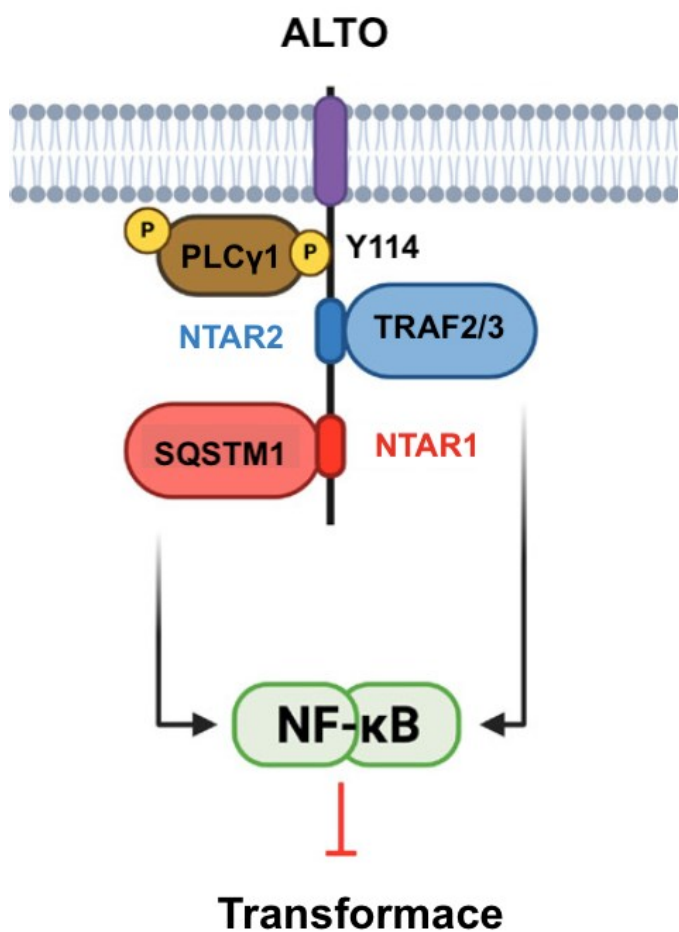
7.3 ALTO protein

ALTO je protein o velikosti 27,6 kDa, vznikající z alternativního otevřeného čtecího rámce LT. V jeho C-koncové oblasti se nachází hydrofobní část, které předchází bazická sekvence (Carter et al. 2013). ALTO obsahuje dvě N-terminální vazebné domény označené jako NTAR1 a NTAR2. NTAR1 (z angl. N-Terminal Activating Region 1) se nachází na aminokyselinových pozicích 30-35, NTAR2 (z angl. N-Terminal Activating Region 2) tvoří oblast mezi aminokyselinami 100-104. Díky vazbě NTAR1 oblasti na SQSTM1 a současně vazbou oblasti NTAR2 na TRAF2 a TRAF3 dochází k aktivaci kanonické i nekanonické NF- κ B signalizační dráhy (Salisbury et al. 2024) (viz obrázek č. 3).

ALTO moduluje NF- κ B signalizaci také prostřednictvím interakce s kinázami rodiny Src (SFKs – z angl. Src family kinases). Tato vazba vede k fosforylaci ALTO tyrosinu na pozici 114, který váže a současně aktivuje PLC γ 1 (z angl. phospholipase C, gamma 1), vedoucí k aktivaci NF- κ B (Peng et al. 2023). Výsledkem je zvýšená exprese chemokinů, cytokinů i antigen-prezentujících molekul. Současně stimuluje ALTO i expresi *CDKN1A*, následkem čehož inhibuje buněčnou proliferaci (Salisbury et al. 2024).

Jednou z důležitých funkcí ALTO je kontrola virového replikačního cyklu a udržení asymptomatické perzistentní virové infekce díky modulaci STING-TBK1 signalizační dráhy. ALTO totiž ve své struktuře obsahuje třináct PXXP motivů, prostřednictvím kterých za přítomnosti určitého stimulu (např. replikace virové DNA) dochází k interakci s SFKs. Tato interakce podporuje tvorbu komplexu mezi SFKs a TBK1, vedoucí k aktivaci TBK1. Výsledkem je zvýšená exprese INF β , stimulovaná STING-TBK1 interakcí. ALTO nicméně stimuluje nejen aktivaci TBK1, ale i jeho degradaci. Prostřednictvím přímé interakce s TBK1 zvyšuje jeho autofosforylaci, vedoucí k SOC3 zprostředkované polyubikvitinaci TBK1 a jeho proteazomální degradaci, čímž je snížena celková dostupnost TBK1 v buňce (Wang et al. 2024; Liu et al. 2015). Tento mechanismus současně vede ke stabilizaci a zvyšování hladiny STING, aniž by docházelo k jeho aktivaci. Wang a kol. ve své studii rovněž prokázali, že ALTO snižuje míru replikace MCPyV genomu a zpomaluje tak průběh virové infekce. Naopak degradace TBK1 vedla ke stimulaci virové replikace, což poukazuje na důležitost mechanismu regulace TBK1-STING dráhy prostřednictvím ALTO (Wang et al. 2024).

ALTO MCPyV je příbuzný onkogennímu MT MuPyV (Carter et al. 2013), což přirozeně vedlo k otázce ohledně role ALTO v MCC. Salisbury a kol. nicméně prokázali, že v MCPyV-pozitivních MCCs je exprese ALTO potlačena. Naopak, vzhledem k jeho výše zmíněným funkcím se uplatňuje jako tumor supresor (Salisbury et al. 2024). Navzdory tomu Wang a kol. ve své studii poukazují na inhibici STING v MCPyV-pozitivním MCC. Disregulace STING, způsobená například stárnutím nebo imunosupresí, by tak teoreticky mohla vést ke ztrátě kontroly nad virovou replikací a k integraci MCPyV do hostitelského genomu s následným rozvojem MCPyV indukovaného MCC. Podíl ALTO na rozvoji MCC tudíž nelze zcela vyloučit (Wang et al. 2024).



Obrázek č. 3 - Stimulace NF-κB prostřednictvím ALTO : znázornění vazby PLCγ1 na tyrosin na pozici 114; vazba NTAR1 na SQSTM1; vazba TRAF2 a TRAF3 na NTAR2 oblast ALTO proteinu; všechny tyto interakce stimulují NF-κB signalizaci, což vede k omezení buněčné transformace; převzato z (Salisbury et al. 2024); upraveno

7.4 57kT

Transkripční časné oblasti a následným alternativním setřihem vzniká 57kT protein o délce 433 AK (Lanclos et al. 2023; Feng et al. 2011). Tento protein je transkribován z T antigen lokusu a nese tak značnou sekvenční homologii s LT i ST (Shuda et al. 2008; Lanclos et al. 2023). 57kT protein vykazuje druhou nejvyšší procentuální míru neuspořádanosti mezi proteiny, kódované MCPyV genomem. Dle predikce, kterou provedli ve své studii Lanclos a kol., obsahuje 57kT výrazně neuspořádané oblasti v rozmezí aminokyselin 96-317 a 403-433, což odpovídá asi 58 % z jeho celkové délky.

Vzhledem k faktu, že 57kT sdílí posledních 101 AK s LT, může potenciálně ovlivnit replikaci genomu MCPyV (Lanclos et al. 2023). Současně bývá 57kT často označován jako analog 17kT SV40, což je protein, který je schopen v přítomnosti LT podporovat replikaci a nebo sloužit jako záložní mechanismus pro syntézu DNA v jeho nepřítomnosti (Shuda et al. 2008; Comerford et al. 2012). Podobným způsobem by při kompenzaci poškození LT mohl fungovat i 57kT, čímž by zabránil ztrátě schopnosti replikace genomu. Tato skutečnost podporuje domněnku o uplatnění 57kT během replikace. V současnosti neexistuje dostatek studií, které by tuto hypotézu potvrzovaly a samotná funkce 57kT tak zůstává nejasná (Lanclos et al. 2023).

8 Role T antigenů při rozvoji MCC

Společnou charakteristikou MCPyV-pozitivních MCC je integrace virové DNA do hostitelského genomu (Feng et al. 2008; Sastre-Garau et al. 2009). Tento jev souvisí se vznikem specifických mutací v lokusu T antigenu, což vede k tvorbě zkrácené formy LT (t-LT) (Shuda et al. 2008). Imunosuprimovaní jedinci jsou k rozvoji MCC náchylnější a u MCPyV-pozitivních MCC pacientů byly detekovány vyšší hladiny IgG proti virovým kapsidovým proteinům, což poukazuje na aktivní replikaci viru (Heath et al. 2008; Wieland et al. 2011; Tolstov et al. 2009). Studie tudíž naznačují, že právě u imunosuprimovaných pacientů může dojít ke ztrátě kontroly nad perzistentní virovou infekcí, vedoucí k reaktivaci a nekontrolovatelné virové replikaci. Tyto události poté zvyšují pravděpodobnost integrace virové DNA a rozvoje MCC (Wieland et al. 2011; Krump et al. 2021).

t-LT postrádá ATPázovou/helikázovou doménu i OBD a virus tak není schopen se aktivně replikovat. DnaJ doména a LXCXE motiv pro vazbu pRb zůstávají v t-LT intaktní (Shuda et al. 2008). I přes defektní virovou replikaci nicméně dochází ke konstitutivní produkci t-LT a ST, která je umožněna transkripcí z virového časného promotoru (Houben et al. 2010; Sastre-Garau

et al. 2009; Czech-Sioli et al. 2020). V případě ST nedochází, narozdíl od LT, ke změně jeho sekvence a všechny vazebné motivy v ST jsou tak zachovány (Sastre-Garau et al. 2009). Produkce t-LT a ST má esenciální vliv pro udržení MCC buněčných linií (Houben et al. 2010; Sastre-Garau et al. 2009) a inhibice exprese T antigenů tudíž nabízí možný cíl v protinádorové terapii (Houben et al. 2012; Yang et al. 2023).

Czech-Sioli a kol. ve své studii prokázali, že je virový genom integrován v jedné kopii a nebo se nachází ve formě konkatemerů, kde každá kopie virové DNA obsahuje totožné mutace, což podporuje hypotézu, že vznik mutací předchází samotné integraci. Czech-Sioli a kol. tudíž navrhuje, že k mutacím a následné integraci dochází důsledkem replikačního stresu během kolize replikační vidličky. Tato událost může způsobit změnu mechanismu replikace z theta na replikaci mechanismem valivé kružnice, vedoucí k tvorbě konkatemerů s identickými mutacemi. K samotné integraci dochází, dle Czech-Sioli a kol., při tvorbě dvouřetězcových zlomů (DSBs - z angl. double stranded breaks) prostřednictvím nehomologního spojování volných konců (NHEJ – z angl. non-homologous end joining) nebo mikrohomologií zprostředkované zlomem indukované opravy (MMBIR – z angl. microhomology-mediated break-induced repair). Výskyt integrovaného genomu byl zaznamenán převážně v intronech, ale také v nekódujících sekvencích nebo v oblastech centromer lidského genomu (Czech-Sioli et al. 2020). Virová DNA se integruje do náhodného místa hostitelského genomu, nicméně Starrett a kol. pozorovali zvýšený výskyt integračních míst na chromozomu 5, což potvrzuje i studie od Czech-Sioli a kol. (Starrett et al. 2020; Czech-Sioli et al. 2020).

Ačkoli je v současné době spíše přijímána teorie, že mutace virového genomu předcházejí samotné integraci, stále nelze zcela vyloučit, že mutace LT se mohou objevit až jako důsledek integrace virového genomu (Schrama et al. 2019).

8.1 Interakce s pRb a p53

U MCPyV-negativního MCC jsou za stimulaci buněčného cyklu a proliferaci zodpovědné četné mutace v tumor supresorech p53 a pRb. V MCPyV-pozitivním MCC se geny pro tyto tumor supresory v mutované podobě téměř nevyskytují. I přes to je MCPyV-pozitivní MCC charakteristický velice rychlým růstem nádoru a špatnou prognózou (Acebo et al. 2005; Heath et al. 2008).

Jednou z hlavních funkcí t-LT, modulující aktivitu tumor supresorů v MCPyV-pozitivním MCC, je vazba pRb prostřednictvím LXCXE motivu (Feng et al. 2008). Důležitost této vazby byla potvrzena i na myších modelech, u kterých při absenci interakce mezi LT a pRb došlo

k inhibici proliferace nádorových buněk MCC, spojené s jejich hromaděním v G1 fázi buněčného cyklu (Houben et al. 2012). Spurgeon a kol. na transgenním myším modelu rovněž prokázali vliv interakce LT a pRb na rozvoj kožní hyperplázie. Dále poukazují na to, že omezení interakce LT a pRb vedlo ke snížení míry exprese genů, regulovaných E2F transkripčním faktorem. Z výsledků těchto studií vyplývá, že zvýšená proliferace MCC buněk je pravděpodobně důsledek inaktivace pRb, vedoucí k uvolnění E2F. E2F, uplatňující se jako transkripční faktor, poté stimuluje expresi genů, vedoucích k podpoře buněčného cyklu spojeného s buněčnou proliferací (Spurgeon et al. 2022; Hiebert et al. 1992).

V průběhu aktivního infekčního cyklu MCPyV indukuje DDR, během níž aktivuje signalizační dráhy ATR/Chk1 a ATM/Chk2. Důsledkem aktivace těchto kináz je stimulace a fosforylace p53, spojená s absencí jeho degradace prostřednictvím MDM2 (Li et al. 2013; Mayo et al. 1997). LT sám o sobě dokáže stimulovat ATR/Chk1 dráhu prostřednictvím C-terminální domény, kterou t-LT v MCC buněčných liniích postrádá. Zároveň se ukázalo, že 57kT ani ST nejsou schopny indukovat ani jednu ze zmíněných kinázových signalizačních drah. V MCC buněčných liniích proto ke stimulaci DDR a k fosforylaci p53 nedochází (Li et al. 2013; Shuda et al. 2008).

Fakt, že v MCC není DDR stimulována, potvrdila i studie, kterou provedli Houben a kol., kteří zkoumali účinky cisplatinu na p53 (Houben et al. 2013). Cisplatina se využívá během chemoterapeutické léčby metastáz MCC, jelikož dokáže stimulovat DDR, aktivovat p53 a indukovat buněčnou apoptózu (Pectasides et al. 2006; Pabla et al. 2008). Houben a kol. pro účely této studie využili MCC buněčné linie s mutovanou i wild-type formou p53. Jejich výsledky poukazují na to, že ani při užití cisplatinu nedošlo ve většině těchto buněčných liniích k úplné aktivaci p53 prostřednictvím DDR. Neschopnost plné aktivace p53, stimulované DDR, může být důvodem rychlé progresse tumorů i při absenci mutované formy p53. Současně může toto zjištění vysvětlovat, proč je z dlouhodobého hlediska stimulace DNA poškození během léčby pozdního stádia MCC neefektivní (Houben et al. 2013; Pectasides et al. 2006).

Navzdory tomu, že v MCC není stimulována DDR, zaznamenali vědci zvýšenou hladinu p21 (Houben et al. 2013). Tento protein působí jako inhibitor cyklin-dependentních kináz a jeho aktivita vede k zastavení buněčného cyklu. Jeho expresi reguluje p53 a zvýšená hladina p21 v MCC proto poukazuje na zvýšenou aktivitu p53 (El-Deiry et al. 1993; Harper et al. 1993; Houben et al. 2013). Pravděpodobnou příčinou je vazba t-LT na pRb, během níž dochází k již zmíněnému uvolnění E2F (Park et al. 2019; Hiebert et al. 1992). Tento transkripční faktor může následně zvýšit expresi ARF, jehož rolí je inhibice MDM2 (Bates et al. 1998; Zhang et al. 1998).

Interakce mezi t-LT a pRb tudíž nepřímo stimuluje aktivitu p53, díky interakci mezi ARF a MDM2 (Park et al. 2019).

Aktivita p53 je současně regulována expresí ST, který stimuluje aktivitu MDM4, čímž může v MCC snižovat buněčnou odpověď na aktivitu p53 (Park et al. 2019). ST je schopen aktivovat chromatin-remodelující komplex EP400 tím, že zprostředkuje vazbu MYCL na tento komplex (Cheng et al. 2017). Interakce mezi MYCL a EP400 následně vede k aktivaci transkripce MDM2 a CK1 α (Park et al. 2019). CK1 α je serin/threonin kináza, která fosforylací moduluje aktivitu MDM4 (rovněž označován jako MDMX), což je inhibitor p53 (Chen et al. 2015; Shvarts et al. 1996). MDM4 obsahuje centrální hydrofobní oblast (označovanou jako WW oblast), která se váže na vazebné místo pro p53, nacházející se v N-terminální oblasti MDM4. Vazba WW oblasti na vazebné místo pro p53 vede k zabránění interakce mezi MDM4 a p53. Tímto způsobem tak MDM4 reguluje svoji vlastní aktivitu vůči p53. Proběhne-li fosforylace WW oblasti prostřednictvím CK1 α , obnoví se schopnost MDM4 vázat p53, což vede k jeho degradaci (Chen et al. 2015). ST tudíž zvýšením exprese CK1 α nepřímo stimuluje aktivitu MDM4 vůči p53. Zvýšená hladina MDM4 byla pozorována pouze MCPyV-pozitivního MCC a u MCPyV-negativního MCC k tomuto jevu pravděpodobně nedochází (Park et al. 2019).

K degradaci p53 současně přispívá i zvýšená exprese MDM2, která je rovněž stimulovaná komplexem ST-MYCL-EP400. Park a kol. na základě výsledků své studie uvádí, že užití inhibitorů MDM2/MDM4 v kombinaci s lenalidomidem může sloužit jako potenciální léčba MCPyV-pozitivních MCCs (Park et al. 2019).

Regulační aktivita ST tak v konečném důsledku umožňuje t-LT kontitativně inaktivovat pRb, aniž by došlo k omezení buněčné proliferace.

8.2 Stimulace glykolýzy prostřednictvím ST

Značná část nádorových buněk moduluje buněčný metabolismus a stimuluje aerobní glykolýzu, čímž zvyšuje míru buněčné proliferace (Zhao et al. 2024). Tuto strategii využívá během životního cyklu i velké množství virů, u kterých modulace metabolismu umožňuje efektivní replikaci (Thai et al. 2014; Villareal et al. 2015; Sanchez et al. 2015). MCPyV moduluje buněčný metabolismus především stimulací aerobní glykolýzy prostřednictvím ST, což vede k podpoře buněčné proliferace a karcinogeneze (Shuda et al. 2015).

Expese ST v lidských dermálních fibroblastech umožňuje vyšší absorpci glukózy do buněk díky stimulaci exprese glukózových transportérů GLUT1 (z angl. glucose transporter 1) a GLUT3 (z angl. glucose transporter 3). Současně dochází ke zvýšení exprese

MLX a MLXIP, které mohou zvyšovat expresi enzymů, účastnících se glykolýzy (Berrios et al. 2016).

V lidských dermálních fibroblastech s indukovanou expresí ST se také zvyšuje produkce laktátu, která souvisí se zvýšenou expresí monokarboxylátového transportéru 1 (MCT1 – z angl. monocarboxylate transporter 1) (Berrios et al. 2016). MCT1 zajišťuje transport laktátu z buněk, čímž pomáhá udržovat stabilní intracelulární pH a současně okyselovat extracelulární prostor (Garcia et al. 1994). Acidifikace extracelulárního prostředí může stimulovat angiogenezi, potlačovat imunitní odpověď a může podporovat tvorbu metastáz (Xu et al. 2002; Mendler et al. 2012; Rofstad et al. 2006). MCT1 tak hraje klíčovou roli během tvorby vhodného nádorového mikroprostředí a buněčné proliferace. Uplatnění má i během metabolismu nádorových buněk, přičemž inhibice tohoto transportéru vede k blokaci glykolýzy a syntézy glutathionu. Inhibice syntézy glutathionu následně zapříčiňuje produkci H_2O_2 , jehož hromadění vede k indukci buněčné smrti (Doherty et al. 2014).

Na regulaci exprese MCT1 se podílí především transkripční faktory z rodiny MYC (Doherty et al. 2014). V MCPyV-pozitivních MCC buňkách vykazuje zvýšenou hladinu zejména izoforma MYCL, což naznačuje možný onkogenní potenciál (Paulson et al. 2009). Berrios a kol. na tyto poznatky ve své studii navázali a prokázali, že v MCC buňkách koexprese časně oblasti MCPyV genomu s MYCL stimuluje expresi MCT1 a MYCL zároveň neefektivněji zvyšuje glykolytickou kapacitu MCC buněk. Inhibice MCT1 MCPyV-pozitivních MCC buněk způsobila potlačení buněčné proliferace, což dokazuje závislost MCC buněk na efektivním odstraňování akumulovaného laktátu z intracelulárního prostoru. Výsledky této studie poukazují na důležitost ST v regulaci metabolismu a podporují hypotézu o funkci MYCL jako potenciálního onkogenu v MCC (Shuda et al. 2015).

V tumorech exprimujících vyšší hladiny MCT1 se jeho inhibice prokázala jako účinná forma terapeutické léčby, a inhibice MCT1, případně podpořená kombinací s metforminem, se proto nabízí i jako možná léčba v případě MCC (Doherty et al. 2014).

8.3 ATOH1 a miR-375 regulace

ATOH1 je klíčový transkripční faktor, uplatňující se během diferenciaci MCs, ale jeho exprese přetrvává i v maturovaných MCs (Wright et al. 2015; Perdigoto et al. 2014). Bossuyt a kol. ve své studii zaznamenali nižší expresi ATOH1 ve vzorcích od pacientů s metastazujícím MCC, což poukazuje na jeho možnou tumor supresorovou roli. Vzhledem k nízkému výskytu MCC byly v této studii testovány pouze čtyři MCC vzorky a výsledky studie tudíž nejsou příliš

relevantní (Bossuyt et al. 2009). Gambichler a kol. naopak pracovali s vyšším počtem vzorků, u kterých byla zaznamenána vysoká míra exprese ATOH1 (Gambichler et al. 2017). S těmito výsledky jsou konzistentní i data Fan a kol., kteří rovněž zaznamenali zvýšenou expresi ATOH1 v MCC buňkách a současně poukazují na specifitu exprese ATOH1, jelikož u buněk jiných typů kožních karcinomů nebyla jeho exprese detekována (Fan et al. 2020).

ATOH1 se v buněčných liniích odvozených od MCC váže na E-box promotorovou oblast a přímo stimuluje transkripci miR-375, což je jedna z nejvíce exprimovaných miRNA v MCC (Fan et al. 2020; 2018). Nižší míra exprese ATOH1 je spojena s vyšší mírou methylace jeho promotorové oblasti. Naopak hypomethylace této oblasti vedla ke zvýšené expresi ATOH1 a s ním i ke zvýšené expresi miR-375. V klasických MCC buněčných liniích jsou CpG ostrovy v promotorové oblasti hypometylované, což naznačuje že epigenetické změny v MCC hrají důležitou roli při regulaci exprese jak ATOH1, tak i miR-375 (Fan et al. 2020).

miR-375 se v MCC uplatňuje při regulaci exprese laktát dehydrogenázy b (LDHB – z angl. lactate dehydrogenase b). Tento enzym umožňuje reverzibilní oxidaci laktátu na pyruvát, přičemž generuje redukovanou formu nikotinamid adenin dinukleotidu (NADH) a má důležitou roli v metabolismu oxidativních i glykolytických nádorových buněk. Brisson a kol. potvrdili jeho klíčovou roli i během regulace autofágie a acidifikace lysozomů. Inhibice LDHB vede k inhibici autofágie a k omezení proliferace nádorových buněk (Brisson et al. 2016). V MCPyV-pozitivním MCC je nicméně role LDHB odlišná. Vyšší exprese miR-375 totiž vede ke snížení exprese LDHB a naopak inhibice miR-375 jeho expresi zvyšuje. Zvýšená exprese LDHB je spojena s nižší mírou buněčné proliferace a se stimulací apoptózy. V MCPyV-pozitivním MCC má tudíž miR-375 roli onkogenu a LDHB je naopak tumor supresorem (Kumar et al. 2018).

Fan a kol. se ve své studii podrobněji zabývali rolí ATOH1 v MCC. Jeho nadměrná exprese v MCC buněčných liniích a fibroblastech stimulovala u 75 % testovaných buněk změnu růstového typu z adherentního na suspenzní, což je typickým znakem neuroendokrinních buněk. ATOH1 tudíž mimo regulaci genové exprese, dokáže indukovat i změnu buněčného fenotypu. Při indukci exprese t-LT došlo k ještě vyšší expresi ATOH1 a současně se zvýšila i exprese miR-375. Tento efekt byl nejvýraznější u buněk, které obdržely neuroendokrinní růstový typ. Ačkoli je ATOH1 zásadní pro rozvoj charakteristických neuroendokrinních vlastností MCC, jeho inhibice neovlivnila proliferaci buněk MCC ani nesnížila jejich životaschopnost. Fan a kol. se tudíž domnívají, že ATOH1 je onkogen, který podporuje udržení neuroendokrinního fenotypu, ale není nezbytný pro přežití MCC buněčných linií (Fan et al. 2020).

9 Závěr

Cílem této práce bylo zejména objasnit problematiku rozvoje MCC v souvislosti s T antigeny MCPyV a popsat, jakými mechanismy přispívá exprese T antigenů k rozvoji tohoto agresivního kožního nádoru. Mutace LT důsledkem chybné replikace a nedostatečné aktivace DDR jsou spojené s integrací virového genomu do genomu hostitele. Obě tyto události jsou dnes již prokázanou prerekvizitou rozvoje MCC.

Veškeré funkce T antigenů, podílející se na zachování proliferační schopnosti a fenotypu MCC buněk stále nejsou známy. Tato práce detailněji pojednává o vybraných funkcích t-LT a ST při rozvoji MCC. První z nich je klíčová role T antigenů v modulaci p53 odpovědi, díky které může být pRb konstitutivně inaktivován t-LT, aniž by došlo k zastavení buněčného cyklu a k inhibici proliferace. Tímto způsobem se mohou MCC buňky aktivně dělit a metastázovat.

Velké množství různých typů nádorů zároveň moduluje buněčný metabolismus a ukázalo se, že k tomu dochází i v případě MCPyV-pozitivního MCC, u kterého byla pozorována zvýšená glykolytická aktivita buněk. Schopnost stimulovat aerobní glykolýzu má ST a to především prostřednictvím zvyšování exprese glukózových transportérů, stimulací exprese genů s enzymatickou aktivitou a stimulací laktátového exportu prostřednictvím MCT1. Aerobní glykolýza je v MCC buňkách zvýšena i díky t-LT, který stimuluje expresi ATOH1, čímž dochází ke zvýšené expresi miR-375. Tato miRNA následně snižuje expresi LDHB a dochází tak ke stimulaci glykolytické aktivity buněk.

Mimo mechanismy popsané v této práci je rovněž prokázána role modulace aktivity transkripčního faktoru 4E-BP1 prostřednictvím ST, což přispívá ke stimulaci transformace buněk. Dysregulace této dráhy díky ST umožňuje stimulovat buněčnou proliferaci a podpořit tak rozvoj MCC (Shuda et al. 2011).

Je nicméně důležité zmínit, že veškeré funkce T antigenů v MCC buňkách nebyly doposud objasněny. Tato práce se tudíž zaměřuje pouze na známé a poměrně dobře charakterizované mechanismy, kterými T antigeny přispívají k rozvoji tohoto agresivního kožního karcinomu. Další studie by mohly poskytnout komplexnější pohled na molekulární mechanismy vedoucí ke vzniku MCC a rovněž na problematiku ohledně interakcí mezi MCC buňkami a imunitním systémem.

10 Seznam použitých zdrojů

- Acebo, E., N. Vidaurrazaga, C. Varas, J. J. Burgos-Bretones, & J. L. Díaz-Pérez. 2005. „Merkel Cell Carcinoma: A Clinicopathological Study of 11 Cases". *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 19 (5): 546–551. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2005.01224.x>.
- Ahmed, M. M., C. H. Cushman, & J. A. DeCaprio. 2022. „Merkel Cell Polyomavirus: Oncogenesis in a Stable Genome". *Viruses* 14 (1): 58. <https://doi.org/10.3390/v14010058>.
- Alshalalfa, M. 2012. „MicroRNA Response Elements-mediated miRNA-miRNA Interactions in Prostate Cancer". *Advances in Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1155/2012/839837>.
- Bargonetti, J., P. N. Friedman, S. E. Kern, B. Vogelstein, & C. Prives. 1991. „Wild-Type but Not Mutant p53 Immunopurified Proteins Bind to Sequences Adjacent to the SV40 Origin of Replication". *Cell* 65 (6): 1083-1091 [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90560-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90560-1).
- Bates, S., A. C. Phillips, P. A. Clark, F. Stott, G. Peters, R. L. Ludwig, & K. H. Vousden. 1998. „p14ARF Links the Tumour Suppressors RB and p53". *Nature* 395 (6698): 124–125. <https://doi.org/10.1038/25867>.
- Becker, M., M. Dominguez, L. Greune, L. Soria-Martinez, M. M. Pfeleiderer, R. Schowalter, C. B. Buck, B. S. Blaum, M. A. Schmidt, & M. Schelhaas. 2019. „Infectious Entry of Merkel Cell Polyomavirus". *Journal of Virology* 93 (6). <https://doi.org/10.1128/jvi.02004-18>.
- Berrios, C., M. Padi, M. A. Keibler, D. E. Park, V. Molla, J. Cheng, S. M. Lee, G. Stephanopoulos, J. Quackenbush, & J. A. DeCaprio. 2016. „Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Promotes Pro-Glycolytic Metabolic Perturbations Required for Transformation". *PLoS Pathogens* 12 (11). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006020>.
- Bialasiewicz, S., S. B. Lambert, D. M. Whiley, M. D. Nissen, & T. P. Sloots. 2009. „Merkel Cell Polyomavirus DNA in Respiratory Specimens from Children and Adults". *Emerging Infectious Diseases* 15 (3): 492–494. <https://doi.org/10.3201/eid1503.081067>.
- Bofill-Mas, S., J. Rodriguez-Manzano, B. Calgua, A. Carratala, & R. Girones. 2010. „Newly Described Human Polyomaviruses Merkel Cell, KI and WU are Present in Urban Sewage and May Represent Potential Environmental Contaminants". *Virology Journal* 7: 141. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-141>.
- Bonito, P. Di, S. Della Libera, S. Petricca, M. Iaconelli, L. Accardi, M. Muscillo, & G. La Rosa. 2015. „Frequent and Abundant Merkel Cell Polyomavirus Detection in Urban Wastewaters in Italy". *Food and Environmental Virology* 7 (1): 1–6. <https://doi.org/10.1007/s12560-014-9168-y>.
- Bossuyt, W., A. Kazanjian, N. De Geest, S. Van Kelst, G. De Hertogh, K. Geboes, G. P. Boivin, J. Luciani, F. Fuks, M. Chuah, T. VandenDriessche, P. Marynen, J. Cools, N. F. Shroyer, & B. A.

- Hassan. 2009. „Atonal Homolog 1 Is a Tumor Suppressor Gene." *PLoS Biology* 7 (2): e39. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000039>.
- Brisson, L., P. Bański, M. Sboarina, C. Dethier, P. Danhier, M. J. Fontenille, V. F. Van Hée, T. Vazeille, M. Tardy, J. Falces, C. Bouzin, P. E. Porporato, R. Frédérick, C. Michiels, T. Copetti, & P. Sonveaux. 2016. „Lactate Dehydrogenase B Controls Lysosome Activity and Autophagy in Cancer". *Cancer Cell* 30 (3): 418–431. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.08.005>.
- Buchkovich, K., L. A. Duffy, & E. Harlow. 1989. „The Retinoblastoma Protein Is Phosphorylated during Specific Phases of the Cell Cycle". *Cell* 58 (6): 1097–1105. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(89\)90508-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90508-4).
- Calvignac-Spencer, S., M. C. W. Feltkamp, M. D. Daugherty, U. Moens, T. Ramqvist, R. Johne, & B. Ehlers. 2016. „A Taxonomy Update for the Family Polyomaviridae". *Archives of Virology* 161 (6): 1739–1750. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2794-y>.
- Carter, J. J., M. D. Daugherty, X. Qi, A. Bheda-Malge, G. C. Wipf, K. Robinson, A. Roman, H. S. Malik, & D. A. Galloway. 2013. „Identification of an Overprinting Gene in Merkel Cell Polyomavirus Provides Evolutionary Insight into the Birth of Viral Genes". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (31): 12744–12749. <https://doi.org/10.1073/pnas.1303526110>.
- Carter, M. D., D. Gaston, W. Y. Huang, W. L. Greer, S. Pasternak, T. Y. Ly, & N. M. Walsh. 2018. „Genetic Profiles of Different Subsets of Merkel Cell Carcinoma Show Links Between Combined and Pure MCPyV-negative Tumors". *Human Pathology* 71: 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2017.10.014>.
- Comerford, S. A., N. Schultz, E. A. Hinnant, S. Klapproth, & R. E. Hammer. 2012. „Comparative Analysis of SV40 17kT and LT Function in vivo Demonstrates that LTs C-terminus Re-programs Hepatic Gene Expression and Is Necessary for Tumorigenesis in the Liver". *Oncogenesis* 1 (9): e28. <https://doi.org/10.1038/oncsis.2012.27>.
- Czech-Sioli, M., T. Günther, M. Therre, M. Spohn, D. Indenbirken, J. Theiss, S. Riethdorf, M. Qi, M. Alawi, C. Wülbeck, I. Fernandez-Cuesta, F. Esmek, J. C. Becker, A. Grundhoff, & N. Fischer. 2020. „High-resolution Analysis of Merkel Cell Polyomavirus in Merkel Cell Carcinoma Reveals Distinct Integration Patterns and Suggests NHEJ and MMBIR as Underlying Mechanisms". *PLoS Pathogens* 16 (8): e1008562. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008562>.
- Doherty, J. R., C. Yang, K. E. N. Scott, M. D. Cameron, M. Fallahi, W. Li, M. A. Hall, A. L. Amelio, J. K. Mishra, F. Li, M. Tortosa, H. M. Genau, R. J. Rounbehler, Y. Lu, C. V. Dang, K. G. Kumar, A. A. Butler, T. D. Bannister, A. T. Hooper, K. Unsal-Kacmaz, W. R. Roush, & J. L. Cleveland. 2014. „Blocking Lactate Export by Inhibiting the Myc Target MCT1 Disables Glycolysis and Glutathione Synthesis". *Cancer Research* 74 (3): 908–920. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2034>.

- Dye, K. N., M. Welcker, B. E. Clurman, A. Roman, & D. A. Galloway. 2019. „Merkel Cell Polyomavirus Tumor Antigens Expressed in Merkel Cell Carcinoma Function Independently of the Ubiquitin Ligases Fbw7 and β -TrCP“. *PLoS Pathogens* 15 (1): e1007543. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007543>.
- Dyson, N. 1998. “The Regulation of E2F by pRB-family Proteins“. *Genes & Development* 12 (15): 2245–2262. <https://doi.org/10.1101/gad.12.15.2245>.
- Eispert, A. C., F. Fuchs, J. M. Brandner, P. Houdek, E. Wladykowski, & Ingrid Moll. 2009. „Evidence for Distinct Populations of Human Merkel Cells". *Histochemistry and Cell Biology* 132 (1): 83–93. <https://doi.org/10.1007/s00418-009-0578-0>.
- El-Deiry, W. S., T. Tokino, V. E. Velculescu, D. B. Levy, R. Parsons, J. M. Trent, D. Lin, W. E. Mercer, K. W. Kinzler, & B. Vogelstein. 1993. „WAF1, a Potential Mediator of p53 Tumor Suppression". *Cell* 75 (4): 817–825
- Fahrbach, K. M., R. B. Katzman, & K. Rundell. 2008. „Role of SV40 ST Antigen in the Persistent Infection of Mesothelial Cells". *Virology* 370 (2): 255–263. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.09.008>.
- Fan, K., J. Gravemeyer, C. Ritter, K. Rasheed, T. Gambichler, U. Moens, M. Shuda, D. Schrama, & J. C. Becker. 2020. „MCPyV Large T Antigen-Induced Atonal Homolog 1 Is a Lineage-Dependency Oncogene in Merkel Cell Carcinoma". *Journal of Investigative Dermatology* 140 (1): 56-65.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.06.135>.
- Fan, K., C. Ritter, P. Nghiem, A. Blom, M. E. Verhaegen, A. Dlugosz, N. Ødum, A. Woetmann, R. W. Tothill, R. J. Hicks, M. Sand, D. Schrama, D. Schadendorf, S. Ugurel, & J. C. Becker. 2018. „Circulating Cell-Free miR-375 as Surrogate Marker of Tumor Burden in Merkel Cell Carcinoma". *Clinical Cancer Research* 24 (23): 5873–5882. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1184>.
- Feng, H., H. J. Kwun, X. Liu, O. Gjoerup, D. B. Stolz, Y. Chang, & P. S. Moore. 2011. „Cellular and Viral Factors Regulating Merkel Cell Polyomavirus Replication". *PLoS ONE* 6 (7): e22468. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022468>.
- Feng, H., M. Shuda, Y. Chang, & P. S. Moore. 2008. „Clonal Integration of a Polyomavirus in Human Merkel Cell Carcinoma". *Science (New York, N.Y.)* 319 (5866): 1096–1100. <https://doi.org/10.1126/science.1152586>.
- Foulongne, V., N. Kluger, O. Dereure, G. Mercier, J. P. Molès, B. Guillot, & M. Segondy. 2010. „Merkel Cell Polyomavirus in Cutaneous Swabs". *Emerging Infectious Diseases* 16 (4): 685–687. <https://doi.org/10.3201/eid1604.091278>.
- Foulongne, V., V. Sauvage, C. Hebert, O. Dereure, J. Cheval, M. A. Gouilh, K. Pariente, M. Segondy, A. Burguière, J. C. Manuguerra, V. Caro, & M. Eloit. 2012. „Human Skin Microbiota: High Diversity of DNA Viruses Identified on the Human Skin by High Throughput Sequencing". *PLoS One* 7 (6): e38499. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038499>.

- Fradette, J., M. J. Godbout, M. Michel, & L. Germain. 1995. „Localization of Merkel Cells at Hairless and Hairy Human Skin Sites Using Keratin 18". *Biochemistry and Cell Biology* 73 (9–10): 635–639. <https://doi.org/10.1139/o95-070>.
- Gambichler, T., S. Mohtezabsade, U. Wieland, S. Silling, A. K. Höh, M. Dreißigacker, J. Schaller, H. J. Schulze, F. Oellig, A. Kreuter, E. Stockfleth, M. Stücker, F. G. Bechara, & J. C. Becker. 2017. „Prognostic Relevance of High Atonal Homolog-1 Expression in Merkel Cell Carcinoma". *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 143 (1): 43–49. <https://doi.org/10.1007/s00432-016-2257-6>.
- Garcia, C. K., J. L. Goldstein, R. K. Pathak, R. G. W. Anderson, & M. S. Brown. 1994. „Molecular Characterization of a Membrane Transporter for Lactate, Pyruvate, and Other Monocarboxylates: Implications for the Cori Cycle." *Cell* 76 (5): 865–873. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90361-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90361-1).
- Garneski, K. M., A. H. Warcola, Q. Feng, N. B. Kiviat, J. H. Leonard, & P. Nghiem. 2009. „Merkel cell polyomavirus is more frequently present in North American than Australian Merkel cell carcinoma tumors." *The Journal of investigative dermatology* 129 (1): 246–248. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.229>.
- Görlich, D., S. Prehn, R. A. Laskey, & E. Hartmann. 1994. „Isolation of a Protein That Is Essential for the First Step of Nuclear Protein Import". *Cell* 79 (5): 767–778. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90067-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90067-1)
- Gjørup, O. V., P. E. Rose, P. S. Holman, B. J. Bockus, & B. S. Schaffhausen. 1994. „Protein domains connect cell cycle stimulation directly to initiation of DNA replication". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91 (25): 12125–12129. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.25.12125>.
- Goh, G., T. Walradt, V. Markarov, A. Blom, N. Riaz, R. Doumani, K. Stafstrom, A. Moshiri, L. Yelistratova, J. Levinsohn, T. A. Chan, P. Nghiem, R. P. Lifton, & J. Choi. 2016. „Mutational Landscape of MCPyV-Positive and MCPyV-Negative Merkel Cell Carcinomas with Implications for Immunotherapy". *Oncotarget* 7 (3): 3403–3415. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6494>
- Goodrich, D. W., N. P. Wang, Y. W. Qian, E. Y. Lee, & W. H. Lee. 1991. “The Retinoblastoma Gene Product Regulates Progression through the G1 Phase of the Cell Cycle.” *Cell* 67 (2): 293–302. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90181-w](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90181-w)
- Gore, A., Z. Li, H. L. Fung, J. E. Young, S. Agarwal, J. Antosiewicz-Bourget, I. Canto, A. Giorgetti, M. A. Israel, E. Kiskinis, J. H. Lee, Y. H. Loh, P. D. Manos, N. Montserrat, A. D. Panopoulos, S. Ruiz, M. L. Wilbert, J. Yu, E. F. Kirkness, J. C. Izpisua Belmonte, & K. Zhang. 2011. „Somatic coding mutations in human induced pluripotent stem cells". *Nature* 471 (7336): 63–67. <https://doi.org/10.1038/nature09805>.

- Gravemeyer, J., I. Spassova, M. E. Verhaegen, A. A. Dlugosz, D. Hoffmann, A. Lange, & J. C. Becker. 2022. „DNA-methylation patterns imply a common cellular origin of virus- and UV-associated Merkel cell carcinoma". *Oncogene* 41 (1): 37–45. <https://doi.org/10.1038/s41388-021-02064-1>.
- Griffiths, D. A., H. Abdul-Sada, L. M. Knight, B. R. Jackson, K. Richards, E. L. Prescott, A. H. S. Peach, G. E. Blair, A. Macdonald, & A. Whitehouse. 2013. „Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Targets the NEMO Adaptor Protein To Disrupt Inflammatory Signaling". *Journal of Virology* 87 (24): 13853–13867. <https://doi.org/10.1128/jvi.02159-13>.
- Hammond, S. M., E. Bernstein, D. Beach, & G. J. Hannon. 2000. „An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells". *Nature* 404 (6775): 293–296. <https://doi.org/10.1038/35005107>.
- Harms, K. L., M. A. Healy, P. Nghiem, A. J. Sober, T. M. Johnson, C. K. Bichakjian, & S. L. Wong. 2016. „Analysis of Prognostic Factors from 9387 Merkel Cell Carcinoma Cases Forms the Basis for the New 8th Edition AJCC Staging System". *Annals of Surgical Oncology* 23 (11): 3564–3571. <https://doi.org/10.1245/s10434-016-5266-4>.
- Harper, J. W., G. R. Adami, N. Wei, K. Keyomarsi, & S. J. Elledge. 1993. „The p21 Cdk-Interacting Protein Cipl Is a Potent Inhibitor of G1 Cyclin-Dependent Kinases". *Cell* 75 (4): 805–816. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90499-g](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90499-g).
- Harrison, C. J., G. Meinke, H. J. Kwun, H. Rogalin, P. J. Phelan, P. A. Bullock, Y. Chang, P. S. Moore, & A. Bohm. 2011. „Asymmetric assembly of merkel cell polyomavirus large T-antigen origin binding domains at the viral origin". *Journal of Molecular Biology* 409 (4): 529–542. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.03.051>.
- Hausen, A. zur, D. Rennspiess, V. Winnepeninckx, E. J. Speel, & A. K. Kurz. 2013. „Early B-Cell differentiation in merkel cell carcinomas: Clues to cellular ancestry". *Cancer Research* 73 (16): 4982–4987. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-0616>.
- Heath, M., N. Jaimes, B. Lemos, A. Mostaghimi, L. C. Wang, P. F. Peñas, & P. Nghiem. 2008. „Clinical characteristics of Merkel cell carcinoma at diagnosis in 195 patients: the AEIOU features". *Journal of the American Academy of Dermatology* 58 (3): 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2007.11.020>.
- Hemmings, B. A., C. Adams-Pearson, F. Maurer, P. Müller, J. Goris, W. Merlevede, J. Hofsteenge, & S. R. Stone. 1990. "Alpha- and Beta-Forms of the 65-kDa Subunit of Protein Phosphatase 2A Have a Similar 39 Amino Acid Repeating Structure." *Biochemistry* 29 (13): 3166–3173. <https://doi.org/10.1021/bi00465a002>.
- Hiebert, S. W., S. P. Chellappan, J. M. Horowitz, & J. R. Nevins. 1992. „The interaction of RB with E2F coincides with an inhibition of the transcriptional activity of E2F". *Genes & Development* 6 (2): 177–185. <https://doi.org/10.1101/gad.6.2.177>.
- Hitchcock, C. L., K. I. Bland, R. G. Laney, 3rd, D. Franzini, B. Harris, & E. M. Copeland, 3rd. 1988. „Neuroendocrine (Merkel Cell) Carcinoma of the Skin Its Natural History, Diagnosis, and

- Treatment". *Annals of surgery*, 207 (2): 201–207. <https://doi.org/10.1097/00000658-198802000-00015>
- Honda, R., H. Tanaka, & H. Yasuda. 1997. „Oncoprotein MDM2 Is a Ubiquitin Ligase E3 for Tumor Suppressor p53". *FEBS Letters* 420 (1): 25–27. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01480-4](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01480-4).
- Houben, R., C. Adam, A. Baeurle, S. Hesbacher, J. Grimm, S. Angermeyer, K. Henzel, S. Hauser, R. Elling, E. B. Bröcker, S. Gaubatz, J. C. Becker, and D. Schrama. 2012. „An Intact Retinoblastoma Protein-binding Site in Merkel Cell Polyomavirus Large T antigen Is Required for Promoting Growth of Merkel Cell Carcinoma Cells". *International Journal of Cancer* 130 (4): 847–856. <https://doi.org/10.1002/ijc.26076>.
- Houben, R., S. Angermeyer, S. Haferkamp, A. Aue, M. Goebeler, D. Schrama, & S. Hesbacher. 2015. „Characterization of functional domains in the Merkel cell polyoma virus Large T antigen". *International Journal of Cancer* 136 (5): E290–E300. <https://doi.org/10.1002/ijc.29200>.
- *Houben, R., B. Celikdemir, T. Kervarrec, & D. Schrama. 2023. „Merkel Cell Polyomavirus: Infection, Genome, Transcripts and Its Role in Development of Merkel Cell Carcinoma". *Cancers* 15 (2): 444. <https://doi.org/10.3390/cancers15020444>.
- Houben, R., C. Dreher, S. Angermeyer, A. Borst, J. Utikal, S. Haferkamp, W. K. Peitsch, D. Schrama, & S. Hesbacher. 2013. „Mechanisms of p53 Restriction in Merkel Cell Carcinoma Cells Are Independent of the Merkel Cell Polyomavirus T Antigens". *Journal of Investigative Dermatology* 133 (10): 2453–2460. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.169>.
- Houben, R., M. Shuda, R. Weinkam, D. Schrama, H. Feng, Y. Chang, P. S. Moore, & J. C. Becker. 2010. „Merkel Cell Polyomavirus-Infected Merkel Cell Carcinoma Cells Require Expression of Viral T Antigens". *Journal of Virology* 84 (14): 7064–7072. <https://doi.org/10.1128/jvi.02400-09>.
- Husseiny, M. I., B. Anastasi, J. Singer, & S. F. Lacey. 2010. „A Comparative Study of Merkel cell, BK and JC Polyomavirus Infections in Renal Transplant Recipients and Healthy Subjects". *Journal of Clinical Virology* 49 (2): 137–140. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2010.06.017>.
- Chellappan, S. P., S. Hiebert, M. Mudryj, J. M. Horowitz, & J. F. Nevins. 1991. „The E2F Transcription Factor Is a Cellular Target for the RB Protein". *Cell* 65 (6): 1053–1061. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90557-f](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90557-f)
- Chen, L., W. Borchers, S. Wu, A. Becker, E. Schonbrunn, G. W. Daughdrill, & J. Chen. 2015. „Autoinhibition of MDMX by Intramolecular p53 Mimicry". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (15): 4624–4629. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420833112>.
- Cheng, J., D. E. Park, C. Berrios, E. A. White, R. Arora, R. Yoon, T. Branigan, T. Xiao, T. Westerling, A. Federation, R. Zeid, B. Strober, S. K. Swanson, L. Florens, J. E. Bradner, M. Brown, P. M. Howley, M. Padi, M. P. Washburn, and J. A. DeCaprio. 2017. „Merkel Cell Polyomavirus Recruits MYCL to the EP400 Complex to Promote Oncogenesis". *PLoS Pathogens* 13 (10): e1006668. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006668>.

- Cheng, J., O. Rozenblatt-Rosen, K. G. Paulson, P. Nghiem, & J. A. DeCaprio. 2013. „Merkel Cell Polyomavirus Large T Antigen Has Growth-Promoting and Inhibitory Activities". *Journal of Virology* 87 (11): 6118–6126. <https://doi.org/10.1128/jvi.00385-13>.
- Cheuk, W., M. Y. Kwan, S. Suster, & J. K. Chan. 2001. „Immunostaining for Thyroid Transcription Factor 1 and Cytokeratin 20 Aids the Distinction of Small Cell Carcinoma From Merkel Cell Carcinoma, but Not Pulmonary From Extrapulmonary Small Cell Carcinomas". *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 125 (2): 228–231. <https://doi.org/10.5858/2001-125-0228-IFTTFA>.
- Jacobs, D., H. Huang, K. Olino, S. Weiss, H. Kluger, B. L. Judson, & Y. Zhang. 2021. „Assessment of Age, Period, and Birth Cohort Effects and Trends in Merkel Cell Carcinoma Incidence in the United States". *JAMA Dermatology* 157 (1): 59–65. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2020.4102>.
- Kervarrec, T., S. Appenzeller, M. Samimi, B. Sarma, E. M. Sarosi, P. Berthon, Y. Le Corre, E. Hainaut-Wierzbicka, A. Blom, N. Benethon, G. Bens, C. Nardin, F. Aubin, M. Dinulescu, M.-L. Jullie, Á. Pekár-Lukacs, E. Calonje, S. Thanguturi, A. Tallet, M. Wobser, & D. Schrama. 2022. „Merkel Cell Polyomavirus–Negative Merkel Cell Carcinoma Originating from In Situ Squamous Cell Carcinoma: A Keratinocytic Tumor with Neuroendocrine Differentiation". *Journal of Investigative Dermatology* 142 (3): 516–527. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2021.07.175>.
- Keymeulen, A. V., G. Mascré, K. K. Youseff, I. Harel, C. Michaux, N. De Geest, C. Szpalski, Y. Achouri, W. Bloch, B. A. Hassan, & C. Blanpain. 2009. „Epidermal Progenitors Give Rise to Merkel Cells During Embryonic Development and Adult Homeostasis". *Journal of Cell Biology* 187 (1): 91–100. <https://doi.org/10.1083/jcb.200907080>.
- Knight, L. M., G. Stakaityte, J. J. Wood, H. Abdul-Sada, D. A. Griffiths, G. J. Howell, R. Wheat, G. E. Blair, N. M. Steven, A. Macdonald, D. J. Blackburn, & A. Whitehouse. 2015. „Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Mediates Microtubule Destabilization To Promote Cell Motility and Migration". *Journal of Virology* 89 (1): 35–47. <https://doi.org/10.1128/jvi.02317-14>.
- Krump, N. A., R. Wang, W. Liu, J. F. Yang, T. Ma, & J. You. 2021. „Merkel Cell Polyomavirus Infection Induces an Antiviral Innate Immune Response in Human Dermal Fibroblasts". *Journal of Virology* 95 (13): e0221120. <https://doi.org/10.1128/JVI.02211-20>.
- Kumar, S., H. Xie, P. Scicluna, L. Lee, V. Björnham, A. Höög, C. Larsson & W. O. Lui. 2018. „MiR-375 Regulation of LDHB Plays Distinct Roles in Polyomavirus-Positive and -Negative Merkel Cell Carcinoma". *Cancers* 10 (11): 443. doi:10.3390/cancers10110443.
- Kurokawa, M., K. Nabeshima, Y. Akiyama, S. Maeda, T. Nishida, F. Nakayama, M. Amano, K. Ogata, & M. Setoyama. 2003. „CD56: A Useful Marker for Diagnosing Merkel Cell Carcinoma". *Journal of Dermatological Science* 31 (3): 219–224. [https://doi.org/10.1016/S0923-1811\(03\)00029-X](https://doi.org/10.1016/S0923-1811(03)00029-X).

- Kwun, H. J., A. Guastafierro, M. Shuda, G. Meinke, A. Bohm, P. S. Moore, & Y. Chang. 2009. „The Minimum Replication Origin of Merkel Cell Polyomavirus Has a Unique Large T-Antigen Loading Architecture and Requires Small T-Antigen Expression for Optimal Replication". *Journal of Virology* 83 (23): 12118–12128. <https://doi.org/10.1128/jvi.01336-09>.
- Kwun, H. J., Y. Chang, & P. S. Moore. 2017. „Protein-mediated Viral Latency Is a Novel Mechanism for Merkel Cell Polyomavirus Persistence". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114 (20): E4040–E4047. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703879114>.
- Kwun, H. J., M. Shuda, C. J. Camacho, A. M. Gamper, M. Thant, Y. Chang, & P. S. Moore. 2015. „Restricted Protein Phosphatase 2A Targeting by Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen". *Journal of Virology* 89 (8): 4191–4200. <https://doi.org/10.1128/jvi.00157-15>.
- Kwun, H. J., M. Shuda, H. Feng, C. J. Camacho, P. S. Moore, & Y. Chang. 2013. „Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Controls Viral Replication and Oncoprotein Expression by Targeting the Cellular Ubiquitin Ligase SCF Fbw7". *Cell Host and Microbe* 14 (2): 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.06.008>.
- Lacour, J. P., D. Dubois, A. Pisani, & J. P. Ortonne. 1991. „Anatomical Mapping of Merkel Cells In Normal Human Adult Epidermis". *British Journal of Dermatology* 125 (6): 535–542. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1991.tb14790.x>.
- Lanclos, N., P. Radulovic, J. Bland, V. Oganisyan, K. Radefeld, & V. N. Uversky. 2023. „Implications of Intrinsic Disorder and Functional Proteomics in the Merkel Cell Polyomavirus Life Cycle". *Journal of Cellular Biochemistry* 125 (12): e30485. <https://doi.org/10.1002/jcb.30485>.
- Lee, R. C., R. L. Feinbaum, & V. Ambrost. 1993. „The *C. elegans* Heterochronic Gene *lin-4* Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14*". *Cell* 75 (5): 843–854. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-y).
- Li, J., X. Wang, J. Diaz, S. H. Tsang, C. B. Buck, & J. You. 2013. „Merkel Cell Polyomavirus Large T Antigen Disrupts Host Genomic Integrity and Inhibits Cellular Proliferation". *Journal of Virology* 87 (16): 9173–9188. <https://doi.org/10.1128/jvi.01216-13>.
- Lilo, M. T., Y. Chen, & R. E. LeBlanc. 2018. „INSM1 Is More Sensitive and Interpretable than Conventional Immunohistochemical Stains Used to Diagnose Merkel Cell Carcinoma". *The American journal of surgical pathology* 42 (11): 1541–1548. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001136>.
- Lilyestrom, W., M. G. Klein, R. Zhang, A. Joachimiak, & X. S. Chen. 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): 2373–2382. <https://doi.org/10.1101/gad.1456306>.
- Liu, D., C. Sheng, S. Gao, C. Yao, J. Li, W. Jiang, H. Chen, J. Wu, C. Pan, S. Chen, & W. Huang. 2015. „SOCS3 Drives Proteasomal Degradation of TBK1 and Negatively Regulates Antiviral

- Innate Immunity". *Molecular and Cellular Biology* 35 (14): 2400–2413.
<https://doi.org/10.1128/mcb.00090-15>.
- *Liu, T., L. Zhang, D. Joo, & S. C. Sun. 2017. „NF- κ B Signaling in Inflammation". *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2: 17023. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>.
- Liu, W., R. Yang, A. S. Payne, R. M. Schowalter, M. E. Spurgeon, P. F. Lambert, X. Xu, C. B. Buck, & J. You. 2016. „Identifying the Target Cells and Mechanisms of Merkel Cell Polyomavirus Infection". *Cell Host and Microbe* 19 (6): 775–787. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.04.024>.
- Liu, X., J. Hein, S. C. W. Richardson, P. H. Basse, T. Toptan, P. S. Moore, O. V. Gjoerup, & Y. Chang. 2011. „Merkel Cell Polyomavirus Large T Antigen Disrupts Lysosome Clustering by Translocating Human Vam6p from the Cytoplasm to the Nucleus". *Journal of Biological Chemistry* 286 (19): 17079–17090. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.192856>.
- Low, J. A., B. Magnuson, B. Tsai, & M. J. Imperiale. 2006. „Identification of Gangliosides GD1b and GT1b as Receptors for BK Virus". *Journal of Virology* 80 (3): 1361–1366.
<https://doi.org/10.1128/jvi.80.3.1361-1366.2006>.
- Loyo, M., R. Guerrero-Preston, M. Brait, M. O. Hoque, A. Chuang, M. S. Kim, N. J. Liégeois, W. M. Koch, J. A. Califano, W. H. Westra, & D. Sidransky. 2010. „Quantitative detection of Merkel cell virus in human tissues and possible mode of transmission". *International Journal of Cancer* 126 (12): 2991–2996. <https://doi.org/10.1002/ijc.24737>.
- Martel-Jantin, C., V. Pedergnana, J. T. J. Nicol, V. Leblond, D. A. Trégouët, P. Tortevoys, S. Plancoulaine, P. Coursaget, A. Touzé, L. Abel, & A. Gessain. 2013. „Merkel Cell Polyomavirus Infection Occurs During Early Childhood and Is Transmitted Between Siblings". *Journal of Clinical Virology* 58 (1): 288–291. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2013.06.004>.
- Mayo, L. D., J. J. Turchi, & S. J. Berberich. 1997. „Mdm-2 Phosphorylation by DNA-Dependent Protein kinase prevents interaction with p53". *Cancer research* 57 (22): 5013–5016.
- Melchior, F., B. Paschal, J. Evans, & L. Gerace. 1993. „Inhibition of Nuclear Protein Import by Nonhydrolyzable Analogues of GTP and Identification of the Small GTPase Ran/TC4 as an Essential Transport Factor". *The Journal of cell biology* 123 (6 Pt 2): 1649–1659.
<https://doi.org/10.1083/jcb.123.6.1649>.
- Mendler A. N., B. Hu, P. U. Prinz, M. Kreutz, E. Gottfried, & E. Noessner. 2012. „Tumor Lactic Acidosis Suppresses CTL Function by Inhibition of p38 and JNK/c-Jun Activation". *International Journal of Cancer* 131 (3): 633–640. <https://doi.org/10.1002/ijc.26410>.
- Merkel, F. 1875. „Tastzellen und Tastkörperchen bei den Hausthieren und beim Menschen". *Archiv für mikroskopische Anatomie* 11: 636–652.
- Milholland, B., X. Dong, L. Zhang, X. Hao, Y. Suh, & J. Vijg. 2017. „Differences Between Germline and Somatic Mutation Rates in Humans and Mice". *Nature communications* 8: 15183.
<https://doi.org/10.1038/ncomms15183>.

- Miller, S. D., G. Farmer, & C. Prives. 1995. „p53 Inhibits DNA Replication In Vitro in a DNA-Binding-Dependent Manner". *Molecular and cellular biology* 15 (12): 6554–6560.
<https://doi.org/10.1128/MCB.15.12.6554>
- Moll, I., C. Kuhn, & R. Moll. 1995. „Cytokeratin 20 Is a General Marker of Cutaneous Merkel Cells While Certain Neuronal Proteins Are Absent". *Journal of Investigative Dermatology* 104 (6): 910–915. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12606183>.
- Moll, R., A. Lowe, J. Laufer, & W. W. Franket. 1992. „Cytokeratin 20 in Human Carcinomas A New Histodiagnostic Marker Detected by Monoclonal Antibodies". *The American journal of pathology* 140 (2): 427–447.
- Morrison, K. M., G. R. Miesegaes, E. A. Lumpkin, & S. M. Maricich. 2009. „Mammalian Merkel Cells Are Descended from the Epidermal Lineage". *Developmental Biology* 336 (1): 76–83.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.09.032>.
- Moshiri, A. S., R. Doumani, L. Yelistratova, A. Blom, K. Lachance, M. M. Shinohara, M. Delaney, O. Chang, S. McArdle, H. Thomas, M. M. Asgari, M. L. Huang, S. M. Schwartz, & P. Nghiem. 2017. „Polyomavirus-Negative Merkel Cell Carcinoma: A More Aggressive Subtype Based on Analysis of 282 Cases Using Multimodal Tumor Virus Detection". *Journal of Investigative Dermatology* 137 (4): 819–827. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.10.028>.
- Nakamura, N., A. Hirata, Y. Ohsumi, & Y. Wada. 1997. „Vam2/Vps41p and Vam6/Vps39p Are Components of a Protein Complex on the Vacuolar Membranes and Involved in the Vacuolar Assembly in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*". *Journal of Biological Chemistry* 272 (17): 11344–11349. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.17.11344>.
- Nakamura, T., Y. Sato, D. Watanabe, H. Ito, N. Shimonohara, T. Tsuji, N. Nakajima, Y. Suzuki, K. Matsuo, H. Nakagawa, T. Sata, & H. Katano. 2010. „Nuclear Localization of Merkel Cell Polyomavirus Large T Antigen in Merkel Cell Carcinoma". *Virology* 398 (2): 273–279.
<https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.12.024>.
- Neu, U., H. Hengel, B. S. Blaum, R. M. Schowalter, D. Macejak, M. Gilbert, W. W. Wakarchuk, A. Imamura, H. Ando, M. Kiso, N. Arnberg, R. L. Garcea, T. Peters, C. B. Buck, & T. Stehle. 2012. „Structures of Merkel Cell Polyomavirus VP1 Complexes Define a Sialic Acid Binding Site Required for Infection". *PLoS Pathogens* 8 (7): 8. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002738>.
- Neu, U., M. S. Maginnis, A. S. Palma, L. J. Ströh, C. D. S. Nelson, T. Feizi, W. J. Atwood, & T. Stehle. 2010. „Structure-Function Analysis of the Human JC Polyomavirus Establishes the LSTc Pentasaccharide as a Functional Receptor Motif". *Cell Host and Microbe* 8 (4): 309–319.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2010.09.004>.
- Neumann, F., S. Borchert, C. Schmidt, R. Reimer, H. Hohenberg, N. Fischer, & A. Grundhoff. 2011. „Replication, Gene Expression and Particle Production by a Consensus Merkel Cell Polyomavirus (MCPyV) Genome". *PLoS ONE* 6 (12).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029112>.

- Nicol, J. T. J., R. Robinot, A. Carpentier, G. Carandina, E. Mazzoni, M. Tognon, A. Touzé, & P. Coursaget. 2013. „Age-Specific Seroprevalences of Merkel Cell Polyomavirus, Human Polyomaviruses 6, 7, and 9, and Trichodysplasia Spinulosa-Associated Polyomavirus". *Clinical and Vaccine Immunology* 20 (3): 363–368. <https://doi.org/10.1128/CVI.00438-12>.
- Nwogu N., L. E. Ortiz, & H. J. Kwun. 2020. „Merkel Cell Polyomavirus Large T Antigen Unique Domain Regulates Its Own Protein Stability and Cell Growth". *Viruses* 12 (9): 1043 <https://doi.org/10.3390/v12091043>.
- Pabla, N., S. Huang, Q. S. Mi, R. Daniel, & Z. Dong. 2008. „ATR-Chk2 Signaling in p53 Activation and DNA Damage Response During Cisplatin-Induced Apoptosis". *Journal of Biological Chemistry* 283 (10): 6572–6583. <https://doi.org/10.1074/jbc.M707568200>.
- Pancaldi, C., V. Corazzari, S. Maniero, E. Mazzoni, M. Comar, F. Martini, & M. Tognon. 2011. „Merkel Cell Polyomavirus DNA Sequences in the Buffy Coats of Healthy Blood Donors“. *Blood* 117 (26): 7099–7101. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-09-310557>
- Park, D. E., J. Cheng, C. Berrios, J. Montero, M. Cortés-Cros, S. Ferretti, R. Arora, M. L. Tillgren, P. C. Gokhale, & J. A. DeCaprio. 2019. „Dual Inhibition of MDM2 and MDM4 in Virus-Positive Merkel Cell Carcinoma Enhances the p53 Response“. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116 (3): 1027–1032. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818798116>.
- Pastrana, D. V., Y. L. Tolstov, J. C. Becker, P. S. Moore, Y. Chang, & C. B. Buck. 2009. „Quantitation of Human Seroresponsiveness to Merkel Cell Polyomavirus“. *PLoS Pathogens* 5 (9): e1000578. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000578>.
- Paulson, K. G., B. D. Lemos, B. Feng, N. Jaimes, P. F. Pêas, X. Bi, E. Maher, L. Cohen, J. H. Leonard, S. R. Granter, L. Chin, & P. Nghiem. 2009. „Array-CGH Reveals Recurrent Genomic Changes in Merkel Cell Carcinoma Including Amplification of L-Myc". *Journal of Investigative Dermatology* 129 (6): 1547–1555. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.365>.
- Pectasides D., M. Pectasides, A. Psyrris, A. Koumariou, N. Xiros, E. Pectasides, A. Gaglia, E. Lianos, G. Papaxoinis, V. Lampadiari, & T. Economopoulos. 2006. „Cisplatin-Based Chemotherapy for Merkel Cell Carcinoma of the Skin". *Cancer Investigation* 24 (8): 780–785. <https://doi.org/10.1080/07357900601062354>.
- Peng, W. Y., B. Abere, H. Shi, S. Toland, T. E. Smithgall, P. S. Moore, & Y. Chang. 2023. „Membrane-Bound Merkel Cell Polyomavirus Middle T Protein Constitutively Activates PLCγ1 Signaling Through Src-Family Kinases". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 120 (51): e2316467120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2316467120>.
- Perdigoto, C. N., E. S. Bardot, V. J. Valdes, F. J. Santoriello, & E. Ezhkova. 2014. „Embryonic Maturation of Epidermal Merkel Cells Is Controlled by a Redundant Transcription Factor Network ". *Development (Cambridge)* 141 (24): 4690–4696. <https://doi.org/10.1242/dev.112169>.

- Rapchak, K., S. D. Yagobian, J. Moore, M. Khattri, & M. Shuda. 2022. „Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Is a Viral Transcription Activator That Is Essential for Viral Genome Maintenance". *PLoS Pathogens* 18 (12): e1011039. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011039>.
- Rofstad, E. K., B. Mathiesen, K. Kindem, & K. Galappathi. 2006. „Acidic Extracellular pH Promotes Experimental Metastasis of Human Melanoma Cells in Athymic Nude Mice ". *Cancer Research* 66 (13): 6699–6707. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0983>.
- Salisbury, N. J. H., S. Amonkar, J. L. Vinueza, J. J. Carter, A. Roman, & D. A. Galloway. 2024. „Polyomavirus ALTOs, but Not MTs, Downregulate Viral Early Gene Expression by Activating the NF- κ B Pathway ". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 121 (34): e2403133121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2403133121>.
- Sanchez, E. L., P. A. Carroll, A. B. Thalhoffer, & M. Lagunoff. 2015. „Latent KSHV Infected Endothelial Cells Are Glutamine Addicted and Require Glutaminolysis for Survival". *PLoS Pathogens* 11 (7): e1005052. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005052>.
- Sastre-Garau, X., M. Peter, M. F. Avril, H. Laude, J. Couturier, F. Rozenberg, A. Almeida, F. Boitier, A. Carlotti, B. Couturaud, & N. Dupin. 2009. „Merkel Cell Carcinoma of the Skin: Pathological and Molecular Evidence for a Causative Role of MCV in Oncogenesis". *The Journal of Pathology* 218 (1): 48–56. <https://doi.org/10.1002/path.2532>.
- Seo, G. J., C. J. Chen, & C. S. Sullivan. 2009. „Merkel Cell Polyomavirus Encodes a MicroRNA with the Ability to Autoregulate Viral Gene Expression". *Virology* 383 (2): 183–187. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.11.001>.
- *Seshacharyulu, P., P. Pandey, K. Datta, & S. K. Batra. 2013. „Phosphatase: PP2A Structural Importance, Regulation and Its Aberrant Expression in Cancer". *Cancer Letters* 335 (1): 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.02.036>.
- Shuda, M., R. Arora, H. J. Kwun, H. Feng, R. Sarid, M. T. Fernández-Figueras, Y. Tolstov, O. Gjoerup, M. M. Mansukhani, S. H. Swerdlow, P. M. Chaudhary, J. M. Kirkwood, M. A. Nalesnik, J. A. Kant, L. M. Weiss, P. S. Moore, & Y. Chang. 2009. „Human Merkel Cell Polyomavirus Infection I: MCV T Antigen Expression in Merkel Cell Carcinoma, Lymphoid Tissues and Lymphoid Tumors." *International Journal of Cancer* 125 (6): 1243–1249. <https://doi.org/10.1002/ijc.24510>.
- Shuda, M., H. Feng, H. J. Kwun, S. T. Rosen, O. Gjoerup, P. S. Moore, & Y. Chang. 2008. „T Antigen Mutations Are a Human Tumor-Specific Signature for Merkel Cell Polyomavirus". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (42): 16272–16277. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806526105>.
- Shuda, M., A. Guastafierro, X. Geng, Y. Shuda, S. M. Ostrowski, S. Lukianov, F. J. Jenkins, K. Honda, S. M. Maricich, P. S. Moore, & Y. Chang. 2015. „Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Induces Cancer and Embryonic Merkel Cell Proliferation in a Transgenic Mouse Model." *PLoS ONE* 10 (11): e0142329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142329>.

- Shuda, M., H. J. Kwun, H. Feng, Y. Chang & P. S. Moore. 2011. „Human Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Is an Oncoprotein Targeting the 4E-BP1 Translation Regulator“. *Journal of Clinical Investigation* 121 (9): 3623–3634. <https://doi.org/10.1172/JCI46323>.
- Shvarts, A., W. T. Steegenga, N. Riteco, T. van Laar, P. Dekker, M. Bazuine, R. C. van Ham, W. van der Houven van Oordt, G. Hateboer, A. J. van der Eb, & A. G. Jochemsen. 1996. „MDMX: A Novel p53-Binding Protein with Some Functional Properties of MDM2.“ *The EMBO Journal* 15 (19): 5349–5357.
- Schwalter, R. M., & C. B. Buck. 2013. „The Merkel Cell Polyomavirus Minor Capsid Protein“. *PLoS Pathogens* 9 (8): e1003558. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003558>.
- Schwalter, R. M., D. V. Pastrana, & C. B. Buck. 2011. „Glycosaminoglycans and Sialylated Glycans Sequentially Facilitate Merkel Cell Polyomavirus Infectious Entry“. *PLoS Pathogens* 7 (7): e1002161. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002161>.
- Schwalter, R. M., D. V. Pastrana, K. A. Pumphrey, A. L. Moyer, & C. B. Buck. 2010. „Merkel Cell Polyomavirus and Two Previously Unknown Polyomaviruses Are Chronically Shed from Human Skin“. *Cell Host and Microbe* 7 (6): 509–515. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2010.05.006>.
- Schrama, D., E. M. Sarosi, C. Adam, C. Ritter, U. Kaemmerer, E. Klopocki, E. M. König, J. Utikal, J. C. Becker, & R. Houben. 2019. „Characterization of Six Merkel Cell Polyomavirus-Positive Merkel Cell Carcinoma Cell Lines: Integration Pattern Suggest That Large T Antigen Truncating Events Occur before or during Integration“. *International Journal of Cancer* 145 (4): 1020–1032. <https://doi.org/10.1002/ijc.32280>.
- Song, Y., F. S. Azari, R. Tang, A. B. Shannon, J. T. Miura, D. L. Fraker, & G. C. Karakousis. 2021. „Patterns of Metastasis in Merkel Cell Carcinoma“. *Annals of Surgical Oncology* 28 (1): 519–529. <https://doi.org/10.1245/s10434-020-08587-3>.
- Spurgeon, M. E., J. Cheng, E. Ward-Shaw, F. A. Dick, J. A. DeCaprio, & P. F. Lambert. 2022. „Merkel Cell Polyomavirus Large T Antigen Binding to pRb Promotes Skin Hyperplasia and Tumor Development“. *PLoS Pathogens* 18 (5): e1010551. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010551>.
- Starrett, G. J., M. Thakuria, T. Chen, C. Marcelus, J. Cheng, J. Nomburg, A. R. Thorner, M. K. Slevin, W. Powers, R. T. Burns, C. Perry, A. Piris, F. C. Kuo, G. Rabinowits, A. Giobbie-Hurder, L. E. MacConaill, & J. A. DeCaprio. 2020. „Clinical and molecular characterization of virus-positive and virus-negative Merkel cell carcinoma“. *Genome Medicine* 12 (1): 30. <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00727-4>.
- Stone, S. R., J. Hofsteenge, & B. A. Hemmings. 1987. „Molecular Cloning of cDNAs Encoding Two Isoforms of the Catalytic Subunit of Protein Phosphatase 2A.“ *Biochemistry* 26 (23): 7215–7220. <https://doi.org/10.1021/bi00397a003>.
- *Sunshine, J. C., N. S. Jahchan, J. Sage, & J. Choi. 2018. „Are There Multiple Cells of Origin of Merkel Cell Carcinoma?“. *Oncogene* 37 (11): 1409–1416. <https://doi.org/10.1038/s41388-017-0073-3>.

- Tang, C. K., & C Toker. 1978. „Trabecular Carcinoma of the Skin. An Ultrastructural Study". *Cancer* 42 (5): 2311–2321. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197811\)42:5<2311:: aid-cncr2820420531>3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197811)42:5<2311::aid-cncr2820420531>3.0.co;2-1) .
- Thai, M., N. A. Graham, D. Braas, M. Nehil, E. Komisopoulou, S. K. Kurdistani, F. McCormick, T. G. Graeber, & H. R. Christofk. 2014. „Adenovirus E4ORF1-Induced MYC Activation Promotes Host Cell Anabolic Glucose Metabolism and Virus Replication". *Cell Metabolism* 19 (4): 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.03.009>.
- Theiss, J. M., T. Günther, M. Alawi, F. Neumann, U. Tessmer, N. Fischer, & A. Grundhoff. 2015. „A Comprehensive Analysis of Replicating Merkel Cell Polyomavirus Genomes Delineates the Viral Transcription Program and Suggests a Role for mcv-miR-M1 in Episomal Persistence". *PLoS Pathogens* 11 (7): e1004974. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004974>.
- Thevenin, K. R., I. S. Tieche, C. E. Di Benedetto, M. Schragar, & K. N. Dye. 2024. „The Small Tumor Antigen of Merkel Cell Polyomavirus Accomplishes Cellular Transformation by Uniquely Localizing to the Nucleus despite the Absence of a Known Nuclear Localization Signal". *Virology Journal* 21 (1): 62. <https://doi.org/10.1186/s12985-024-02395-x>.
- Tilling, T., & I. Moll. 2012. „Which Are the Cells of Origin in Merkel Cell Carcinoma?“. *Journal of Skin Cancer* 2012: 1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/680410>.
- Toker, C. 1972. „Trabecular Carcinoma of the Skin". *Archives of Dermatology* 105 (1): 107–110. <https://doi.org/10.1001/archderm.1972.01620040075020>.
- Tolstov, Y. L., A. Knauer, J. G. Chen, T. W. Kensler, L. A. Kingsley, P. S. Moore, & Y. Chang. 2011. „Asymptomatic Primary Merkel Cell Polyomavirus Infection among Adults". *Emerging Infectious Diseases* 17 (8): 1371–1380. <https://doi.org/10.3201/eid1708.110079>.
- Tolstov, Y. L., D. V. Pastrana, H. Feng, J. C. Becker, F. J. Jenkins, S. Moschos, Y. Chang, C. B. Buck, & P. S. Moore. 2009. „Human Merkel Cell Polyomavirus Infection II. MCV Is a Common Human Infection That Can Be Detected by Conformational Capsid Epitope Immunoassays". *International Journal of Cancer* 125 (6): 1250–1256. <https://doi.org/10.1002/ijc.24509>.
- Tsai, B., J. M. Gilbert, T. Stehle, W. Lencer, T. L. Benjamin, & T. A. Rapoport. 2003. „Gangliosides Are Receptors for Murine Polyoma Virus and SV40". *The EMBO Journal* 22 (17): 4346–4355. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/emboj/cdg439>.
- Tsang, S. H., R. Wang, E. Nakamaru-Ogiso, S. A. B. Knight, C. B. Buck, & J. You. 2016. „The Oncogenic Small Tumor Antigen of Merkel Cell Polyomavirus Is an Iron-Sulfur Cluster Protein That Enhances Viral DNA Replication". *Journal of Virology* 90 (3): 1544–1556. <https://doi.org/10.1128/jvi.02121-15>.
- Vaigot, P., A. Pisani, Y. M. Darmon, & J. P. Ortonne. 1987. „The Majority of Epidermal Merkel Cells Are Non-proliferative: A Quantitative Immunofluorescence Analysis". *Acta dermato-venereologica* 67 (6): 517–520.

- Villareal, V. A., M. A. Rodgers, D. A. Costello, & P. L. Yang. 2015. „Targeting Host Lipid Synthesis and Metabolism to Inhibit Dengue and Hepatitis C Viruses“. *Antiviral Research* 124: 110–121. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.10.013>.
- Wan, L., S. Toland, L. R. Robinson-McCarthy, N. Lee, M. A. Schaich, S. R. Hengel, X. Li, K. A. Bernstein, B. Van Houten, Y. Chang, & P. S. Moore. 2023. „Unlicensed Origin DNA Melting by MCV and SV40 Polyomavirus LT Proteins Is Independent of ATP-dependent Helicase Activity". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 120 (30): e2308010120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2308010120>.
- Wang, R., T. E. Senay, T. T. Luo, W. Liu, J. M. Regan, N. J. H. Salisbury, D. A. Galloway, & J. You. 2024. „Merkel Cell Polyomavirus Protein ALTO Modulates TBK1 Activity to Support Persistent Infection". *PLoS Pathogens* 20 (7): e1012170. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012170>.
- Warner, T. F., H. Uno, G. R. Hafez, J. Burgess, C. Bolles, R. V. Lloyd, & M. Oka. 1983. „Merkel Cells and Merkel Cell Tumors: Ultrastructure, Immunocytochemistry and Review of the Literature“. *Cancer* 52 (2): 238–245. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19830715\)52:2<238::aid-cncr2820520209>3.0.co;2-w](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19830715)52:2<238::aid-cncr2820520209>3.0.co;2-w).
- *Wendzicki, J. A., P. S. Moore, & Y. Chang. 2015. „Large T and Small T Antigens of Merkel Cell Polyomavirus". *Current Opinion in Virology* 11: 38–43. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.01.009>.
- *White, M. F., & M. S. Dillingham. 2012. „Iron-Sulphur Clusters in Nucleic Acid Processing Enzymes". *Current Opinion in Structural Biology* 22 (1): 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2011.11.004>.
- Wieland, U., S. Silling, N. Scola, A. Potthoff, T. Gambichler, N. H. Brockmeyer, H. Pfister, & A. Kreuter. 2011. „Merkel Cell Polyomavirus Infection in HIV-Positive Men". *Archives of Dermatology* 147 (4): 401–406. <https://doi.org/10.1001/archdermatol.2011.42>.
- Wright, M. C., E. G. Reed-Geaghan, A. M. Bolock, T. Fujiyama, M. Hoshino, & S. M. Maricich. 2015. „Unipotent, Atoh1+ Progenitors Maintain the Merkel Cell Population in Embryonic and Adult Mice“. *The Journal of Cell Biology* 208 (3): 367–379. <https://doi.org/10.1083/jcb.201407101>.
- Xu, L., D. Fukumura, & R. K. Jain. 2002. „Acidic Extracellular pH Induces Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Human Glioblastoma Cells via ERK1/2 MAPK Signaling Pathway: Mechanism of Low pH-Induced VEGF". *The Journal of Biological Chemistry* 277 (13): 11368–11374. <https://doi.org/10.1074/jbc.M108347200>.
- Yang, J. F., W. Liu, & J. You. 2023. „Characterization of Molecular Mechanisms Driving Merkel Cell Polyomavirus Oncogene Transcription and Tumorigenic Potential". *PLoS Pathogens* 19 (8): e1011598. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011598>.

- Youlden, D. R., H. P. Soyer, P. H. Youl, L. Fritschi, & P. D. Baade. 2014. „Incidence and Survival for Merkel Cell Carcinoma in Queensland, Australia, 1993-2010". *JAMA Dermatology* 150 (8): 864–872. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2014.124>.
- Zhang, Y., Y. Xiong, & W. G. Yarbrough. 1998. „ARF Promotes MDM2 Degradation and Stabilizes p53: *ARF-INK4a* Locus Deletion Impairs Both the Rb and p53 Tumor Suppression Pathways“. *Cell* 92 (6): 725–734. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81401-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81401-4).
- *Zhao, J., D. Jin, M. Huang, J. Ji, X. Xu, F. Wang, L. Zhou, B. Bao, F. Jiang, W. Xu, X. Lu, & M. Xiao. 2024. „Glycolysis in the Tumor Microenvironment: A Driver of Cancer Progression and a Promising Therapeutic Target". *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 12: 1416472. <https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1416472>.

*sekundární citace

Internetové zdroje

RCSB Protein Data Bank. 2020. „RCSB PDB: 6ZLZ Structure Summary". Accessed April 8, 2025. <https://www.rcsb.org/3d-view/6ZLZ/1>.