

Dariusz Kmiecik, Szymon Dębicki

Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań, tel. (0-61) 8546516; faks (0-61) 8546510, e-mail: dkmiec@am.poznan.pl

Wpłynęło w styczniu 2008

1. Wstęp. 2. Budowa wirusa JC. 2.1. Kapsyd. 2.2. Genom. 2.3. Cykl replikacyjny. 3. Sposób zakażenia i zmienność JCV. 4. Rola JCV jako czynnika etiologicznego w schorzeniach ośrodkowego układu nerwowego i przewodu pokarmowego. 4.1. Udział JCV w postępującej wieloogniskowej leukoencefalopatii. 4.2. Mechanizm molekularny wpływu JCV na rozwój nowotworów. 4.2.1. Nowotwory przewodu pokarmowego. 4.2.2. Guzy mózgu. 5. Podsumowanie

Role of the JC virus in the pathogenesis of cancer diseases and disorders associated with compromised immunity

Abstract: JC virus is a common human virus, found by PCR analysis in the urine of about 40% of tested individuals. In case of serious immune deficiency, like AIDS, some cancers or after organ transplantation, JCV can infect and proliferate in neural tissue. It results in a demyelinating disease of the brain, progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). Recent reports have also pointed to a role of JCV in cancerogenesis, in which viral proteins, particularly large antigen T, are involved. It applies to different brain tumors and cancers of gastrointestinal tract, especially esophageal carcinomas, gastric cancers and colon rectal carcinomas. The aim of this article is to describe molecular mechanisms of the JCV-mediated oncogenesis.

1. Introduction. 2. JC virion structure. 2.1. Capsid. 2.2. Genome. 2.3. Replication cycle. 3. Infection mode and heterogeneity of JCV. 4. JCV as an etiological agent in diseases of central nervous system and gastrointestinal tract. 4.1. Role of JCV in progressive multifocal leukoencephalopathy. 4.2. Molecular mechanism of JCV influence on tumor development. 4.2.1. Cancers of gastrointestinal tract. 4.2.2. Brain tumors. 5. Conclusion

Słowa kluczowe: wirus JC, duży antygen T, guzy mózgu, nowotwory przewodu pokarmowego

Key words: JC virus, large antigen T, brain tumors, cancers of gastrointestinal tract

1. Wstęp

Wirus JC (JC virus, JCV) należy do rodzaju *Polyomavirus* znajdującego się w obrębie rodziny *Polyomaviridae* (wcześniej był klasyfikowany w rodzinie *Papovaviridae*). Materiał genetyczny cząsteczki wirusa stanowi dwuniciowy kolisty DNA wielkości ok. 5130 pz (par zasad) [30]. Jego naturalnym i jedynym gospodarzem jest człowiek [21]. JCV jest mało znanym wirusem, choć bardzo powszechnie występującym w populacji światowej. Obecność przeciwciał anti-JCV stwierdza się u ok. 90% osób na świecie [11]. Natomiast, według szacunków ekspertów ok. 40% ludzi to osoby zakażone nim, co oznacza, że w ich moczu znajduje się wirusowe DNA, wykrywalne metodą PCR [2]. Wirusa JC po raz pierwszy wyizolowano w 1970 r., od osoby chorej na postępującą wieloogniskową leukoencefalopatię (*progressive multifocal leukoencephalopathy* – PML), chorobę polegającą na demielinizacji ośrodkowego układu nerwowego (OUN) [12]. W jądrach zakażonych komórek mikrogleju wykryto wiriony o budowie typowej dla poliowirusa, którego nazwano od inicjałów pacjenta wirusem JC [12]. Okazało się później, że JCV jest czynnikiem etiologicznym PML [38]. Choć JCV jest szeroko rozpowszechniony wśród

ludzi, to nie jest patogenny dla większości z nich, wywołując jedynie przelotne zaburzenia układu moczowego u nielicznych osób. Wirus ten uaktywnia się dopiero w wyniku osłabienia układu immunologicznego, np. na skutek podawania leków immunosupresyjnych po przeszczepach organów [38]. U osób bez zaburzeń immunologicznych PML prawie się nie spotyka.

Celem tego artykułu jest ogólne przedstawienie wiedzy dotyczącej wirusa JC oraz jego związku z niektórymi schorzeniami, związanymi z osłabieniem układu immunologicznego oraz nowotworami przewodu pokarmowego i mózgu.

2. Budowa wirusa JC

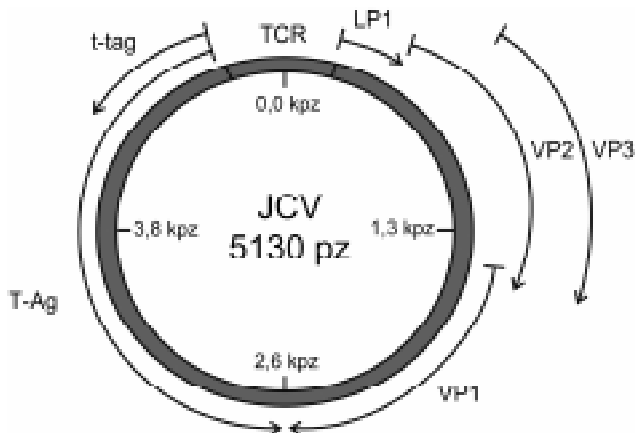
2.1. Kapsyd

Wirion JCV zawiera ikosaedralny kapsyd o średnicy 45–50 nm [34]. Kapsyd liczy 72 kapsomery zbudowane z trzech białek kodowanych przez genom wirusa: VP1, o długości 360 reszt aminokwasowych (360 cząsteczek tego białka przypada na wirion), VP2 o długości 350 reszt aminokwasowych (30–60 cząsteczek) i VP3 o długości ok. 230 reszt aminokwasowych (30–60 cząsteczek) [34].

2.2. Genom

Genom JCV stanowi dwuniciowy, superhelikalnie zwinięty, kolisty DNA o długości 5130 pz [30] (Rys. 1). Organizacja genomu wirusa JC jest bardzo konserwatywna i podobna do genomów innych poliowirusów: SV40 i BK [30]. Homologia między SV40 i JCV wynosi 69%, a pomiędzy genomami BK i JCV sięga 75% [30]. W genomie JCV można wyróżnić trzy regiony: tzw. wczesny i późny region kodujący oraz region regulatorowy (*transcriptional control region* – TCR) [30] (Rys. 1). Region TCR zawiera liczne, zachodzące na siebie sekwencje regulatorowe, a także miejsce początku replikacji (*ori*), wzmacniacze oraz wczesne i późne promotory, z których bezpośrednio zachodzi transkrypcja odpowiednich genów wczesnych i późnych [30]. W obrębie TCR znajdują się sekwencje, rozpoznawane przez niektóre komórkowe czynniki transkrypcyjne takie jak: c-Jun i c-Fos tworzące rodzinę AP-1 (*activating protein 1 family*) oraz czynnik NF-1X (*Nuclear factor 1X*) [56]. Bliskie sąsiedztwo miejsc wiązania obu czynników w promotorze JCV wskazuje na możliwość ich interakcji między sobą. Badania *in vitro* wykazały, że czynnik NF-1X wpływa na zwiększenie produkcji białek wirusowych [56]. Na wiązanie NF-1X oddziałuje negatywnie c-Jun, który w ten sposób obniża produkcję białek wirusowych, a co zatem idzie, może regulować poziom aktywności wirusa JC [56].

Produkty wczesnego regionu kodującego, tzw. antygeny T, pojawiają się jako pierwsze w procesie transkrypcji zaraz po wnikięciu wirusa do jądra i jego od-



Rys. 1. Schemat genomu wirusa JC

Kolisty dwuniciowy DNA, o długości ok. 5130 pz, podzielony jest na dwa regiony. Wczesny region kodujący, obejmuje geny dla małego antygeny t (t-ag) oraz dużego antygeny T (T-Ag), wraz z jego formami powstającymi w wyniku alternatywnego składania: T'(165), T'(136) i T'(135). Późny region kodujący zawiera gen białka pomocniczego agno-proteiny (LP1) oraz geny białek kapsydu VP1-3. Pomiędzy nimi znajduje się region regulatorowy (TCR), w którym znajduje się miejsce startu replikacji (*ori*), a także sekwencje promotorowe i regulatorowe dla wczesnego i późnego regionu kodującego. Numeracja zasad (podana w kbpz) rozpoczyna się od miejsca *ori* i biegnie zgodnie z ruchem wskazówek zegara.

płaszczeniu, i biorą udział w stymulacji komórki gospodarza do wytwarzania enzymów potrzebnych do replikacji DNA komórkowego, przygotowując tym samym komórkę do replikacji wirusowego DNA [63]. Białka późnego regionu kodującego czyli białka kapsydu (*viral proteins 1-3*; VP1, VP2 i VP3) oraz agno-proteina powstają dopiero po replikacji wirusowego genomu i nie biorą bezpośredniego udziału w ekspresji informacji genetycznej wirusa [34].

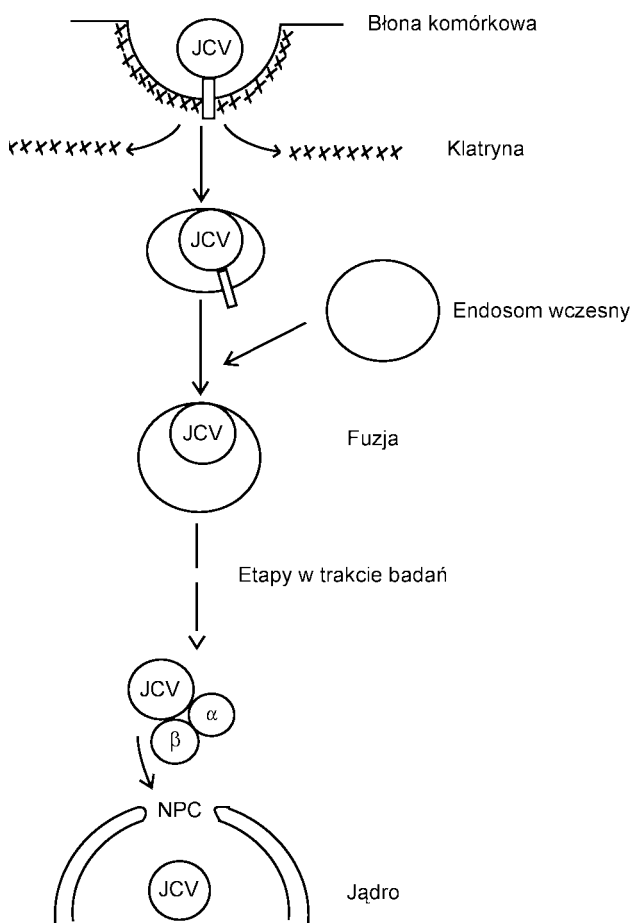
Wczesny prekursorowy mRNA wirusa JC podlega alternatywnemu składaniu (*splicing*) do pięciu dojrzałych transkryptów, kodujących białka: duży antygen T (T-Ag), mały antygen t (t-ag), T'(165), T'(136) oraz T'(135) [51]. Wszystkie te białka posiadają jednakowe końce aminowe (N-końce) złożone z 81 reszt aminokwasowych. Poza tym każde białko charakteryzuje się własnym unikalnym końcem karboksylowym (C-końiec), z wyjątkiem T-Ag i T'(165), u których C-końce pokrywają się [51]. Obecność podobnych sekwencji między białkami wczesnymi wirusa JC sugeruje, że antygeny te wchodzi w interakcje między sobą, a funkcjonalną domeną, która odpowiada za te oddziaływania jest domena N-końcowa [51]. Najlepiej zbadanym białkiem wczesnym wirusa JC jest duży antygen T (T-Ag) [34]. Około 95% T-Ag jest zlokalizowane w jądrze komórki gospodarza [34]. Występuje tam w nukleoplazmie w formie wolnej lub zasocjowanej z chromatyną i macierzą jądrową [34]. Antygen T jest wieloczynnościowym białkiem, które poprzez bezpośrednie interakcje z czynnikami komórkowymi bierze udział w regulacji cyklu komórkowego i przetrwaniu komórki [66]. Wykazano, że czynniki c-Jun oraz c-Fos potrafią znacząco zmniejszyć replikację i transkrypcję genów JCV [41]. Wynika to m.in. z fizycznej interakcji pomiędzy c-Jun, a białkiem regulatorowym wirusa T-Ag [41]. Jak się wydaje, jest to jeden ze sposobów w jaki duży antygen T-Ag powoduje transregulację promotorów zarówno wirusowych, jak i komórkowych, której skutkiem są zmiany w ekspresji genów [66]. Wreszcie, T-Ag jest jedynym białkiem wirusowym wymaganym do replikacji własnego DNA, wiążąc się z nim i wykazując aktywność helikazy [3, 66]. Antygen T ulega modyfikacjom potranslacyjnym głównie przez fosforylację reszt seryny i treoniny, ale również przez o-glikozylację, acylację, adenylację, ADP-rybozylację [66]. Mały antygen t (t-ag) jest białkiem bogatym w cysteinę, zlokalizowanym głównie w jądrze komórkowym gospodarza, rzadziej w cytoplazmie. Posiada zdolność wiązania się z niektórymi białkami komórkowymi, czego efektem może być stymulacja wzrostu komórki [34]. Białka T'(135), T'(136), T'(165) są izoformami dużego antygeny T, które powstają w wyniku alternatywnego składania prekursorowego wczesnego mRNA. Podobnie jak duży antygen T, mogą wiązać się z niektórymi białkami regulacyjnymi komórki, takimi jak:

p107 i p130, należącymi do rodziny pRB (więcej w dalszej części tekstu), upośledzając ich funkcje, i w konsekwencji doprowadzając do nowotworzenia [8].

Późny rejon kodujący wirusa JC zawiera geny agnoproteiny (inaczej białko LP1 – *leader protein 1*) oraz trzech białek kapsydu: VP1, VP2, VP3. Agnoproteina jest 71-aminokwasowym białkiem o masie cząsteczkowej 8 kD, produkowanym w późnej fazie cyklu replikacyjnego wirusa, jednakże nie stwierdza się jej występowania w wirionie [15, 26]. W komórkach można ją znaleźć głównie w cytoplazmie, szczególnie w rejonach okołojądrowych, podczas gdy w jądrze występuje w małych ilościach [15]. Podobną lokalizację obserwowano w komórkach transfekowanych plazmidami zawierającymi gen agnoproteiny [15]. Przypuszczalnie białko to pełni rolę regulatorową w replikacji i ekspresji genów wirusa, jak również w składaniu wirionów i ich rozprzestrzenianiu [15, 40]. Liczne badania pokazały również, że agnoproteina ma możliwość wiązania się do innych białek wirusowych (np. T-Ag), jak również do czynników komórkowych takich jak: p53 oraz Ku70 i Ku80, deregulując cykl komórkowy [14, 15]. Obecność samej agnoproteiny, bez innych białek wirusa JC, wpływa hamująco na wzrost komórek poprzez zatrzymanie ich głównie w fazie G2/M [14]. Obserwuje się wtedy również zmniejszoną aktywność cyklin A i B [14]. Dodatkowo, agnoproteina wywiera toksyczny wpływ na komórkę poprzez hamowanie i uniemożliwienie naprawy uszkodzonego DNA [15]. Pod jej wpływem zwiększa się w komórce liczba pofragmentowanych chromosomów oraz pojawiają się zgrupowania fragmentów jądra [15]. Rola agnoproteiny w hamowaniu procesu naprawy DNA polega na jej wiązaniu się do dwóch czynników, Ku70 i Ku80, biorących udział w tym procesie i inaktywacji ich [15]. Modułacja działania białek Ku70 i Ku80 może być jednym z ważnych czynników sterujących cyklem życiowym wirusa JC, a także przyczyną nowotworzenia [15]. W przypadku koinfekcji astrocytów ludzkich wirusami JCV i HIV-1, zaobserwowano spadek poziomu replikacji HIV-1, z równoczesnym niewielkim podniesieniem poziomu replikacji JCV [37]. Za efekt ten może być odpowiedzialna agnoproteina, gdyż eksperymenty wykazały, że wiąże się ona z białkiem Tat HIV-1 [37]. W ten sposób hamuje ona jego interakcję z sekwencją docelową RNA HIV-1, TAR, a także z cykliną T1, białkiem będącym podjednostką tzw. pozytywnego czynnika b elongacji transkrypcji (*positive transcription elongation factor b*, P-TEFb), z podjednostką p65 czynnika NF-kappaB oraz z czynnikiem Sp1 [37, 55]. W przypadku zaburzonej funkcji Tat, polimeraza RNA II nie przeprowadza wydajnej transkrypcji genów HIV-1 z miejsca startu tj. z LTR (*Long Terminal Repeat*) wirusa, sekwencji zawierającej miejsca wiązania różnych komórkowych czynników transkrypcyjnych [37, 55].

2.3. Cykl replikacyjny

W cyklu replikacyjnym JCV można wyróżnić dwie fazy: wczesną i późną. Faza wczesna obejmuje adsorpcję wirusów do komórki i trwa do rozpoczęcia replikacji wirusowego DNA [34]. W tym czasie cząsteczki wirusa łączą się z powierzchnią komórki, wykorzystując do tego celu reszty kwasu sjałowego obecne w receptorach glikoproteinowych [22, 31, 32]. Na podstawie badań z użyciem cząsteczek wirusopodobnych, tzw. VLP (*virus-like particles*), zawierających na swojej powierzchni tylko główne białko kapsydu VP1,



Rys. 2. Wejście wirusa JC do komórki

W adsorpcji JCV do komórki uczestniczą reszty kwasu sjałowego, będącego składnikiem glikoprotein powierzchniowych. Następnie dochodzi do połączenia z receptorem. Doniesiono, że taką rolę pełni receptor serotoninowy. W wyniku endocytozy zależnej od klatryny, białka, które uczestniczy w uformowaniu się pęcherzyka endosomalnego, wirus wchodzi do środka komórki. Jak się sądzi, JCV, podobnie jak i inne ligandy, przechodzi typową drogę, polegającą na skierowaniu do wczesnych endosomów, a potem podlega sortowaniu, decydującemu o tym, czy znajdzie się w endosomie powracającym na powierzchnię komórki czy też w endosomie późnym i/lub lizosomie. W przypadku wirusa JC, etapy te są nadal w trakcie badań. Po dotarciu w pobliżu jądra wirion opuszcza endosom i zostaje związany z importyną α , która rozpoznaje sygnał lokalizacji jądrowej (NLS) obecny na powierzchni białka kapsydu VP1. Importyna α tworzy heterodimer z importyną β , która z kolei rozpoznaje kompleks porowy jądra (*nuclear pore complex*, NPC). W rezultacie wirion wnika przez ten kompleks do jądra, gdzie ulega odpłaszczeniu i dochodzi do transkrypcji genów wirusowych.

skonstruowano prawdopodobny mechanizm penetracji wirusa JC [52, 53] (Rys. 2). Po wnikięciu do komórki drogą endocytozy zależnej od białka komórkowego klatryny, cząsteczki wirusa zamknięte w endosomach ulegają przemieszczaniu w kierunku jądra komórkowego. Opuszczenie endosomów przez wiriony następuje dopiero przy zewnętrznej stronie błony jądrowej [52, 53]. Samo wejście wirusa JC do jądra następuje przez kompleks porowy jądra (*nuclear pore complex* – NPC) przy udziale importyn α i β [52, 53]. Jest to możliwe gdyż importyna α rozpoznaje sygnał lokalizacji jądrowej (*nuclear localization signal* – NLS) obecny w białku kapsydowym VP1 [52, 53] (Rys. 2). W jądrze komórkowym genom wirusowy ulega odplaszczeniu i zachodzi jego transkrypcja z użyciem polimerazy RNA II gospodarza, prowadząca do powstania mRNA wczesnych [63]. Na tych mRNA syntetyzowane są wirusowe białka wczesne – antygeny T, które stymulują komórkę gospodarza do wytwarzania enzymów potrzebnych do replikacji DNA komórkowego, przygotowując tym samym komórkę do replikacji DNA wirusowego [63]. Proces ten zachodzi dzięki zdolności antygeny T do aktywacji ekspresji genów komórkowych oraz własnych [63]. Geny wirusowe są aktywowane po związaniu się T-Ag z rejonem wzmacniacza transkrypcji promotora wirusowego. Antygen T wiąże się także z polimerazą DNA α oraz z innymi białkami odpowiedzialnymi za regulację wzrostu komórki [62, 63].

Faza późna cyklu replikacyjnego wirusa JC rozpoczyna się wraz z inicjacją replikacji DNA wirusowego [34]. Jednakże trzeba zaznaczyć, że sam proces replikacji nie jest do końca poznany w przypadku wirusa JC, a przedstawiana wiedza w tym zakresie opiera się na badaniach nad innym, blisko spokrewnionym wirusem SV40. Replikacja zachodzi w jądrze komórki gospodarza i bierze w niej udział antygen T (T-Ag) oraz enzymy komórkowe [63]. Sześć cząsteczek antygeny T, dzięki jego zdolności do wiązania DNA i aktywności helikazowej, przyłącza się do DNA wirusa w miejscu startu replikacji i katalizuje rozplatanie nici DNA [3]. Po rozpleceniu nici DNA białko to tworzy kompleks z białkiem replikacyjnym A (RPA), tworząc kompleks preinicjujący replikację, do którego przyłącza się następnie α -prymaza polimerazy DNA, przekształcając go w kompleks inicjacyjny [62]. Synteza DNA zachodzi w dwóch kierunkach wokół kolistego DNA wirusa. Przesuwanie się widełek replikacyjnych ułatwione jest dzięki aktywności helikazowej antygeny T [3]. W fazie późnej zachodzi również ekspresja genów późnych kodujących białka kapsydu wirusa, składanie cząsteczek wirusa w jądrze zakażonej komórki oraz uwolnienie wirusa z komórki [34]. Proces uwolnienia wirusa JC prowadzi do lizy komórek [20].

3. Sposób zakażenia i zmienność JCV

Dane serologiczne wskazują, że bezobjawowe infekcje JCV często zdarzają się u małych dzieci [65]. Po zakażeniu JCV utrzymuje się w komórkach gospodarza z reguły przez całe jego życie. Prawdopodobnie wirus JC dostaje się do organizmu człowieka drogą pokarmową (gdzie stwierdza się jego obecność) wraz z zanieczyszczoną wodą i żywnością [5]. Często wykrywany jest w migdałkach co sugeruje, że może to być początkowe miejsce jego infekcji [44]. Po wnikięciu do organizmu wirus JC pozostaje w tkance nerkowej, replikując się na relatywnie niskim poziomie i może być izolowany z moczu [7]. W nerkach JCV pozostaje w fazie utajonej, nie przechodząc pełnego cyklu replikacyjnego i tym samym nie doprowadza do lizy komórek [65]. Wirus JC może również uaktywnić się (tzw. aktywna infekcja) in vivo w stanach znacznego osłabienia układu immunologicznego gospodarza [19, 65]. Wówczas wnika do neuronów wykorzystując, jak się wydaje, ich receptory serotoninowe [23]. Poza tkanką nerkową i mózgową wirus JC może być wykrywany, jak wspomniano, w migdałkach, a także w okrężnicy, węzłach chłonnych, szpiku kostnym, śledzionie i wątrobie, oraz innych tkankach wliczając osocze krwi i limfocyty [44, 24]. Te ostatnie prawdopodobnie służą wirusowi do przemieszczania się między nerkami (a także innymi tkankami), a ośrodkowym układem nerwowym [17].

Forma wirusa zwykle wykrywana w moczu nazywana jest JCV archetypowym (*archetype*) i zawiera pojedynczą kopię sekwencji wirusowego promotora i wzmacniacza w rejonie regulatorowym (TCR) [27, 48]. Drugi wariant wirusa JC, nazywany przestawionym (*rearranged*), jest kojarzony z aktywną infekcją wirusa w mózgu, spowodowaną immunosupresją gospodarza, np. w wyniku zakażenia wirusem HIV-1 [27, 28, 48]. Ta forma posiada delekcje i/lub duplikacje niektórych sekwencji regulatorowych, co w konsekwencji prowadzi do zmiany tropizmu tkankowego oraz potencjału patogenicznego wirusa JC, przyczyniając się do powstania takich chorób jak postępująca wieloogniskowa leukoencefalopatia (PML) i niektóre nowotwory [27, 28, 48].

Epidemiologicznie wirusy JC można podzielić na przynajmniej siedem typów występujących w różnych obszarach geograficznych [2]. Klasyfikacja wirusów oparta jest o jego różne sekwencje w rejonie kodującym białko kapsydu VP1 oraz w rejonie regulatorowym (TCR) [2]. Różnice w sekwencjach między poszczególnymi typami wynoszą od 1–3% [1]. Typ 1 występuje głównie w Europie, typy 2 i 7 są charakterystyczne dla Azji, a typy 3 i 6 dla Afryki. Każdy typ może mieć kilka podtypów, różniących się nieznacznie genotypami (0,5–1%) [35]. Charakterystycznymi typami dla krajów rozwiniętych Europy oraz USA są: 1A, 1B oraz 2 [1, 2].

4. Rola JCV jako czynnika etiologicznego w schorzeniach ośrodkowego układu nerwowego i przewodu pokarmowego

4.1. Udział JCV w postępującej wieloogniskowej leukoencefalopatii

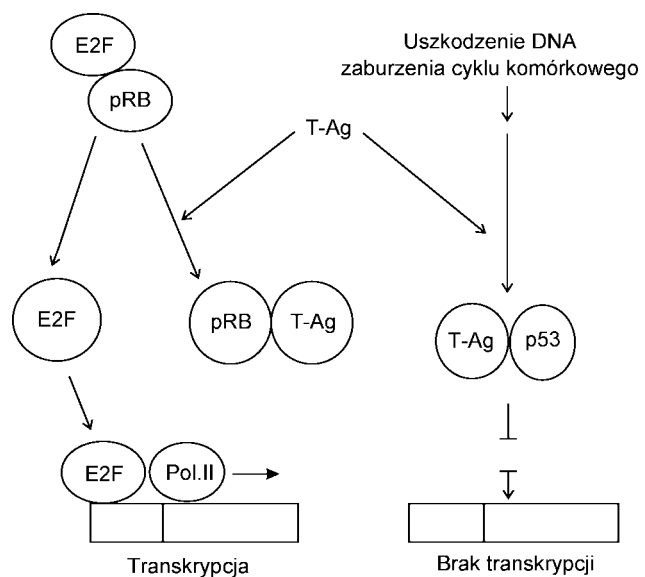
JCV jest głównie kojarzony jako czynnik etiologiczny zespołu klinicznego o nazwie postępująca wieloogniskowa leukoencefalopatia (PML) [38, 39]. W 1958 r. ukazał się pierwszy opis tego zespołu, charakteryzującego się niedowładem połowicznym, zaburzeniami mowy i widzenia, ośpieniem oraz nieuchronnym zgonem chorego w ciągu kilku miesięcy [12]. Należy podkreślić, że PML, rzadko opisywana, występuje najczęściej u starszych osób, u których już wcześniej stwierdzono schorzenie układu siateczkowo-śródbłonkowego [39]. Pierwsze trzy przypadki opisano u pacjentów chorych na białaczkę limfatyczną bądź na chorobę Hodgkina [12]. Uszkodzenia mózgu polegają na pojawianiu się licznych ognisk demielinizacji tkanki nerwowej oraz oligodendrocytów o nieprawidłowej budowie, które są głównym miejscem aktywnej infekcji JCV [12]. Te cechy kliniczne i patologiczne odzwierciedla nazwa zespołu chorobowego – postępująca wieloogniskowa leukoencefalopatia (PML). W leczeniu PML stosowano i wykazano niewielką skuteczność cytarabiny, ale w praktyce rokowanie w przypadku tej choroby jest zawsze niepomyślne [12]. PML aż do niedawna była stosunkowo rzadką chorobą. Większego znaczenia nabrała ostatnio, jako objaw lub powikłanie AIDS, co nie jest zaskakujące u tych chorych, mających tak bardzo upośledzoną odporność. PML powoduje śmierć około 5% chorych na AIDS [4]. Zasugerowano, że powiązanie pomiędzy zakażeniem HIV-1, a rozwojem PML wynika przynajmniej częściowo z produkcji licznych cytokin w centralnym układzie nerwowym w odpowiedzi na infekcję HIV-1 [43]. Związek przeciwwzapalny, cyklosporyna A, zapobiegając aktywacji czynnika transkrypcyjnego zwanego jądrowym czynnikiem aktywowanych komórek T 4 (*nuclear factor of activated T cells 4*, NFAT4), hamował zakażenie komórek gleju wirusem JC [43]. Z kolei sam NFAT4, jak wykazano, wiązał się do sekwencji promotorowych wirusa JC, aktywując w ten sposób transkrypcję zarówno genów wczesnych, jak i późnych, a produkty genów wczesnych dodatkowo wzmacniały efekt NFAT4 [43]. Udział NFAT4 w zakażeniu centralnego układu nerwowego przez JCV sugeruje zaangażowanie ścieżki sygnałowej z użyciem jonów wapnia w celu aktywacji tego czynnika [43].

Badania wykazały obecność genów wirusa JC w leukocytach 40,3% pacjentów chorych na AIDS [20]. Dla porównania u zdrowych ludzi procent ten wynosi tylko 8 [20]. W wyniku analizy próbek mózgu pobra-

nych od osób z PML, zarówno HIV-pozytywnych, jak i HIV-negatywnych, stwierdzono obecność nacieków zapalnych (*inflammatory infiltrates*) wewnątrz i wokół zmienionej chorobowo tkanki [71]. Nacieki te zawierały głównie limfocyty T CD8+, prawdopodobnie rozpoznające antygeny wirusowe [71].

4.2. Mechanizm molekularny wpływu JCV na rozwój nowotworów

Drugą ważną grupą schorzeń, w których postuluje się udział wirusa JC jako czynnika etiologicznego, są nowotwory [69]. Zaburzając cykl komórkowy JCV wpływa na komórkę gospodarza powodując jej przejście z fazy G1 do fazy S, co w efekcie prowadzi do nieograniczonej i niekontrolowanej proliferacji komórkowej [66]. Głównym elementem wirusa JC, który odpowiada za rozwój nowotworu jest jedno z białek wczesnych wirusa, duży antygen T (T-Ag) [58, 69]. Molekularny mechanizm działania antygeny T polega na wiązaniu się do dwóch głównych czynników kontrolujących cykl komórkowy, tj. białek należących do rodziny pRB (*retinoblastoma protein family*): p107 i p130 oraz p53, powodując ich inaktywację i zaburzenia w przebiegu cyklu komórkowego [9, 42] (Rys. 3).



Rys. 3. Udział wirusa JC w nowotworzeniu

W cyklu komórkowym białka pRB i p53 zapobiegają zbyt wczesnemu podziałowi komórki (pRB) oraz nagromadzeniu się szkodliwych mutacji (p53). Związanie pRB z czynnikiem transkrypcyjnym E2F powoduje, że nie ulegają ekspresji kluczowe białka odpowiedzialne za przejście komórki z fazy G₁(G₀) do fazy S cyklu. Duży antygen T (T-Ag) wirusa JC wiąże się z pRB, przez co czynnik E2F zostaje uwolniony i aktywuje transkrypcję genów odpowiedzialnych za proliferację materiału genetycznego i podział komórki. Dodatkowo, T-Ag wiąże białko p53, które pełni rolę w utrzymaniu integralności genomu poprzez wpływ na ekspresję czynników biorących udział w naprawie DNA w przypadku jego uszkodzenia, a gdy uszkodzenia są zbyt duże, w zahamowaniu podziału komórki i wyindukowaniu apoptozy. Procesy te prowadzą do akumulowania się zmian w materiale genetycznym i niekontrolowanego podziału komórki, która przez to może przekształcić się w komórkę nowotworową.

Białka pRb regulują przejście komórki z fazy G1(G0) do fazy S cyklu komórkowego, natomiast p53 w przypadku uszkodzenia genomu komórki zatrzymuje cykl w fazie G1, umożliwiając naprawę materiału genetycznego. Gdy uszkodzenia są zbyt duże, kieruje ono komórkę na drogę apoptozy [9, 42].

Antygen T wiąże się z pRB połączonym w kompleksie z czynnikiem transkrypcyjnym E2F (E2F/pRB), co prowadzi do rozbitcia kompleksu E2F/pRB. Uwolniony w ten sposób czynnik transkrypcyjny E2F aktywuje liczne geny komórkowe, odpowiedzialne za wejście komórki w fazę S cyklu komórkowego [9, 70] (Rys. 3). Formy alternatywne dużego antygeny T, T'(135), T'(136) i T'(165) również wiążą białka z rodziny pRB oraz wzmacniają replikację wirusowego DNA [29]. Prawdopodobnie, mimo że posiadają taką samą sekwencję poczynając od końca aminowego, formy alternatywne T'(135), T'(136) i T'(165) wiążą czynniki p107 oraz p130 i zmieniają poziom ich fosforylacji w różnym stopniu, ale działając wspólnie, inaktywują białka regulatorowe cyklu komórkowego, w końcu prowadząc do transformacji komórkowej [8]. Aktywność samego antygeny T-Ag, jak również jego form alternatywnych, także zależy od fosforylacji konserwatywnej reszty treoniny w miejscu 125 (T125) [66]. Mutacja tego miejsca polegająca na zamianie treoniny na alaninę powoduje powstanie niestabilnej formy T-Ag, ale trzy białka alternatywne T' zachowują swoje właściwości i wiążą, chociaż ze słabszym powinowactwem, białka rodziny pRB, jednakże nie były zdolne do uwolnienia czynnika transkrypcyjnego E2F z kompleksów RB-E2F [66]. Co ciekawe, zarówno antygen T-Ag, jak i jego formy alternatywne T', z mutacją polegającą na zamianie T125 na asparaginian, wiążą białka pRB, p107 i p130, silniej niż białka typu dzikiego, a dodatkowo formy T' wydajnie uwalniały czynnik E2F z kompleksów RB-E2F [66]. Jak się wydaje, w fosforylacji treoniny 125 bierze udział kinaza zależna od cykliny, w kompleksie z nią (*cyclin-cyclin-dependent kinase*), co wskazywałoby na to, że te funkcje T-Ag i trzech form T', które odpowiadają za replikację wirusa i transformację onkogenną, są regulowane w sposób zależny od cyklu komórkowego [66].

W przypadku p53 antygen T wiąże się z odpowiednią domeną tego białka (odpowiedzialną za oddziaływanie z DNA), przez co blokuje dostęp p53, jako czynnika transkrypcyjnego, do odpowiednich sekwencji w DNA (kodujących czynniki biorące udział w naprawie DNA lub w apoptozie komórki) i tym samym hamuje ich transkrypcję [34, 42] (Rys. 3).

Wskazano również na wpływ dużego antygeny T na ścieżkę sygnałową aktywowaną przez substrat dla receptora insulinowego 1 (*insulin receptor substrate 1*, IRS-1), główną cząsteczkę sygnałową receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu I (*insulin-like growth*

factor I receptor, IGF-IR) [57]. Po translokacji IRS-1 do jądra, w czym uczestniczy T-Ag, IRS-1 wiąże białko Rad51 na miejscu uszkodzonego DNA powodując hamowanie jego naprawy na zasadzie rekombinacji homologicznej (homologous recombination directed DNA repair, HRR) [57]. W efekcie dochodzi do akumulacji mutacji w komórce, a wraz z nimi do niestabilności genetycznej, naruszającej integralność materiału genetycznego. Zarówno wadliwa naprawa uszkodzonego DNA, czy też defekty w zachowaniu telomerów, rozdziału chromosomów, mogą z kolei przyczynić się do rozwoju nowotworów [57]. Ponieważ wiadomo, że duży antygen T JCV posiada zdolność transformacji komórek *in vitro*, jak i przyczynia się do powstawania nowotworów u zwierząt doświadczalnych, opisany powyżej mechanizm jego wpływania na naprawę DNA może odgrywać ważną rolę w powstawaniu nowotworów u człowieka [57].

4.2.1. Nowotwory przewodu pokarmowego

Liczne doświadczenia potwierdziły wysoką częstotliwość występowania sekwencji genu T-Ag, a także wydajną syntezę T-Ag w nowotworach przewodu pokarmowego, np. w raku przełyku, żołądka, jelita oraz okrężnicy, co ma, jak się wydaje, związek z postulowanym sposobem zakażenia tym wirusem, tj. poprzez zanieczyszczoną wodę i żywność [10, 19, 46, 61]. Na przykład w tkankach nowotworowych okrężnicy (*colon rectal carcinoma*) sekwencje DNA wirusa JC, jak również blisko spokrewnionego wirusa BK, zostały zidentyfikowane u 16 z 18 badanych pacjentów co stanowi 88,9% [10]. Natomiast badania przeprowadzone w Japonii wykazały, że duży antygen T został zidentyfikowany w 6 z 23 próbek tkanek raka okrężnicy, co stanowi 26,1%. [36]. Jednocześnie nie wykryto w nich sekwencji swoistych dla białka otoczki VP1 i agnoproteiny [36]. W doniesieniu z USA wykazano metodą PCR obecność wczesnych sekwencji wirusowych w 22 z 27 próbek raka okrężnicy [25]. W ponad 50% pozytywnych przypadków stwierdzono ekspresję białek T-Ag oraz agnoproteiny, ale nie białek otoczki [25]. Nieobecność tych ostatnich sugeruje, że w komórkach zmienionych nowotworowo nie dochodzi do replikacji wirusa zakończonej pojawieniem się wirionów potomnych [25, 36]. W komórkach rakach okrężnicy antygen T może wchodzić w interakcje z beta-keniną (*beta-catenin*), białkiem, którego ilość w cytozolu, a następnie w jądrze zwiększa się w wyniku aktywacji ścieżki sygnałowej Wnt [25]. W jądrze β -keninina wchodzi w interakcje ze swoistymi czynnikami transkrypcyjnymi, stymulując w ten sposób ekspresję genów, m.in. c-myc, którego produkt aktywuje cykl komórkowy i proliferację [25]. W przypadku równoczesnej produkcji i obecności tych dwóch białek,

tj. T-Ag oraz beta-kateniny, dochodzi do wzmocnienia transkrypcji z promotora genu *c-myc* [25, 58]. Ponadto, w nowotworach okrężnicy antygen T wirusa JC prowadzi, jak się wydaje, komórki do niestabilności genetycznej i epigenetycznej, właśnie poprzez interakcję m.in. z beta-kateniną i p53, co przejawia się w postaci zmienionych chromosomów [33, 47, 58]. Powód niestabilności chromosomalnej polegającej na delecjach, duplikacjach i rearanżacjach w komórkach raka okrężnicy jest ciągle kwestią w dużej mierze do wyjaśnienia. W przypadku infekcji poliomawirusami postulowany mechanizm transformacji nowotworowej polega na tym, że JCV obecny w przewodzie pokarmowym uaktywnia się w przypadku zmian nowotworowych, lub wywołuje je, i poprzez swoje białko duży antygen T prowadzi do wyżej wymienionych procesów uszkadzających materiał genetyczny [47]. Kiedy w ich wyniku w komórkach nowotworowych dojdzie do inaktywacji wystarczającej liczby tkankowo swoistych genów hamujących proces nowotworzenia, co zapewnia rozwój nowotworu, dalsze transformacje materiału genetycznego spowodowane działaniem wirusa JC mogą być potencjalnie niebezpieczne dla komórek nowotworowych i w jakiś sposób, metodą selekcji pozbywają się one wirusa [47]. Inne doniesienia wskazują, że obecność antygeny T-Ag w komórkach raka okrężnicy wpływa na wzór metylacji materiału genetycznego [33, 64]. W stu przebadanych próbkach tego nowotworu ze stwierdzonymi niestabilnościami mikrosatelitarnymi i chromosomalnymi sekwencje DNA właściwe dla T-Ag JCV wykryto metodą PCR w 77% przypadków [33]. Następnie metodą immunohistochemiczną w 56% tych pozytywnych przypadków potwierdzono obecność dużego antygeny T [33]. Ponadto sprawdzono wzór metylacji regionów promotorowych dziewięciu genów supresorowych, których zmieniona ekspresja ma, jak się sądzi, znaczenie w powstawaniu raka okrężnicy i stwierdzono znaczącą korelację ($P = 0,01$) pomiędzy obecnością T-Ag, a stopniem metylacji promotorów tych genów, w porównaniu z próbkami, w których nie wykryto T-Ag [33].

W badaniach dotyczących nowotworów przełyku (*esophageal carcinomas*) duży antygen T wirusa JC wykryto w 10 z 19 analizowanych próbek (53%), a agnoproteinę w 8 próbkach (42%) [19]. W żadnej z 51 próbek z przełyku, z normalną tkanką czy też ze zmianami łagodnymi i przedrakowymi, nie stwierdzono obecności tych białek wirusowych [19]. Natomiast w wyniku analizy sekwencji DNA wirusa JC w wybranych 5 próbkach pochodzących z raka przełyku ustalono, że DNA JCV występuje we wszystkich próbkach (100%), a w badanych 13 próbkach kontrolnych w 11 z nich (85%) [19]. Tak duża częstość występowania wirusa JC w tkankach przełyku może potwierdzać hipotezę jego wnikania do organizmu drogą pokarmową [5, 19].

Podobnie jak w nowotworach przełyku, w nowotworach żołądka (*gastric cancers*) również stwierdzono następującą prawidłowość: obecność sekwencji DNA wirusa JC swoistych dla genu T-Ag w tkance nowotworowej i w otaczającej nowotwór tkance normalnej, ale tylko w tkance nowotworowej wykazano ekspresję T-Ag [61]. Z 37 analizowanych próbek nowotworu żołądka, sekwencje DNA swoiste dla dużego antygeny T JCV znaleziono w 21 (57%), a w badaniach 23 próbek, dotyczących obecności białka T-Ag, w 9 uzyskano pozytywny wynik (39%) [61]. Ponadto, doniesienie na temat wykrycia sekwencji DNA wirusa JC w nabłonku gruczołowym prostaty (prostatic glandular epithelium) stwarza możliwość udziału JCV w kancerogenezie tego gruczołu [72].

4.2.2. Guzy mózgu

Dużą grupą nowotworów mających związek z wirusem JC są guzy mózgu (*brain tumors*) [68]. Eksperymenty na zwierzętach dowiodły potencjalnie ważnej roli JCV w etiologii tych nowotworów [68]. Kluczową rolę w tej onkogenezie mają, wspomniane wcześniej, trzy białka wirusa: T-Ag, t-ag i agnoproteina [68]. Przeprowadzone badania wykazały podwyższoną częstość występowania sekwencji genu VP1 oraz sekwencji TCR wirusa JC w guzach mózgu, co również wskazywałoby na JCV jako czynnik etiologiczny nowotworów mózgu [6, 13, 50]. Dla przykładu 69% pacjentów z różnymi nowotworami mózgu wykazuje obecność sekwencji genów wczesnych JCV w tych tkankach [18]. W innym badaniu stwierdzono występowanie sekwencji DNA charakterystycznych dla poliomawirusów w 50% badanych próbek różnych guzów mózgu, z czego 40,6% było swoistych dla JCV, a pozostałe dla wirusa BK [16]. Sekwencje te wyizolowano z takich guzów mózgu jak: rdzeniak (medulloblastoma), wyściółczak (ependymoma), glejak wielopostaciowy (glioblastoma), gwiaździak (astrocytoma), skąpodrzewiak (oligodendroglioma) oraz innych nowotworów pochodzenia glejowego [6, 13, 50]. O skali oddziaływania JCV na ekspresję genów w astrocytach świadczą eksperymenty *in vitro*, z użyciem techniki mikromacierzy (*oligonucleotide-based microarray*), pozwalającej zmierzyć zmiany w wielkości transkrypcji 12600 genów [54]. Zauważono, że pod wpływem JCV nastąpiło wzmocnienie transkrypcji prawie 355 genów, a zmniejszenie w przypadku 130 genów [54]. Wiele z tych genów, których ekspresja wzrosła, koduje białka, które, jak się sądzi, pełnią rolę w proliferacji komórki [54]. Podobne badania, przeprowadzone z użyciem ludzkich komórek zarodkowych gleju (*primary human fetal glial cells*) potwierdziły powyższe doniesienie [67]. Stwierdzono w nich zmiany w ekspresji w ponad 400 genach [67]. Podobnie, produkty wielu

z nich wpływają na wzrost komórki i oddziaływania międzykomórkowe [67]. Ponadto, zauważono zwiększenie ekspresji genów zależnych od interferonu: STAT1 (*signal transducer and activator of transcription 1*), ISG56 (*interferon stimulating gene 56*), MxA (*myxovirus resistance 1*), syntetaza 2'5'-oligoadenylowa (2'5'-*oligoadenylate synthetase*) i cig5 [67]. Wskazuje to na silną odpowiedź przeciwwirusową, jaką wzbudza JCV, co prawdopodobnie przyczynia się do jego kontroli u osób bez zaburzeń układu immunologicznego [67].

Sekwencje wirusa JC można wykryć w tkance nowotworowej, jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym, choć badanie płynu wydaje się obniżać liczbę wykrytych pozytywnych przypadków. Na przykład 9 spośród 22 próbek nowotworów mózgu zawierało sekwencje wirusa JC (40,9%), ale spośród 15 próbek płynu mózgowo-rdzeniowego pobranych od chorych na raka mózgu, tylko 2 były pozytywne (13,3%) [6].

Na zakończenie warto dodać, że kwestia powiązania wirusa JC z guzami mózgu i jego rola w procesie nowotworzenia pozostaje nadal kontrowersyjna. Badania z użyciem 60 próbek nowotworów mózgu (w preparatach parafinowych), z których 55 było pochodzenia glejowego (gliomas), 5 rdzeniakami (medulloblastomas) oraz 15 próbek pochodzących z mózgow z przerostem astrocytów (gliosis) ujawniły obecność DNA JCV swoistego dla regionu VP3 lub T-Ag tylko w 5 przypadkach (3 nowotwory i 2 przerosty), a żadna próbka nie była pozytywna w przypadku zastosowania przeciwciał swoistych dla antygeny T [45]. Dla kontrastu wszystkie 4 próbki kontrolne uzyskane w wyniku biopsji post mortem od pacjentów HIV-pozytywnych ze zdiagnozowanym PML zawierały sekwencje DNA JCV oraz antygen T [45]. Inne badania przeprowadzone w dwóch różnych laboratoriach z użyciem tych samych 225 próbek guzów mózgu wykazały obecność sekwencji poliomawirusów odpowiednio: w 9 (4%) przypadkach, z czego 3 były swoiste dla JCV, 3 dla wirusa BK i 3 dla wirusa SV40 (w jednym laboratorium); i w 1 przypadku, sekwencji swoistej dla wirusa SV40 (w drugim laboratorium) [59]. Z tych badań wynika, że DNA JCV, jak również innych poliomawirusów, jest jednak stosunkowo rzadko wykrywalny w próbkach nowotworów mózgu.

5. Podsumowanie

Wirus JC jest mało znanym, ale powszechnie występującym wirusem w populacji światowej. Jest on jednym z najbardziej powszechnych wirusów DNA na świecie. Ponieważ zasięg JCV obejmuje cały glob, fakt ten jest wykorzystywany do konstruowania filogenezy tego wirusa oraz map migracji populacji ludzkiej [49,

60]. W ostatnich latach notuje się wzrost zainteresowania wirusem JC jako czynnikiem etiologicznym PML i jego związkami z AIDS [4]. Szereg doniesień wskazuje także na pośredni i/lub bezpośredni udział JCV w procesie nowotworzenia [69]. Potwierdzeniem tego taktu mogą być oddziaływania jednego z białek wirusa – T-Ag z białkami supresorowymi nowotworów, co w konsekwencji zmienia ich działanie [9, 42]. Drugim argumentem jest stosunkowo wysoka częstotliwość występowania sekwencji wirusowych w tkankach nowotworowych jelita i mózgu [10, 61, 68]. Istotnym czynnikiem w cyklu rozwojowym JCV, mającym znaczenie dla jego patogenności, jest zmiana statusu immunologicznego gospodarza [65]. Znaczne osłabienie układu siateczkowo-śródbłonkowego wpływa na uaktywnienie wirusa w mózgu i nieuchronny zgon chorego w ciągu kilku miesięcy [65]. Dokładne poznanie tego wirusa oraz jego cyklu życiowego i miejsc występowania w zakażonych organizmie, sposobu transformacji do formy wirulentnej, przyczyni się do opracowania lepszych metod leczenia zakażenia tym wirusem.

Piśmiennictwo

1. Agostini H.T., Deckhut A., Jobes D.V., Girones R., Schlunck G., Prost M.G., Frias C., Perez-Trallero E., Ryschkewitsch C.F., Stoner G.L.: Genotypes of JC virus in East, Central and Southwest Europe. *J. Gen. Virol.* **82**, 1221–1331 (2001)
2. Agostini H.T., Ryschkewitsch C.F., Stoner G.L.: Genotype profile of human polyomavirus JC excreted in urine of immunocompetent individuals. *J. Clin. Microbiol.* **34**, 159–164 (1996)
3. Alexandrov A.I., Botchan M.R., Cozzarelli N.R.: Characterization of simian virus 40 T-antigen double hexamers bound to a replication fork. The active form of the helicase. *J. Biol. Chem.* **277**, 44886–44897 (2002)
4. Berger J.R.: Progressive multifocal leukoencephalopathy in acquired immunodeficiency syndrome: explaining the high incidence and disproportionate frequency of the illness relative to other immunosuppressive conditions. *J. Neurovirol.* **1**, 38–41 (2003)
5. Boffil-Mass S., Formiga-Cruz M., Clemente-Casares P., Calafell F., Girones R.: Potential Transmission of Human Polyomaviruses through the Gastrointestinal Tract after Exposure to Virions or Viral DNA. *J. Virol.* **75**, 10290–10299 (2001)
6. Boldorini R., Pagani E., Car P.G., Omodeo-Zorini E., Borghi E., Tarantini L., Bellotti C., Ferrante P., Monga G.: Molecular characterisation of JC virus strains detected in human brain tumours. *Pathology*, **35**, 248–253 (2003)
7. Boldorini R., Veggiani C., Barco D., Monga G.: Kidney and urinary tract polyomavirus infection and distribution: molecular biology investigation of 10 consecutive autopsies. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **129**, 69–73 (2005)
8. Bollag B., Kilpatrick L.H., Tyagarajan S.K., Tevethia M.J., Frisque R.J.: JC virus T'135, T'136 and T'165 proteins interact with cellular p107 and p130 in vivo and influence viral transformation potential. *J. Neurovirol.* **12**, 428–442 (2006)
9. Caracciolo V., Reiss K., Khalili K., De Falco G., Giordano A.: Role of the interaction between large T antigen and Rb family

- members in the oncogenicity of JC virus. *Oncogene*, **25**, 5294–5301 (2006)
10. Casini B., Borgese L., Del Nonno F., Galati G., Izzo L., Caputo M., Perrone Donnorso R., Castelli M., Risuleo G., Visca P.: Presence and incidence of DNA sequences of human polyomaviruses BKV and JCV in colorectal tumor tissues. *Anticancer Res.* **25**, 1079–1085 (2005)
 11. Chang H., Wang M., Tsai R.T., Lin H.S., Huan J.S., Wang W.C., Chang D.: High incidence of JC viruria in JC-seropositive older individuals. *J. Neurovirol.* **8**, 447–451 (2002)
 12. Collier L., Oxford J.: *Wirusologia. Podręcznik dla studentów medycyny, stomatologii i mikrobiologii*, PZWL, Warszawa, 1996, 328
 13. Croul S., Otte J., Khalili K.: Brain tumors and polyomaviruses. *J. Neurovirol.* **9**, 173–182 (2003)
 14. Darbinyan A., Darbinian N., Safak M., Radhakrishnan S., Giordano A., Khalili K.: Evidence for dysregulation of cell cycle by human polyomavirus, JCV, late auxiliary protein. *Oncogene*, **21**, 5574–5581 (2002)
 15. Darbinyan A., Siddiqui K.M., Slonina D., Darbinian N., Amini S., White M.K., Khalili K.: Role of JC virus agnoprotein in DNA repair. *J. Virol.* **78**, 8593–8600 (2004)
 16. Delbue S., Pagani E., Guerini F.R., Agliardi C., Mancuso R., Borghi E., Rossi F., Boldorini R., Veggiani C., Car P.G., Ferrante P.: Distribution, characterization and significance of polyomavirus genomic sequences in tumors of the brain and its covering. *J. Med. Virol.* **77**, 447–454 (2005)
 17. Del Valle L., Enam S., Lara C., Miklossy J., Khalili K., Gordon J.: Primary central nervous system lymphoma expressing the human neurotropic polyomavirus, JC virus, genome. *J. Virol.* **78**, 3462–3469 (2004)
 18. Del Valle L., Gordon J., Assimakopoulou M., Enam S., Geddes J.F., Varakis J.N., Katssetos C.D., Croul S., Khalili K.: Detection of JC virus DNA sequences and expression of the viral regulatory protein T-antigen in tumors of the central nervous system. *Cancer Res.* **61**, 4287–4293 (2001)
 19. Del Valle L., White M.K., Enam S., Oviedo S.P., Bromer M.Q., Thomas R.M., Parkman H.P., Khalili K.: Detection of JC virus DNA sequences and expression of viral T antigen and agnoprotein in esophageal carcinoma. *Cancer*, **103**, 516–527 (2005)
 20. Dubois V., Dutronc H., Lafon M.E., Poinot V., Pellegrin J.L., Ragnaud J.M., Ferrer A.M., Fleury H.J.A.: Latency and Reactivation of JC Virus in Peripheral Blood of Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Patients. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 2288–2292 (1997)
 21. Eash S., Manley K., Gasparovic M., Querbes W., Atwood W.J.: The human polyomaviruses. *Cell. Mol. Life Sci.* **63**, 865–876 (2006)
 22. Eash S., Tavares R., Stopa E.G., Robbins S.H., Brossay L., Atwood W.J.: Differential Distribution of the JC Virus Receptor-Type Sialic Acid in Normal Human Tissues. *Am. J. Pathol.* **164**, 419–428 (2004)
 23. Elphick G.F., Querbes W., Jordan J.A., Gee G.V., Eash S., Manley K., Dugan A., Stanifer M., Bhatnagar A., Kroeze W.K., Roth B.L., Atwood W.J.: The human polyomavirus, JCV, uses serotonin receptors to infect cells. *Science*, **306**, 1380–1383 (2004)
 24. Elsner C., Dorries K.: Human polyomavirus JC control region variants in persistently infected CNS and kidney tissue. *J. Gen. Virol.* **79**, 789–799 (1998)
 25. Enam S., Del Valle L., Lara C., Gan D.D., Ortiz-Hidalgo C., Palazzo J.P., Khalili K.: Association of human polyomavirus JCV with colon cancer: evidence for interaction of viral T-antigen and beta-catenin. *Cancer Res.* **62**, 7093–7101 (2002)
 26. Endo S., Okada Y., Orba Y., Nishihara H., Tanaka S., Nagashima K., Sawa H.: JC virus agnoprotein colocalizes with tubulin. *J. Neurovirol.* **1**, 10–14 (2003)
 27. Fedele C.G., Ciardi M.R., Della S., Contreras G., Perez J.L., De Ona M., Vidal E., Tenorio A.: Identical rearranged forms of JC polyomavirus transcriptional control region in plasma and cerebrospinal fluid of acquired immunodeficiency syndrome patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Neurovirol.* **9**, 551–558 (2003)
 28. Fedele C.G., Polo C., Tenorio A., Niubo J., Ciardi M.R., Perez J.L.: Analysis of the transcriptional control region of JC polyomavirus in cerebrospinal fluid from HIV-negative patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Med. Virol.* **78**, 1271–1275 (2006)
 29. Frisque R.J., Bollag B., Tyagarajan S.K., Kilpatrick L.H.: T⁺ proteins influence JC virus biology. *J. Neurovirol.* **9** (Suppl. 1), 15–20 (2003)
 30. Frisque R.J., Bream G.L., Cannella M.T.: Human polyomavirus JC virus genome. *J. Virol.* **51**, 458–69 (1984)
 31. Gee G.V., Dugan A.S., Tsomaia N., Mierke D.F., Atwood W.J.: The role of sialic acid in human polyomavirus infections. *Glycoconjug. J.* **23**, 19–26 (2006)
 32. Gee G.V., Tsomaia N., Mierke D.F., Atwood W.J.: Modeling a Sialic Acid Binding Pocket in the External Loops of JC Virus VP1. *J. Biol. Chem.* **279**, 49172–49176 (2004)
 33. Goel A., Li M.S., Nagasaka T., Shin S.K., Fuerst F., Ricciardiello L., Wasserman L., Boland C.R.: Association of JC virus T-antigen expression with the methylator phenotype in sporadic colorectal cancers. *Gastroenterology*, **130**, 1950–1961 (2006)
 34. Goździcka-Józefiak A. (red.): *Wirusologia molekularna*. Wyd. Nauk. UAM, Poznań, 2005, 103–104
 35. Guo J., Kitamura T., Ebihara H., Sugimoto C., Kunitake T., Takehisa J., Na Y.Q., Al-Ahdal M.N., Hallin A., Kawabe K., Taguchi F., Yogo Y.: Geographical distribution of the human polyomavirus JC virus type A and B and isolation of new type from Ghana. *J. Gen. Virol.* **77**, 919–927 (1996)
 36. Hori R., Murai Y., Tsuneyama K., Abdel-Aziz H.O., Nomoto K., Takahashi H., Cheng C.M., Kuchina T., Harman B.V., Takano Y.: Detection of JC virus DNA sequences in colorectal cancers in Japan. *Virchows Arch.* **447**, 723–730 (2005)
 37. Kaniowska D., Kaminski R., Amini S., Radhakrishnan S., Rappaport J., Johnson E., Khalili K., Del Valle L., Darbinyan A.: Cross-interaction between JC virus agnoprotein and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Tat modulates transcription of the HIV-1 long terminal repeat in glial cells. *J. Virol.* **80**, 9288–9299 (2006)
 38. Khalili K., Gordon J., White M.K.: The polyomavirus, JCV and its involvement in human disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* **577**, 274–287 (2006)
 39. Khalili K., White M.K.: Human demyelinating disease and the polyomavirus JCV. *Mult. Scler.* **12**, 133–142 (2006)
 40. Khalili K., White M.K., Sawa H., Nagashima K., Safak M.: The agnoprotein of polyomaviruses: a multifunctional auxiliary protein. *J. Cell. Physiol.* **204**, 1–7 (2005)
 41. Kim J., Woolridge S., Biffi R., Borghi E., Lassak A., Ferrante P., Amini S., Khalili K., Safak M.: Members of the AP-1 family, c-Jun and c-Fos, functionally interact with JC virus early regulatory protein large T antigen. *J. Virol.* **77**, 5241–5252 (2003)
 42. Krynska B., Lewin-Kowalik J., Sieron A.L.: Disturbance of the normal cell cycle by T antigens of SV40 viruses and JC cause some tumors. *Post. Hig. Med. Dośw.* **52**, 237–257 (1998)

43. Manley K., O'hara B.A., Gee G.V., Simkevich C.P., Sedivy J.M., Atwood W.J.: NFAT4 is required for JC virus infection of glial cells. *J. Virol.* **80**, 12079–12085 (2006)
44. Monaco M.C., Jensen P.N., Hou J., Durham L.C., Major E.O.: Detection of JC virus DNA in human tonsil tissue: evidence for site of initial viral infection. *J. Virol.* **72**, 9918–9923 (1998)
45. Munoz-Marmol A.M., Mola G., Ruiz-Larroya T., Fernandez-Vasalo A., Vela E., Mate J.L., Ariza A.: Rarity of JC virus DNA sequences and early proteins in human gliomas and medulloblastomas: the controversial role of JC virus in human neurooncogenesis. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **32**, 131–140 (2006)
46. Murai Y., Zheng H.C., Aziz H.O., Mei H., Kutsuna T., Nakanishi Y., Tsuneyama K., Takano Y.: High JC virus load in gastric cancer and adjacent non-cancerous mucosa. *Cancer Sci.* **98**, 25–31 (2007)
47. Niv Y., Goel A., Boland C.R.: JC virus and colorectal cancer: a possible trigger in the chromosomal instability pathways. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **21**, 85–89 (2005)
48. O'Neill F.J., Greenlee J.E., Dorries K., Clawson S.A., Carney H.: Propagation of archetype and nonarchetype JC virus variants in human fetal brain cultures: demonstration of interference activity by archetype JC virus. *J. Neurovirol.* **9**, 567–576 (2003)
49. Pavesi A.: Utility of JC polyomavirus in tracing the pattern of human migrations dating to prehistoric times. *J. Gen. Virol.* **86**, 1315–1326 (2005)
50. Pina-Oviedo S., De Leon-Bojorge B., Cuesta-Mejias T., White M.K., Ortiz-Hidalgo C., Khalili K., Del Valle L.: Glioblastoma multiforme with small cell neuronal-like component: association with human neurotropic JC virus. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **111**, 388–396 (2006)
51. Prins C., Frisque R.J.: JC virus T' proteins encoded by alternatively spliced early mRNAs enhance T antigen-mediated viral DNA replication in human cells. *J. Neurovirol.* **7**, 250–264 (2001)
52. Qu Q., Sawa H., Suzuki T., Semba S., Henmi C., Okada Y., Tsuda M., Tanaka S., Atwood W.J., Nagashima K.: Nuclear Entry Mechanism of the Human Polyomavirus JC Virus-like Particle. *J. Biol. Chem.* **279**, 27735–27742 (2004)
53. Querbes W., O'Hara B.A., Williams G., Atwood W.J.: Invasion of host cells by JC virus identifies a novel role for caveolae in endosomal sorting of noncaveolar ligands. *J. Virol.* **80**, 9402–9413 (2006)
54. Radhakrishnan S., Otte J., Enam S., Del Valle L., Khalili K., Gordon J.: JC virus-induced changes in cellular gene expression in primary human astrocytes. *J. Virol.* **77**, 10638–10644 (2003)
55. Raha T., Grace Cheng S.W., Green M.R.: HIV-1 Tat Stimulates Transcription Complex Assembly through Recruitment of TBP in the Absence of TAFs. *PloS Biology* **3**(2), e44 (2005) (doi:10.1371/journal.pbio.0030044), na stronic: <http://biology.plosjournals.org/perlserv/?request=get-document&doi=10.1371%2Fjournal.pbio.0030044>
56. Ravichandran V., Sabath B.F., Jensen P.N., Houff S.A., Major E.O.: Interactions between c-Jun, nuclear factor 1, and JC virus promoter sequences: implications for viral tropism. *J. Virol.* **80**, 10506–10513 (2006)
57. Reiss K., Khalili K., Giordano A., Trojanek J.: JC virus large T-antigen and IGF-I signaling system merge to affect DNA repair and genomic integrity. *J. Cell. Physiol.* **206**, 295–300 (2006)
58. Ricciardiello L., Baglioni M., Giovannini C., Pariali M., Cenacchi G., Ripalti A., Landini M.P., Sawa H., Nagashima K., Frisque R.J., Goel A., Boland C.R., Tognon M., Roda E., Bazzoli F.: Induction of Chromosomal Instability in Colonic Cells by the Human Polyomavirus JC Virus. *Cancer Res.* **63**, 7256–7262 (2003)
59. Rollison D.E., Utaipat U., Ryschkewitsch C., Hou J., Goldthwaite P., Daniel R., Helzlsouer K.J., Burger P.C., Shah K.V., Major E.O.: Investigation of human brain tumors for the presence of polyomavirus genome sequences by two independent laboratories. *Int. J. Cancer*, **113**, 769–774 (2005)
60. Shackelton L.A., Rambaut A., Pybus O.G., Holmes E.C.: JC virus evolution and its association with human populations. *J. Virol.* **80**, 9928–9933 (2006)
61. Shin S.K., Li M.S., Fuerst F., Hotchkiss E., Meyer R., Kim I.T., Goel A., Boland C.R.: Oncogenic T-antigen of JC virus is present frequently in human gastric cancers. *Cancer*, **107**, 481–488 (2006)
62. Smith R.W. P., Nasheuer H.P.: Initiation of JC virus DNA replication in vitro by human and mouse DNA polymerase – primase. *Eur. J. Biochem.* **270**, 2030–2037 (2003)
63. Sock E., Wegner M., Fortunato E.A., Grummt F.: Large T-antigen and sequences within the regulatory region of JC virus both contribute to the features of JC virus DNA replication. *Virology*, **197**, 537–548 (1993)
64. Strazzullo M., Cossu A., Balducci P., Colombino M., Satta M.P., Tanda F., De Bonis M.L., Cerase A., D'Urso M., D'Esposito M., Palmieri G.: High-resolution methylation analysis of the hMLH1 promoter in sporadic endometrial and colorectal carcinomas. *Cancer*, **98**, 1540–1546 (2003)
65. Sweet T.M., Del Valle L., Khalili K.: Molecular biology and immunoregulation of human neurotropic JC virus in CNS. *J. Cell. Physiol.* **191**, 249–256 (2002)
66. Tyagarajan S.K., Frisque R.J.: Stability and function of JC virus large T antigen and T' proteins are altered by mutation of their phosphorylated threonine 125 residues. *J. Virol.* **80**, 2083–2091 (2006)
67. Verma S., Ziegler K., Ananthula P., Co J.K., Frisque R.J., Yanagihara R., Nerurkar V.R.: JC virus induces altered patterns of cellular gene expression: interferon-inducible genes as major transcriptional targets. *Virology*, **345**, 457–467 (2006)
68. White M.K., Gordon J., Reiss K., Del Valle L., Croul S., Giordano A., Darbinyan A., Khalili K.: Human polyomaviruses and brain tumors. *Brain Res. Rev.* **50**, 69–85 (2005)
69. White M.K., Khalili K.: Expression of JC virus regulatory proteins in human cancer: potential mechanisms for tumorigenesis. *Eur. J. Cancer*, **41**, 2537–2548 (2005)
70. White M.K., Khalili K.: Interaction of retinoblastoma protein family members with large T-antigen of primate polyomaviruses. *Oncogene*, **25**, 5286–5293 (2006)
71. Wuthrich C., Kesari S., Kim W.K., Williams K., Gelman R., Elmer D., De Girolami U., Joseph J.T., Hedley-Whyte T., Korallnik I.J. Characterization of lymphocytic infiltrates in progressive multifocal leukoencephalopathy: co-localization of CD8(+) T cells with JCV-infected glial cells. *J. Neurovirol.* **12**, 116–128 (2006)
72. Zambrano A., Kalantari M., Simoneau A., Jensen J.L., Villarreal L.P.: Detection of human polyomaviruses and papillomaviruses in prostatic tissue reveals the prostate as a habitat for multiple viral infections. *Prostate*, **53**, 263–276 (2002)