

Zusammenfassung

Epidermodysplasia verruciformis (EV) ist eine Genodermatose, die bei mindestens 50% der Patienten zur Entstehung von Karzinomen vor allem an sonnenexponierten Stellen der Haut führt. Sie ist mit der Infektion von HPV des Genus beta, vor allem der Typen 5 und 8 assoziiert. In Hautläsionen von EV-Patienten konnte eine Verschiebung der Immunhomöostase festgestellt werden. Professionell Antigen-präsentierende Zellen (Langerhans Zellen (LHC)) waren vermindert, während hauptsächlich inflammatorische Immunzellen (Makrophagen) in die Läsionen infiltrierten. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Rolle von HPV bei der Regulation der Immunhomöostase am Beispiel der EV-assoziierten HPV zu analysieren. Es sollte untersucht werden, ob HPV-Onkoproteine die Expression immunregulatorischer Faktoren beeinflussen können. Es wurden 3 Faktoren mit chemotaktischer Aktivität analysiert, da diese maßgeblich die Homöostase von Immunzellen in der Haut bestimmen. CCL20 gilt als das potenteste Chemokin in der Anziehung von LHC-Vorläufern. Die Expression war in EV-Läsionen, die mit HPV8 oder 5 und 8 infiziert waren stark reduziert und wurde in primären Keratinozyten durch Expression des HPV8-Onkogens E7 unterdrückt. In transienten Transfektionen wurde außerdem erstmalig eine Induktion dieses Chemokins durch Interaktion des Transkriptionsfaktors C/EBP β mit der regulatorischen Region von CCL20 gefunden. Es wurde eine Repression der C/EBP β -vermittelten CCL20-Promotoraktivität durch HPV8 E7 und die Onkogene von HPV 5 festgestellt, sowie eine direkte Interaktion von HPV8 E7 mit C/EBP β . Dieser chemotaktische Faktor für LHC-Vorläufer wird demnach durch Onkogene EV-assoziiierter HPV supprimiert, was zur verringerten Menge von LHC beitragen könnte. Der zweite, ebenfalls an der Chemotaxis professionell Antigen-präsentierender Zellen beteiligte Faktor, das Defensin hBD3, war in HPV8 E6- und HPV8 E6/E7-exprimierenden Keratinozyten stark reprimiert. Hier fand eine Repression einer von C/EBP α induzierten Promotoraktivität durch beide HPV8-Onkogene statt. Auch dieser für Antigen-präsentierende Zellen chemotaktische Faktor wird also durch HPV8 unterdrückt. Der dritte Faktor, das Chemokin CCL2, ist in der Anziehung von Makrophagen wichtig. In EV-Läsionen und HPV8 E6- oder E7-exprimierenden Keratinozyten wurde es über einen noch unbekanntem Mechanismus induziert. Dies könnte zum Infiltrat der möglicherweise tumorfördernd wirkenden Makrophagen beitragen. In der vorliegenden Arbeit konnten Hinweise auf eine direkte Regulation dreier chemotaktischer Faktoren durch HPV8 -Onkogene gefunden werden. Auf diese Weise könnte HPV die Immunhomöostase in EV-Läsionen beeinflussen was einerseits zur Beeinträchtigung des Immunsystems und andererseits zur Tumorprogression beitragen könnte.

Abstract

Epidermodysplasia verruciformis (EV) is a rare genodermatosis, which leads to carcinogenesis mainly at sunexposed sites in 50% of the patients. This disease is associated with human papillomaviruses of the genus beta especially types 5 and 8. In stainings of EV-lesions a shift of immune homeostasis was detected. Professionally antigen presenting cells (Langerhans cells (LHC)) were downregulated whereas inflammatory immune cells as macrophages infiltrated the lesions. My doctoral thesis addressed the question, whether HPV itself could be responsible for this shift. It was investigated, whether HPV oncogenes regulate the expression of immunoregulatory factors. Three chemotactic factors, which play a role in the immune homeostasis, were analysed.

CCL20 has been described as the most important chemokine in the attraction of LHC-precursors. The expression of this chemokine was reduced in HPV8- or 5 and 8- positive EV-lesions and in HPV8 E7-expressing keratinocytes. In transient transfection assays for the first time an induction of CCL20 by the transcription factor C/EBP β via interaction with specific binding sites in the CCL20-regulatory region was found. The C/EBP β -associated activation of the CCL20 promoter was reduced by HPV8 E7 and HPV5 oncogenes. A direct interaction between C/EBP β and HPV8 E7 was detected. In summary, this LHC-precursor attracting chemokine was suppressed by oncogenes of EV-associated HPV, which could contribute to the reduced amount of antigen presenting cells. The second factor involved in chemoattraction of antigen presenting cells is the defensin hBD3. It was suppressed in HPV8 E6- and E6/E7-expressing keratinocytes. The C/EBP α induced activation of hBD3 promoter activity was reduced by both oncogenes. In addition to CCL20, also this factor involved in the chemoattraction of antigen presenting cells was suppressed by HPV8. The third factor which was investigated was the macrophage attracting chemokine CCL2. In EV-lesions and HPV 8 E6- or E7-expressing keratinocytes, this chemokine was induced via an unknown mechanism. This could contribute to the infiltration of potentially tumor-promoting macrophages into EV-lesions.

Evidences were provided, that HPV oncogenes directly regulate three factors which modulate immune homeostasis. Via this regulation HPV could on the one hand suppress immunosurveillance by leading to a reduction of antigen presenting cells and on the other hand promote tumorigenesis by attracting inflammatory cells, such as macrophages