



Modulación de la apoptosis por el virus del papiloma humano

Luis Felipe Jave-Suárez,^a Sarah Ratkovich-González,^a Vicente Olimón-Andalón,^a Adriana Aguilar-Lemarroy^a

Apoptosis modulation by human papillomavirus

One of the most important processes to keep the homeostasis in organisms is the apoptosis, also called programmed cell death. This mechanism works through two pathways: The intrinsic or mitochondrial, which responds to DNA damage and external agents like UV radiation; and the extrinsic or receptor-mediated, which binds to their ligands to initiate the apoptotic trail. The evasion of apoptosis is one of the main causes of cellular transformation to malignity. Many viruses had shown capacity to modify the apoptotic process; among them is the human papillomavirus, which, by means of its oncoproteins, interferes in pathways, reacting with the receptors and molecules and participating in the death mechanism. This creates ideal conditions for cancer development.

Keywords

Apoptosis
Human papillomavirus
Uterine cervical neoplasms

Palabras clave

Apoptosis
Papilomavirus humano
Neoplasias del cuello uterino

El proceso de apoptosis

La evasión de la apoptosis (muerte celular programada) es uno de los eventos cruciales que una célula desarrolla durante su proceso tumorigénico. Día con día surgen nuevas evidencias que corroboran la estrecha relación entre alteraciones en la apoptosis y el desarrollo del cáncer. La palabra apoptosis deriva del griego *apó*, que significa *separación o derivación*, y *ptosis*, que quiere decir *caída*. Este término se utilizaba en la antigua Grecia para describir la caída de las hojas de los árboles en el otoño. Con esta expresión se resalta el carácter fisiológico de la apoptosis, ya que implica que para que un organismo funcione adecuadamente, no solo debe tener la capacidad de producir nuevas células, sino también la habilidad de eliminarlas. En contraste con la necrosis, la cual puede provocar una reacción inflamatoria, la apoptosis remueve las células de una manera silenciosa y paulatina sin inducir inflamación. El proceso apoptótico puede ser dividido en tres etapas: 1) iniciación, en la cual la célula recibe el estímulo que la conduce a la muerte; 2) ejecución, que es cuando ocurre la mayor parte de los cambios morfológicos y bioquímicos característicos de la apoptosis y 3) eliminación, en la cual los restos celulares son fagocitados por macrófagos y células adyacentes.¹

Vías de inducción de la apoptosis

La inducción a la apoptosis está mediada principalmente por dos mecanismos: 1) por la activación de “receptores de muerte” en las células blanco, denominada vía extrínseca, y 2) por cambios en la mitocondria que culminan en la formación y activación del apoptosoma, vía conocida como intrínseca o mitocondrial.²

En la vía extrínseca, la señal proapoptótica es desencadenada por la unión de un receptor de muerte con su ligando. Los primeros incluyen un grupo de moléculas de superficie celular de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF), como por ejemplo TNFR-1, CD95/Apo-1/Fas y TRAIL-R (TNF related apoptosis inducing ligand-receptor), los cuales se unen a sus respectivos ligandos, TNF-alfa, CD95L y TRAIL, expresados principalmente en la superficie de los linfocitos T citotóxicos.¹ Esta subfamilia de receptores TNF está caracterizada por tener un dominio intracelular denominado dominio de muerte (DED). Al

^aDivisión de Inmunología, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social, Guadalajara, Jalisco, México

Comunicación con: Luis Felipe Jave-Suárez
Teléfono y fax: (33) 3617 0060, extensión 31926
Correo electrónico: lfjave@yahoo.com

Recibido: 22/10/2014

Aceptado: 15/05/2015

Uno de los procesos más importantes para el mantenimiento de la homeostasis en el organismo es la apoptosis, también denominada muerte celular programada. Este mecanismo funciona por medio de dos vías: la intrínseca o mitocondrial, que responde a daños al ADN y a agentes externos, como la radiación UV; y la extrínseca o mediada por receptores, los que se unen a sus ligandos para iniciar la cascada apoptótica.

La evasión de la apoptosis es una de las principales causas de transformación celular hacia la malignidad. Muchos virus han mostrado capacidades para modificar el proceso apoptótico, entre ellos el VPH, el cual interfiere por medio de sus oncoproteínas en ambas vías y reacciona con los receptores y las moléculas que participan en el mecanismo de muerte y crea condiciones propicias para el desarrollo del cáncer.

Resumen

ser activados los receptores por la unión con sus ligandos, el DED atrae proteínas adaptadoras intracelulares, sobre todo a la FADD (fas-associated death domain), la cual se encarga de reclutar la procaspasa 8. El complejo de proteínas resultantes se llama DISC (death inducing signaling complex);³ la formación del DISC permite la escisión de la procaspasa 8, la cual al ser cortada se activa (caspasa 8) y a su vez activa a las procaspasas 3 y 7. Estas últimas caspasas son denominadas efectoras, ya que se unen a diferentes sustratos diana, dentro de los cuales se incluye la proteína poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP), la cual es una enzima nuclear que detecta la aparición de roturas en el ADN. La caspasa 3 escinde la PARP en dos fragmentos, uno de 24 kDa y otro de 89 kDa, eliminando de ese modo la capacidad de la PARP para funcionar en la reparación del ADN y, por consiguiente, provocando la acumulación de daños en este, lo que promueve aún más la apoptosis.⁴

Por su parte, la vía intrínseca puede ser inducida por una amplia gama de señales, entre las que se incluyen la radiación, fármacos citotóxicos, estrés celular y la falta de citocinas o factores de crecimiento. Esta vía está finamente regulada por la acción concertada de muchas moléculas, incluidos miembros de la familia BCL-2, los cuales actúan como agentes proapoptóticos (proteínas con dominios BH3) y antiapoptóticos (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, Mcl-1, Bfl1/A-1, y Bcl-B).⁵ Las interacciones entre estas proteínas controlan el proceso de liberación del citocromo C del interior de la mitocondria, lo cual va precedido de pérdida del potencial de membrana mitocondrial y desestabilización de la membrana externa de la mitocondria. La permeabilización de la misma se considera como el “punto de no retorno” en la muerte por apoptosis. En el citosol, el citocromo C se une al Apaf-1 y en presencia de dATP o ATP, se forma el complejo conocido como apoptosoma, el cual recluta y activa a la caspasa 9, la que a su vez es capaz de activar a las caspasas efectoras (caspasas 3, 6 y 7) (figura 1).¹

La vía intrínseca juega un papel sumamente importante en la respuesta a la terapia contra el cáncer, ya que se ha observado la sobreexpresión de miembros antiapoptóticos de la familia BCL-2 en varios tipos de cáncer en humanos resistentes a quimioterapia.⁶

Entre los factores que pueden inhibir el proceso de apoptosis se encuentran aquellos que interfieren directamente con la activación de los receptores de muerte, o bien, los que actúan de manera indirecta, provocando una respuesta intracelular que altera la cascada de señalización apoptótica. Muchos virus, incluyendo el virus de papiloma humano (VPH), han desarrollado estrategias para bloquear la apoptosis. La capacidad de persistencia del VPH en el huésped por largos periodos de tiempo sin ser eliminado, da fe de la sofisticación de sus mecanismos de evasión.

Virus de papiloma humano y cáncer

El alto porcentaje de ADN viral presente en los tumores cervicales y la presencia de ARN mensajero y proteína de los oncogenes virales E6 y E7 en tumores y líneas celulares derivadas de carcinomas cervicales han evidenciado la importancia del VPH en la patogenia del cáncer. Asimismo, se ha demostrado que los oncogenes virales del VPH 16 o 18 son capaces de immortalizar cultivos primarios de queratinocitos humanos y que el cultivo por periodos prolongados de estas células da origen a clones malignas. Por lo anterior, hoy es ampliamente aceptada la asociación entre el cáncer cervical y, más recientemente, la del cáncer oral con la infección de VPH de alto riesgo.⁷ Entre los cánceres asociados al VPH, el cáncer cervicouterino (CaCU) es una de las principales causas de muerte en la población femenina en países en vías de desarrollo. En México, el CaCU es la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres. La infección con VPH se considera un factor necesario y predisponente para el desarrollo de CaCU. El ciclo biológico del virus comienza con una infección de las células de la capa basal del epitelio

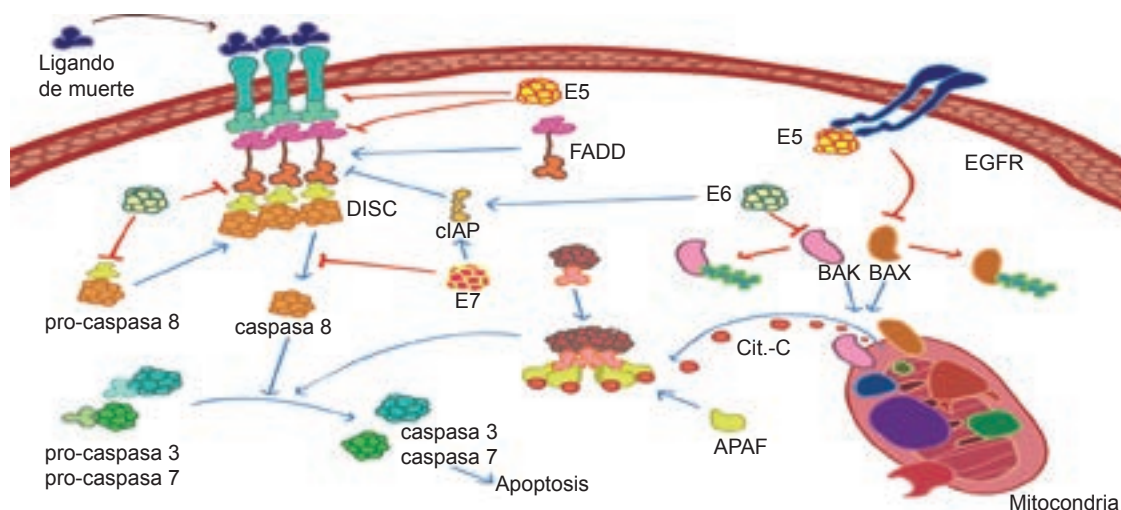


Figura 1 Mecanismos de regulación de la apoptosis mediados por las oncoproteínas virales. Se muestran algunos de los mecanismos antiapoptóticos en los cuales participan las oncoproteínas virales, independientes de la modulación de p53 y pRB. La E5 modula la vía extrínseca a nivel de los receptores de muerte y la formación del complejo DISC; por otro lado, regula la vía intrínseca, induciendo la degradación de BAX por medio de la activación de EGFR. La E6 regula igualmente ambas vías; la extrínseca impide la formación del DISC, induciendo a la proteína antiapoptótica cIAP y estimulando la degradación de FADD y de la pro-caspasa 8. La vía intrínseca la modula induciendo la degradación de BAK por medio de ubiquitinización. En el caso de la E7, las actividades antiapoptóticas de esta proteína las realiza mediante la inducción de cIAP e impidiendo la activación de la caspasa 8.

cervical. Se postula que el virus alcanza la capa basal del tejido epitelial mediante microabrasiones. Una vez que el genoma viral ha ingresado a la célula, es transportado al núcleo y se establece con un número determinado de copias virales por célula. El ciclo replicativo del VPH sigue estrictamente el programa de diferenciación de la célula huésped. Así, el desarrollo del cáncer cervical seguirá una serie de pasos, iniciando con la transmisión del VPH, la persistencia viral, la progresión de células infectadas precancerosas y por último la invasión.⁸

Modulación de la apoptosis por la E5

El papel de la oncoproteína viral E5 del VPH no ha recibido mucha atención debido a que el marco de lectura abierto de E5 es destruido a menudo, cuando el genoma del VPH se integra en el ADN de la célula huésped. El gen E5 juega un papel importante en la tumorigénesis, ya que se ha demostrado que su introducción en fibroblastos no tumorigénicos tiene un efecto transformante, el cual provoca la formación de colonias en agar blando. Del mismo modo, E5 aumenta la eficiencia de immortalización de E6 y E7 en queratinocitos humanos.⁹ En efecto, antes de la integración del ADN viral, cuando el genoma del VPH es episomal, el ARNm viral más abundante es el que codifica para la proteína E5.¹⁰ Lo anterior sugiere que en estadios tempranos la presencia de esta proteína es de suma importancia para la modulación de los eventos celulares que le permiten al virus cumplir su ciclo de vida.

La E5 emplea diversos mecanismos que tienen el potencial para contribuir en la transformación maligna de una célula. Se ha descrito que puede modular la vía de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), el cual regula la transcripción génica y modula procesos importantes, como la proliferación celular, la angiogénesis, la invasión tumoral y la metástasis. La proteína E5 forma un complejo estable con el receptor EGFR, induciendo de ese modo la dimerización del receptor y su activación; una vez activa la vía de EGFR, induce la ubiquitinización de Bax y su degradación por el proteasoma. Lo anterior trae como consecuencia la inhibición de la vía intrínseca de la apoptosis.¹¹ Mediante este mecanismo, se ha descrito que la E5 impide la apoptosis inducida por peróxido de hidrógeno, el cual forma parte de las estrategias que utilizan las células del sistema inmune en nuestra defensa.

Se ha descrito que tumores cervicales con infección de VPH presentan niveles de expresión del receptor CD95 disminuidos, lo que conlleva a una apoptosis deficiente.¹² Es posible que la causa de esta acción se deba también a la proteína E5; al respecto, estudios *in vitro* han demostrado que la introducción exógena de E5 del VPH-16 en queratinocitos reduce la expresión de CD95, lo cual incrementa la resistencia de las células a la apoptosis mediada por la vía extrínseca. De manera similar, la presencia de E5 confiere resistencia a la apoptosis mediada por la vía de TRAIL; sin embargo, la expresión del receptor de TRAIL no se ve afectada en las células por la presencia de E5, sino que esta impide la formación del DISC.¹³ Por otro lado, la

E5 de VPH-16 es capaz de proteger a las células de la apoptosis inducida por radiación UV; este efecto está mediado por la activación de las MAP-quinasas y la vía PI3K-Akt.¹⁴

Por lo tanto, es posible que la *E5* interfiera con la capacidad del sistema inmune para eliminar células infectadas mediante la alteración de la señalización mediada por receptores de muerte y la activación de vías de supervivencia. En conjunto, los resultados de los estudios aquí mencionados proporcionan una fuerte evidencia de que la *E5* contribuye a la evasión de la vigilancia inmune durante las primeras etapas de la infección por VPH.

Modulación de la apoptosis por la E6

La proteína *E6* del VPH ha sido ampliamente estudiada debido a sus fuertes propiedades oncogénicas. La *E6* es producida en dos versiones, una forma larga de aproximadamente 16 kDa y una versión más pequeña de aproximadamente 8 kDa.¹⁵ Ambas proteínas presentan como característica común la presencia de cuatro motivos Cys-XX-Cys que son capaces de enlazar zinc y están involucrados en diversas funciones. Entre las actividades oncogénicas descritas para la *E6* se incluyen la immortalización de células epiteliales humanas, la transformación de líneas establecidas de fibroblastos de ratón, la activación transcripcional, la resistencia a la diferenciación terminal de queratinocitos humanos y, finalmente, la modulación de apoptosis y tumorigénesis en animales.¹⁶

Uno de los blancos principales de la proteína *E6* es el gen supresor de tumor *p53*. En las primeras etapas de la infección por VPH de alto riesgo, la *E6* induce un aumento significativo en la proliferación celular como resultado de su interacción con la proteína retinoblastoma (pRB); esto provoca una sobreexpresión de la *p53*, lo que a su vez da lugar a la detención del ciclo celular y a la inducción de la apoptosis. Para revertir esta situación, la *E6* se une a la *p53* con la ayuda de la proteína E6AP e impide que *p53* induzca la detención del ciclo celular y la apoptosis. Mediante la unión con *E6*, *p53* es marcada para su degradación por medio del proteosoma.¹⁷

Otro blanco importante de la acción de la *E6* es la proteína BAK (de la familia BCL-2), que se encarga de inducir la apoptosis por medio de la activación de la vía intrínseca. La *E6* se une directamente a la BAK e induce su degradación. Se ha determinado que la capacidad de unión a esta proteína está conservada entre las proteínas *E6* de virus de bajo y alto riesgo, lo que indica que la inactivación de la proteína BAK es un evento crucial para el ciclo replicativo del virus.¹⁸ Adicionalmente, se ha observado que la *E6* inhibe la apoptosis mediada por TNF mediante la reducción de

la expresión de BAK y el incremento de BCL-2, sin afectar los niveles de expresión de las caspasas 3 y 8.¹⁹

Al igual que para *p53*, las proteínas BAK y MYC son degradadas por *E6* mediante la acción conjunta con E6AP, con lo que quedan marcadas por medio de ubiquitinación para su degradación por la vía del proteosoma.²⁰ La disminución de BAK mediada por *E6* y E6AP permite a las células infectadas ser resistentes a la radiación UV. Por otro lado, se ha visto que la *E6* disminuye la estratificación epitelial e inhibe la apoptosis durante la diferenciación inducida por suero y calcio en queratinocitos de prepucio humano. Estos hechos se correlacionan con una elevada expresión de BCL-2 y una reducción en la expresión de BAX.²¹

Utilizando fibroblastos humanos se ha demostrado que la presencia de *E6* induce un incremento significativo de la actividad del promotor de survivina. La expresión de survivina es regulada negativamente por *p53*, ya que *E6* regula negativamente a *p53* y es probable que influya en la regulación de la transcripción de survivina, por lo que se postula que el gen de survivina podría ser relevante en la función antiapoptótica de *E6*.²²

Existe una relación entre la apoptosis dependiente de *p53* y la vía extrínseca mediada por CD95; la expresión del receptor CD95 se incrementa en membrana celular en respuesta al tratamiento con agentes quimioterapéuticos y este incremento es dependiente de la acción de *p53*.²³ En queratinocitos humanos immortalizados con *E6*, los niveles de apoptosis disminuyen al ser tratados con un agonista de CD95, lo que indica que la proteína *E6* regula la expresión de CD95 a través de la degradación de *p53*. En este sentido, al inhibir la actividad del proteosoma en las células que expresan *E6* se genera de nueva cuenta una sensibilidad a la apoptosis mediada por CD95 o TRAIL.²⁴ Lo anterior resalta el papel fundamental que desempeña la proteína E6AP y la vía del proteosoma en la actividad de la oncoproteína *E6*. Adicionalmente, en carcinomas cervicales malignos positivos para VPH-16 que son insensibles a los ligandos de CD95 y TNF-alfa, se ha documentado la formación de un DISC no funcional. Esto sugiere que algunas proteínas virales podrían estar interactuando con receptores de muerte y de esta manera protegiendo a las células de la apoptosis. Estudios *in vitro* han demostrado que la *E6* protege a las células de la muerte mediada por TNF mediante un mecanismo independiente de *p53*. La inhibición de esta vía puede deberse a que la *E6* se une a una fracción C-terminal del receptor TNF-R1, bloqueando la transducción de la señal apoptótica.²⁵ Adicionalmente, se ha observado que *E6* induce un incremento en la actividad de NF-κB, así como de genes blanco de este factor de transcripción, como el inhibidor de la apoptosis cIAP-2.²⁶

Otra característica de la *E6*, es que tiene la capacidad de unirse a los dominios DED de la proteína adap-

tadora FADD y de la procaspasa-8, mediante lo cual estimula su degradación. La disminución de FADD y de la caspasa-8 impide una respuesta adecuada a las señales apoptóticas.²⁷

Modulación de la apoptosis por la E7

Al igual que la E6, la E7 es una oncoproteína importante por medio de la cual el VPH modula el ciclo celular y la supervivencia de la célula infectada. Uno de los mecanismos por medio de los cuales la E7 promueve el crecimiento celular y la proliferación es mediante la asociación con la proteína pRB.²⁸ En condiciones normales, la pRB forma un complejo con la histona deacetilasa (HDAC) y se une al factor de transcripción E2F en la fase G1 del ciclo celular. Esto evita que E2F induzca la activación de genes que son necesarios para la proliferación, hasta que la célula entra en la fase S. Sin embargo, cuando E7 se expresa en las células, se une a pRB y HDAC, liberando a E2F de la represión ejercida por pRB. Lo anterior resulta en la activación constitutiva de genes regulados por E2F. La inactivación de la capacidad de pRB para detener el ciclo celular es crítica para la transformación celular, el crecimiento celular incontrolado y la proliferación inducida por la infección viral. Adicionalmente, E7 es un potente inhibidor de la actividad de p21^{CIP1} y p27^{KIP1}, lo que evita el punto de control en la fase G1 del ciclo celular y permite la síntesis de ADN.²⁹ La estimulación de la progresión de G1 a la fase S permite al virus usar de manera eficiente la maquinaria celular de replicación del ADN para lograr la replicación del genoma viral. La E7 también interfiere con la desacetilación de histonas mediada por HDAC1 y HDAC2, lo que lleva a la activación de la transcripción.³⁰ Dado que se han descrito funciones antiapoptóticas para pRb, la degradación de esta proteína mediante la vía de ubiquitina mediada por E7 sugiere un papel proapoptótico para E7. Al respecto, se ha observado que E7 induce apoptosis en la retina de animales transgénicos que la expresan. Igualmente, fibroblastos de ratón en los cuales se indujo la expresión de E7 de VPH de alto y bajo riesgo cursan con apopto-

sis.³¹ De acuerdo con estas observaciones, la coexpresión de E7 y p21 en células U2OS indujo apoptosis. Asimismo, la sobreexpresión de E7 en queratinocitos humanos primarios causó muerte celular espontánea y sensibilizó a las células a la apoptosis mediada por TNF.³² Por otro lado, también existen reportes de la actividad antiapoptótica de E7. Un ejemplo de ello es un reciente estudio de Yuan *et al.*, en el cual se sugiere que la E7 puede inhibir la apoptosis mediada por TNF en queratinocitos, mediante la regulación de la expresión de c-IAP2.³³ En otro estudio se muestra que la expresión de E7 en fibroblastos retrasa la apoptosis vía CD95 e impide la apoptosis mediada por TNF, utilizando un mecanismo que implica la inhibición de la activación de la caspasa-8.³⁴ En este mismo contexto, se ha observado recientemente que E7 de VPH-16 interactúa con el factor proapoptótico Siva-1 para inhibir la apoptosis inducida por radiación UV en líneas celulares de queratinocitos.³⁵ Esta evidencia nos muestra que la E7 presenta la dualidad de inducir o inhibir la apoptosis, dependiendo del tipo celular y del tipo de VPH.

Conclusiones

El VPH, al igual que muchos otros virus, ha desarrollado mecanismos sofisticados para evadir las defensas del huésped. Entre estas una muy importante es bloquear la apoptosis para evitar la destrucción de las células infectadas. Para ello, el VPH cuenta, dentro de su arsenal, con las oncoproteínas virales E5, E6 y E7. Estas proteínas atacan ambas vías apoptóticas, a la vez que estimulan vías de supervivencia. Todas estas acciones en conjunto le permiten al virus establecer una infección exitosa y en el caso de la integración del genoma viral al DNA del huésped (una consecuencia no deseada del ciclo de vida del VPH), la transformación celular y el inicio del cáncer.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Referencias

1. Krammer PH, Arnold R, Lavrik IN. Life and death in peripheral T cells. *Nat Rev Immunol.* 2007;7(7):532-42.
2. Kaufmann SH, Gores GJ. Apoptosis in cancer: cause and cure. *Bioessays.* 2000;22(11):1007-17.
3. Lavrik I, Krueger A, Schmitz I, Baumann S, Weyd H, Krammer PH, et al. The active caspase-8 heterotetramer is formed at the CD95 DISC. *Cell Death Differ.* 2003;10(1):144-5.
4. D'Amours D, Sallmann FR, Dixit VM, Poirier GG. Gain-of-function of poly(ADP-ribose) polymerase-1 upon cleavage by apoptotic proteases: implications for apoptosis. *J Cell Sci.* 2001;114(Pt 20):3771-8.
5. Cory S, Huang DC, Adams JM. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. *Oncogene.* 2003;22(53):8590-607.
6. Kang MH, Reynolds CP. Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy. *Clin Cancer Res.* 2009;15:1126-32.
7. Gillison ML. Human papillomavirus-related diseases: oropharynx cancers and potential implications

- for adolescent HPV vaccination. *J Adolesc Health*. 2008;43(4 Suppl):S52-60.
8. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol*. 2005;32 (Suppl 1):S7-15.
 9. Stoppler MC, Straight SW, Tsao G, Schlegel R, McCance DJ. The E5 gene of HPV-16 enhances keratinocyte immortalization by full-length DNA. *Virology*. 1996;223(1):251-4.
 10. Stoler MH, Rhodes CR, Whitbeck A, Wolinsky SM, Chow LT, Broker TR. Human papillomavirus type 16 and 18 gene expression in cervical neoplasias. *Hum Pathol*. 1992;23(2):117-28.
 11. Oh JM, Kim SH, Cho EA, Song YS, Kim WH, Juhn YS. Human papillomavirus type 16 E5 protein inhibits hydrogen-peroxide-induced apoptosis by stimulating ubiquitin-proteasome-mediated degradation of Bax in human cervical cancer cells. *Carcinogenesis*. 2010;31:402-10.
 12. Das H, Koizumi T, Sugimoto T, Chakraborty S, Ichimura T, Hasegawa K, et al. Quantitation of Fas and Fas ligand gene expression in human ovarian, cervical and endometrial carcinomas using real-time quantitative RT-PCR. *Br J Cancer*. 2000;82(10):1682-8.
 13. Kabsch K, Mossadegh N, Kohl A, Komposch G, Schenkel J, Alonso A, et al. The HPV-16 E5 protein inhibits TRAIL- and FasL-mediated apoptosis in human keratinocyte raft cultures. *Intervirology*. 2004;47(1):48-56.
 14. Zhang B, Spandau DF, Roman A. E5 protein of human papillomavirus type 16 protects human foreskin keratinocytes from UV B-irradiation-induced apoptosis. *J Virol*. 2002;76(1):220-31.
 15. Mantovani F, Banks L. The human papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene*. 2001;20(54):7874-87.
 16. Garnett TO, Duerksen-Hughes PJ. Modulation of apoptosis by human papillomavirus (HPV) oncoproteins. *Arch Virol*. 2006;151(12):2321-35.
 17. Bernard X, Robinson P, Nominé Y, Masson M, Charbonnier S, Ramirez-Ramos JR, et al. Proteasomal degradation of p53 by human papillomavirus E6 oncoprotein relies on the structural integrity of p53 core domain. *PLoS One*. 2011;6(10):e25981.
 18. Thomas M, Banks L. Human papillomavirus (HPV) E6 interactions with Bak are conserved amongst E6 proteins from high and low risk HPV types. *J Gen Virol*. 1999;80 (Pt 6):1513-7.
 19. Du J, Chen GG, Vlantis AC, Chan PK, Tsang RK, van Hasselt CA. Resistance to apoptosis of HPV 16-infected laryngeal cancer cells is associated with decreased Bak and increased Bcl-2 expression. *Cancer Lett*. 2004;205(1):81-8.
 20. Gross-Mesilaty S, Reinstein E, Bercovich B, Tobias KE, Schwartz AL, Kahana C, et al. Basal and human papillomavirus E6 oncoprotein-induced degradation of Myc proteins by the ubiquitin pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(14):8058-63.
 21. Alfandari J, Shnitman Magal S, Jackman A, Schlegel R, Gonen P, Sherman L. HPV16 E6 oncoprotein inhibits apoptosis induced during serum-calcium differentiation of foreskin human keratinocytes. *Virology*. 1999;257(2):383-96.
 22. Borbely AA, Murvai M, Kónya J, Beck Z, Gergely L, Li F, et al. Effects of human papillomavirus type 16 oncoproteins on survivin gene expression. *J Gen Virol*. 2006;87(Pt 2):287-94.
 23. Muller M, Wilder S, Bannasch D, Israeli D, Lehlbach K, Li-Weber M, et al. p53 activates the CD95 (APO-1/Fas) gene in response to DNA damage by anticancer drugs. *J Exp Med*. 1998;188(11):2033-45.
 24. Hougardy BM, Maduro JH, van der Zee AG, de Groot DJ, van den Heuvel FA, de Vries EG, et al. Proteasome inhibitor MG132 sensitizes HPV-positive human cervical cancer cells to rhTRAIL-induced apoptosis. *Int J Cancer*. 2006;118(8):1892-900.
 25. Filippova M, Song H, Connolly JL, Dermody TS, Duerksen-Hughes PJ. The human papillomavirus 16 E6 protein binds to tumor necrosis factor (TNF) R1 and protects cells from TNF-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 2002;277(24):21730-9.
 26. James MA, Lee JH, Klingelutz AJ. Human papillomavirus type 16 E6 activates NF-kappaB, induces cIAP-2 expression, and protects against apoptosis in a PDZ binding motif-dependent manner. *J Virol*. 2006;80(11):5301-7.
 27. Garnett TO, Filippova M, Duerksen-Hughes PJ. Accelerated degradation of FADD and procaspase 8 in cells expressing human papilloma virus 16 E6 impairs TRAIL-mediated apoptosis. *Cell Death Differ*. 2006;13(11):1915-26.
 28. Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science*. 1989;243(4893):934-7.
 29. Morozov A, Shiyonov P, Barr E, Leiden JM, Raychaudhuri P. Accumulation of human papillomavirus type 16 E7 protein bypasses G1 arrest induced by serum deprivation and by the cell cycle inhibitor p21. *J Virol*. 1997;71(5):3451-7.
 30. Brehm A, Nielsen SJ, Miska EA, McCance DJ, Reid JL, Bannister AJ, et al. The E7 oncoprotein associates with Mi2 and histone deacetylase activity to promote cell growth. *EMBO J*. 1999;18(9):2449-58.
 31. Alunni-Fabbroni M, Littlewood T, Deleu L, Caldeira S, Giarre M, Dell' Orco M, et al. Induction of S phase and apoptosis by the human papillomavirus type 16 E7 protein are separable events in immortalized rodent fibroblasts. *Oncogene*. 2000;19(19):2277-85.
 32. Stoppler H, Stoppler MC, Johnson E, Simbulan-Rosenthal CM, Smulson ME, Iyer S, et al. The E7 protein of human papillomavirus type 16 sensitizes primary human keratinocytes to apoptosis. *Oncogene*. 1998;17(10):1207-14.
 33. Yuan H, Fu F, Zhuo J, Wang W, Nishitani J, An DS, et al. Human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins upregulate c-IAP2 gene expression and confer resistance to apoptosis. *Oncogene*. 2005;24(32):5069-78.
 34. Thompson DA, Zacny V, Belinsky GS, Classon M, Jones DL, Schlegel R, et al. The HPV E7 oncoprotein inhibits tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis in normal human fibroblasts. *Oncogene*. 2001;20(28):3629-40.
 35. Severino A, Abbruzzese C, Manente L, Valderas AA, Mattarocci S, Federico A, et al. Human papillomavirus-16 E7 interacts with Siva-1 and modulates apoptosis in HaCaT human immortalized keratinocytes. *J Cell Physiol*. 2007;212(1):118-25.