

VU Research Portal

Oncomodulatory properties of the human cytomegalovirus-encoded receptors US28 and UL33

Langemeijer, E.V.

2012

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Langemeijer, E. V. (2012). *Oncomodulatory properties of the human cytomegalovirus-encoded receptors US28 and UL33*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

references

1. Landolfó, S., M. Gariglio, G. Gribaudo, and D. Lembo, *The human cytomegalovirus*. *Pharmacol Ther*, 2003. **98**(3): p. 269-97.
2. Britt, W., *Manifestations of human cytomegalovirus infection: proposed mechanisms of acute and chronic disease*. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2008. **325**: p. 417-70.
3. Soderberg-Naucler, C., *Does cytomegalovirus play a causative role in the development of various inflammatory diseases and cancer?* *J Intern Med*, 2006. **259**(3): p. 219-46.
4. Melnick, M., P.P. Sedghizadeh, C.M. Allen, and T. Jaskoll, *Human cytomegalovirus and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: cell-specific localization of active viral and oncogenic signaling proteins is confirmatory of a causal relationship*. *Exp Mol Pathol*, 2012. **92**(1): p. 118-25.
5. Yang, T.Y., S.C. Chen, M.W. Leach, D. Manfra, B. Homey, M. Wiekowski, L. Sullivan, C.H. Jenh, S.K. Narula, S.W. Chensue, and S.A. Lira, *Transgenic expression of the chemokine receptor encoded by human herpesvirus 8 induces an angioproliferative disease resembling Kaposi's sarcoma*. *J Exp Med*, 2000. **191**(3): p. 445-54.
6. Maussang, D., D. Verzijl, M. van Walsum, R. Leurs, J. Holl, O. Pleskoff, D. Michel, G.A. van Dongen, and M.J. Smit, *Human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 promotes tumorigenesis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. **103**(35): p. 13068-73.
7. Slinger, E., E. Langemeijer, M. Siderius, H.F. Vischer, and M.J. Smit, *Herpesvirus-encoded GPCRs rewire cellular signaling*. *Mol Cell Endocrinol*, 2011. **331**(2): p. 179-84.
8. Fredriksson, R., M.C. Lagerstrom, L.G. Lundin, and H.B. Schiöth, *The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints*. *Mol Pharmacol*, 2003. **63**(6): p. 1256-72.
9. Dixon, R.A., B.K. Kobilka, D.J. Strader, J.L. Benovic, H.G. Dohlman, T. Frielle, M.A. Bolanowski, C.D. Bennett, E. Rands, R.E. Diehl, R.A. Mumford, E.E. Slater, I.S. Sigal, M.G. Caron, R.J. Lefkowitz, and C.D. Strader, *Cloning of the gene and cDNA for mammalian β -adrenergic receptor and homology with rhodopsin*. *Nature*, 1986. **321**(6065): p. 75-9.
10. Kristiansen, K., *Molecular mechanisms of ligand binding, signaling, and regulation within the superfamily of G-protein-coupled receptors: molecular modeling and mutagenesis approaches to receptor structure and function*. *Pharmacol Ther*, 2004. **103**(1): p. 21-80.

11. Trabanino, R.J., S.E. Hall, N. Vaidehi, W.B. Floriano, V.W. Kam, and W.A. Goddard, 3rd, *First principles predictions of the structure and function of g-protein-coupled receptors: validation for bovine rhodopsin*. *Biophys J*, 2004. **86**(4): p. 1904-21.
12. Schlyer, S. and R. Horuk, *I want a new drug: G-protein-coupled receptors in drug development*. *Drug Discov Today*, 2006. **11**(11-12): p. 481-93.
13. Qin, Y., E.M. Verdegaal, M. Siderius, J.P. Bebelman, M.J. Smit, R. Leurs, R. Willemze, C.P. Tensen, and S. Osanto, *Quantitative expression profiling of G-protein-coupled receptors (GPCRs) in metastatic melanoma: the constitutively active orphan GPCR GPR18 as novel drug target*. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2011. **24**(1): p. 207-18.
14. Baldwin, J.M., *The probable arrangement of the helices in G protein-coupled receptors*. *EMBO J*, 1993. **12**(4): p. 1693-703.
15. Palczewski, K., T. Kumasaka, T. Hori, C.A. Behnke, H. Motoshima, B.A. Fox, I. Le Trong, D.C. Teller, T. Okada, R.E. Stenkamp, M. Yamamoto, and M. Miyano, *Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor*. *Science*, 2000. **289**(5480): p. 739-45.
16. Smit, M.J., H.F. Vischer, R.A. Bakker, A. Jongejan, H. Timmerman, L. Pardo, and R. Leurs, *Pharmacogenomic and structural analysis of constitutive g protein-coupled receptor activity*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007. **47**: p. 53-87.
17. Wu, B., E.Y. Chien, C.D. Mol, G. Fenalti, W. Liu, V. Katritch, R. Abagyan, A. Brooun, P. Wells, F.C. Bi, D.J. Hamel, P. Kuhn, T.M. Handel, V. Cherezov, and R.C. Stevens, *Structures of the CXCR4 chemokine GPCR with small-molecule and cyclic peptide antagonists*. *Science*, 2010. **330**(6007): p. 1066-71.
18. Chien, E.Y., W. Liu, Q. Zhao, V. Katritch, G.W. Han, M.A. Hanson, L. Shi, A.H. Newman, J.A. Javitch, V. Cherezov, and R.C. Stevens, *Structure of the human dopamine D3 receptor in complex with a D2/D3 selective antagonist*. *Science*, 2010. **330**(6007): p. 1091-5.
19. Shimamura, T., M. Shiroishi, S. Weyand, H. Tsujimoto, G. Winter, V. Katritch, R. Abagyan, V. Cherezov, W. Liu, G.W. Han, T. Kobayashi, R.C. Stevens, and S. Iwata, *Structure of the human histamine H1 receptor complex with doxepin*. *Nature*, 2011. **475**(7354): p. 65-70.
20. Rosenbaum, D.M., S.G. Rasmussen, and B.K. Kobilka, *The structure and function of G-protein-coupled receptors*. *Nature*, 2009. **459**(7245): p. 356-63.
21. Hanson, M.A., C.B. Roth, E. Jo, M.T. Griffith, F.L. Scott, G. Reinhart, H. Desale, B. Clemons, S.M. Cahalan, S.C. Schuerer, M.G. Sanna, G.W. Han, P. Kuhn, H. Rosen, and R.C. Stevens, *Crystal structure of a lipid G protein-coupled receptor*. *Science*, 2012. **335**(6070): p. 851-5.
22. Manglik, A., A.C. Kruse, T.S. Kobilka, F.S. Thian, J.M. Mathiesen, R.K. Sunahara, L. Pardo, W.I. Weis, B.K. Kobilka, and S. Granier, *Crystal structure of the μ -opioid receptor bound to a morphinan antagonist*. *Nature*, 2012. **485**(7398): p. 321-6.
23. Wu, H., D. Wacker, M. Mileni, V. Katritch, G.W. Han, E. Vardy, W. Liu, A.A. Thompson, X.P. Huang, F.I. Carroll, S.W. Mascarella, R.B. Westkaemper, P.D. Mosier, B.L. Roth, V. Cherezov, and R.C. Stevens, *Structure of the human κ -opioid receptor in complex with JDTic*. *Nature*, 2012. **485**(7398): p. 327-32.
24. Granier, S., A. Manglik, A.C. Kruse, T.S. Kobilka, F.S. Thian, W.I. Weis, and B.K. Kobilka, *Structure of the δ -opioid receptor bound to naltrindole*. *Nature*, 2012. **485**(7398): p. 400-4.
25. Thompson, A.A., W. Liu, E. Chun, V. Katritch, H. Wu, E. Vardy, X.P. Huang, C. Trapella, R. Guerrini, G. Calo, B.L. Roth, V. Cherezov, and R.C. Stevens, *Structure of the nociceptin/orphanin FQ receptor in complex with a peptide mimetic*. *Nature*, 2012. **485**(7398): p. 395-9.
26. Rasmussen, S.G., H.J. Choi, D.M. Rosenbaum, T.S. Kobilka, F.S. Thian, P.C. Edwards, M. Burghammer, V.R. Ratnala, R. Sanishvili, R.F. Fischetti, G.F. Schertler, W.I. Weis, and B.K. Kobilka, *Crystal structure of the human β_2 adrenergic G-protein-coupled receptor*. *Nature*, 2007. **450**(7168): p. 383-7.

27. Rosenbaum, D.M., V. Cherezov, M.A. Hanson, S.G. Rasmussen, F.S. Thian, T.S. Kobilka, H.J. Choi, X.J. Yao, W.I. Weis, R.C. Stevens, and B.K. Kobilka, *GPCR engineering yields high-resolution structural insights into β_2 -adrenergic receptor function*. *Science*, 2007. **318**(5854): p. 1266-73.
28. Cherezov, V., D.M. Rosenbaum, M.A. Hanson, S.G. Rasmussen, F.S. Thian, T.S. Kobilka, H.J. Choi, P. Kuhn, W.I. Weis, B.K. Kobilka, and R.C. Stevens, *High-resolution crystal structure of an engineered human β_2 -adrenergic G protein-coupled receptor*. *Science*, 2007. **318**(5854): p. 1258-65.
29. Jaakola, V.P., M.T. Griffith, M.A. Hanson, V. Cherezov, E.Y. Chien, J.R. Lane, A.P. Ijzerman, and R.C. Stevens, *The 2.6 angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist*. *Science*, 2008. **322**(5905): p. 1211-7.
30. Neves, S.R., P.T. Ram, and R. Iyengar, *G protein pathways*. *Science*, 2002. **296**(5573): p. 1636-9.
31. Lefkowitz, R.J., S. Cotecchia, P. Samama, and T. Costa, *Constitutive activity of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins*. *Trends Pharmacol Sci*, 1993. **14**(8): p. 303-7.
32. De Lean, A., J.M. Stadel, and R.J. Lefkowitz, *A ternary complex model explains the agonist-specific binding properties of the adenylate cyclase-coupled β -adrenergic receptor*. *J Biol Chem*, 1980. **255**(15): p. 7108-17.
33. Samama, P., S. Cotecchia, T. Costa, and R.J. Lefkowitz, *A mutation-induced activated state of the β_2 -adrenergic receptor: Extending the ternary complex model*. *J Biol Chem*, 1993. **268**(7): p. 4625-36.
34. Milligan, G., R.A. Bond, and M. Lee, *Inverse agonism: pharmacological curiosity or potential therapeutic strategy?* *Trends Pharmacol Sci*, 1995. **16**(1): p. 10-3.
35. Weiss, J.M., P.H. Morgan, M.W. Lutz, and T.P. Kenakin, *The cubic ternary complex receptor-occupancy model. III. resurrecting efficacy*. *J Theor Biol*, 1996. **181**(4): p. 381-97.
36. Chen, G., J. Way, S. Armour, C. Watson, K. Queen, C.K. Jayawickreme, W.J. Chen, and T. Kenakin, *Use of constitutive G protein-coupled receptor activity for drug discovery*. *Mol Pharmacol*, 2000. **57**(1): p. 125-34.
37. Benovic, J.L., W.C. Stone, K. Huebner, C. Croce, M.G. Caron, and R.J. Lefkowitz, *cDNA cloning and chromosomal localization of the human β -adrenergic receptor kinase*. *FEBS Lett*, 1991. **283**(1): p. 122-6.
38. Lohse, M.J., J.L. Benovic, J. Codina, M.G. Caron, and R.J. Lefkowitz, *β -Arrestin: a protein that regulates β -adrenergic receptor function*. *Science*, 1990. **248**(4962): p. 1547-50.
39. Kuhn, H. and U. Wilden, *Deactivation of photoactivated rhodopsin by rhodopsin-kinase and arrestin*. *J Recept Res*, 1987. **7**(1-4): p. 283-98.
40. Kovacs, J.J., M.R. Hara, C.L. Davenport, J. Kim, and R.J. Lefkowitz, *Arrestin development: emerging roles for β -arrestins in developmental signaling pathways*. *Dev Cell*, 2009. **17**(4): p. 443-58.
41. Luttrell, L.M. and D. Gesty-Palmer, *Beyond desensitization: physiological relevance of arrestin-dependent signaling*. *Pharmacol Rev*, 2010. **62**(2): p. 305-30.
42. Kenakin, T., *Functional selectivity and biased receptor signaling*. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011. **336**(2): p. 296-302.
43. Whalen, E.J., S. Rajagopal, and R.J. Lefkowitz, *Therapeutic potential of β -arrestin- and G protein-biased agonists*. *Trends Mol Med*, 2011. **17**(3): p. 126-39.
44. Seifert, R. and K. Wenzel-Seifert, *Constitutive activity of G-protein-coupled receptors: cause of disease and common property of wild-type receptors*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2002. **366**(5): p. 381-416.
45. Dryja, T.P., E.L. Berson, V.R. Rao, and D.D. Oprian, *Heterozygous missense mutation in the rhodopsin gene as a cause of congenital stationary night blindness*. *Nat Genet*, 1993. **4**(3): p. 280-3.
46. Schipani, E., K. Kruse, and H. Juppner, *A constitutively active mutant PTH-PTHrP receptor in Jansen-type metaphyseal chondrodysplasia*. *Science*, 1995. **268**(5207): p. 98-100.
47. Gutkind, J.S., E.A. Novotny, M.R. Brann, and K.C. Robbins, *Muscarinic acetylcholine receptor subtypes as agonist-dependent oncogenes*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. **88**(11): p. 4703-7.

48. Allen, L.F., R.J. Lefkowitz, M.G. Caron, and S. Cotecchia, *G-protein-coupled receptor genes as protooncogenes: constitutively activating mutation of the α_{1B} -adrenergic receptor enhances mitogenesis and tumorigenicity*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. **88**(24): p. 11354-8.
49. Parma, J., L. Duprez, J. Van Sande, P. Cochaux, C. Gervy, J. Mockel, J. Dumont, and G. Vassart, *Somatic mutations in the thyrotropin receptor gene cause hyperfunctioning thyroid adenomas*. Nature, 1993. **365**(6447): p. 649-51.
50. Agnati, L.F., K. Fuxe, M. Zoli, C. Rondanini, and S.O. Ogren, *New vistas on synaptic plasticity: the receptor mosaic hypothesis of the engram*. Med Biol, 1982. **60**(4): p. 183-90.
51. Cryan, J.F. and K. Kaupmann, *Don't worry 'B' happy!: a role for GABA(B) receptors in anxiety and depression*. Trends Pharmacol Sci, 2005. **26**(1): p. 36-43.
52. White, J.H., A. Wise, M.J. Main, A. Green, N.J. Fraser, G.H. Disney, A.A. Barnes, P. Emson, S.M. Foord, and F.H. Marshall, *Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA(B) receptor*. Nature, 1998. **396**(6712): p. 679-82.
53. Han, Y., I.S. Moreira, E. Urizar, H. Weinstein, and J.A. Javitch, *Allosteric communication between protomers of dopamine class A GPCR dimers modulates activation*. Nat Chem Biol, 2009. **5**(9): p. 688-95.
54. Horuk, R., Z.X. Wang, S.C. Peiper, and J. Hesselgesser, *Identification and characterization of a promiscuous chemokine-binding protein in a human erythroleukemic cell line*. J Biol Chem, 1994. **269**(26): p. 17730-3.
55. Murphy, P.M., M. Baggiolini, I.F. Charo, C.A. Hebert, R. Horuk, K. Matsushima, L.H. Miller, J.J. Oppenheim, and C.A. Power, *International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors*. Pharmacol Rev, 2000. **52**(1): p. 145-76.
56. Fischer, T., F. Nagel, S. Jacobs, R. Stumm, and S. Schulz, *Reassessment of CXCR4 chemokine receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-2*. PLoS One, 2008. **3**(12): p. e4069.
57. Vandercappellen, J., J. Van Damme, and S. Struyf, *The role of CXC chemokines and their receptors in cancer*. Cancer Letters, 2008. **267**(2): p. 226-44.
58. Zlotnik, A., *Involvement of chemokine receptors in organ-specific metastasis*. Contrib Microbiol, 2006. **13**: p. 191-9.
59. Zlotnik, A., *New insights on the role of CXCR4 in cancer metastasis*. J Pathol, 2008. **215**(3): p. 211-3.
60. Berger, E.A., *HIV entry and tropism: the chemokine receptor connection*. AIDS, 1997. **11** Suppl A: p. S3-16.
61. Moore, J.P., *Coreceptors: implications for HIV pathogenesis and therapy*. Science, 1997. **276**(5309): p. 51-2.
62. Feng, Y., C.C. Broder, P.E. Kennedy, and E.A. Berger, *HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor*. Science, 1996. **272**(5263): p. 872-7.
63. Shimizu, N., A. Tanaka, A. Oue, T. Mori, T. Ohtsuki, C. Apichartpiyakul, H. Uchiumi, Y. Nojima, and H. Hoshino, *Broad usage spectrum of G protein-coupled receptors as coreceptors by primary isolates of HIV*. AIDS, 2009. **23**(7): p. 761-9.
64. Zlotnik, A., O. Yoshie, and H. Nomiya, *The chemokine and chemokine receptor superfamilies and their molecular evolution*. Genome Biology, 2006. **7**(12): p. 243.
65. Moser, B. and P. Loetscher, *Lymphocyte traffic control by chemokines*. Nat Immunol, 2001. **2**(2): p. 123-8.
66. Al-Aoukaty, A., T.J. Schall, and A.A. Maghazachi, *Differential coupling of CC chemokine receptors to multiple heterotrimeric G proteins in human interleukin-2-activated natural killer cells*. Blood, 1996. **87**(10): p. 4255-60.
67. Johnson, Z., C.A. Power, C. Weiss, F. Rintelen, H. Ji, T. Ruckle, M. Camps, T.N. Wells, M.K. Schwarz, A.E. Proudfoot, and C. Rommel, *Chemokine inhibition--why, when, where, which and how?* Biochem Soc Trans, 2004. **32**(Pt 2): p. 366-77.

68. Strieter, R.M., M.D. Burdick, B.N. Gomperts, J.A. Belperio, and M.P. Keane, *CXC chemokines in angiogenesis*. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005. **16**(6): p. 593-609.
69. Kakinuma, T. and S.T. Hwang, *Chemokines, chemokine receptors, and cancer metastasis*. *J Leukoc Biol*, 2006. **79**(4): p. 639-51.
70. Burger, J.A. and T.J. Kipps, *CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment*. *Blood*, 2006. **107**(5): p. 1761-7.
71. Loetscher, P., A. Pellegrino, J.H. Gong, I. Mattioli, M. Loetscher, G. Bardi, M. Baggiolini, and I. Clark-Lewis, *The ligands of CXC chemokine receptor 3, I-TAC, Mig, and IP10, are natural antagonists for CCR3*. *J Biol Chem*, 2001. **276**(5): p. 2986-91.
72. Zuo, J., A. Currin, B.D. Griffin, C. Shannon-Lowe, W.A. Thomas, M.E. Rensing, E.J. Wiertz, and M. Rowe, *The Epstein-Barr virus G-protein-coupled receptor contributes to immune evasion by targeting MHC class I molecules for degradation*. *PLoS Pathog*, 2009. **5**(1): p. e1000255.
73. Lyngaa, R., K. Norregaard, M. Kristensen, V. Kubale, M.M. Rosenkilde, and T.N. Kledal, *Cell transformation mediated by the Epstein-Barr virus G protein-coupled receptor BILF1 is dependent on constitutive signaling*. *Oncogene*, 2010. **29**(31): p. 4388-98.
74. Pleskoff, O., C. Treboute, A. Brelot, N. Heveker, M. Seman, and M. Alizon, *Identification of a chemokine receptor encoded by human cytomegalovirus as a cofactor for HIV-1 entry*. *Science*, 1997. **276**(5320): p. 1874-8.
75. Streblov, D.N., J. Vomaske, P. Smith, R. Melnychuk, L. Hall, D. Pancheva, M. Smit, P. Casarosa, D.D. Schlaepfer, and J.A. Nelson, *Human cytomegalovirus chemokine receptor US28-induced smooth muscle cell migration is mediated by focal adhesion kinase and Src*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(50): p. 50456-65.
76. Vomaske, J., R.M. Melnychuk, P.P. Smith, J. Powell, L. Hall, V. DeFilippis, K. Fruh, M. Smit, D.D. Schlaepfer, J.A. Nelson, and D.N. Streblov, *Differential ligand binding to a human cytomegalovirus chemokine receptor determines cell type-specific motility*. *PLoS Pathog*, 2009. **5**(2): p. e1000304.
77. Vomaske, J., S. Varnum, R. Melnychuk, P. Smith, L. Pasa-Tolic, J.I. Shutthanandan, and D.N. Streblov, *HCMV pUS28 initiates pro-migratory signaling via activation of Pyk2 kinase*. *Herpesviridae*, 2010. **1**(1): p. 2.
78. Pleskoff, O., P. Casarosa, L. Verneuil, F. Ainoun, P. Beisser, M. Smit, R. Leurs, P. Schneider, S. Michelson, and J.C. Ameisen, *The human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 induces caspase-dependent apoptosis*. *Febs J*, 2005. **272**(16): p. 4163-77.
79. Bodaghi, B., T.R. Jones, D. Zipeto, C. Vita, L. Sun, L. Laurent, F. Arenzana-Seisdedos, J.L. Virelizier, and S. Michelson, *Chemokine sequestration by viral chemoreceptors as a novel viral escape strategy: withdrawal of chemokines from the environment of cytomegalovirus-infected cells*. *J Exp Med*, 1998. **188**(5): p. 855-66.
80. Slinger, E., D. Maussang, A. Schreiber, M. Siderius, A. Rahbar, A. Fraile-Ramos, S.A. Lira, C. Soderberg-Naucler, and M.J. Smit, *HCMV-encoded chemokine receptor US28 mediates proliferative signaling through the IL-6-STAT3 axis*. *Sci Signal*, 2010. **3**(133): p. ra58.
81. Maussang, D., E. Langemeijer, C.P. Fitzsimons, M. Stigter-van Walsum, R. Dijkman, M.K. Borg, E. Slinger, A. Schreiber, D. Michel, C.P. Tensen, G.A. van Dongen, R. Leurs, and M.J. Smit, *The human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 promotes angiogenesis and tumor formation via cyclooxygenase-2*. *Cancer Res*, 2009. **69**(7): p. 2861-9.
82. Casarosa, P., R.A. Bakker, D. Verzijl, M. Navis, H. Timmerman, R. Leurs, and M.J. Smit, *Constitutive signaling of the human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28*. *J Biol Chem*, 2001. **276**(2): p. 1133-7.
83. McLean, K.A., P.J. Holst, L. Martini, T.W. Schwartz, and M.M. Rosenkilde, *Similar activation of signal transduction pathways by the herpesvirus-encoded chemokine receptors US28 and ORF74*. *Virology*, 2004. **325**(2): p. 241-51.

84. Moepps, B., C. Tulone, C. Kern, R. Minisini, G. Michels, P. Vatter, T. Wieland, and P. Gierschik, *Constitutive serum response factor activation by the viral chemokine receptor homologue pUS28 is differentially regulated by G $\alpha_{q/11}$ and G α_{16}* . Cell Signal, 2008. 20(8): p. 1528-37.
85. Tschische, P., E. Moser, D. Thompson, H.F. Vischer, G.P. Parzmair, V. Pommer, W. Platzer, T. Schwarzbraun, H. Schaidler, M.J. Smit, L. Martini, J.L. Whistler, and M. Waldhoer, *The G-protein coupled receptor associated sorting protein GASP-1 regulates the signalling and trafficking of the viral chemokine receptor US28*. Traffic, 2010. 11(5): p. 660-74.
86. Wen, D.Q., Y.Y. Zhang, L.P. Lv, X.P. Zhou, F. Yan, P. Ma, and J.B. Xu, *Human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor homolog US28 stimulates the major immediate early gene promoter/enhancer via the induction of CREB*. J Recept Signal Transduct Res, 2009. 29(5): p. 266-73.
87. Bongers, G., D. Maussang, L.R. Muniz, V.M. Noriega, A. Fraile-Ramos, N. Barker, F. Marchesi, N. Thirunarayanan, H.F. Vischer, L. Qin, L. Mayer, N. Harpaz, R. Leurs, G.C. Furtado, H. Clevers, D. Tortorella, M.J. Smit, and S.A. Lira, *The cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 promotes intestinal neoplasia in transgenic mice*. J Clin Invest, 2010. 120(11): p. 3969-78.
88. Case, R., E. Sharp, T. Benned-Jensen, M.M. Rosenkilde, N. Davis-Poynter, and H.E. Farrell, *Functional analysis of the murine cytomegalovirus chemokine receptor homologue M33: ablation of constitutive signaling is associated with an attenuated phenotype in vivo*. J Virol, 2008. 82(4): p. 1884-98.
89. Tschische, P., K. Tadagaki, M. Kamal, R. Jockers, and M. Waldhoer, *Heteromerization of human cytomegalovirus encoded chemokine receptors*. Biochem Pharmacol, 2011.
90. Michel, D., I. Milotic, M. Wagner, B. Vaida, J. Holl, R. Ansorge, and T. Mertens, *The human cytomegalovirus UL78 gene is highly conserved among clinical isolates, but is dispensable for replication in fibroblasts and a renal artery organ-culture system*. J Gen Virol, 2005. 86(Pt 2): p. 297-306.
91. O'Connor, C.M. and T. Shenk, *Human cytomegalovirus pUS27 G protein-coupled receptor homologue is required for efficient spread by the extracellular route but not for direct cell-to-cell spread*. J Virol, 2011. 85(8): p. 3700-7.
92. Montaner, S., A. Sodhi, A. Molinolo, T.H. Bugge, E.T. Sawai, Y. He, Y. Li, P.E. Ray, and J.S. Gutkind, *Endothelial infection with KSHV genes in vivo reveals that vGPCR initiates Kaposi's sarcomagenesis and can promote the tumorigenic potential of viral latent genes*. Cancer Cell, 2003. 3(1): p. 23-36.
93. Guo, H.G., M. Sadowska, W. Reid, E. Tschachler, G. Hayward, and M. Reitz, *Kaposi's sarcoma-like tumors in a human herpesvirus 8 ORF74 transgenic mouse*. J Virol, 2003. 77(4): p. 2631-9.
94. Le Goff, C., C.E. Lamien, E. Fakhfakh, A. Chadeyras, E. Aba-Adulugba, G. Libeau, E. Tuppurainen, D.B. Wallace, T. Adam, R. Silber, V. Gulyaz, H. Madani, P. Caufour, S. Hammami, A. Diallo, and E. Albina, *Capripoxvirus G-protein-coupled chemokine receptor: a host-range gene suitable for virus animal origin discrimination*. Journal of General Virology, 2009. 90(Pt 8): p. 1967-77.
95. Chang, Y., E. Cesarman, M.S. Pessin, F. Lee, J. Culpepper, D.M. Knowles, and P.S. Moore, *Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma*. Science, 1994. 266(5192): p. 1865-9.
96. Antman, K. and Y. Chang, *Kaposi's sarcoma*. N Engl J Med, 2000. 342(14): p. 1027-38.
97. Cesarman, E., P.S. Moore, P.H. Rao, G. Inghirami, D.M. Knowles, and Y. Chang, *In vitro establishment and characterization of two acquired immunodeficiency syndrome-related lymphoma cell lines (BC-1 and BC-2) containing Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like (KSHV) DNA sequences*. Blood, 1995. 86(7): p. 2708-14.
98. Dupin, N., C. Fisher, P. Kellam, S. Ariad, M. Tulliez, N. Franck, E. van Marck, D. Salmon, I. Gorin, J.P. Escande, R.A. Weiss, K. Alitalo, and C. Boshoff, *Distribution of human herpesvirus-8 latently infected cells in Kaposi's sarcoma, multicentric Castlemans disease, and primary effusion lymphoma*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. 96(8): p. 4546-51.

99. Martin, D. and J.S. Gutkind, *Kaposi's sarcoma virally encoded, G-protein-coupled receptor: a paradigm for paracrine transformation*. *Methods Enzymol*, 2009. **460**: p. 125-50.
100. Cai, X., S. Lu, Z. Zhang, C.M. Gonzalez, B. Damania, and B.R. Cullen, *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus expresses an array of viral microRNAs in latently infected cells*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005. **102**(15): p. 5570-5.
101. Arvanitakis, L., E. Geras-Raaka, A. Varma, M.C. Gershengorn, and E. Cesarman, *Human herpesvirus KSHV encodes a constitutively active G-protein-coupled receptor linked to cell proliferation*. *Nature*, 1997. **385**(6614): p. 347-50.
102. Bais, C., B. Santomaso, O. Coso, L. Arvanitakis, E.G. Raaka, J.S. Gutkind, A.S. Asch, E. Cesarman, M.C. Gershengorn, and E.A. Mesri, *G-protein-coupled receptor of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus is a viral oncogene and angiogenesis activator*. *Nature*, 1998. **391**(6662): p. 86-9.
103. Smit, M.J., D. Verzijl, P. Casarosa, M. Navis, H. Timmerman, and R. Leurs, *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded G protein-coupled receptor ORF74 constitutively activates p44/p42 MAPK and Akt via G(i) and phospholipase C-dependent signaling pathways*. *J Virol*, 2002. **76**(4): p. 1744-52.
104. Pati, S., M. Cavrois, H.G. Guo, J.S. Foulke, Jr., J. Kim, R.A. Feldman, and M. Reitz, *Activation of NF- κ B by the human herpesvirus 8 chemokine receptor ORF74: evidence for a paracrine model of Kaposi's sarcoma pathogenesis*. *J Virol*, 2001. **75**(18): p. 8660-73.
105. Gershengorn, M.C., E. Geras-Raaka, A. Varma, and I. Clark-Lewis, *Chemokines activate Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus G protein-coupled receptor in mammalian cells in culture*. *J Clin Invest*, 1998. **102**(8): p. 1469-72.
106. Geras-Raaka, E., L. Arvanitakis, C. Bais, E. Cesarman, E.A. Mesri, and M.C. Gershengorn, *Inhibition of constitutive signaling of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus G protein-coupled receptor by protein kinases in mammalian cells in culture*. *J Exp Med*, 1998. **187**(5): p. 801-6.
107. Geras-Raaka, E., A. Varma, I. Clark-Lewis, and M.C. Gershengorn, *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) chemokine vMIP-II and human SDF-1 α inhibit signaling by KSHV G protein-coupled receptor*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998. **253**(3): p. 725-7.
108. Geras-Raaka, E., A. Varma, H. Ho, I. Clark-Lewis, and M.C. Gershengorn, *Human interferon- γ -inducible protein 10 (IP-10) inhibits constitutive signaling of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus G protein-coupled receptor*. *J Exp Med*, 1998. **188**(2): p. 405-8.
109. Neipel, F., J.C. Albrecht, A. Ensser, Y.Q. Huang, J.J. Li, A.E. Friedman-Kien, and B. Fleckenstein, *Human herpesvirus 8 encodes a homolog of interleukin-6*. *J Virol*, 1997. **71**(1): p. 839-42.
110. Neipel, F., J.C. Albrecht, and B. Fleckenstein, *Cell-homologous genes in the Kaposi's sarcoma-associated rhadinovirus human herpesvirus 8: determinants of its pathogenicity?* *J Virol*, 1997. **71**(6): p. 4187-92.
111. Yu, C.Y., L. Wang, A. Khaletskiy, W.L. Farrar, A. Lerner, N.H. Colburn, and J.J. Li, *STAT3 activation is required for interleukin-6 induced transformation in tumor-promotion sensitive mouse skin epithelial cells*. *Oncogene*, 2002. **21**(25): p. 3949-60.
112. Yu, H., D. Pardoll, and R. Jove, *STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3*. *Nat Rev Cancer*, 2009. **9**(11): p. 798-809.
113. Rebouissou, S., M. Amessou, G. Couchy, K. Poussin, S. Imbeaud, C. Pilati, T. Izard, C. Balabaud, P. Bioulac-Sage, and J. Zucman-Rossi, *Frequent in-frame somatic deletions activate gp130 in inflammatory hepatocellular tumours*. *Nature*, 2009. **457**(7226): p. 200-4.
114. Iliopoulos, D., H.A. Hirsch, and K. Struhl, *An epigenetic switch involving NF- κ B, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation*. *Cell*, 2009. **139**(4): p. 693-706.
115. Kang, J.G., N. Pripuzova, V. Majerciak, M. Kruhlak, S.Y. Le, and Z.M. Zheng, *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus ORF57 promotes escape of viral and human interleukin-6 from microRNA-mediated suppression*. *J Virol*, 2011. **85**(6): p. 2620-30.

116. Sadagopan, S., N. Sharma-Walia, M.V. Veettil, V. Bottero, R. Levine, R.J. Vart, and B. Chandran, *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus upregulates angiogenin during infection of human dermal microvascular endothelial cells, which induces 45S rRNA synthesis, antiapoptosis, cell proliferation, migration, and angiogenesis*. J Virol, 2009. **83**(7): p. 3342-64.
117. Chiou, C.J., L.J. Poole, P.S. Kim, D.M. Ciuffo, J.S. Cannon, C.M. ap Rhys, D.J. Alcendor, J.C. Zong, R.F. Ambinder, and G.S. Hayward, *Patterns of gene expression and a transactivation function exhibited by the vGCR (ORF74) chemokine receptor protein of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus*. J Virol, 2002. **76**(7): p. 3421-39.
118. Cohen, J.L., *Epstein-Barr virus infection*. N Engl J Med, 2000. **343**(7): p. 481-92.
119. Hsu, J.L. and S.L. Glaser, *Epstein-barr virus-associated malignancies: epidemiologic patterns and etiologic implications*. Crit Rev Oncol Hematol, 2000. **34**(1): p. 27-53.
120. Middeldorp, J.M., A.A. Brink, A.J. van den Brule, and C.J. Meijer, *Pathogenic roles for Epstein-Barr virus (EBV) gene products in EBV-associated proliferative disorders*. Crit Rev Oncol Hematol, 2003. **45**(1): p. 1-36.
121. Pegtel, D.M., K. Cosmopoulos, D.A. Thorley-Lawson, M.A. van Eijndhoven, E.S. Hopmans, J.L. Lindenberg, T.D. de Gruijl, T. Wurdinger, and J.M. Middeldorp, *Functional delivery of viral miRNAs via exosomes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(14): p. 6328-33.
122. Paulsen, S.J., M.M. Rosenkilde, J. Eugen-Olsen, and T.N. Kledal, *Epstein-Barr virus-encoded BILF1 is a constitutively active G protein-coupled receptor*. J Virol, 2005. **79**(1): p. 536-46.
123. Beisser, P.S., D. Verzijl, Y.K. Gruijthuijsen, E. Beuken, M.J. Smit, R. Leurs, C.A. Bruggeman, and C. Vink, *The Epstein-Barr virus BILF1 gene encodes a G protein-coupled receptor that inhibits phosphorylation of RNA-dependent protein kinase*. J Virol, 2005. **79**(1): p. 441-9.
124. Garcia, M.A., J. Gil, I. Ventoso, S. Guerra, E. Domingo, C. Rivas, and M. Esteban, *Impact of protein kinase PKR in cell biology: from antiviral to antiproliferative action*. Microbiol Mol Biol Rev, 2006. **70**(4): p. 1032-60.
125. Zuo, J., L.L. Quinn, J. Tambllyn, W.A. Thomas, R. Feederle, H.J. Delecluse, A.D. Hislop, and M. Rowe, *The Epstein-Barr virus-encoded BILF1 protein modulates immune recognition of endogenously processed antigen by targeting major histocompatibility complex class I molecules trafficking on both the exocytic and endocytic pathways*. J Virol, 2011. **85**(4): p. 1604-14.
126. Milligan, G., *G-protein-coupled receptor heterodimers: pharmacology, function and relevance to drug discovery*. Drug Discov Today, 2006. **11**(11-12): p. 541-9.
127. Vischer, H.F., S. Nijmeijer, M.J. Smit, and R. Leurs, *Viral hijacking of human receptors through heterodimerization*. Biochem Biophys Res Commun, 2008. **377**(1): p. 93-7.
128. Springael, J.Y., E. Urizar, S. Costagliola, G. Vassart, and M. Parmentier, *Allosteric properties of G protein-coupled receptor oligomers*. Pharmacol Ther, 2007. **115**(3): p. 410-8.
129. Gandhi, M.K. and R. Khanna, *Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments*. Lancet Infect Dis, 2004. **4**(12): p. 725-38.
130. Soderberg-Naucler, C., *Human cytomegalovirus persists in its host and attacks and avoids elimination by the immune system*. Crit Rev Immunol, 2006. **26**(3): p. 231-64.
131. Alford, C.A., S. Stagno, R.F. Pass, and W.J. Britt, *Congenital and perinatal cytomegalovirus infections*. Rev Infect Dis, 1990. **12 Suppl 7**: p. S745-53.
132. Verbeeck, J., E. Van Kerschaver, E. Wollants, K. Beuselinck, L. Stappaerts, and M. Van Ranst, *Detection of perinatal cytomegalovirus infection and sensorineural hearing loss in belgian infants by measurement of automated auditory brainstem response*. J Clin Microbiol, 2008. **46**(11): p. 3564-8.
133. Melnick, J.L., C. Hu, J. Burek, E. Adam, and M.E. DeBaakey, *Cytomegalovirus DNA in arterial walls of patients with atherosclerosis*. J Med Virol, 1994. **42**(2): p. 170-4.

134. Grey, F. and J. Nelson, *Identification and function of human cytomegalovirus microRNAs*. J Clin Virol, 2008. 41(3): p. 186-91.
135. Cobbs, C.S., L. Harkins, M. Samanta, G.Y. Gillespie, S. Bharara, P.H. King, L.B. Nabors, C.G. Cobbs, and W.J. Britt, *Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma*. Cancer Res, 2002. 62(12): p. 3347-50.
136. Harkins, L., A.L. Volk, M. Samanta, I. Mikolaenko, W.J. Britt, K.I. Bland, and C.S. Cobbs, *Specific localisation of human cytomegalovirus nucleic acids and proteins in human colorectal cancer*. Lancet, 2002. 360(9345): p. 1557-63.
137. Cinatl, J., Jr., J.U. Vogel, R. Kotchetkov, and H. Wilhelm Doerr, *Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression*. FEMS Microbiol Rev, 2004. 28(1): p. 59-77.
138. Opelz, G., V. Daniel, C. Naujokat, H. Fickenscher, and B. Dohler, *Effect of cytomegalovirus prophylaxis with immunoglobulin or with antiviral drugs on post-transplant non-Hodgkin lymphoma: a multicentre retrospective analysis*. Lancet Oncol, 2007. 8(3): p. 212-8.
139. Melnick, M., G. Abichaker, K. Htet, P. Sedghizadeh, and T. Jaskoll, *Small molecule inhibitors of the host cell COX/AREG/EGFR/ERK pathway attenuate cytomegalovirus-induced pathogenesis*. Exp Mol Pathol, 2011.
140. Jaskoll, T., K. Htet, G. Abichaker, F.J. Kaye, and M. Melnick, *CRTC1 expression during normal and abnormal salivary gland development supports a precursor cell origin for mucoepidermoid cancer*. Gene Expr Patterns, 2011. 11(1-2): p. 57-63.
141. Chee, M.S., S.C. Satchwell, E. Preddie, K.M. Weston, and B.G. Barrell, *Human cytomegalovirus encodes three G protein-coupled receptor homologues*. Nature, 1990. 344(6268): p. 774-7.
142. Gompels, U.A. and H.A. Macaulay, *Characterization of human telomeric repeat sequences from human herpesvirus 6 and relationship to replication*. J Gen Virol, 1995. 76 (Pt 2): p. 451-8.
143. Gompels, U.A., J. Nicholas, G. Lawrence, M. Jones, B.J. Thomson, M.E. Martin, S. Efsthathiou, M. Craxton, and H.A. Macaulay, *The DNA sequence of human herpesvirus-6: structure, coding content, and genome evolution*. Virology, 1995. 209(1): p. 29-51.
144. Penfold, M., Z. Miao, Y. Wang, S. Haggerty, and M.R. Schleiss, *A macrophage inflammatory protein homolog encoded by guinea pig cytomegalovirus signals via CC chemokine receptor 1*. Virology, 2003. 316(2): p. 202-12.
145. Margulies, B.J., H. Browne, and W. Gibson, *Identification of the human cytomegalovirus G protein-coupled receptor homologue encoded by UL33 in infected cells and enveloped virus particles*. Virology, 1996. 225(1): p. 111-25.
146. Fraile-Ramos, A., A. Pelchen-Matthews, T.N. Kledal, H. Browne, T.W. Schwartz, and M. Marsh, *Localization of HCMV UL33 and US27 in endocytic compartments and viral membranes*. Traffic, 2002. 3(3): p. 218-32.
147. Vieira, J., T.J. Schall, L. Corey, and A.P. Geballe, *Functional analysis of the human cytomegalovirus US28 gene by insertion mutagenesis with the green fluorescent protein gene*. J Virol, 1998. 72(10): p. 8158-65.
148. He, R., C. Xia, Q. Ruan, Y. Qi, Y.P. Ma, Y.H. Ji, and J.J. Guo, *Sequence analysis of human cytomegalovirus US28 gene in low-passage clinical isolates from children and AIDS patients*. Acta Biochim Pol, 2011. 58(2): p. 231-6.
149. Kledal, T.N., M.M. Rosenkilde, and T.W. Schwartz, *Selective recognition of the membrane-bound CX3C chemokine, fractalkine, by the human cytomegalovirus-encoded broad-spectrum receptor US28*. FEBS Lett, 1998. 441(2): p. 209-14.
150. Gong, X. and A. Padhi, *Evidence for positive selection in the extracellular domain of human cytomegalovirus encoded G protein-coupled receptor US28*. J Med Virol, 2011. 83(7): p. 1255-61.

151. Casarosa, P., M. Waldhoer, P.J. LiWang, H.F. Vischer, T. Kledal, H. Timmerman, T.W. Schwartz, M.J. Smit, and R. Leurs, *CC and CX₃C chemokines differentially interact with the N terminus of the human cytomegalovirus-encoded US28 receptor*. *J Biol Chem*, 2005. **280**(5): p. 3275-85.
152. Waldhoer, M., P. Casarosa, M.M. Rosenkilde, M.J. Smit, R. Leurs, J.L. Whistler, and T.W. Schwartz, *The carboxyl terminus of human cytomegalovirus-encoded 7 transmembrane receptor US28 camouflages agonism by mediating constitutive endocytosis*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(21): p. 19473-82.
153. Neote, K., W. Darbonne, J. Ogez, R. Horuk, and T.J. Schall, *Identification of a promiscuous inflammatory peptide receptor on the surface of red blood cells*. *J Biol Chem*, 1993. **268**(17): p. 12247-9.
154. Gao, J.L. and P.M. Murphy, *Human cytomegalovirus open reading frame US28 encodes a functional β chemokine receptor*. *J Biol Chem*, 1994. **269**(46): p. 28539-42.
155. Randolph-Habecker, J.R., B. Rahill, B. Torok-Storb, J. Vieira, P.E. Kolattukudy, B.H. Rovin, and D.D. Sedmak, *The expression of the cytomegalovirus chemokine receptor homolog US28 sequesters biologically active CC chemokines and alters IL-8 production*. *Cytokine*, 2002. **19**(1): p. 37-46.
156. Casarosa, P., Y.K. Grujithuijssen, D. Michel, P.S. Beisser, J. Holl, C.P. Fitzsimons, D. Verzijl, C.A. Bruggeman, T. Mertens, R. Leurs, C. Vink, and M.J. Smit, *Constitutive signaling of the human cytomegalovirus-encoded receptor UL33 differs from that of its rat cytomegalovirus homolog R33 by promiscuous activation of G proteins of the G_q, G_i, and G_s classes*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(50): p. 50010-23.
157. Billstrom, M.A., G.L. Johnson, N.J. Avdi, and G.S. Worthen, *Intracellular signaling by the chemokine receptor US28 during human cytomegalovirus infection*. *J Virol*, 1998. **72**(7): p. 5535-44.
158. Melnychuk, R.M., D.N. Streblov, P.P. Smith, A.J. Hirsch, D. Pancheva, and J.A. Nelson, *Human cytomegalovirus-encoded G protein-coupled receptor US28 mediates smooth muscle cell migration through G α_{12}* . *J Virol*, 2004. **78**(15): p. 8382-91.
159. Streblov, D.N., C. Soderberg-Naucler, J. Vieira, P. Smith, E. Wakabayashi, F. Ruchti, K. Mattison, Y. Altschuler, and J.A. Nelson, *The human cytomegalovirus chemokine receptor US28 mediates vascular smooth muscle cell migration*. *Cell*, 1999. **99**(5): p. 511-20.
160. Stropes, M.P. and W.E. Miller, *Functional analysis of human cytomegalovirus pUS28 mutants in infected cells*. *Journal of General Virology*, 2008. **89**(Pt 1): p. 97-105.
161. Soroceanu, L., L. Matlaf, V. Bezrookove, L. Harkins, R. Martinez, M. Greene, P. Soteropoulos, and C.S. Cobbs, *Human cytomegalovirus US28 found in glioblastoma promotes an invasive and angiogenic phenotype*. *Cancer Res*, 2011. **71**(21): p. 6643-53.
162. Simonin, F., P. Karcher, J.J. Boeuf, A. Matifas, and B.L. Kieffer, *Identification of a novel family of G protein-coupled receptor associated sorting proteins*. *J Neurochem*, 2004. **89**(3): p. 766-75.
163. Miller, W.E., D.A. Houtz, C.D. Nelson, P.E. Kolattukudy, and R.J. Lefkowitz, *G-protein-coupled receptor (GPCR) kinase phosphorylation and β -arrestin recruitment regulate the constitutive signaling activity of the human cytomegalovirus US28 GPCR*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(24): p. 21663-71.
164. Stapleton, L.K., K.L. Arnolds, A.P. Lares, T.M. Devito, and J.V. Spencer, *Receptor chimeras demonstrate that the C-terminal domain of the human cytomegalovirus US27 gene product is necessary and sufficient for intracellular receptor localization*. *Viol J*, 2012. **9**: p. 42.
165. Oliveira, S.A. and T.E. Shenk, *Murine cytomegalovirus M78 protein, a G protein-coupled receptor homologue, is a constituent of the virion and facilitates accumulation of immediate-early viral mRNA*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(6): p. 3237-42.
166. Beisser, P.S., G. Grauls, C.A. Bruggeman, and C. Vink, *Deletion of the R78 G protein-coupled receptor gene from rat cytomegalovirus results in an attenuated, syncytium-inducing mutant strain*. *J Virol*, 1999. **73**(9): p. 7218-30.

167. Wagner, S., F. Arnold, Z. Wu, A. Schubert, C. Walliser, K. Tadagaki, R. Jockers, T. Mertens, and D. Michel, *The 7-transmembrane protein homologue UL78 of the human cytomegalovirus forms oligomers and traffics between the plasma membrane and different intracellular compartments*. Arch Virol, 2012.
168. Tadagaki, K., D. Tudor, F. Gbahou, P. Tschische, M. Waldhoer, M. Bomsel, R. Jockers, and M. Kamal, *Human cytomegalovirus-encoded UL33 and UL78 heteromerize with host CCR5 and CXCR4 impairing their HIV coreceptor activity*. Blood, 2012.
169. Hulshof, J.W., P. Casarosa, W.M. Menge, L.M. Kuusisto, H. van der Goot, M.J. Smit, I.J. de Esch, and R. Leurs, *Synthesis and structure-activity relationship of the first nonpeptidergic inverse agonists for the human cytomegalovirus encoded chemokine receptor US28*. J Med Chem, 2005. 48(20): p. 6461-71.
170. Hulshof, J.W., H.F. Vischer, M.H. Verheij, S.A. Fratantoni, M.J. Smit, I.J. de Esch, and R. Leurs, *Synthesis and pharmacological characterization of novel inverse agonists acting on the viral-encoded chemokine receptor US28*. Bioorg Med Chem, 2006. 14(21): p. 7213-30.
171. Vischer, H.F., J.W. Hulshof, S. Hulscher, S.A. Fratantoni, M.H. Verheij, J. Victorina, M.J. Smit, I.J. de Esch, and R. Leurs, *Identification of novel allosteric nonpeptidergic inhibitors of the human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28*. Bioorg Med Chem, 2010. 18(2): p. 675-88.
172. Kralj, A., A. Wetzel, S. Mahmoudian, T. Stamminger, N. Tschammer, and M.R. Heinrich, *Identification of novel allosteric modulators for the G-protein coupled US28 receptor of human cytomegalovirus*. Bioorg Med Chem Lett, 2011.
173. Turini, M.E. and R.N. DuBois, *Cyclooxygenase-2: a therapeutic target*. Annual Review of Medicine, 2002. 53: p. 35-57.
174. Dempke, W., C. Rie, A. Grothey, and H.J. Schmoll, *Cyclooxygenase-2: a novel target for cancer chemotherapy?* J Cancer Res Clin Oncol, 2001. 127(7): p. 411-7.
175. Shelby, B.D., A. Nelson, and C. Morris, *γ -herpesvirus neoplasia: a growing role for COX-2*. Microscopy Research and Technique, 2005. 68(3-4): p. 120-9.
176. Zhu, H., J.P. Cong, G. Mamtora, T. Gingeras, and T. Shenk, *Cellular gene expression altered by human cytomegalovirus: global monitoring with oligonucleotide arrays*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998. 95(24): p. 14470-5.
177. Zhu, H., J.P. Cong, D. Yu, W.A. Bresnahan, and T.E. Shenk, *Inhibition of cyclooxygenase 2 blocks human cytomegalovirus replication*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002. 99(6): p. 3932-7.
178. Clevers, H., *Wnt/ β -catenin signaling in development and disease*. Cell, 2006. 127(3): p. 469-80.
179. Habas, R., Y. Kato, and X. He, *Wnt/Frizzled activation of Rho regulates vertebrate gastrulation and requires a novel Formin homology protein Daam1*. Cell, 2001. 107(7): p. 843-54.
180. Kuhl, M., L.C. Sheldahl, M. Park, J.R. Miller, and R.T. Moon, *The Wnt/Ca2+ pathway: a new vertebrate Wnt signaling pathway takes shape*. Trends Genet, 2000. 16(7): p. 279-83.
181. Schulte, G. and V. Bryja, *The Frizzled family of unconventional G-protein-coupled receptors*. Trends Pharmacol Sci, 2007. 28(10): p. 518-25.
182. Castellone, M.D., H. Teramoto, B.O. Williams, K.M. Druey, and J.S. Gutkind, *Prostaglandin E2 promotes colon cancer cell growth through a Gs-axin- β -catenin signaling axis*. Science, 2005. 310(5753): p. 1504-10.
183. Liu, X., J.S. Rubin, and A.R. Kimmel, *Rapid, Wnt-induced changes in GSK3 β associations that regulate β -catenin stabilization are mediated by G α proteins*. Curr Biol, 2005. 15(22): p. 1989-97.
184. Rosenkilde, M.M., M.J. Smit, and M. Waldhoer, *Structure, function and physiological consequences of virally encoded chemokine seven transmembrane receptors*. Br J Pharmacol, 2008. 153 Suppl 1: p. S154-66.
185. Flore, O., S. Rafii, S. Ely, J.J. O'Leary, E.M. Hyjek, and E. Cesarman, *Transformation of primary human endothelial cells by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus*. Nature, 1998. 394(6693): p. 588-92.

186. Ganem, D., *KSHV and Kaposi's sarcoma: the end of the beginning?* Cell, 1997. **91**(2): p. 157-60.
187. Young, L.S. and A.B. Rickinson, *Epstein-Barr virus: 40 years on.* Nat Rev Cancer, 2004. **4**(10): p. 757-68.
188. Damania, B., *Oncogenic γ -herpesviruses: comparison of viral proteins involved in tumorigenesis.* Nat Rev Microbiol, 2004. **2**(8): p. 656-68.
189. Sabatier, J., E. Uro-Coste, I. Pommepuy, F. Labrousse, S. Allart, M. Tremoulet, M.B. Delisle, and P. Brousset, *Detection of human cytomegalovirus genome and gene products in central nervous system tumours.* Br J Cancer, 2005. **92**(4): p. 747-50.
190. Soderberg-Naucler, C., *HCMV microinfections in inflammatory diseases and cancer.* J Clin Virol, 2008. **41**(3): p. 218-23.
191. Michaelis, M., R. Kotchetkov, J.U. Vogel, H.W. Doerr, and J. Cinatl, Jr., *Cytomegalovirus infection blocks apoptosis in cancer cells.* Cell Mol Life Sci, 2004. **61**(11): p. 1307-16.
192. Balkwill, F., *Cancer and the chemokine network.* Nat Rev Cancer, 2004. **4**(7): p. 540-50.
193. Boomker, J.M., E.A. Verschuuren, M.G. Brinker, L.F. de Leij, T.H. The, and M.C. Harmsen, *Kinetics of US28 gene expression during active human cytomegalovirus infection in lung-transplant recipients.* J Infect Dis, 2006. **193**(11): p. 1552-6.
194. Russo, G., C. Zegar, and A. Giordano, *Advantages and limitations of microarray technology in human cancer.* Oncogene, 2003. **22**(42): p. 6497-507.
195. Moses, A.V., M.A. Jarvis, C. Raggio, Y.C. Bell, R. Ruhl, B.G. Luukkonen, D.J. Griffith, C.L. Wait, B.J. Druker, M.C. Heinrich, J.A. Nelson, and K. Fruh, *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-induced upregulation of the c-kit proto-oncogene, as identified by gene expression profiling, is essential for the transformation of endothelial cells.* J Virol, 2002. **76**(16): p. 8383-99.
196. Schlee, M., M. Holz, S. Bernard, R. Mailhammer, M. Schuhmacher, J. Reschke, D. Eick, D. Marinkovic, T. Wirth, A. Rosenwald, L.M. Staudt, M. Eilers, F. Baran-Marszak, R. Fagard, J. Feuillard, G. Laux, and G.W. Bornkamm, *C-myc activation impairs the NF- κ B and the interferon response: implications for the pathogenesis of Burkitt's lymphoma.* Int J Cancer, 2007. **120**(7): p. 1387-95.
197. Smyth, G.K., *Limma: linear models for microarray data*, in *Bioinformatics and Computational Biology Solutions using R and Bioconductor*, R. Gentleman, et al., Editors. 2005, Springer: New York. p. 397-420.
198. Dennis, G., Jr., B.T. Sherman, D.A. Hosack, J. Yang, W. Gao, H.C. Lane, and R.A. Lempicki, *DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery.* Genome Biol, 2003. **4**(5): p. P3.
199. Kanehisa, M. and S. Goto, *KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes.* Nucleic Acids Res, 2000. **28**(1): p. 27-30.
200. Hosack, D.A., G. Dennis, Jr., B.T. Sherman, H.C. Lane, and R.A. Lempicki, *Identifying biological themes within lists of genes with EASE.* Genome Biol, 2003. **4**(10): p. R70.
201. Higgins, M.E., M. Claremont, J.E. Major, C. Sander, and A.E. Lash, *CancerGenes: a gene selection resource for cancer genome projects.* Nucleic Acids Res, 2007. **35**(Database issue): p. D721-6.
202. Dorsam, R.T. and J.S. Gutkind, *G-protein-coupled receptors and cancer.* Nat Rev Cancer, 2007. **7**(2): p. 79-94.
203. Iniguez, M.A., S. Martinez-Martinez, C. Punzon, J.M. Redondo, and M. Fresno, *An essential role of the nuclear factor of activated T cells in the regulation of the expression of the cyclooxygenase-2 gene in human T lymphocytes.* J Biol Chem, 2000. **275**(31): p. 23627-35.
204. Smith, W.L., D.L. DeWitt, and R.M. Garavito, *Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology.* Annu Rev Biochem, 2000. **69**: p. 145-82.
205. Ragel, B.T., R.L. Jensen, D.L. Gillespie, S.M. Prescott, and W.T. Couldwell, *Celecoxib inhibits meningioma tumor growth in a mouse xenograft model.* Cancer, 2007. **109**(3): p. 588-97.

206. Dhillon, A.S., S. Hagan, O. Rath, and W. Kolch, *MAP kinase signalling pathways in cancer*. *Oncogene*, 2007. **26**(22): p. 3279-90.
207. Roberts, P.J. and C.J. Der, *Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer*. *Oncogene*, 2007. **26**(22): p. 3291-310.
208. Scian, M.J., E.H. Carchman, L. Mohanraj, K.E. Stagliano, M.A. Anderson, D. Deb, B.M. Crane, T. Kiyono, B. Windle, S.P. Deb, and S. Deb, *Wild-type p53 and p73 negatively regulate expression of proliferation related genes*. *Oncogene*, 2008. **27**(18): p. 2583-93.
209. Toledo, F. and G.M. Wahl, *Regulating the p53 pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas*. *Nat Rev Cancer*, 2006. **6**(12): p. 909-23.
210. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, *The hallmarks of cancer*. *Cell*, 2000. **100**(1): p. 57-70.
211. Pereg, D. and M. Lishner, *Non-steroidal anti-inflammatory drugs for the prevention and treatment of cancer*. *J Intern Med*, 2005. **258**(2): p. 115-23.
212. Howes, L.G., *Selective COX-2 inhibitors, NSAIDs and cardiovascular events - is Celecoxib the safest choice?* *Ther Clin Risk Manag*, 2007. **3**(5): p. 831-45.
213. Cui, W., C.H. Yu, and K.Q. Hu, *In vitro and in vivo effects and mechanisms of Celecoxib-induced growth inhibition of human hepatocellular carcinoma cells*. *Clin Cancer Res*, 2005. **11**(22): p. 8213-21.
214. Zhang, X., Z.G. Chen, M.S. Choe, Y. Lin, S.Y. Sun, H.S. Wieand, H.J. Shin, A. Chen, F.R. Khuri, and D.M. Shin, *Tumor growth inhibition by simultaneously blocking epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2 in a xenograft model*. *Clin Cancer Res*, 2005. **11**(17): p. 6261-9.
215. Grosch, S., T.J. Maier, S. Schiffmann, and G. Geisslinger, *Cyclooxygenase-2 (COX-2)-independent anticarcinogenic effects of selective COX-2 inhibitors*. *J Natl Cancer Inst*, 2006. **98**(11): p. 736-47.
216. Patel, M.I., K. Subbaramaiah, B. Du, M. Chang, P. Yang, R.A. Newman, C. Cordon-Cardo, H.T. Thaler, and A.J. Dannenberg, *Celecoxib inhibits prostate cancer growth: evidence of a cyclooxygenase-2-independent mechanism*. *Clin Cancer Res*, 2005. **11**(5): p. 1999-2007.
217. Subhashini, J., S.V. Mahipal, and P. Reddanna, *Anti-proliferative and apoptotic effects of Celecoxib on human chronic myeloid leukemia in vitro*. *Cancer Lett*, 2005. **224**(1): p. 31-43.
218. Edgar, R., M. Domrachev, and A.E. Lash, *Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository*. *Nucleic Acids Res*, 2002. **30**(1): p. 207-10.
219. Casarosa, P., W.M. Menge, R. Minisini, C. Otto, J. van Heteren, A. Jongejan, H. Timmerman, B. Moepps, F. Kirchhoff, T. Mertens, M.J. Smit, and R. Leurs, *Identification of the first nonpeptidergic inverse agonist for a constitutively active viral-encoded G protein-coupled receptor*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(7): p. 5172-8.
220. MacDonald, B.T., K. Tamai, and X. He, *Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases*. *Dev Cell*, 2009. **17**(1): p. 9-26.
221. Barker, N. and H. Clevers, *Mining the Wnt pathway for cancer therapeutics*. *Nat.Rev.Drug Discov*, 2006. **5**(12): p. 997-1014.
222. Polakis, P., *Wnt signaling and cancer*. *Genes Dev*, 2000. **14**(15): p. 1837-1851.
223. Aberle, H., A. Bauer, J. Stappert, A. Kispert, and R. Kemler, *β -catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway*. *EMBO J*, 1997. **16**(13): p. 3797-804.
224. He, T.C., A.B. Sparks, C. Rago, H. Hermeking, L. Zawel, L.T. da Costa, P.J. Morin, B. Vogelstein, and K.W. Kinzler, *Identification of c-MYC as a target of the APC pathway*. *Science*, 1998. **281**(5382): p. 1509-12.
225. Shtutman, M., J. Zhurinsky, I. Simcha, C. Albanese, M. D'Amico, R. Pestell, and A. Ben-Ze'ev, *The cyclin D1 gene is a target of the β -catenin/LEF-1 pathway*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. **96**(10): p. 5522-7.
226. Tetsu, O. and F. McCormick, *β -catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells*. *Nature*, 1999. **398**(6726): p. 422-6.

227. Lappano, R. and M. Maggiolini, *G protein-coupled receptors: novel targets for drug discovery in cancer*. Nature reviews. Drug discovery, 2011. **10**(1): p. 47-60.
228. Lin, S., D. Wang, S. Iyer, A.M. Ghaleb, H. Shim, V.W. Yang, J. Chun, and C.C. Yun, *The absence of LPA2 attenuates tumor formation in an experimental model of colitis-associated cancer*. Gastroenterology, 2009. **136**(5): p. 1711-20.
229. Lara, E., V. Calvanese, C. Huidobro, A.F. Fernandez, A. Moncada-Pazos, A.J. Obaya, O. Aguilera, J.M. Gonzalez-Sancho, L. Sanchez, A. Astudillo, A. Munoz, C. Lopez-Otin, M. Esteller, and M.F. Fraga, *Epigenetic repression of ROR2 has a Wnt-mediated, pro-tumorigenic role in colon cancer*. Mol Cancer, 2010. **9**: p. 170.
230. Yang, M., W.W. Zhong, N. Srivastava, A. Slavin, J. Yang, T. Hoey, and S. An, *G protein-coupled lysophosphatidic acid receptors stimulate proliferation of colon cancer cells through the β -catenin pathway*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(17): p. 6027-32.
231. Castellone, M.D., H. Teramoto, and J.S. Gutkind, *Cyclooxygenase-2 and colorectal cancer chemoprevention: the β -catenin connection*. Cancer Res, 2006. **66**(23): p. 11085-8.
232. Stassen, F.R., X. Vega-Cordova, I. Vliegen, and C.A. Bruggeman, *Immune activation following cytomegalovirus infection: more important than direct viral effects in cardiovascular disease?* J Clin Virol, 2006. **35**(3): p. 349-53.
233. Fulton, A.M., *The chemokine receptors CXCR4 and CXCR3 in cancer*. Curr Oncol Rep, 2009. **11**(2): p. 125-31.
234. Baryawno, N., A. Rahbar, N. Wolmer-Solberg, C. Taher, J. Odeberg, A. Darabi, Z. Khan, B. Sveinbjornsson, O.M. Fuskevag, L. Segerstrom, M. Nordenskjold, P. Siesjo, P. Kogner, J.I. Johnsen, and C. Soderberg-Naucler, *Detection of human cytomegalovirus in medulloblastomas reveals a potential therapeutic target*. Journal of Clinical Investigation, 2011. **121**(10): p. 4043-4055.
235. Korinek, V., N. Barker, P.J. Morin, D. van Wichen, R. de Weger, K.W. Kinzler, B. Vogelstein, and H. Clevers, *Constitutive transcriptional activation by a β -catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma*. Science, 1997. **275**(5307): p. 1784-7.
236. Davidson, G., W. Wu, J. Shen, J. Bilic, U. Fenger, P. Stannek, A. Glinka, and C. Niehrs, *Casein kinase 1 γ couples Wnt receptor activation to cytoplasmic signal transduction*. Nature, 2005. **438**(7069): p. 867-72.
237. Zeng, X., K. Tamai, B. Doble, S. Li, H. Huang, R. Habas, H. Okamura, J. Woodgett, and X. He, *A dual-kinase mechanism for Wnt co-receptor phosphorylation and activation*. Nature, 2005. **438**(7069): p. 873-7.
238. Siehler, S., *Regulation of RhoGEF proteins by G12/13-coupled receptors*. British Journal of Pharmacology, 2009. **158**(1): p. 41-9.
239. Lutz, S., A. Freichel-Blomquist, Y. Yang, U. Rumenapp, K.H. Jakobs, M. Schmidt, and T. Wieland, *The guanine nucleotide exchange factor p63RhoGEF, a specific link between Gq/11-coupled receptor signaling and RhoA*. The Journal of biological chemistry, 2005. **280**(12): p. 11134-9.
240. Bhadriraju, K., M. Yang, S. Alom Ruiz, D. Pirone, J. Tan, and C.S. Chen, *Activation of ROCK by RhoA is regulated by cell adhesion, shape, and cytoskeletal tension*. Exp Cell Res, 2007. **313**(16): p. 3616-23.
241. Riento, K. and A.J. Ridley, *Rocks: multifunctional kinases in cell behaviour*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003. **4**(6): p. 446-56.
242. Shackelford, J., C. Maier, and J.S. Pagano, *Epstein-Barr virus activates β -catenin in type III latently infected B lymphocyte lines: association with deubiquitinating enzymes*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003. **100**(26): p. 15572-6.
243. Rampias, T., E. Boutati, E. Pectasides, C. Sasaki, P. Kountourakis, P. Weinberger, and A. Psyrri, *Activation of Wnt signaling pathway by human papillomavirus E6 and E7 oncogenes in HPV16-positive oropharyngeal squamous carcinoma cells*. Mol Cancer Res, 2010. **8**(3): p. 433-43.

244. Liu, J., X. Ding, J. Tang, Y. Cao, P. Hu, F. Zhou, X. Shan, X. Cai, Q. Chen, N. Ling, B. Zhang, Y. Bi, K. Chen, H. Ren, A. Huang, T.C. He, and N. Tang, *Enhancement of canonical Wnt/ β -catenin signaling activity by HCV core protein promotes cell growth of hepatocellular carcinoma cells*. PLoS One, 2011. 6(11): p. e27496.
245. Kumar, A., A. Zloza, R.T. Moon, J. Watts, A.R. Tenorio, and L. Al-Harhi, *Active β -catenin signaling is an inhibitory pathway for human immunodeficiency virus replication in peripheral blood mononuclear cells*. Journal of Virology, 2008. 82(6): p. 2813-20.
246. Narasipura, S.D., L.J. Henderson, S.W. Fu, L. Chen, F. Kashanchi, and L. Al-Harhi, *Role of β -catenin and TCF/LEF family members in transcriptional activity of HIV in astrocytes*. Journal of Virology, 2012. 86(4): p. 1911-21.
247. Willert, K. and K.A. Jones, *Wnt signaling: is the party in the nucleus?* Genes & development, 2006. 20(11): p. 1394-404.
248. Minisini, R., C. Tulone, A. Luske, D. Michel, T. Mertens, P. Gierschik, and B. Moepps, *Constitutive inositol phosphate formation in cytomegalovirus-infected human fibroblasts is due to expression of the chemokine receptor homologue pUS28*. Journal of Virology, 2003. 77(8): p. 4489-4501.
249. Melnick, M., E.S. Mocarski, G. Abichaker, J. Huang, and T. Jaskoll, *Cytomegalovirus-induced embryopathology: mouse submandibular salivary gland epithelial-mesenchymal ontogeny as a model*. BMC developmental biology, 2006. 6: p. 42.
250. Strelow, D.N., J. Vomaske, P. Smith, R. Melnychuk, L. Hall, D. Pancheva, M. Smit, P. Casarosa, D.D. Schlaepfer, and J.A. Nelson, *Human cytomegalovirus chemokine receptor US28-induced smooth muscle cell migration is mediated by focal adhesion kinase and Src*. Journal of Biological Chemistry, 2003. 278(50): p. 50456-65.
251. Nager, M., D. Bhardwaj, C. Canti, L. Medina, P. Nogues, and J. Herreros, *β -Catenin Signalling in Glioblastoma Multiforme and Glioma-Initiating Cells*. Chemother Res Pract, 2012. 2012: p. 192362.
252. Schlaeger, E.J. and K. Christensen, *Transient gene expression in mammalian cells grown in serum-free suspension culture*. Cytotechnology, 1999. 30(1-3): p. 71-83.
253. Maussang, D., H.F. Vischer, A. Schreiber, D. Michel, and M.J. Smit, *Pharmacological and biochemical characterization of human cytomegalovirus-encoded G protein-coupled receptors*. Methods Enzymol, 2009. 460: p. 151-71.
254. Sallusto, F., A. Lanzavecchia, and C.R. Mackay, *Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2-mediated responses*. Immunol Today, 1998. 19(12): p. 568-74.
255. Charo, I.F. and R.M. Ransohoff, *The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation*. N Engl J Med, 2006. 354(6): p. 610-21.
256. Vischer, H.F., R. Leurs, and M.J. Smit, *HCMV-encoded G-protein-coupled receptors as constitutively active modulators of cellular signaling networks*. Trends Pharmacol Sci, 2006. 27(1): p. 56-63.
257. Soroceanu, L. and C.S. Cobbs, *Is HCMV a tumor promoter?* Virus Research, 2011. 157(2): p. 193-203.
258. Harkins, L.E., L.A. Matlaf, L. Soroceanu, K. Klemm, W.J. Britt, W. Wang, K.I. Bland, and C.S. Cobbs, *Detection of human cytomegalovirus in normal and neoplastic breast epithelium*. Herpesviridae, 2010. 1(1): p. 8.
259. Michaelis, M., H.W. Doerr, and J. Cinatl, *The story of human cytomegalovirus and cancer: increasing evidence and open questions*. Neoplasia, 2009. 11(1): p. 1-9.
260. Dziurzynski, K., S.M. Chang, A.B. Heimberger, R.F. Kalejta, S.R. McGregor Dallas, M. Smit, L. Soroceanu, C.S. Cobbs, Hcmv, and S. Gliomas, *Consensus on the role of human cytomegalovirus in glioblastoma*. Neuro Oncol, 2012. 14(3): p. 246-55.
261. Kutok, J.L. and F. Wang, *Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases*. Annu Rev Pathol, 2006. 1: p. 375-404.

262. Vink, C., M.J. Smit, R. Leurs, and C.A. Bruggeman, *The role of cytomegalovirus-encoded homologs of G protein-coupled receptors and chemokines in manipulation of and evasion from the immune system.* J Clin Virol, 2001. 23(1-2): p. 43-55.
263. Sahagun-Ruiz, A., A.M. Sierra-Honigmann, P. Krause, and P.M. Murphy, *Simian cytomegalovirus encodes five rapidly evolving chemokine receptor homologues.* Virus Genes, 2004. 28(1): p. 71-83.
264. Waldhoer, M., T.N. Kledal, H. Farrell, and T.W. Schwartz, *Murine cytomegalovirus (CMV) M33 and human CMV US28 receptors exhibit similar constitutive signaling activities.* J Virol, 2002. 76(16): p. 8161-8.
265. Sinzger, C., G. Hahn, M. Digel, R. Katona, K.L. Sampaio, M. Messerle, H. Hengel, U. Koszinowski, W. Brune, and B. Adler, *Cloning and sequencing of a highly productive, endotheliotropic virus strain derived from human cytomegalovirus TB40/E.* J Gen Virol, 2008. 89(Pt 2): p. 359-68.
266. Schust, J., B. Sperl, A. Hollis, T.U. Mayer, and T. Berg, *Stattic: a small-molecule inhibitor of STAT3 activation and dimerization.* Chem Biol, 2006. 13(11): p. 1235-42.
267. Frascaroli, G., S. Varani, N. Blankenhorn, R. Pretsch, M. Bacher, L. Leng, R. Bucala, M.P. Landini, and T. Mertens, *Human cytomegalovirus paralyzes macrophage motility through down-regulation of chemokine receptors, reorganization of the cytoskeleton, and release of macrophage migration inhibitory factor.* J Immunol, 2009. 182(1): p. 477-88.
268. Munoz, N., F.X. Bosch, S. de Sanjose, R. Herrero, X. Castellsague, K.V. Shah, P.J. Snijders, C.J. Meijer, and G. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study, *Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer.* N Engl J Med, 2003. 348(6): p. 518-27.
269. Dauer, D.J., B. Ferraro, L. Song, B. Yu, L. Mora, R. Buettner, S. Enkemann, R. Jove, and E.B. Haura, *Stat3 regulates genes common to both wound healing and cancer.* Oncogene, 2005. 24(21): p. 3397-408.
270. Flockhart, R.J., J.L. Armstrong, N.J. Reynolds, and P.E. Lovat, *NFAT signalling is a novel target of oncogenic BRAF in metastatic melanoma.* Br J Cancer, 2009. 101(8): p. 1448-55.
271. Fraile-Ramos, A., T.N. Kledal, A. Pelchen-Matthews, K. Bowers, T.W. Schwartz, and M. Marsh, *The human cytomegalovirus US28 protein is located in endocytic vesicles and undergoes constitutive endocytosis and recycling.* Mol Biol Cell, 2001. 12(6): p. 1737-49.
272. Ram, P.T., C.M. Horvath, and R. Iyengar, *Stat3-mediated transformation of NIH-3T3 cells by the constitutively active Q205L Gα_s protein.* Science, 2000. 287(5450): p. 142-4.
273. Burger, M., J.A. Burger, R.C. Hoch, Z. Oades, H. Takamori, and I.U. Schraufstatter, *Point mutation causing constitutive signaling of CXCR2 leads to transforming activity similar to Kaposi's sarcoma herpesvirus-G protein-coupled receptor.* J Immunol, 1999. 163(4): p. 2017-22.
274. Bellon, M. and C. Nicot, *Regulation of telomerase and telomeres: human tumor viruses take control.* Journal of the National Cancer Institute, 2008. 100(2): p. 98-108.
275. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, *Hallmarks of cancer: the next generation.* Cell, 2011. 144(5): p. 646-74.
276. Bird, A., *Perceptions of epigenetics.* Nature, 2007. 447(7143): p. 396-8.
277. Esteller, M., *CpG island hypermethylation and tumor suppressor genes: a booming present, a brighter future.* Oncogene, 2002. 21(35): p. 5427-40.
278. Samanta, M., L. Harkins, K. Klemm, W.J. Britt, and C.S. Cobbs, *High prevalence of human cytomegalovirus in prostatic intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma.* J Urol, 2003. 170(3): p. 998-1002.
279. Huang, G., Q. Yan, Z. Wang, X. Chen, X. Zhang, Y. Guo, and J.J. Li, *Human cytomegalovirus in neoplastic cells of Epstein-Barr virus negative Hodgkin's disease.* Int J Oncol, 2002. 21(1): p. 31-6.
280. Penfold, M.E., T.L. Schmidt, D.J. Dairaghi, P.A. Barry, and T.J. Schall, *Characterization of the rhesus cytomegalovirus US28 locus.* J Virol, 2003. 77(19): p. 10404-13.

281. Smit, M.J., C. Vink, D. Verzijl, P. Casarosa, C.A. Bruggeman, and R. Leurs, *Virally encoded G protein-coupled receptors: targets for potentially innovative anti-viral drug development*. *Curr Drug Targets*, 2003. 4(5): p. 431-41.
282. Nagata, D., E. Suzuki, H. Nishimatsu, H. Satonaka, A. Goto, M. Omata, and Y. Hirata, *Transcriptional activation of the cyclin D1 gene is mediated by multiple cis-elements, including SP1 sites and a cAMP-responsive element in vascular endothelial cells*. *J Biol Chem*, 2001. 276(1): p. 662-9.
283. Esteki-Zadeh, A., M. Karimi, K. Straat, O. Ammerpohl, M. Zeitelhofer, M. Jagodic, M. Mehrab-Mohseni, L. Sjöholm, A. Rahbar, C. Soderberg-Naucleer, and T.J. Ekstrom, *Human cytomegalovirus infection is sensitive to the host cell DNA methylation state and alters global DNA methylation capacity*. *Epigenetics*, 2012. 7(6).
284. Ropero, S. and M. Esteller, *The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer*. *Mol Oncol*, 2007. 1(1): p. 19-25.
285. Pantry, S.N. and P.G. Medveczky, *Epigenetic regulation of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus replication*. *Semin Cancer Biol*, 2009. 19(3): p. 153-7.
286. Paulus, C., A. Nitzsche, and M. Nevels, *Chromatinisation of herpesvirus genomes*. *Rev Med Virol*, 2010. 20(1): p. 34-50.
287. Fu, M., C. Wang, Z. Li, T. Sakamaki, and R.G. Pestell, *Minireview: Cyclin D1: normal and abnormal functions*. *Endocrinology*, 2004. 145(12): p. 5439-47.
288. Kitazawa, S., R. Kitazawa, and S. Maeda, *Transcriptional regulation of rat cyclin D1 gene by CpG methylation status in promoter region*. *J Biol Chem*, 1999. 274(40): p. 28787-93.
289. Liu, H., J. Wang, and E.M. Epner, *Cyclin D1 activation in B-cell malignancy: association with changes in histone acetylation, DNA methylation, and RNA polymerase II binding to both promoter and distal sequences*. *Blood*, 2004. 104(8): p. 2505-13.
290. Suzuki, H., E. Gabrielson, W. Chen, R. Anbazhagan, M. van Engeland, M.P. Weijnenberg, J.G. Herman, and S.B. Baylin, *A genomic screen for genes upregulated by demethylation and histone deacetylase inhibition in human colorectal cancer*. *Nat Genet*, 2002. 31(2): p. 141-9.
291. Worm, J., A. Aggerholm, and P. Guldborg, *In-tube DNA methylation profiling by fluorescence melting curve analysis*. *Clin Chem*, 2001. 47(7): p. 1183-9.
292. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen, *Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC(T)} Method*. *Methods*, 2001. 25(4): p. 402-8.
293. Farrell, H.E., A.M. Abraham, R.D. Cardin, A.H. Sparre-Ulrich, M.M. Rosenkilde, K. Spiess, T.H. Jensen, T.N. Kledal, and N. Davis-Poynter, *Partial functional complementation between human and mouse cytomegalovirus chemokine receptor homologues*. *J Virol*, 2011. 85(12): p. 6091-5.
294. Fernandez, A.F., C. Rosales, P. Lopez-Nieva, O. Grana, E. Ballestar, S. Ropero, J. Espada, S.A. Melo, A. Lujambio, M.F. Fraga, I. Pino, B. Javierre, F.J. Carmona, F. Acquadro, R.D. Steenbergen, P.J. Snijders, C.J. Meijer, P. Pineau, A. Dejean, B. Lloveras, G. Capella, J. Quer, M. Buti, J.I. Esteban, H. Allende, F. Rodriguez-Frias, X. Castellsague, J. Minarovits, J. Ponce, D. Capello, G. Gaidano, J.C. Cigudosa, G. Gomez-Lopez, D.G. Pisano, A. Valencia, M.A. Piris, F.X. Bosch, E. Cahir-McFarland, E. Kieff, and M. Esteller, *The dynamic DNA methylomes of double-stranded DNA viruses associated with human cancer*. *Genome Res*, 2009. 19(3): p. 438-51.
295. Gardiner, M., R. Toth, F. Vandermoere, N.A. Morrice, and J. Rouse, *Identification and characterization of FUS/TLS as a new target of ATM*. *Biochem J*, 2008. 415(2): p. 297-307.
296. Chan, Q.K., H.Y. Ngan, P.P. Ip, V.W. Liu, W.C. Xue, and A.N. Cheung, *Tumor suppressor effect of follistatin-like 1 in ovarian and endometrial carcinogenesis: a differential expression and functional analysis*. *Carcinogenesis*, 2009. 30(1): p. 114-21.

297. Piva, R., E. Pellegrino, M. Mattioli, L. Agnelli, L. Lombardi, F. Boccalatte, G. Costa, B.A. Ruggeri, M. Cheng, R. Chiarle, G. Palestro, A. Neri, and G. Inghirami, *Functional validation of the anaplastic lymphoma kinase signature identifies CEBPB and BCL2A1 as critical target genes*. J Clin Invest, 2006. **116**(12): p. 3171-82.
298. Sebastian, T. and P.F. Johnson, *Stop and go: anti-proliferative and mitogenic functions of the transcription factor C/EBP β* . Cell Cycle, 2006. **5**(9): p. 953-7.
299. Kong, S., S.J. Kim, B. Sandal, S.M. Lee, B. Gao, D.D. Zhang, and D. Fang, *The type III histone deacetylase Sirt1 protein suppresses p300-mediated histone H3 lysine 56 acetylation at Bclaf1 promoter to inhibit T cell activation*. J Biol Chem, 2011. **286**(19): p. 16967-75.
300. Haberland, M., M.A. Arnold, J. McAnally, D. Phan, Y. Kim, and E.N. Olson, *Regulation of HDAC9 gene expression by MEF2 establishes a negative-feedback loop in the transcriptional circuitry of muscle differentiation*. Mol Cell Biol, 2007. **27**(2): p. 518-25.
301. Ohta, H., K. Aoyagi, M. Fukaya, I. Danjoh, A. Ohta, N. Isohata, N. Saeki, H. Taniguchi, H. Sakamoto, T. Shimoda, T. Tani, T. Yoshida, and H. Sasaki, *Cross talk between hedgehog and epithelial-mesenchymal transition pathways in gastric pit cells and in diffuse-type gastric cancers*. Br J Cancer, 2009. **100**(2): p. 389-98.
302. Ostrander, J.H., A.R. Daniel, K. Lofgren, C.G. Kleer, and C.A. Lange, *Breast tumor kinase (protein tyrosine kinase 6) regulates heregulin-induced activation of ERK5 and p38 MAP kinases in breast cancer cells*. Cancer Res, 2007. **67**(9): p. 4199-209.
303. Fraile-Ramos, A., T.A. Kohout, M. Waldhoer, and M. Marsh, *Endocytosis of the viral chemokine receptor US28 does not require β -arrestins but is dependent on the clathrin-mediated pathway*. Traffic, 2003. **4**(4): p. 243-53.
304. Bakker, R.A., P. Casarosa, H. Timmerman, M.J. Smit, and R. Leurs, *Constitutively active Gq/11-coupled receptors enable signaling by co-expressed G(i/o)-coupled receptors*. J Biol Chem, 2004. **279**(7): p. 5152-61.
305. Mokros, T., A. Rehm, J. Droese, M. Oppermann, M. Lipp, and U.E. Hopken, *Surface expression and endocytosis of the human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 is regulated by agonist-independent phosphorylation*. J Biol Chem, 2002. **277**(47): p. 45122-8.
306. Lefkowitz, R.J. and S.K. Shenoy, *Transduction of receptor signals by β -arrestins*. Science, 2005. **308**(5721): p. 512-7.
307. Alami, A. and U.H. Koszinowski, *Viral mechanisms of immune evasion*. Trends Microbiol, 2000. **8**(9): p. 410-8.
308. Compton, T., E.A. Kurt-Jones, K.W. Boehme, J. Belko, E. Latz, D.T. Golenbock, and R.W. Finberg, *Human cytomegalovirus activates inflammatory cytokine responses via CD14 and Toll-like receptor 2*. J Virol, 2003. **77**(8): p. 4588-96.
309. Prod'homme, V., C. Griffin, R.J. Aicheler, E.C. Wang, B.P. McSharry, C.R. Rickards, R.J. Stanton, L.K. Borysiewicz, M. Lopez-Botet, G.W. Wilkinson, and P. Tomasec, *The human cytomegalovirus MHC class I homolog UL18 inhibits LIR-1+ but activates LIR-1- NK cells*. J Immunol, 2007. **178**(7): p. 4473-81.
310. Goodbourn, S., L. Didcock, and R.E. Randall, *Interferons: cell signalling, immune modulation, antiviral response and virus countermeasures*. J Gen Virol, 2000. **81**(Pt 10): p. 2341-64.
311. Browne, E.P., B. Wing, D. Coleman, and T. Shenk, *Altered cellular mRNA levels in human cytomegalovirus-infected fibroblasts: viral block to the accumulation of antiviral mRNAs*. J Virol, 2001. **75**(24): p. 12319-30.
312. Isaacson, M.K. and T. Compton, *Human cytomegalovirus glycoprotein B is required for virus entry and cell-to-cell spread but not for virion attachment, assembly, or egress*. J Virol, 2009. **83**(8): p. 3891-903.
313. Boomker, J.M., T.H. The, L.F. de Leij, and M.C. Harmsen, *The human cytomegalovirus-encoded receptor US28 increases the activity of the major immediate-early promoter/enhancer*. Virus Res, 2006. **118**(1-2): p. 196-200.

314. Michaelis, M., H.W. Doerr, and J. Cinatl, Jr., *Oncomodulation by human cytomegalovirus: evidence becomes stronger*. *Med Microbiol Immunol*, 2009. **198**(2): p. 79-81.
315. Soderberg-Naucler, C., *Protection from cancer in kidney transplant patients by $\gamma\delta$ T cells: role of CMV infection?* *J Am Soc Nephrol*, 2010. **21**(1): p. 11-3.
316. Cox, B., A. Richardson, P. Graham, R.E. Gislefoss, E. Jellum, and H. Rollag, *Breast cancer, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus: a nested case-control study*. *Br J Cancer*, 2010. **102**(11): p. 1665-9.
317. Vajdic, C.M. and M.T. van Leeuwen, *Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation*. *Int J Cancer*, 2009. **125**(8): p. 1747-54.
318. Rahbar, A., G. Stragliotto, A. Orrego, I. Peredo, C. Taher, J. Willems, and C. Soderberg-Naucler, *Low levels of Human Cytomegalovirus Infection in Glioblastoma multiforme associates with patient survival; -a case-control study*. *Herpesviridae*, 2012. **3**: p. 3.
319. Soderberg-Naucler, C. and J.I. Johnsen, *Cytomegalovirus infection in brain tumors: A potential new target for therapy?* *Oncoimmunology*, 2012. **1**(5): p. 739-740.
320. Moore, P.S. and Y. Chang, *Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology*. *Nat Rev Cancer*, 2010. **10**(12): p. 878-89.
321. Veerman, E., *Zintuigen van de cel - Nobelprijs voor chemie*. *Wetenschap*²⁴ nieuwsbrief 11 oktober 2012
322. "The Nobel Prize in Chemistry 2012 - Press Release". *Nobelprize.org*. 5 Nov 2012 http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/press.html
323. Strauss, D. C. and J. M. Thomas, *Transmission of donor melanoma by organ transplantation*. *Lancet Oncol*, 2010. **11**(8): p. 790-796.

samenvatting

Oncomodulatie door US28 en UL33; twee HCMV-gecodeerde G eiwit-gekoppelde receptoren

GPCR

Recentelijk, in oktober 2012, is de Nobelprijs voor de chemie toegekend aan Robert Lefkowitz en Brian Kobilka. Zij beschreven als één van de eersten een G eiwit-gekoppelde receptor, oftewel GPCR. Met behulp van radioactieve stoffen, die aan hormonen gekoppeld werden, konden Lefkowitz en Kobilka in de jaren zeventig de receptoren opsporen en vervolgens verder karakteriseren [339]. Uit de DNA-code van de adrenalinereceptor (β_2 -adrenerge receptor) konden de onderzoekers afleiden dat dit eiwit een vorm had met zeven lange hydrofobe spiralen (α -helix structuren), die in de wand (het membraan) van de cel liggen. Lefkowitz en met name Kobilka hebben veel werk gedaan om uiteindelijk de 3D structuur van de GPCRs daadwerkelijk te ontrafelen waardoor we een goed inzicht hebben verkregen op welke wijze dit soort eiwitten functioneert. Alle verschillende GPCRs die mensen aanmaken, stammen af van één stuk DNA en lijken daarom op elkaar. Deze receptoren, waarvan ieder mens ongeveer 800 verschillende versies heeft, vormen de zintuigen van de cel. Ze vangen aan de buitenkant van cellen signaalstoffen op die worden omgezet in responsen van de cel via aan de receptor gekoppelde respons eiwitten (G-eiwit, β -Arrestin). Dergelijke communicatie tussen eiwitten wordt ook wel signaaltransductie genoemd. Ze zorgen er onder andere voor dat

je kunt ruiken, proeven en zien. In alle cellen van het menselijk lichaam speelt de communicatie door GPCRs een zeer belangrijke rol bij alledaagse processen (slaap, honger, hartritme, ons immuun systeem), maar ook bij ziektes. Ook niet onbelangrijk is, dat meer dan een kwart van alle medicijnen zijn werking dankt aan het feit dat ze aangrijpen op dit soort receptoren. Bekende voorbeelden hiervan zijn de geneesmiddelen die de bloeddruk kunnen reguleren en anti-histaminen tegen allergieën. Behalve voor de chemie, is de ontdekking van de GPCRs door Lefkowitz en Kobilka dus ook van ontzettend groot belang geweest voor de geneeskunde. In dit proefschrift staat onderzoek aan een bijzondere klasse van GPCRs beschreven, namelijk GPCRs die aangemaakt worden door een herpesvirus. Dit virus kan menselijke cellen infecteren, waarna de virale receptoren ook in het celmembraan terecht komen. Deze virale receptoren worden door het virus ingezet in hun voordeel, bijvoorbeeld door het immuunsysteem van de geïnfecteerde gastheer te omzeilen.

Herpesvirussen

Een groot deel van de bevolking is geïnfecteerd met humane herpesvirussen (HHV). Meestal zijn deze virussen onschadelijk na de eerste infectie en symptomen. Naast de lytische fase, waarin het virus zich vermenigvuldigt, kunnen deze virussen echter ook latent (slappend, onschadelijk) aanwezig blijven in de geïnfecteerde gastheer. Reactivatie van de herpesvirussen kan gebeuren wanneer het immuunsysteem verzwakt is, zoals bijvoorbeeld bij orgaantransplantaties en HIV-patienten. In dergelijke gevallen kan de activiteit van de virussen resulteren in – of bijdragen aan – ziektes (pathologieën).

In Hoofdstuk 1 wordt een overzicht gegeven van drie verschillende herpesvirussen, te weten HHV5 (humaan cytomegalovirus; HCMV), HHV4 (Epstein-Barr virus; EBV) en HHV8 (Kaposi's sarcoma geassocieerd herpesvirus; KSHV) en hun rol in de pathologie. Het DNA (genoom) van deze virussen bevat genen die coderen voor één of meerdere virale GPCRs (vGPCRs). Bij het aflezen van het virus DNA worden ook deze vGPCRs eiwitten geproduceerd, die vervolgens worden opgenomen in de celwand en daarmee de cel-eigen GPCRs aanvullen. Deze vGPCRs lijken sterk op eiwitten die belangrijk zijn voor de functionaliteit van het immuunsysteem, de humane chemokines receptoren. Gedurende de evolutie zijn de vGPCRs waarschijnlijk vanuit het menselijk genoom overgenomen door het virusgenoom. Het virus gebruikt de aangepaste (gemuteerde) vGPCRs om het immuunsysteem van de geïnfecteerde gastheer om de tuin te leiden in het voordeel van het virus.

Constitutieve activiteit

De virale GPCRs kunnen signalen doorgeven in de cel zonder een activerende stof (agonist of ligand) en geven dus continu een signaal af. Dit wordt constitutieve activiteit genoemd. Deze signalen kunnen de aanleiding zijn tot diverse pathologieën. Een voorbeeld hiervan is de constitutieve activiteit van de receptor ORF74, die wordt gecodeerd door het humane Kaposi's sarcoma geassocieerd herpesvirus (KSHV). Deze virale receptor ORF74 veroorzaakt Kaposi's sarcoma-gerelateerde lesies [5, 93]. Een ander voorbeeld is de EBV-gecodeerde receptor BILF1, die mogelijk betrokken is bij kanker (proliferatieve ziekten) van de lymfocyten, zoals Hodgkin- en Burkittlymfoom.

HCMV

Het virus waar in dit onderzoek aan is gewerkt, is het humane cytomegalovirus (HCMV). Recentelijk is gebleken dat dit virus mogelijk betrokken is bij de ontwikkeling van vasculaire ziektebeelden en verschillende soorten kankers [3]. Het HCMV genoom bevat maar liefst vier genen die coderen voor vGPCRs, te weten US27, US28, UL33 and UL78. Verschillende aspecten van de effecten die US28 en UL33 receptoren op de eiwitcommunicatie in cellen kunnen hebben staan in dit proefschrift beschreven. Van beide eiwitten was al bekend dat ze ook constitutief actief, dus zonder dat een activerende stof hoeft te binden aan het eiwit, signaaltransductie kunnen activeren.

Doel van dit onderzoek

Het doel van dit onderzoek is om de rol van de HCMV-gecodeerde receptoren US28 en UL33 beter te begrijpen. Met name de potentiële rol van deze constitutief actief signalerende vGPCRs in het verstoren van de communicatie tussen eiwitten in een cel (intracellulaire signaaltransductie) is onderzocht. Onze aanwijzingen hoe dit zou kunnen bijdragen aan het ontstaan van kanker staan beschreven in dit proefschrift.

Literatuuronderzoek

In de introductie (**Hoofdstuk 1**) is de algemene en huidige wetenschappelijke kennis van enkele van de bovengenoemde HHVs en hun vGPCRs beschreven. Belangrijke focus in dit hoofdstuk ligt op de HCMV gecodeerde vGPCRs US28 en UL33. Uit literatuuronderzoek blijkt dat er meerdere groepen wereldwijd onderzoek doen aan de verschillende aspecten van deze vGPCRs, en ook de link van het cytomegalovirus en kanker.

US28

Hoofdstuk 2, 3 en 5 richten zich speciaal op de HCMV gecodeerde chemokine receptor US28. In 2006 heeft onze groep het tumorvormende vermogen van US28 laten zien [6]. Muis cellen (NIH-3T3) met het US28 eiwit werden daarvoor geïnjecteerd in muizen. Dit resulteerde in versnelde celdeling door verhoogde expressie van het celcyclus-regulerende eiwit Cycline D1 en bloedvatvorming door expressie van de vasculaire endotheel groeifactor VEGF. Dit leidde tot tumorvorming in muizen (xenograft) met een geïnactiveerd immuunsysteem.

In **Hoofdstuk 2** tonen we aan dat er in aanwezigheid van US28, meer van het kanker-gerelateerde enzym cyclooxygenase 2 (COX-2) wordt geproduceerd in de cel. COX-2 leidt tot de expressie van VEGF. Met behulp van de COX-2-specifieke remmer Celecoxib konden we de VEGF secretie (*in vitro*) en de tumorvorming in de muizen (*in vivo*) remmen.

In 2010 heeft onze groep de aanwezigheid van de US28 receptor in hersentumormateriaal (glioblastoma) aangetoond [80]. Bovendien was er een negatieve correlatie tussen US28 expressie en de levensduurprognose van de patient met glioblastoma.

In **Hoofdstuk 3** laten we het effect van US28 op de kanker-gerelateerde β -catenin signaaltransductieroute zien. Hiervoor is gebruik gemaakt van een specifieke reportergeren assay (Tcf-Lef Luciferase). De β -catenin signaleringsroute wordt geactiveerd door US28 via het G eiwit. Dit is aangetoond met de mutant US28-R¹²⁹A, die geen G-eiwit meer kan koppelen. Met de mutant US28-R¹²⁹A was geen Tcf-Lef activatie te zien. Het mechanisme van signaaltransductie activatie blijkt echter niet via de klassieke (Wnt) signaaltransductie route te gaan, maar via een alternatieve route. Met behulp van studies met remmers (inhibitors) en virusexperimenten, is deze alternatieve route voor een deel in kaart gebracht. Via de eiwitten Rho en Rock wordt β -catenin geactiveerd, hetgeen gepaard gaat met translocatie van β -catenin (translocatie) naar de celkern (nucleus) en verhoogde expressie van het Tcf-Lef reportergeren. Dit mechanisme zou verantwoordelijk kunnen zijn voor het ontstaan of verder ontwikkelen van kanker. Bovendien biedt dit mechanisme perspectief voor nieuwe medicijnen tegen hersentumoren, door ofwel direct de US28 receptor als aangrijppingspunt te gebruiken, of de door US28 geactiveerde eiwitten.

In **Hoofdstuk 5** is gekeken naar een ander niveau van regulatie van signaaltransductie in cellen die de US28 receptor tot expressie brengen. Dit met behulp van epigenetisch onderzoek. Bij epigenetisch onderzoek wordt gekeken naar de veranderde mogelijkheden genexpressie te bewerkstellingen ten gevolge van aanpassingen op het DNA. We tonen aan in **Hoofdstuk 5** dat onder invloed van de US28 receptor een dergelijke verandering plaatsvindt op de promotor van het Cycline D1 gen. Op de cytosines van een specifiek stuk van dit DNA, voor de

transcriptie-startplaats van Cycline D1, is in de aanwezigheid van US28 een verminderde hypomethylatie (minder CH₃-groepen aan het DNA) waargenomen. Hierdoor vindt er meer aanmaak van RNA plaats. Ook het cycline D1 eiwit is meer aanwezig in de US28-bevattende cellen. Zoals eerder beschreven, leidt verhoogde expressie van dit eiwit tot versnelde celdeling.

UL33

Het effect van US28 dat de ontwikkeling van tumoren bevordert is ook gevonden voor UL33, een andere virale G-eiwit gekoppelde receptor die door HCMV wordt gecodeerd. In **Hoofdstuk 4** beschrijven we de verschillende signaaltransductieroutes, die door UL33 kunnen worden geactiveerd in cellen. Deze omvatten, net zoals beschreven voor US28, ook de NFAT, STAT3, VEGF, COX-2 en Tcf-Lef (β -catenin) signaleringsroutes. Vervolgens laten we ook UL33-gestimuleerde tumor-groei zien in muizen met een geïnactiveerd immuunsysteem. Bovendien zien we dat er in hersentumormateriaal (glioblastoma) ook de UL33 receptor aanwezig is. De aanwezigheid van de lichaamsvreemde receptor UL33, maar ook US28, in tumorcellen, zouden tot een effectievere (want specifiekere/doelgerichtere) behandeling van dit soort hersentumoren kunnen leiden.

Discussie

In de discussie (**Hoofdstuk 6**) worden hypothesen gegeven over eventuele gevolgen van de aanwezigheid van de vGPCRs US28 en UL33 receptoren in tumoren. Bij gelijktijdige aanwezigheid van deze receptoren in een cel kan dit gevolgen hebben voor de activatie van één of beide receptoren [89]. Behalve in glioblastoma [310], wordt HCMV misschien ook nog wel van groter belang in andere typen hersentumoren, zoals medulloblastoma, speekselklierkanker en darmkanker, etc. Welke andere virale en cellulaire factoren bij deze tumoren mogelijk nog betrokken zijn is nog nader te bepalen door vervolgonderzoek.

Samenvattend laat dit proefschrift zien dat de HCMV-gecodeerde vGPCR US28 verschillende kanker-gerelateerde signaaltransductieroutes in cellen kan activeren. Deze kunnen mogelijk verantwoordelijk zijn voor de ongecontroleerde celdeling van cellen en zouden dus een rol kunnen spelen bij HCMV-gerelateerde kanker. Ook veranderingen op het DNA niveau in cellen (epigenetische modificaties) kunnen daarbij een rol spelen. Aangezien expressie van de UL33 receptor ook kanker-gerelateerd (proliferatief) gedrag laat zien, lijkt meer onderzoek naar deze virus-gecodeerde receptoren, hun invloed op de signaaltransductie in de geïnfecteerde cellen en de cellen daar omheen, nodig. Ook de ontwikkeling van mogelijke remmende stoffen (inverse agonisten) voor US28 en/of UL33 zou van grote waarde kunnen zijn voor patiënten met hersentumoren of andere HCMV-gerelateerde ziekten.

summary

Oncomodulatory properties of the human cytomegalovirus-encoded receptors US28 and UL33

In this thesis, we describe the role of in signal transduction and oncomodulation of two G protein coupled receptor proteins (GPCRs), encoded by the human cytomegalovirus (HCMV). The vGPCRs US28 and UL33 were shown to activate several signal transduction pathways that might be involved in the development of glioblastoma, an HCMV-linked pathology.

Chapter 2 describes how US28 induces upregulation of COX-2 expression via the inflammation-related transcriptional regulator NF- κ B. Furthermore, involvement of COX-2 in tumor formation is exemplified. In **Chapter 3** we show that US28 constitutively activates β -catenin dependent transcription through the Rho-Rho kinase (ROCK) pathway, instead of the classical Wnt/Frizzled signaling pathway. Additionally, HCMV-infected cells also display activation of β -catenin signaling through US28. This might be of relevance for (colon) cancer and glioblastoma development as well as other HCMV-associated pathologies. **Chapter 4** focuses on the HCMV-encoded receptor UL33. We show that UL33, like US28, may act as an oncomodulator, rewiring several cellular signaling pathways. UL33 promotes tumor formation in a xenograft model and is detected in glioblastoma. Hence, UL33 might also play a role in proliferative diseases. Finally, in **Chapter 5**, we

describe a role of US28 in epigenetic regulation through hypomethylation of the promoter of the cell cycle progression gene cyclin D1.

Taken together, our data shed new light on the mechanisms that might be involved in oncomodulatory properties of the vGPCRs US28 and UL33, and might lead to new strategies to target HCMV-associated pathologies such as glioblastoma and colon cancer.

curriculum vitae

Ellen Langemeijer was born in Almelo on July 31th, 1974. After living in various places in Tanzania and the Netherlands, she finished the VWO at the Nassau College in Heerenveen in 1993. That year she started studying biology at the Vrije Universiteit Amsterdam, with a specialization in Molecular and Cellular Biology. Three research internships were performed. The first was performed at the VU University Amsterdam, in the Biochemistry and Molecular Biology division, on yeast and their ribosomal proteins. The second at Kreatech, a biotech company in Amsterdam, comparing classical and new probe labeling technologies. A third internship was performed in Boulder, U.S.A. at the University of Colorado under supervision of Dr. Esther van de Vosse in the group of Ass.Prof. Bob Boswell, on *Drosophila* genetics.

After finishing her studies, Ellen started working at the then newly started biotech company Galapagos Genomics in Leiden from 1998 till 2004. During these years she worked on various projects under the supervision of Dr. Libin Ma, Dr. Marcel Hoffmann and Dr. Gert-Jan Arts. This included the development of the patented Galapagos' SilenceSelect[®] adenovirus technology. After being promoted from junior scientist to scientist, Ellen realized the good years at Galapagos almost made her forget she wanted to obtain her PhD.

In 2005 she started her PhD study at the Pharmacology department of the VU University Amsterdam in the Division of Medicinal Chemistry, on a VIDI project supervised by Prof. Martine Smit. This project involved deciphering on-comodulatory signal transduction induced by the viral GPCRs US28 and UL33. The results are described in this thesis. Ellen was awarded the second poster prize

during the FIGON days in Lunteren in 2008 on the research on COX-2 activation by US28, which is described in Chapter 2 of this thesis.

Recently, Ellen worked as a postdoc in the Leiden division of Medicinal Chemistry from the Leiden/Amsterdam Center for Drug Research (LACDR). During this period, adenosine receptors, other human GPCRs, and their ways of (functional selective) signaling were the research subject.

list of publications

Langemeijer EV, Verzijl D, Dekker S, IJzerman AP, *Functional selectivity of Adenosine A₁ receptor ligands?*, Purinergic Signal. Published online 28 sep 2012.

Langemeijer EV, Slinger E, de Munnik S, Schreiber A, Maussang DA, Visscher H, Verkaar F, Leurs R, Siderius M, Smit MJ, *Constitutive β -catenin signaling by the viral chemokine receptor US28*, PloS ONE. 2012;7(11): e48935.

Slinger E, **Langemeijer EV**, Siderius M, Visscher H, Smit MJ, *Herpes virus-encoded GPCRs rewire cellular signaling.*, Mol Cell Endocrinol. (2011); 331(2) 179-84.

Langemeijer EV, Maussang DA, Fitzsimons CP, Stigter-van Walsum M, Dijkman R, Borg MK, Slinger E, Schreiber A, Michel D, Tensen CP, van Dongen GAMS, Leurs R and Smit MJ, *The human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 promotes angiogenesis and tumor formation via cyclooxygenase-2*, Cancer Res. (2009); 69 (7) 2861-2869.

van Rijn RM, van Marle A, Chazot PL, **Langemeijer EV**, Qin Y, Shenton FC, Lim HD, Zuiderveld OP, Sansuk K, Dy M, Smit MJ, Tensen CP, Bakker RA, Leurs R, *Cloning and characterization of dominant negative splice variants of the human histamine H₄ receptor*, Biochem. J. (2008) 414 (121-131).

Arts GJ, **Langemeijer EV**, Tissingh R, Ma L, Pavliska H, Dokic K, Dooijes R, Mesić E, Clasen R, Michiels F, van der Schueren J, Lambrecht M, Herman S, Brys R, Thys K, Hoffmann M, Tomme P, van Es H, *Adenoviral Vectors Expressing siRNAs for Discovery and Validation of Gene Function*, Genome Res. 2003 13: 2325-2332.

Michiels F, van Es H, van Rompaey L, Merchiers P, Francken B, Pittois K, van der Schueren J, Brys R, Vandersmissen J, Beirinckx F, Herman S, Dokic K, Klaassen H, Narinx E, Hagers A, Laenen W, Piest I, Pavliska H, Rombout Y, **Langemeijer EV**, Ma L, Schipper C, Raeymaeker MD, Schweicher S, Jans M, van Beeck K, Tsang IR, van de Stolpe O, Tomme P, Arts GJ, Donker J, *Arrayed adenoviral expression libraries for functional screening*, Nat Biotechnol. 2002 Nov;20(11):1154-7.

Patent

Arts GJ, **Langemeijer EV**, Piest I, van Es HHG, Michiels GAM, *siRNA knockout assay method and constructs*, Patent Publicatienummer: WO 03020931, Publication date 13-03-2003.

dankwoord

Daar is het dan; mijn boekje is eindelijk af! Wat heerlijk om nu te kunnen gaan nadenken over welke personen mij in mijn promotie-avontuur hebben gemotiveerd en gestuurd. Allereerst wil ik graag mijn promotor Martine Smit en copromotor Marco Siderius bedanken. Martine, allereerst voor de kans die je mij hebt geboden. Het vinden van een promotieplaats was na 5 jaar te hebben gewerkt bij biotechbedrijf Galapagos en als moeder van een klein kind geen eenvoudige opgave. Hoewel we allemaal tot ons 67^{ste} zullen moeten doorwerken, leek je voor je 29^{ste} al een definitieve keus te moeten hebben gemaakt; promoveren of niet... Daarnaast ben ik ook altijd blij geweest met je insteek dat je, zelfs als je (kleine) kinderen hebt, toch je doelen kunt bereiken, al moet je dan misschien wat meer geduld hebben. Tijdens je inauguratierede in 2007 sprak je over vrouwen in de wetenschap en je woorden destijds sterkten mijn gevoel om te willen promoveren. Dat ik naast Jonathan in 2005 en 2009 ook nog Eveline en Vivienne heb gekregen heeft natuurlijk wel tijd gekost. Dank je wel dus voor je geduld en hulp bij het afronden van dit proefschrift. Daarnaast heb je me ook veel van mijn onderzoeksrichting zelf laten bepalen. De vrijheid om met diverse mensen in aangrenzende vakgebieden samen te werken heeft mij altijd aangetrokken. Microarrays en methylatiearrays? Geen probleem, bij Kees Tensen in Leiden mocht het, met hulp van Qin, Remko Dijkman en Wim Zoutman. Hetzelfde gold voor muizenstudies met de nieuwe stabiele UL33 cellijn in samenwerking met Marijke Stigter-van Walsum van de KNO-groep van Guus van Dongen. Rob Leurs, tijdens de eerste jaren (2005–2008) meer aanwezig dan de latere jaren, bedankt voor de kritische vragen bij presentaties en je scherpe blik. Hierbij wil ik dan ook gelijk de andere leden van de lees- en promotiecommissie, te weten Kees Tensen, Bob van de Water

en Maaike Ressing bedanken voor hun tijd en aandacht die ze hebben besteed aan het lezen van dit proefschrift en aan het voeren van de oppositie.

Marco Siderius, mijn co-promoter, met jou heb ik de langste geschiedenis; tijdens mijn eerste stage bij biochemie en moleculaire biologie op de VU liep jij hier ook al rond als post-doc. Jouw record (drie kinderen krijgen tijdens het AiO-schap) heb ik niet weten te evenaren, maar de drukte thuis en de liefde voor het maken van muziek zijn herkenbaar. Verder zijn je wijze woorden meegenomen in mijn overpeinzingen over mijn toekomst.

Dat brengt me gelijk op Marcel Hoffmann, een van mijn begeleiders uit mijn tijd bij Galapagos in Leiden. Dankzij jouw tip over deze promotieplaats op de VU bij farmacochemie en aanbeveling ben ik hier terechtgekomen. Dank voor je hulp en raad. Ook Gert-Jan Arts wil ik hierin niet onvermeld laten. Het opgeven van een vaste baan bij Galapagos leek indertijd misschien niet echt logisch, maar was het wel waard. Ondanks dat heb ik mijn oude collega's en vrienden (Carla, Sandra, Marjolijn, Phia, Anton, Karen, Onno en alle anderen, te veel om op te noemen) en de beroemde (pre)labstaps in het begin zeker gemist!

Mijn directe collega-AiO's David Maussang en Erik Slinger, ook werkzaam aan virale chemokine receptoren, zijn steun en toeverlaat geweest op vele momenten gedurende de afgelopen jaren. Na ongeveer tegelijkertijd met David te zijn begonnen, hoopte ik niet veel later dan Erik te promoveren. Dank voor al jullie hulp en vriendschap. In het laatste jaar is met de komst van Andreas Schreiber uit Ulm, Duitsland, het HCMV viruswerk op de VU weer op gang gekomen; Vielen Dank für deine Hilfe mit dem Virussen und immunofluorescence assays. Andere collega's met wie ik een kantoor, lab, werkbesprekingen, yogalessen of lunchpauzes heb gedeeld; Dennis, Gerold, Danny en Meritxell, Saskia H., Andre, Obbe en Saskia N. (bedankt VU-kamerkoor concertgangers!), Jan-Paul, Petra, Kim, Jib, Richard, Herman, Anne, Henry, Leontien, Marola, Laura, Ken, Sven, Anitha, Atila, Sabrina en Azra; dank jullie wel voor de dagelijkse gezelligheid. Ook dank aan de andere (oud)collega's van Farmacochemie; Andrea, Maikel, Oscar, Rogier, Aldo, Jelle (dag meneer), Ewald en Niels M., de medewerkers van het RNC en vele anderen. Ook FIGON dagen (Lunteren) en congresbezoek (Kopenhagen) werd altijd gezellig door het terugzien van (oud)collega's van andere labs (Astrid en Steven, Laura en Ad, he Dennis!, enz.). Bij Prof. Ad IJzerman en Laura Heitman heb ik mijn eerste post-doc jaar in de adenosine receptoren, andere niet virus-gecodeerde GPCRs, er ondertussen alweer opzitten. Bij jullie heb ik ook veel geleerd, gezellige uitstapjes meegemaakt. De eerste publicatie, met dank aan Dennis, Stefan en Ad, is net binnen!

Dat brengt me op studenten; eindprojecters Klaas en Tineke, major studenten Rana, Azra en Veronique, en HLO-er Stefan. Dank voor jullie bijdrage aan dit

proefschrift! Rana tijdens de Tcf-Lef opstartfase, Stefan tijdens het UL33 cloneerwerk en het maken van de stabiele cellijnen, maar met name Azra; Dank. Tijdens je major-stage op het epigenetics project (Hoofdstuk 5) hebben we erg prettig samengewerkt; vervolgens werd jij ook AiO op de VU. De yoga-lessen van Jib heb jij ook van het begin tot het einde gevolgd. Nu ben je mijn paranimf en over een tijdje zul jij hier ook staan!

Mehrnaz, mijn andere paranimf, mijn studievriendin; onze geschiedenis gaat lang terug, naar onze studie biologie aan de VU. Daarna zijn er gezamenlijke ondernemingen als trouwjurk naaien (stress!), jouw promotie (2004), samen eten (rijst met kip (Saeed) of BBQ), de geboorte van onze kinderen en natuurlijk vakanties geweest. Recentelijk tijdens onze indrukwekkende reis naar Iran bleek maar weer eens waarom wij zulke goede vrienden zijn geworden. Wat een schitterende reis! Daarnaast is samen in de Coebel wonen in Leiden een superleuke manier om je vrienden dichtbij te hebben. Ook nieuwe Coebelvrienden Daan en Manon, Sandra en Roland, Wilma en de vele anderen met wie het dagelijkse leven met de kinderen, maar ook de vakanties, wordt gedeeld; dank jullie allemaal voor jullie meeleven tijdens de afrondingsfase van dit boekje. Elmar, dank voor je nuttige tips voor mijn Nederlandse samenvatting.

Daarnaast zijn er de vrienden van het VU-kamerkoor (VUkk voor insiders; Simone, Laetitia, Marlies, Jeroen, Michel, Willemijn, Roel, Bente, Berbel, Ruth, Maurits, Stefan, Jasper, Marcel en alle anderen die ik hier niet kan noemen). De afgelopen 16 jaar heb ik met zo ontzettend veel plezier gezongen o.l.v. Boudewijn Jansen. Velen van jullie zijn al gepromoveerd, enkelen moeten nog (sterkte alvast!), maar de gezamenlijke liefde voor de koormuziek blijft altijd bestaan. Roel, dank voor de geweldige lay-out en Chantal voor het ontwerp van de voorkant.

Tot slot wil ik mijn familie bedanken. Mama, en papa en Alies, jullie interesse in de wetenschap heeft mij altijd gesterkt, en ook wel eens jaloers gemaakt. Dat ik jou, papa, later weer jaloers maakte door onderzoek te doen, vond ik wel weer leuk. Rianne en Paul, zusje en broertje, dit is nu het boekje waarvoor ik de afgelopen jaren onderzoek heb gedaan. Last but not least, mijn liefste Ydo en de kinderen; heel erg bedankt. Jullie zijn altijd een grote steun geweest (soms ook juist door afleiding) en ik hou van jullie. De afgelopen tijd met veel schrijven thuis heb ik toch ook geprobeerd een goede huisvrouw te zijn door vaak te koken. Vanaf nu is er weer meer tijd en aandacht voor jullie!