



Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología, Parasitología
e Inmunología - Cátedra 1
Microbiología I

Teórico 24
**Modelos de oncogénesis viral:
virus Epstein-Barr, herpes humano 8 y
virus T-linfotrópico humano.**

VIRUS Y CÁNCER

Virus	Taxonomy	Genome	Human cancer
HPV	<i>Papillomaviridae</i>	dsDNA	Cervical cancer, Anal cancer, Penis cancer, Head and neck carcinoma
EBV	<i>Herpesviridae</i>	dsDNA	Burkitt's lymphoma, Hodgkin's lymphoma, Posttransplantation lymphoma, Nasopharyngeal carcinoma
KSHV (HHV-8)	<i>Herpesviridae</i>	dsDNA	Kaposi's sarcoma, Pleural effusion lymphoma, Multicentric Castleman's disease
HBV	<i>Hepadnaviridae</i>	dsDNA	Hepatocellular carcinoma
HCV	<i>Flaviviridae</i>	ssRNA	Hepatocellular carcinoma
HTLV-1	<i>Retroviridae</i>	ssRNA-dsDNA	Adult T-cell leukemia
MCV	<i>Polyomaviridae</i>	dsDNA	Merkel cell carcinoma
SV40	<i>Polyomaviridae</i>	dsDNA	Mesothelioma and colon tumors
JCV	<i>Polyomaviridae</i>	dsDNA	Brain and colon tumors
BKV	<i>Polyomaviridae</i>	dsDNA	Prostate and brain tumors
Adenovirus	<i>Adenoviridae</i>	dsDNA	Several serotypes can transform human and rodent cells and cause malignant tumors upon injection into rodents

Entre el 15 y el 20% de los cánceres en humanos a nivel mundial tienen etiología viral

Mecanismos de oncogénesis viral

Virus: “necesarios pero no suficientes”

- Alteración del ciclo celular
- Inhibición / activación de vías de señalización
- Modulación de la respuesta inmune

Mimetismo molecular (viroquinas, v-receptores, v-ciclinas, etc.)

Factores asociados:

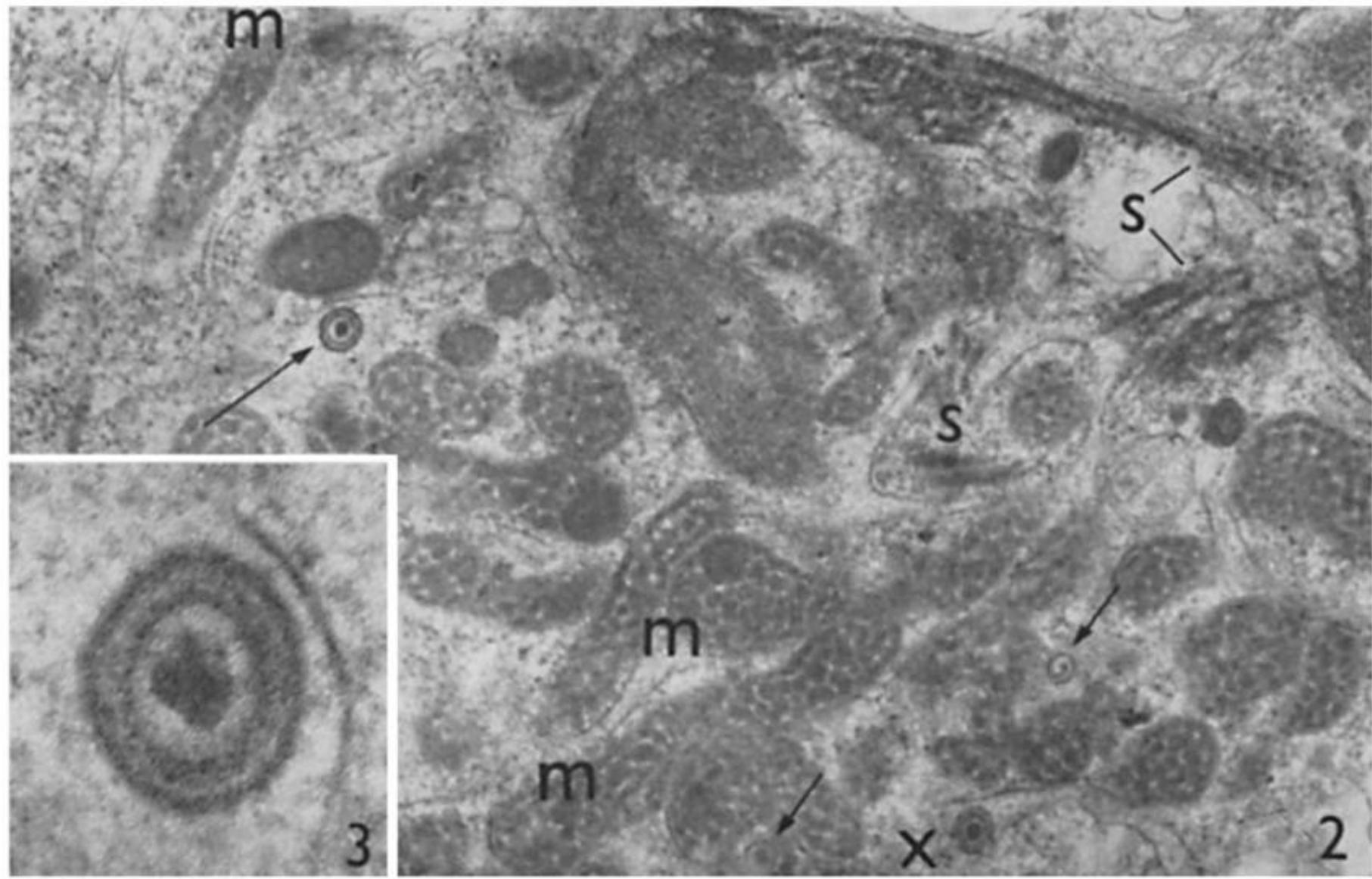
- Ambientales y genéticos
- Inmunodeficiencias primarias o adquiridas
- Trasplantes
- Coinfecciones



Denis Parsons Burkitt
(1911-1993)



¿Teoría infecciosa?



3

2

MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL STUDIES ON A VIRUS
IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S
LYMPHOMA

BY M. A. EPSTEIN, M.D., G. HENLE, M.D., B. G. ACHONG, M.B.,B.C.H., AND
Y. M. BARR

(*From the Bland-Sutton Institute of Pathology, The Middlesex Hospital Medical School,
London, and the Children's Hospital of Philadelphia and School of Medicine,
University of Pennsylvania, Philadelphia*)

PLATES 56 TO 59

(Received for publication, December 15, 1964)

Burkitt's malignant lymphoma of children in Africa (1, 2) is of special significance because the environmental factors which govern its distribution (3, 4) suggest that causation might depend on an arthropod vector spreading an aetiological agent (2-5). Inoculation experiments with monkeys have recently provided further indications that Burkitt's tumour might contain such a transmissible agent (6), whilst certain viruses have been found in association with a number of patients. Thus, herpes simplex has been isolated from a small proportion of biopsy specimens (7, 8) and a reovirus has been grown from biopsy material in a single instance (9). In addition, in six other cases

Familia *Herpesviridae*: infección productiva y latente

Sub-familia	Virus	Células blanco de la replicación productiva	Células blanco de la latencia
α	HSV-1	Epitelial, queratinocito	Neurona
	HSV-2	Epitelial, queraticonocito	Neurona
	VZV	Epitelial, queratinocito, linfocito T, monocito, endotelial, Langerhans	Neurona
β	HCMV	Macrófago, dendrítica, endotelial, músculo liso, epitelial, fibroblasto	Célula pluripotencial hematopoyética (<i>Stem cell</i>) CD34+, macrófago
	HHV-6	Linfocito T CD4+	Célula pluripotencial hematopoyética (<i>Stem cell</i>) CD34+, macrófago
	HHV-7	Linfocito T CD4+	Linfocito T CD4+
γ	EBV	Linfocitos B, epitelial	Linfocito B
	HHV-8	Linfocitos	Linfocitos B

EBV

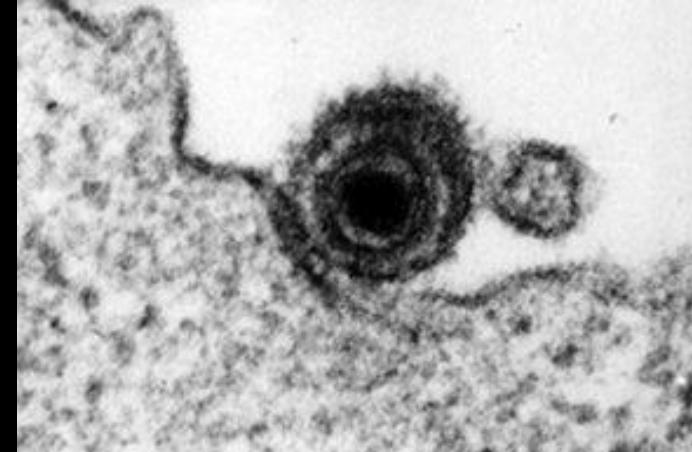
Transmisión



EBV

Amplia distribución mundial.

Prevalencia > al 90% en población adulta.



La transmisión es principalmente por secreciones orofaríngeas .

Transfusiones y trasplante de órganos son menos frecuentes.

Primo-infección :

En niños suele ser asintomática.

En adolescentes y jóvenes puede ser sintomática (Mononucleosis infecciosa).

Su latencia es un proceso que permite la expresión de diversos factores virales asociados a la transformación celular sin producción viral.

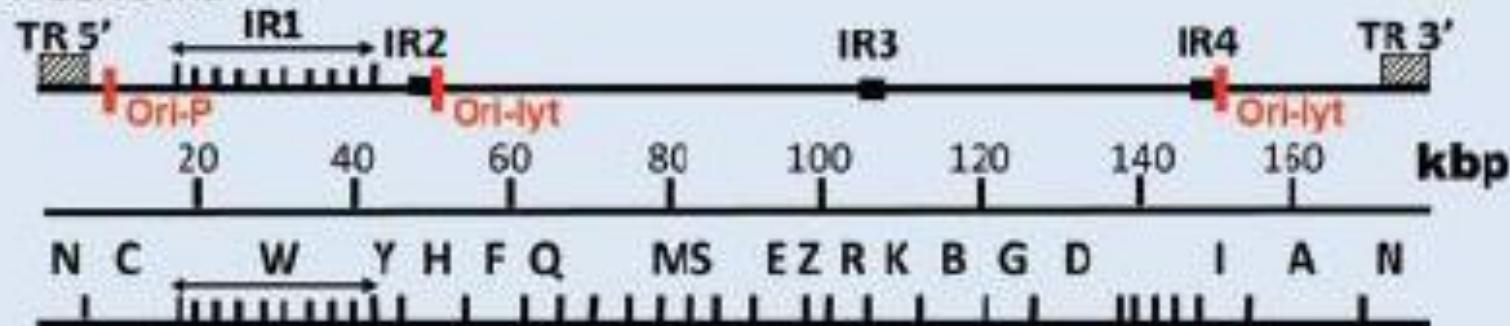
Table 1. EBV positivity discriminated by age groups

Age	EBV-positive n/total (%) ¹
1–6 months	0/12 (0)
7–12 months	5/19 (26)
13–24 months	15/20 (75)
25–36 months	16/18 (89)
4–6 years	36/43 (84)
7–10 years	23/28 (82)
11–15 years	23/24 (96)
Total	118/164 (72)

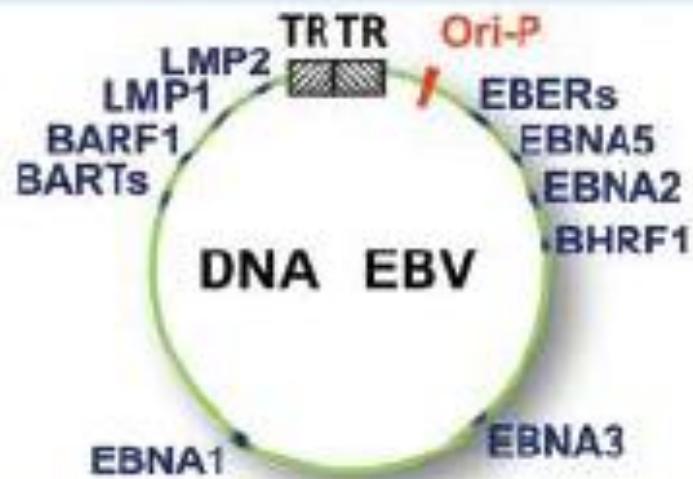
Paola A. Chabay and María V. Preciado

Molecular Biology Laboratory, Pathology Division, Ricardo Gutiérrez Children's Hospital, Gallo 1330, Buenos Aires, Argentina

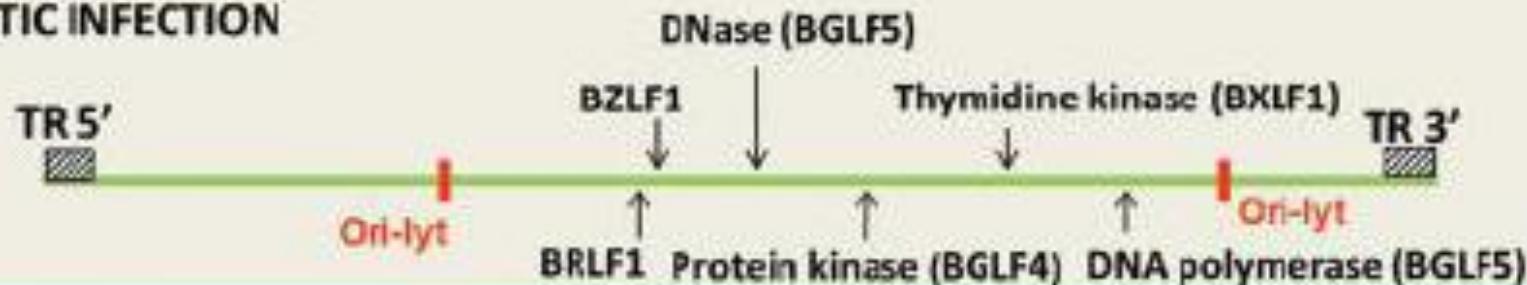
A) EBV GENOME



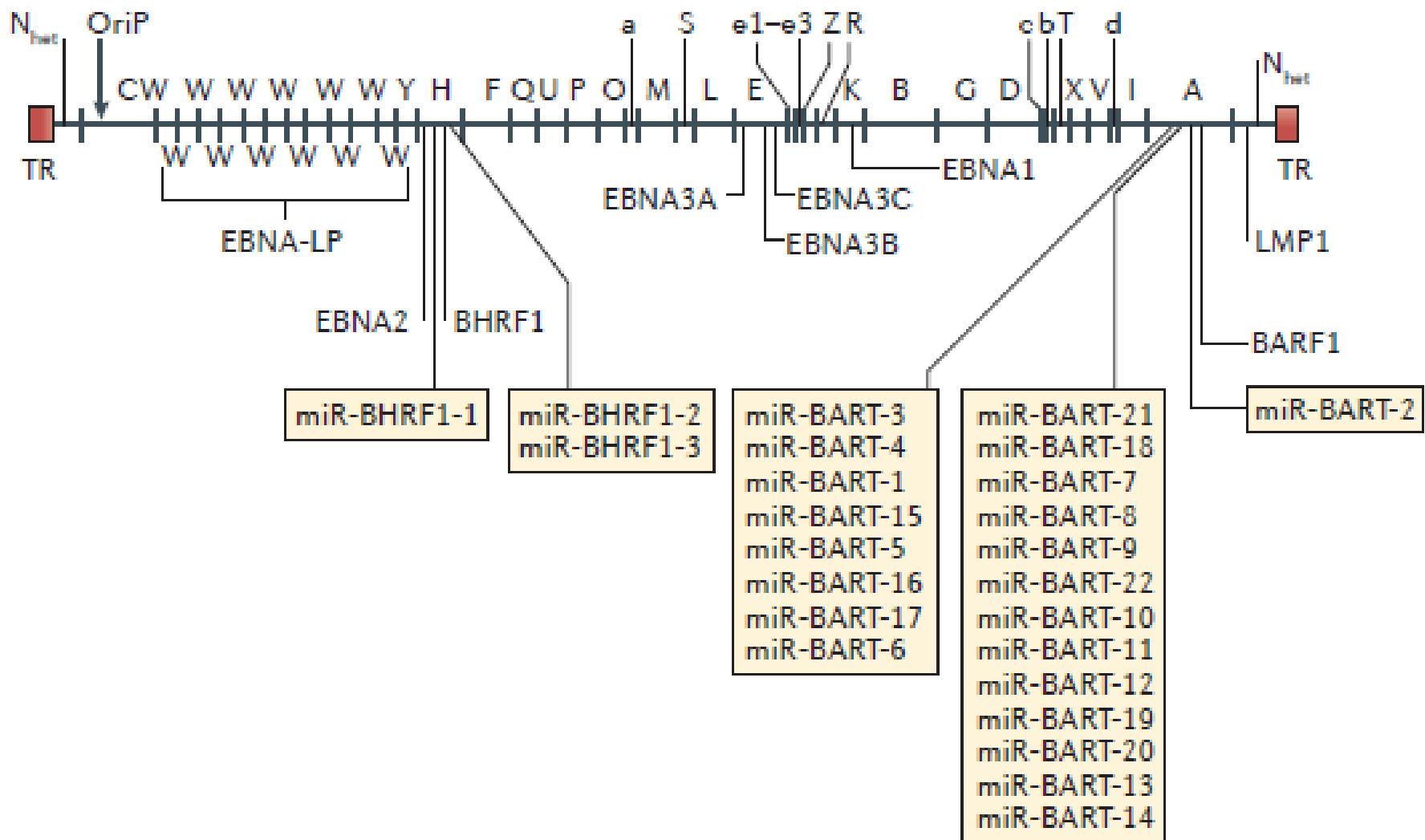
B) LATENT STATE

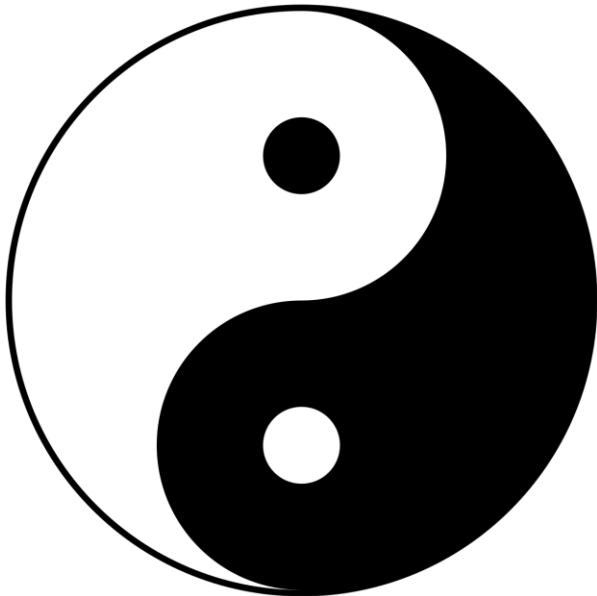


C) LYtic INFECTION



b Position of latent gene products on a linear genome





REPLICACIÓN

ADNdc lineal 172 kb

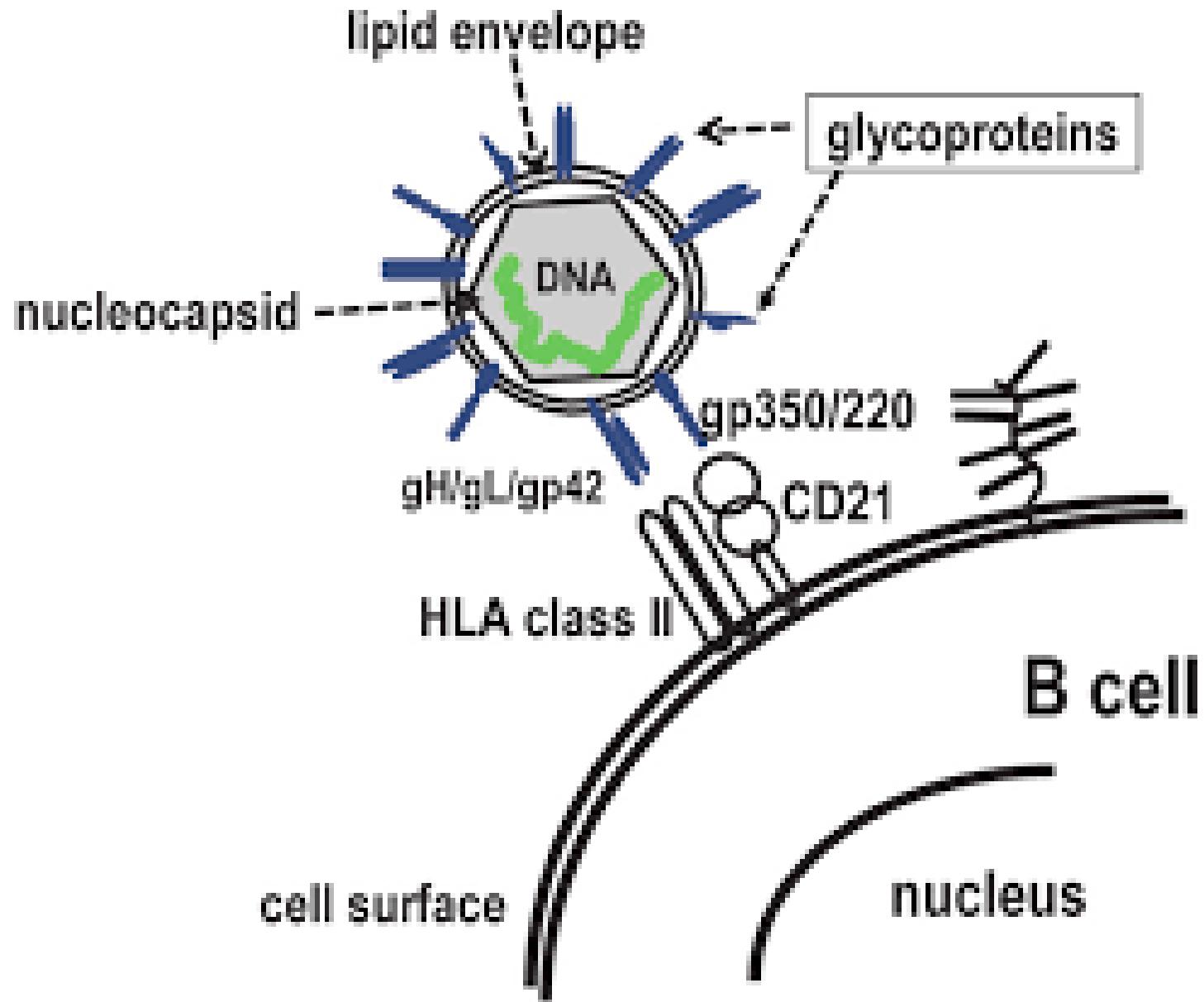
Codifica >80 ORF

LATENCIA

ADNdc circularizado y episomal

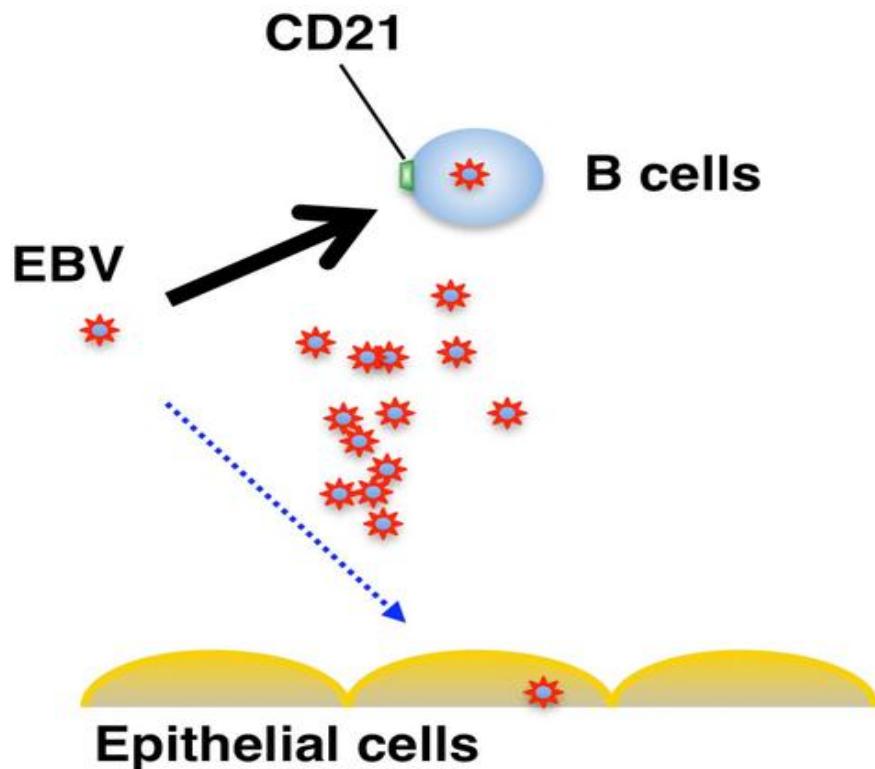
No hay integración al ADN celular

Sólo expresa genes asociados a Latencia.

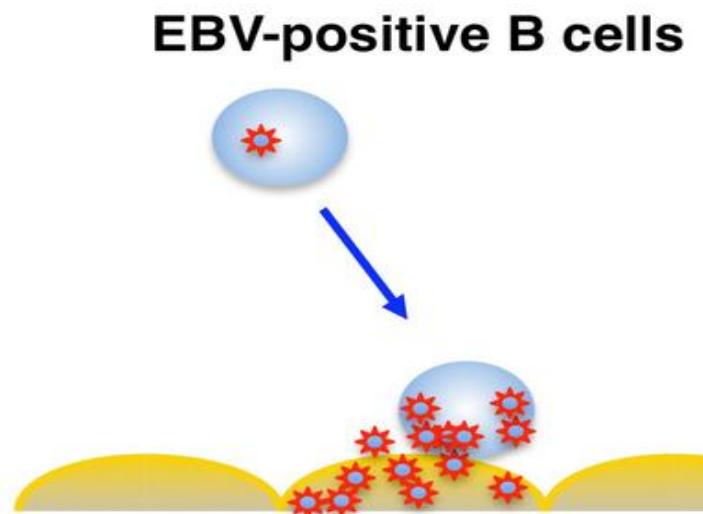


Mecanismos de entrada

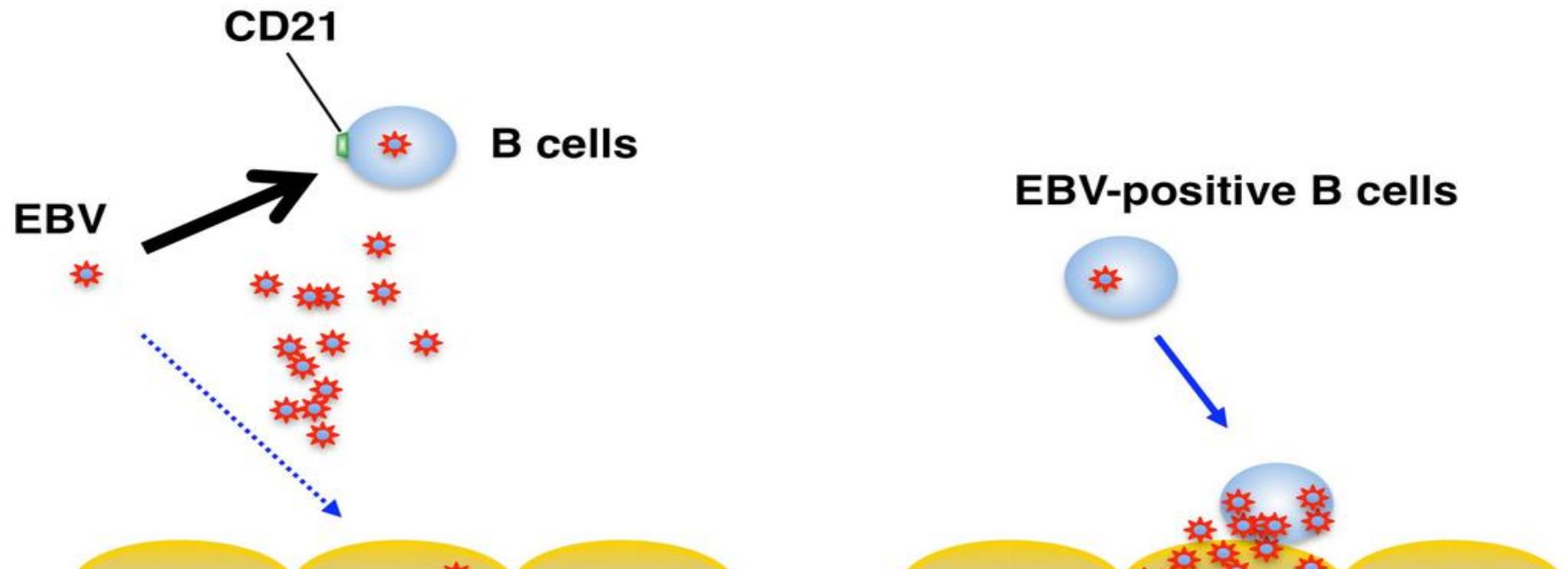
Infección por virus libre



Infección por contacto celular



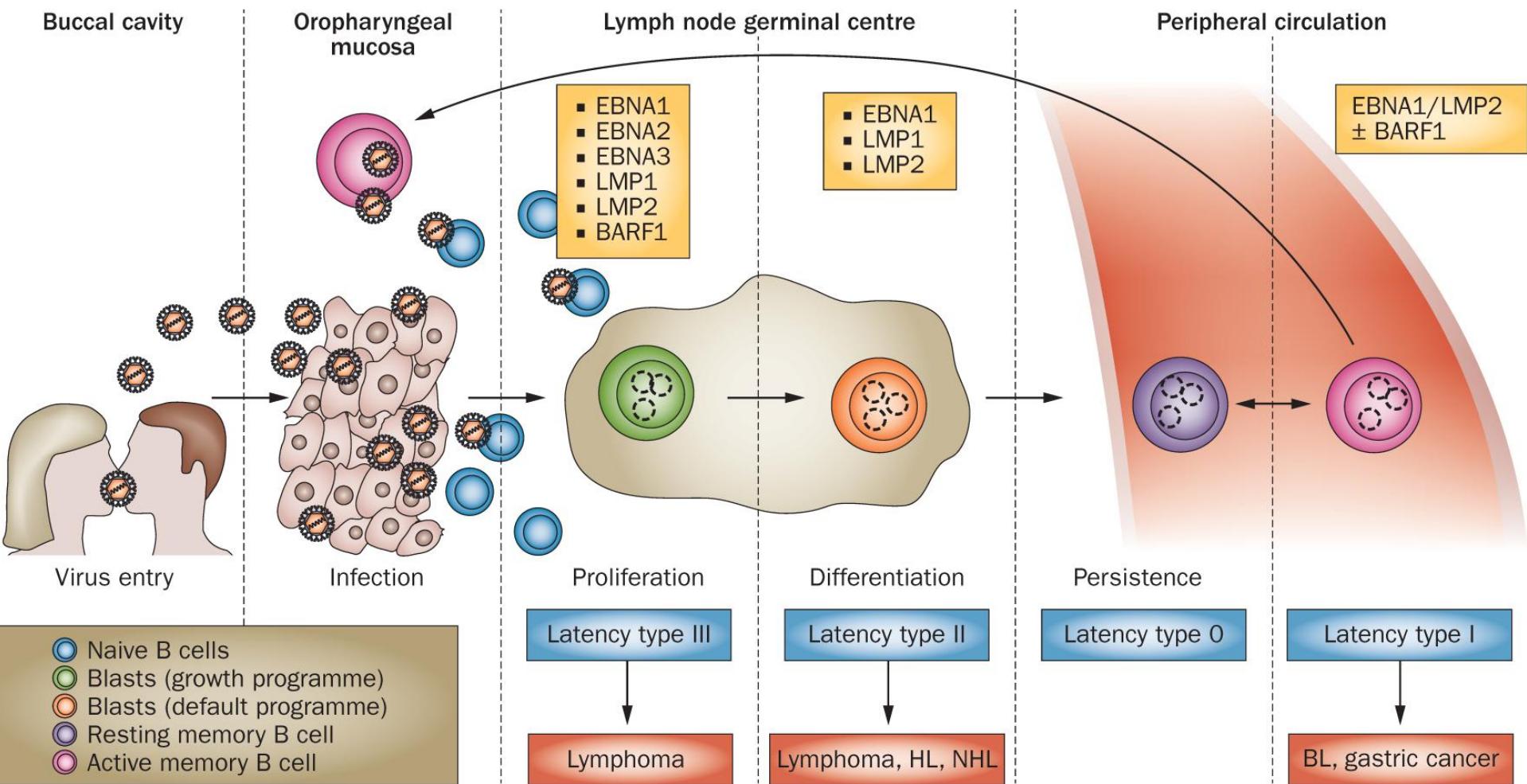
Infection efficiency: 1 < 1,000 to 10,000



Infection efficiency: 1 < 1,000 to 10,000

gpBMRF2 de EBV + alfa / beta integrinas
IgA + Componente secretorio

Ciclo del EBV, latencia y linfoma (“modelo del Centro Germinal”)



El virus utiliza la biología celular normal de los linfocitos B para su persistencia

Genes asociados a la replicación

Inmediatamente tempranos:

- BZLF1 y BRLF1 → factores de transcripción, latencia a lítico

Tempranos: transactivadores o enzimas

- BMRF1 → procesividad y replicación
- BHRF1 → análogo bcl-2
- BGLF5, BARF1, BORF2, BALF5, BXLF1, BALF2, BLRF2, etc.

Tardíos: proteínas estructurales

- BLLF1 → glucoproteína gp350/220
- BNRF1, BCLF1, BALF4, etc.

Genes asociados a latencia

6 antígenos nucleares:

- EBNA 1 → episoma, efectos anti-apoptóticos
- EBNA2 → transactivador celular y viral
- EBNA3A, 3B y 3C → proliferación y transformación
- EBNALP →interacción con p53 y Rb

3 proteínas latentes de membrana:

- LMP1 → oncoproteína, análogo CD40
- LMP2A y 2B → modula vías celulares

ARN (no traducibles):

- EBERs 1 y 2 → persistencia viral, anti-apoptóticos
- BARFs → persistencia viral

miARNs

22 miARN que forman un *cluster* en la región BART del genoma

Tumores asociados	Subtipo	Asociación (%)	Tipo de Latencia
Linfoma de Burkitt	Endémico Esporádico Asociado a SIDA	100 15-85 30-40	I
Linfomas en inmunosuprimidos	Inmunodeficiencias primarias DLPT Asociados a SIDA	100 > 90 > 80	III
Linfoma de Hodgkin	Celularidad mixta Nodular esclerosante	60-80 20-40	II
Linfoma T	Asociado a SH Nasal a células T y NK	100 100	I / II
Carcinoma nasofaringeo	Indiferenciado (OMS tipo III) Diferenciados (OMS tipo I y II)	100 30-100	I / II
Otros carcinomas indiferenciados tipo nasofaringeo*	En: estómago, región sinonasal En: timo, amigdalas, glándulas salivales, piel, pulmón, cérvix uterino	100 variable	I / II
Carcinoma gástrico	Adenocarcinomas	5-15	I / II
Leiomiosarcomas	En pacientes inmunosuprimidos	100	III / ?

LATENCIA

Etapas

Establecimiento

C.
EBV
(B cell)

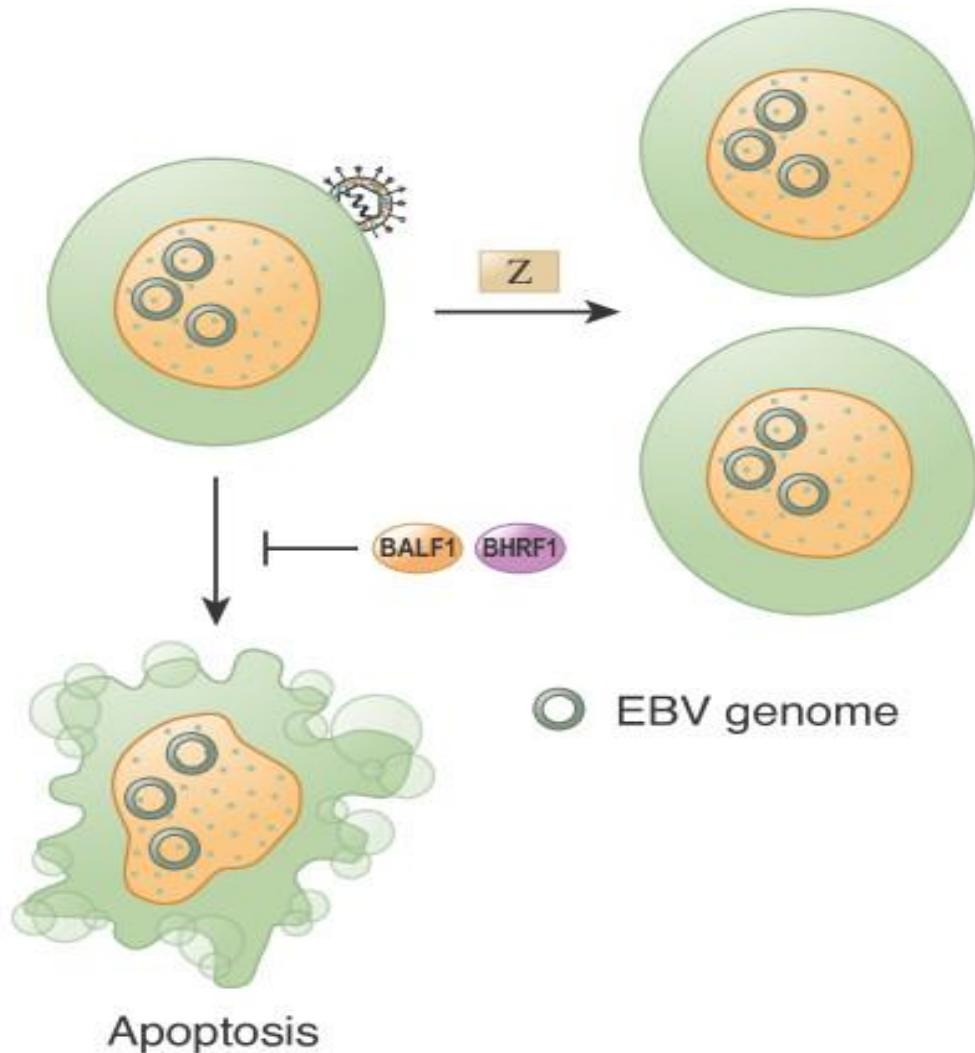
Genes inmediatos tempranos

Z – Induce proliferación

BALF1 y BHRF1 - BCL2 “like”

ZEBRA (BZLF1)

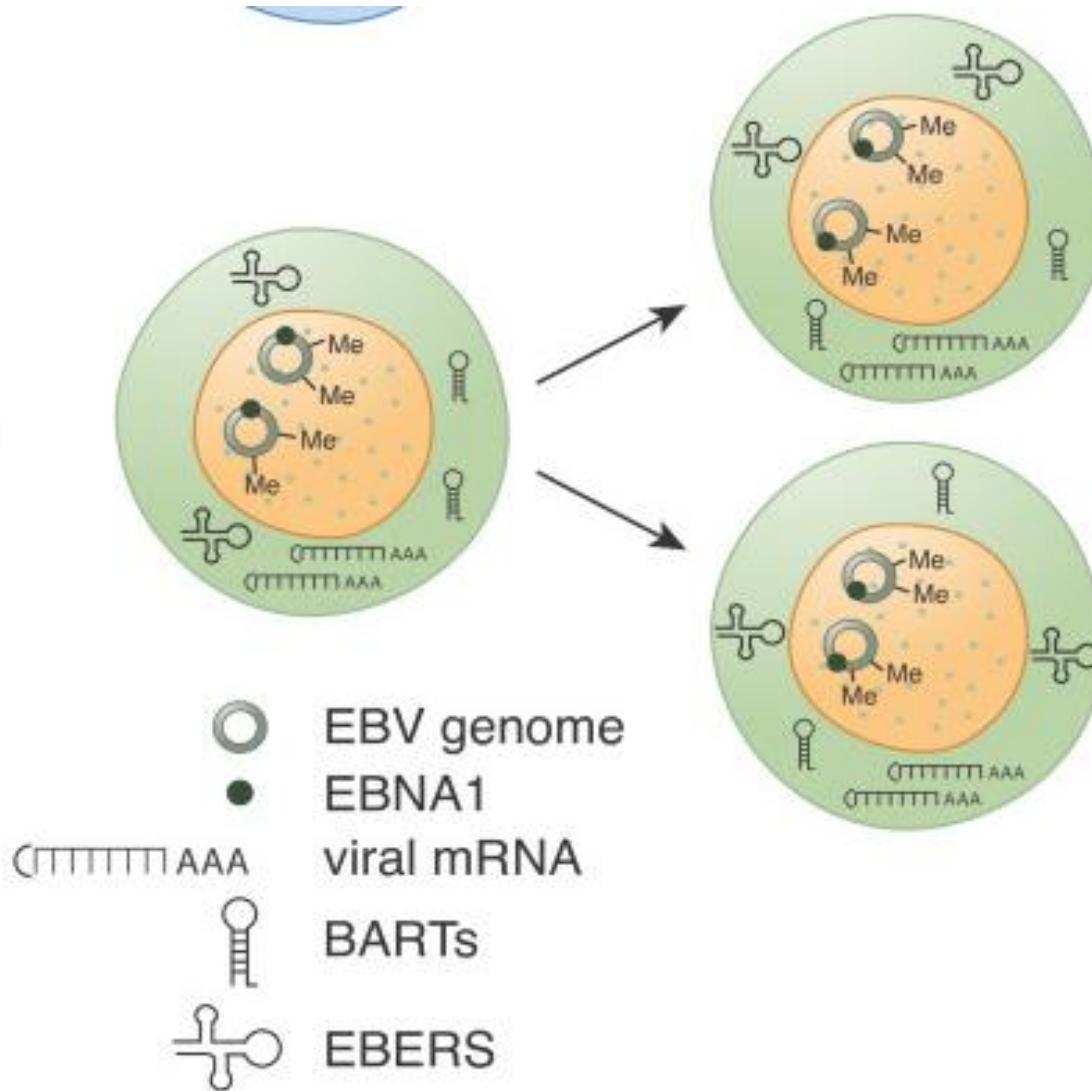
(BamHI-Z-encoded Epstein Barr virus
replication activator)



LATENCIA

Mantenimiento

C.
EBV



EBNA 1 (*Epstein-Barr Nuclear Antigen*)

Mantiene latencia en células en división/proliferación por metilación del genoma episomal.

EBERs (*Epstein-Barr Encoded RNAs*)

Inhiben PKR, interactúan con RIG-1 e inducen IL-10

BARTs (*BamHI A Rightward Transcripts*)

miARNs posible participación de la modulación inmune

LMPs

Latent Membrane Proteins

LMP-1: Símil CD40 (activación de LB).

Estimula crecimiento celular.

Estimula expresión de BCL-2.

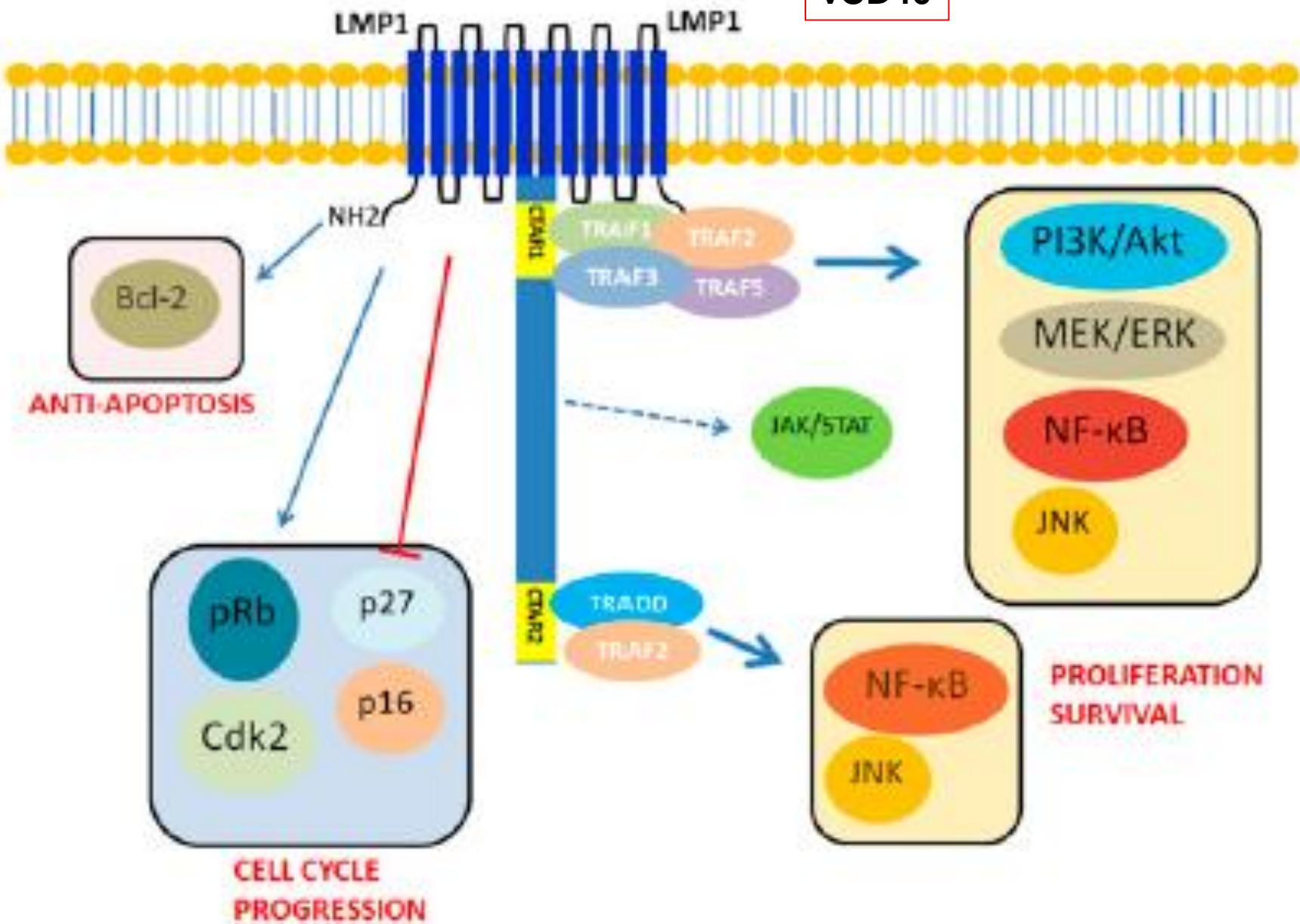
Aumenta expresión de IL-10 inhibiendo inmunidad local.

LMP-2 A y B: Estimula señales de activación.

Inhibe señales desde el BCR producidas por Ags
y reemplaza al BCR.

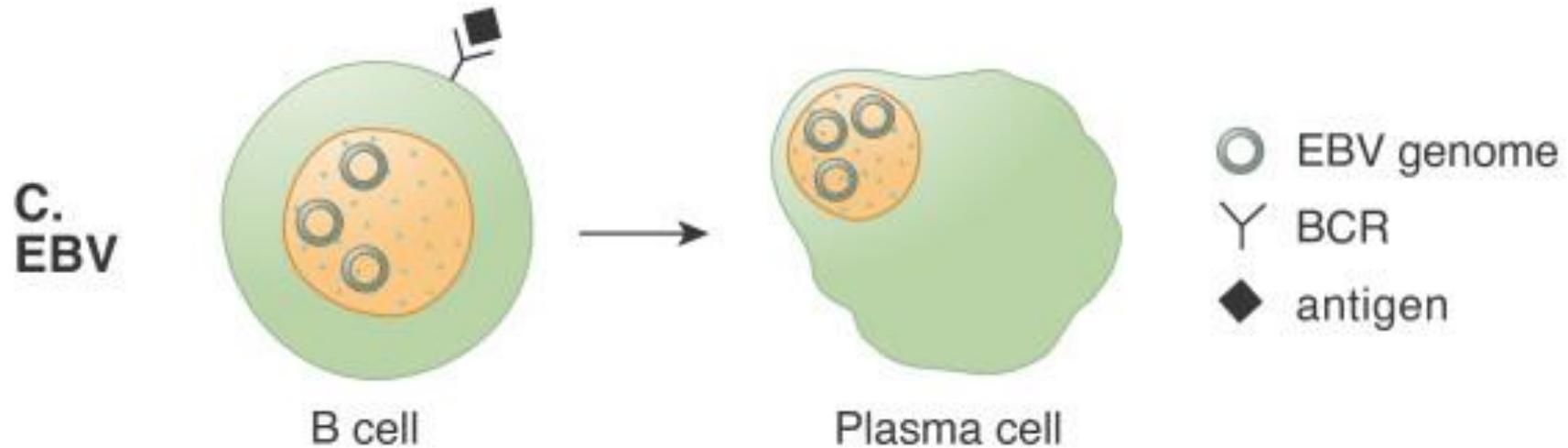
Inhibe apoptosis en LB que no expresan BCR.

vCD40

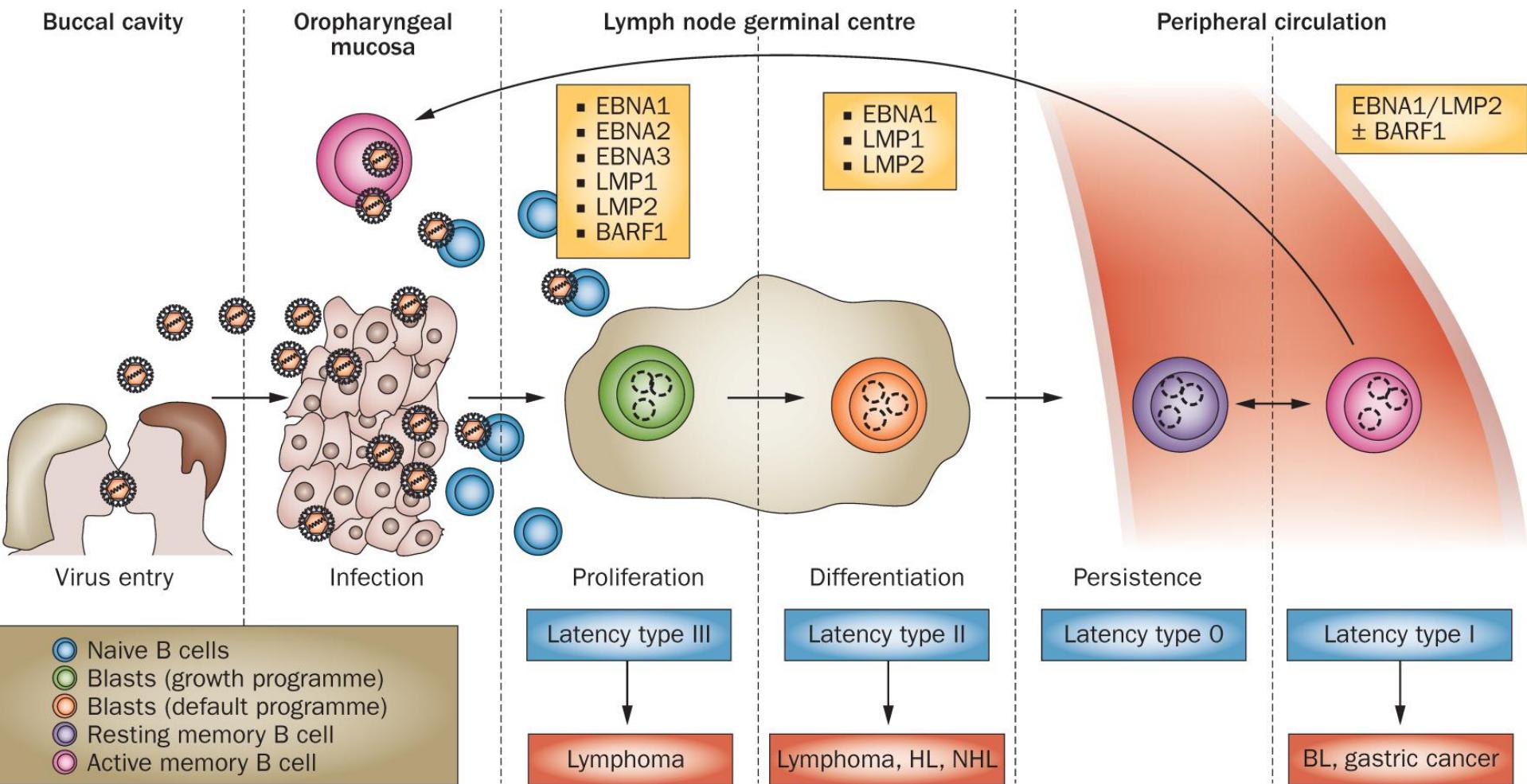


LATENCIA

Reactivación



Ciclo del EBV, latencia y linfoma (“modelo del Centro Germinal”)



El virus utiliza la biología celular normal de los linfocitos B para su persistencia

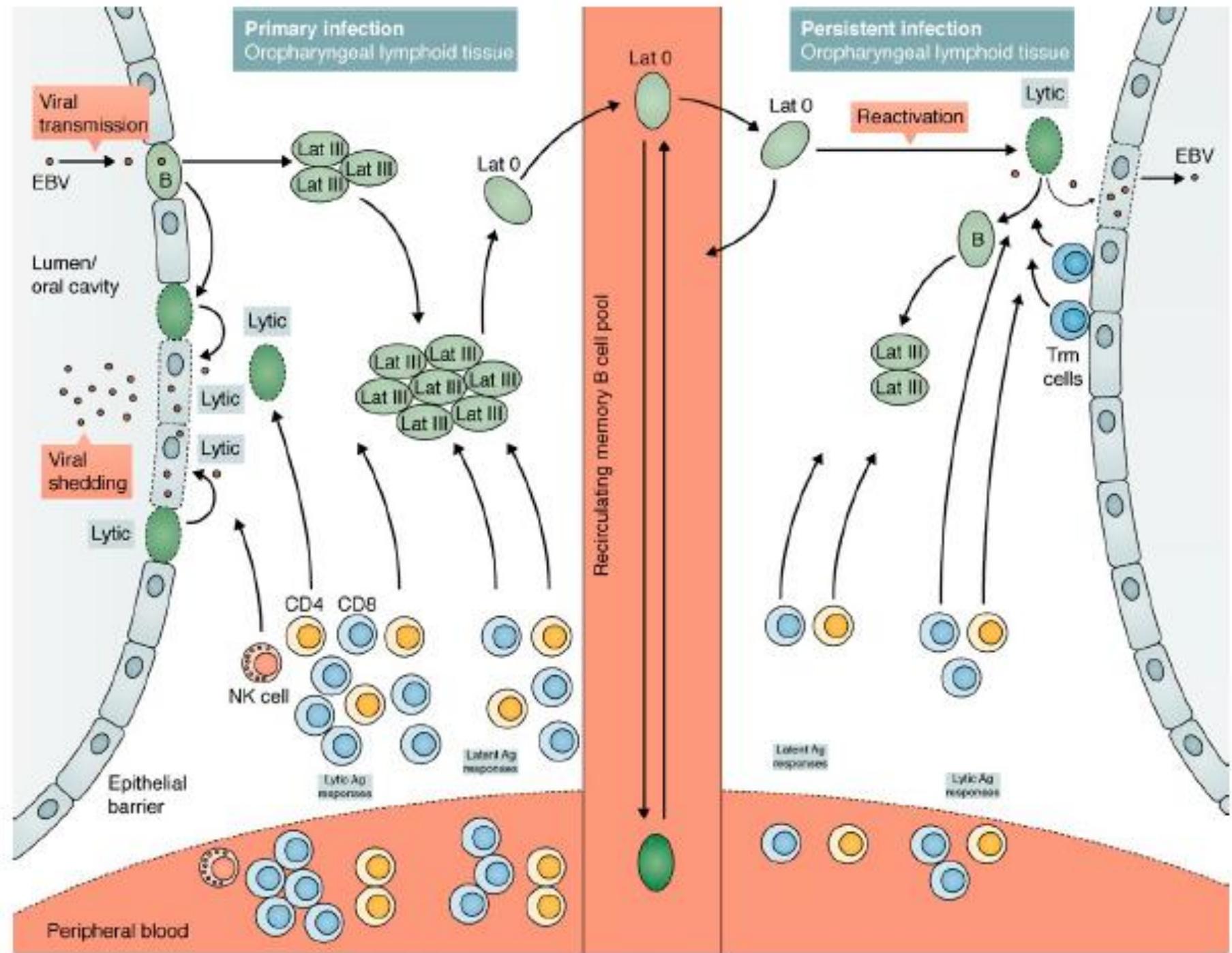
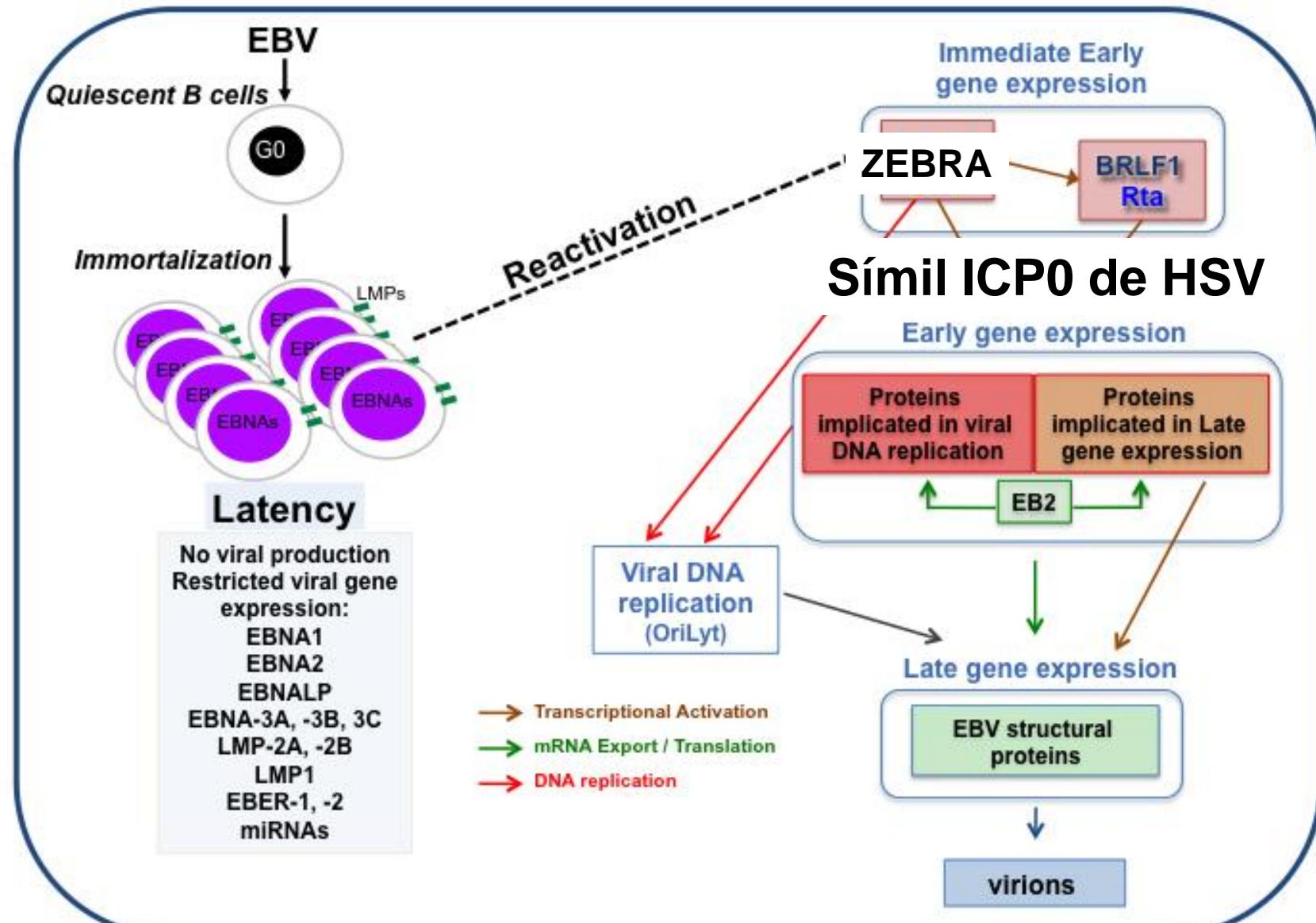


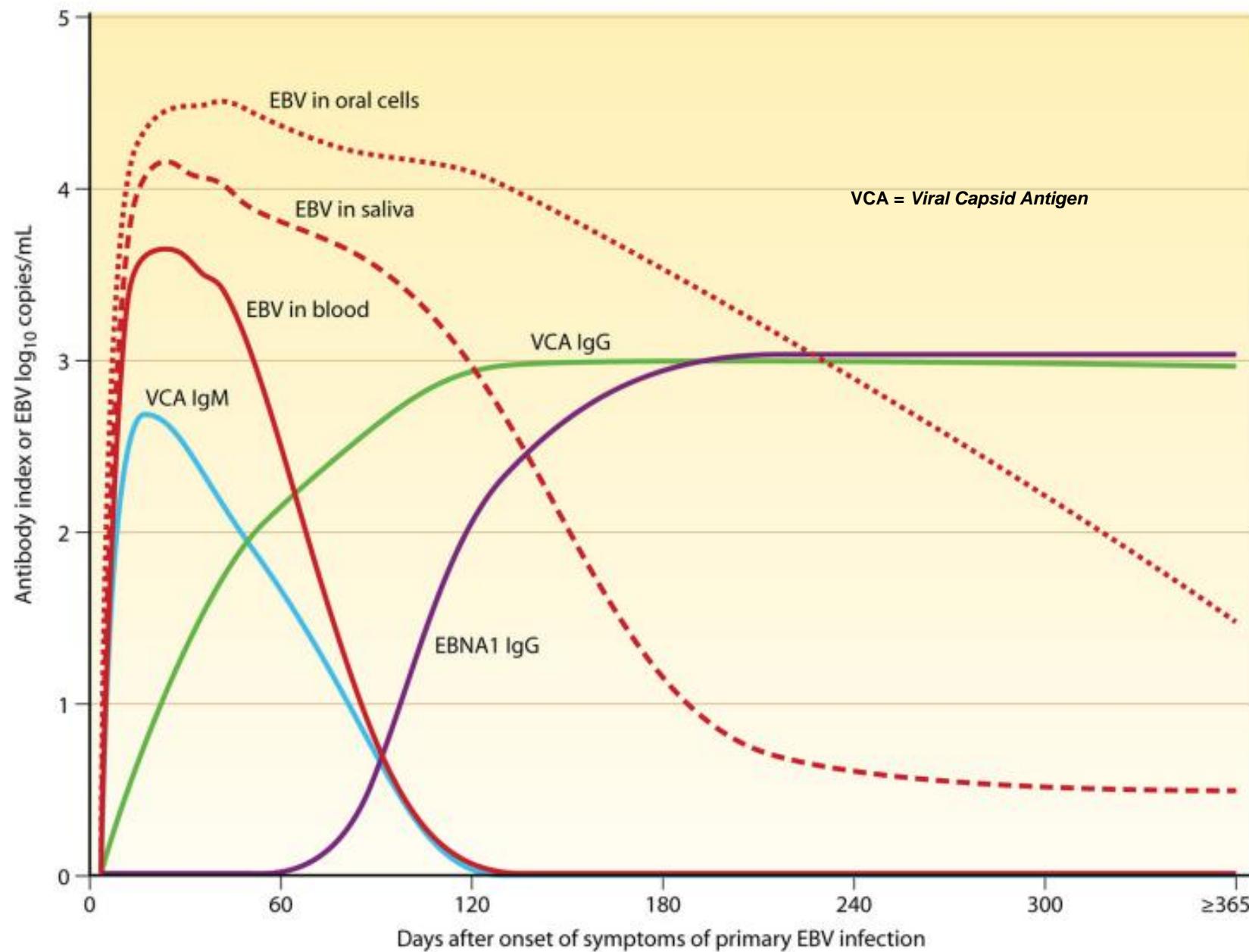
TABLE 1. EXPRESSION OF EBV LATENT GENES IN DISEASE.*

PATTERN OF LATENCY	EBNA-1	EBNA-2	EBNA-3	LMP-1	LMP-2	EBER	DISEASE
Type 1	+	—	—	—	—	+	Burkitt's lymphoma
Type 2	+	—	—	+	+	+	Nasopharyngeal carcinoma, Hodgkin's disease, peripheral T-cell lymphoma
Type 3	+	+	+	+	+	+	Lymphoproliferative disease, X-linked lymphoproliferative disease, infectious mononucleosis
Other	±	—	—	—	+	+	Healthy carrier

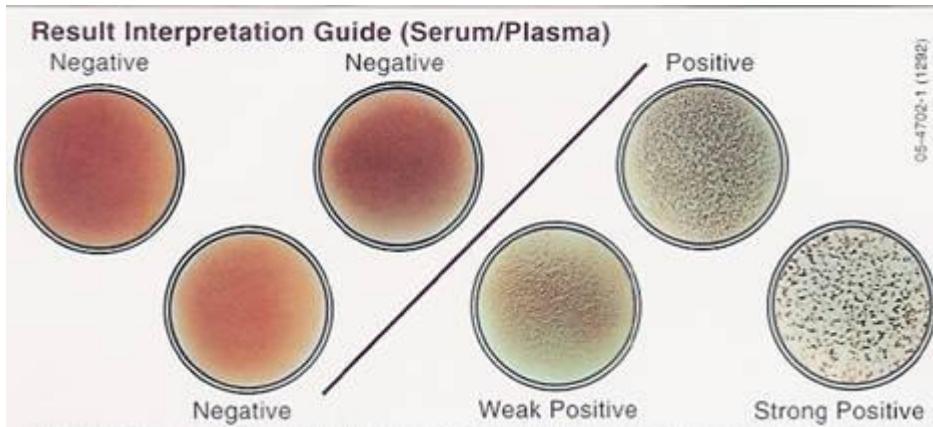
*EBV denotes Epstein-Barr virus, EBNA Epstein-Barr virus nuclear antigen, LMP latent membrane protein, and EBER Epstein-Barr virus-encoded RNA. A plus sign indicates that the gene is expressed in the disease, a minus sign that it is not expressed, and the two together that the gene may or may not be expressed.

EBV life cycle

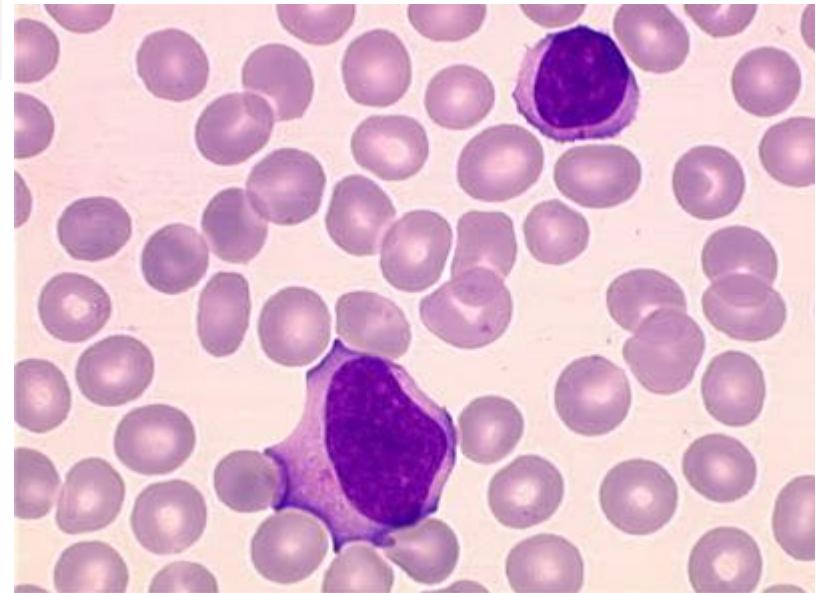




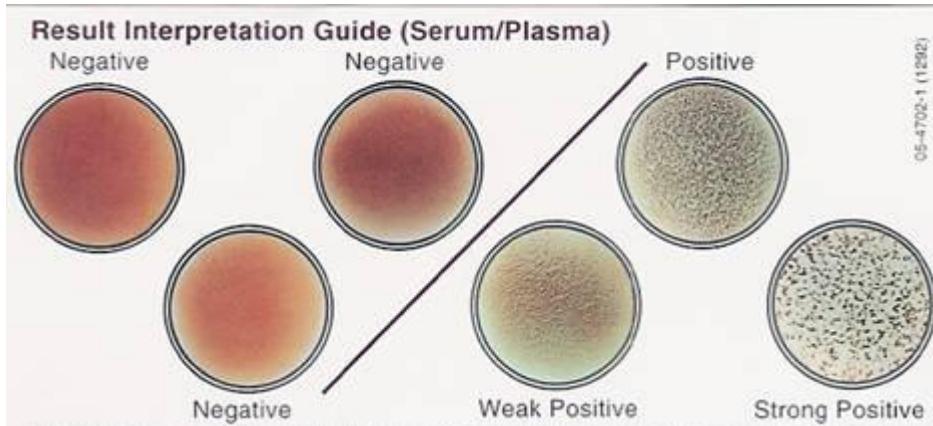
Anticuerpos heterófilos



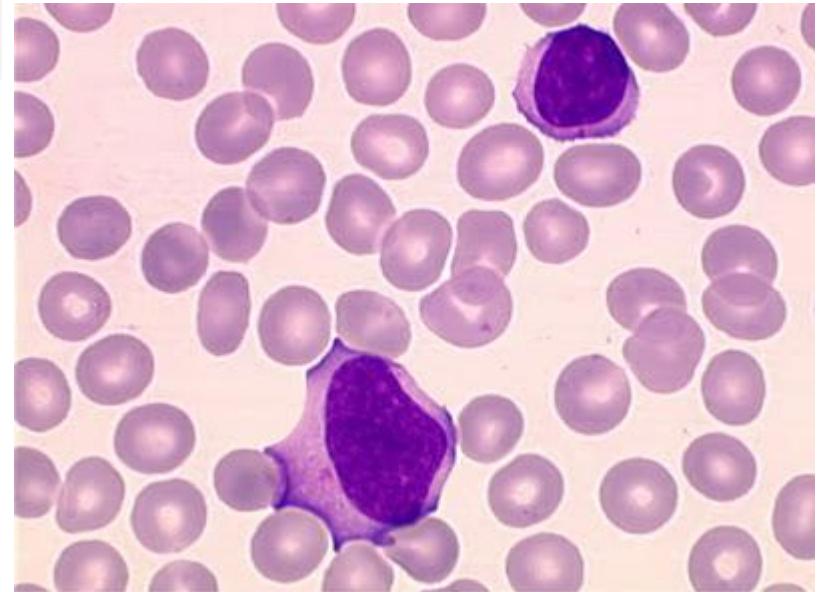
Prueba de Paul-Bunnell, o Monotest



Anticuerpos heterófilos

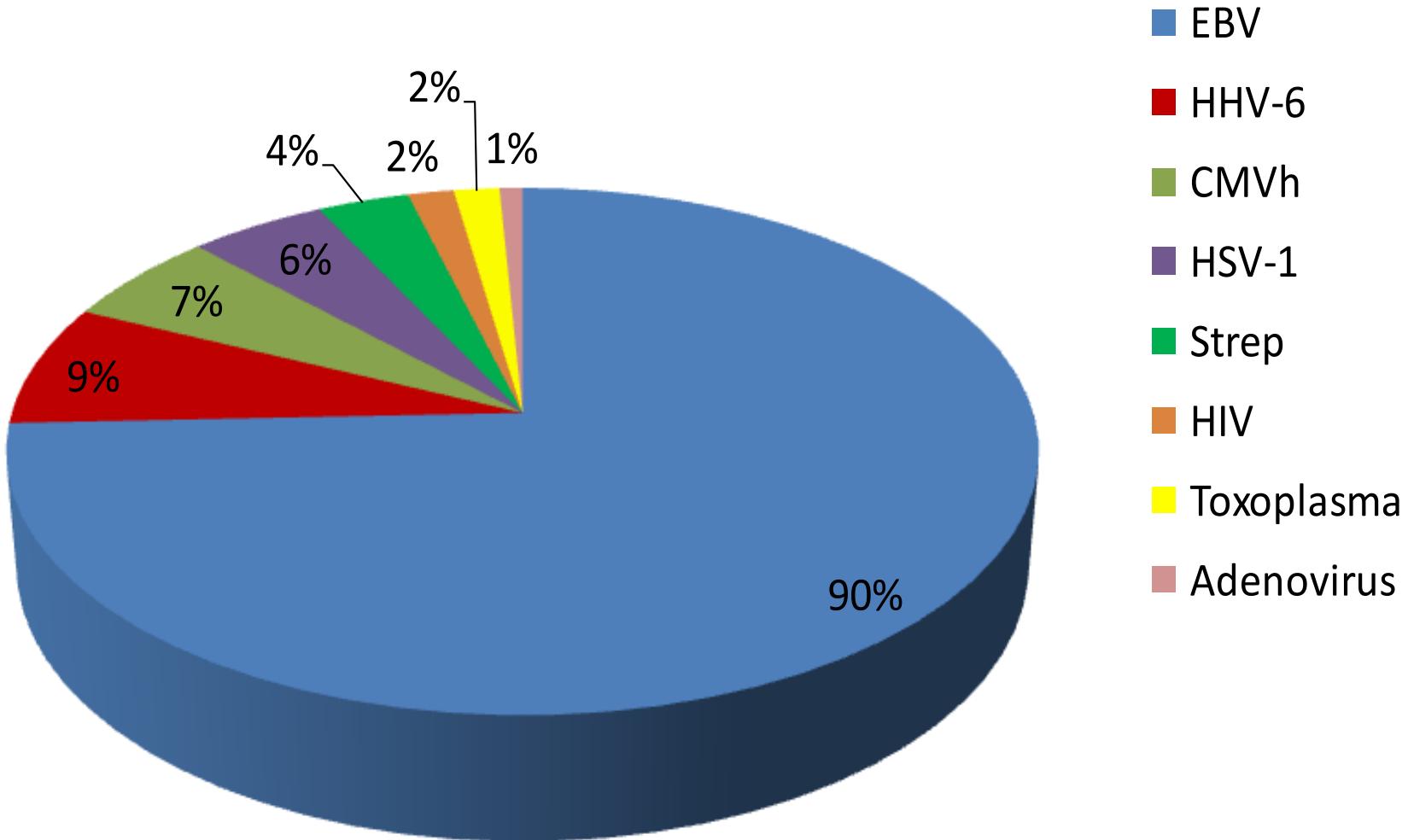


Prueba de Paul-Bunnell, o Monotest



Linfocitos T CD8+ activados

% de casos con síndrome mononucleosiforme en las infecciones por...



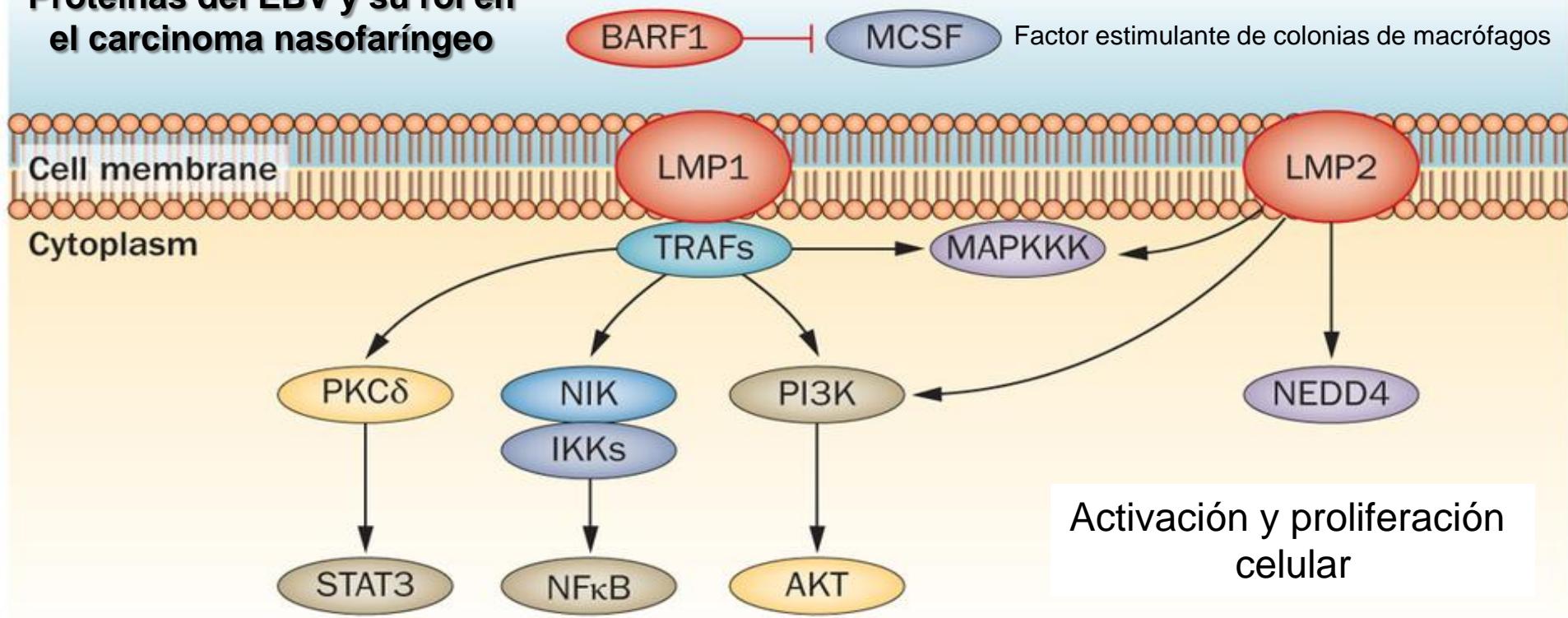
Enfermedad en la que EBV es el agente etiológico	Enfermedad en la que EBV está significativamente asociado	Enfermedad en la que la asociación con EBV es controversial o ha sido desacreditada
Mononucleosis infecciosa	Linfoma de Burkitt	Fatiga crónica
Enfermedad linfoproliferativa ligada a X	Linfoma de Hodgkin	Tumor mamario
	Carcinoma nasofaríngeo	Lupus eritematoso sistémico
	Linfoma nasal de células NKT	Artritis reumatoidea
	Linfoma de células B en pacientes inmunosuprimidos	Esclerosis múltiple
	Leiomiosarcoma en pacientes inmunosuprimidos	

TABLE 1. EXPRESSION OF EBV LATENT GENES IN DISEASE.*

PATTERN OF LATENCY	EBNA-1	EBNA-2	EBNA-3	LMP-1	LMP-2	EBER	DISEASE
Type 1	+	—	—	—	—	+	Burkitt's lymphoma
Type 2	+	—	—	+	+	+	Nasopharyngeal carcinoma, Hodgkin's disease, peripheral T-cell lymphoma
Type 3	+	+	+	+	+	+	Lymphoproliferative disease, X-linked lymphoproliferative disease, infectious mononucleosis
Other	±	—	—	—	+	+	Healthy carrier

*EBV denotes Epstein-Barr virus, EBNA Epstein-Barr virus nuclear antigen, LMP latent membrane protein, and EBER Epstein-Barr virus-encoded RNA. A plus sign indicates that the gene is expressed in the disease, a minus sign that it is not expressed, and the two together that the gene may or may not be expressed.

Proteínas del EBV y su rol en el carcinoma nasofaríngeo



Nucleus

Pérdida de la heterocigocidad

LOH 9p (*CDKN2*) and 3p (*RASSF1*) prior to EBV infection

Host DNA

EBER RNAs → PKR
Increased protein synthesis

USP7 (yellow oval) inhibits p53 (blue oval). EBNA1 (red oval) maintains the viral episome. EBNA1 inhibits the lytic cycle and promotes apoptosis.

BART microRNAs
Inhibition of apoptosis

Inhibition of lytic cycle

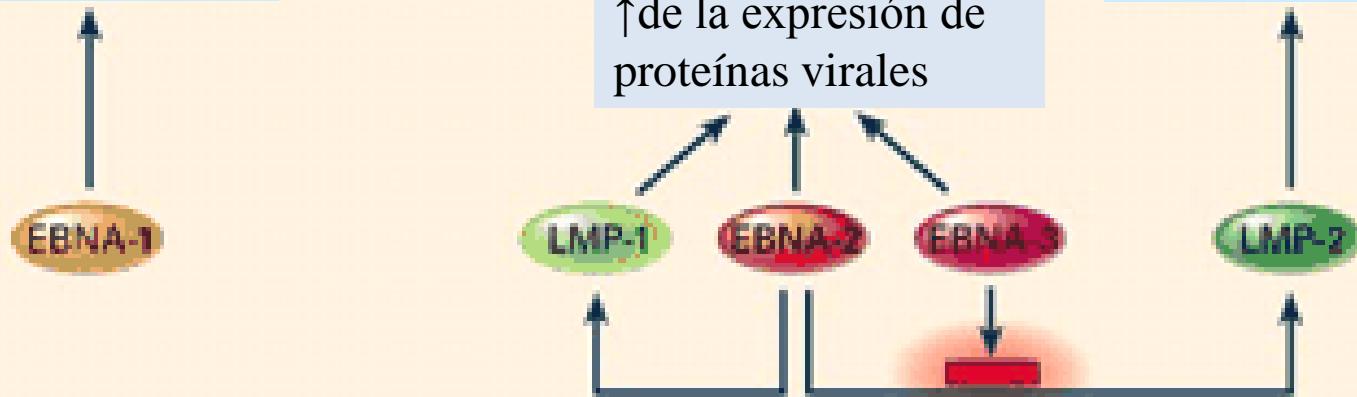
Viral DNA

A

Mantenimiento del DNA viral como episoma

Proliferación B

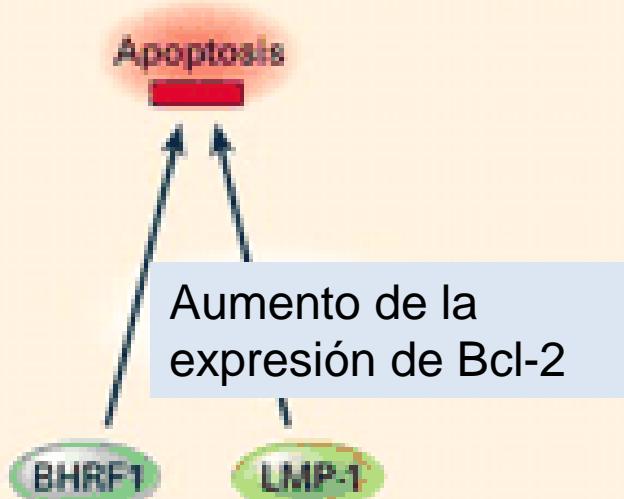
Prevención de la reactivación de la latencia

**B**

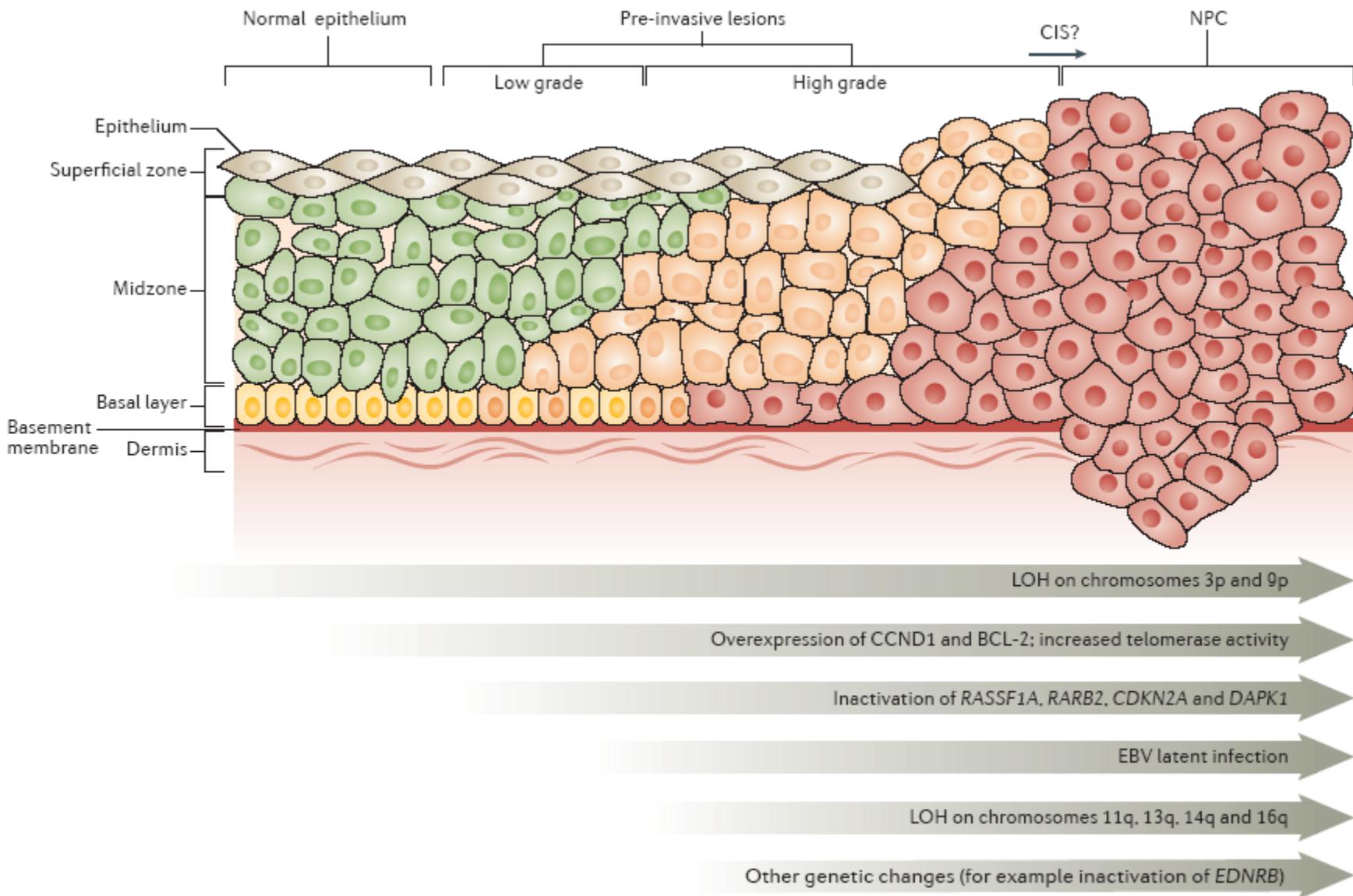
Apoptosis

Inhibición del crecimiento de células transformadas

Interferón

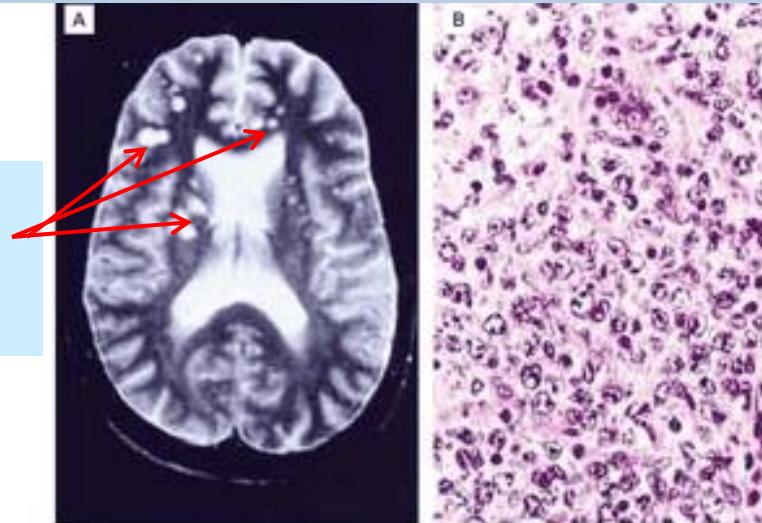


Carcinoma Nasofaríngeo a partir de una expansión monoclonal de células infectadas por EBV



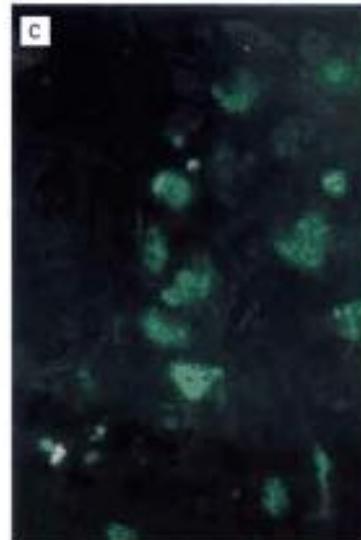
Enfermedad linfoproliferativa en una paciente infectada con EBV

Múltiples
nódulos en
cerebro

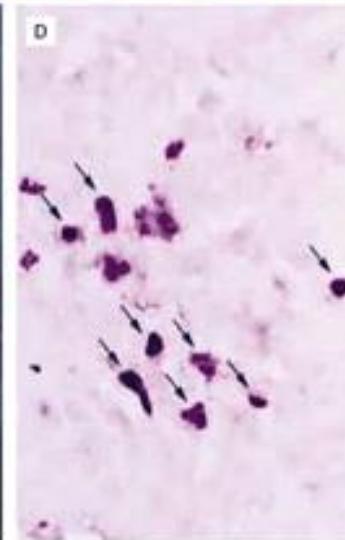


Linfoma inmunoblástico
en tejido perirrenal

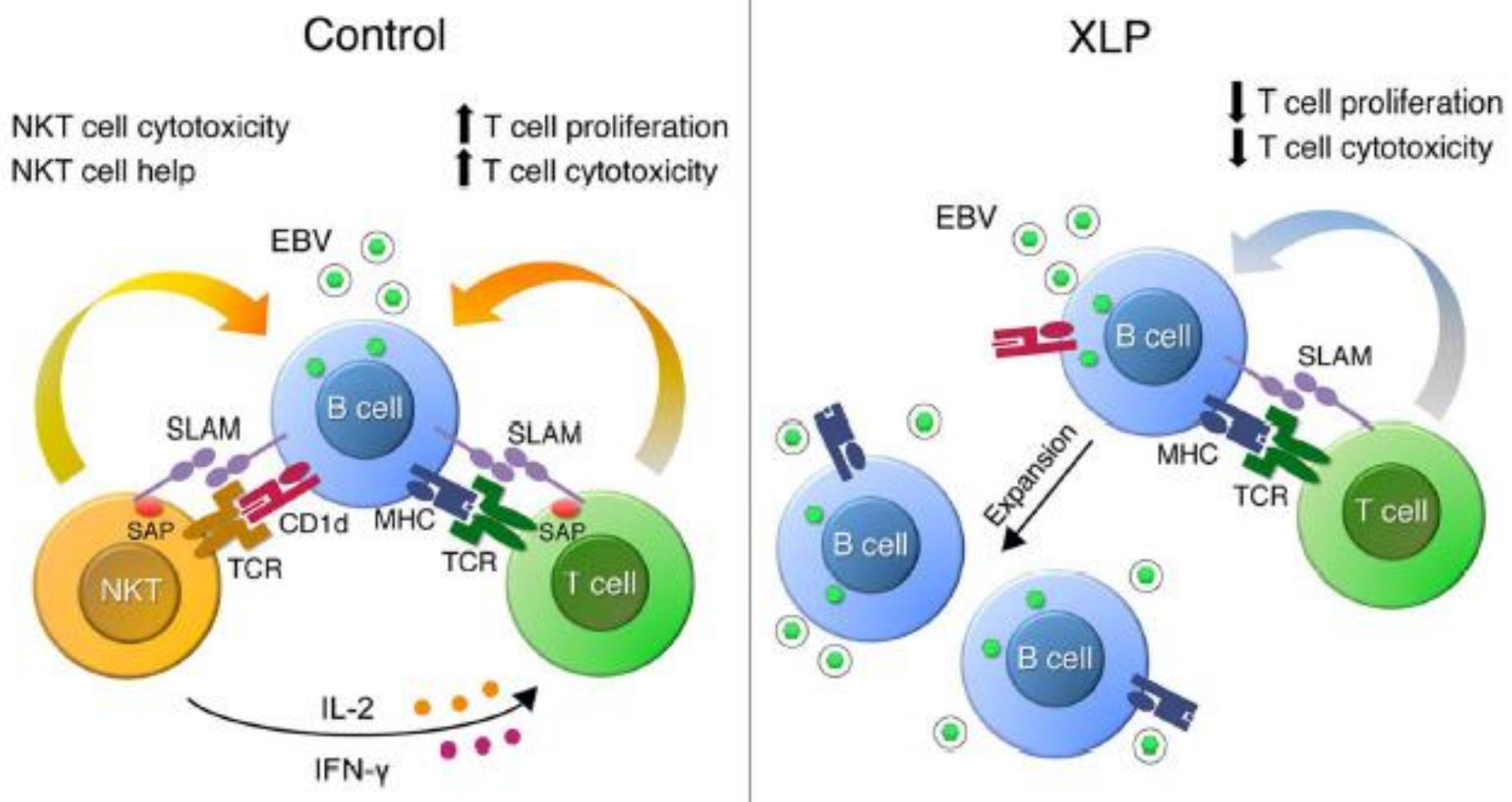
Detección de Ag
EBNA-2
(IF)



Detección de
EBER
(*Epstein Barr
encoded RNA*)



Síndrome infoproliferativo ligado al cromosoma X (síndrome de Duncan)

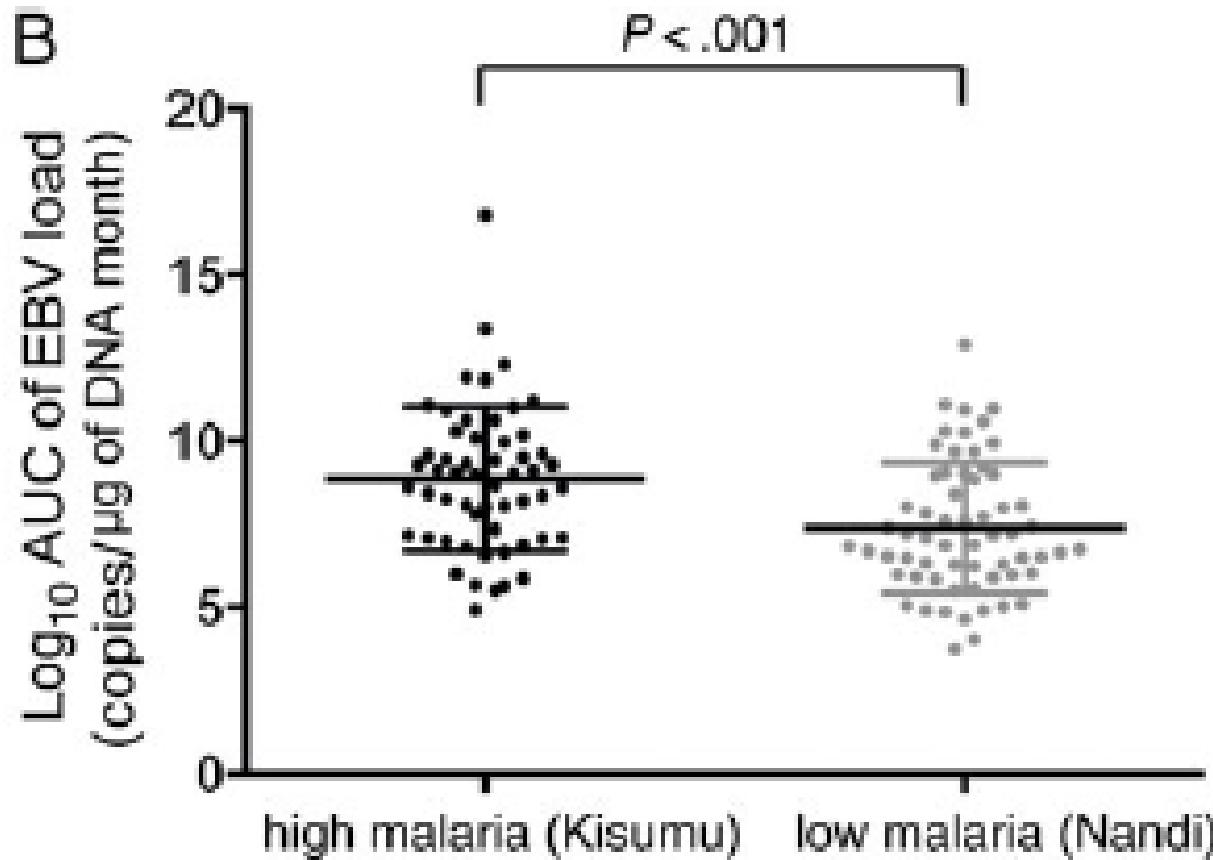


Linfoma de Burkitt endémico...



... una asociación entre *Plasmodium falciparum* y EBV ?

(¿Burkitt tenía razón?)

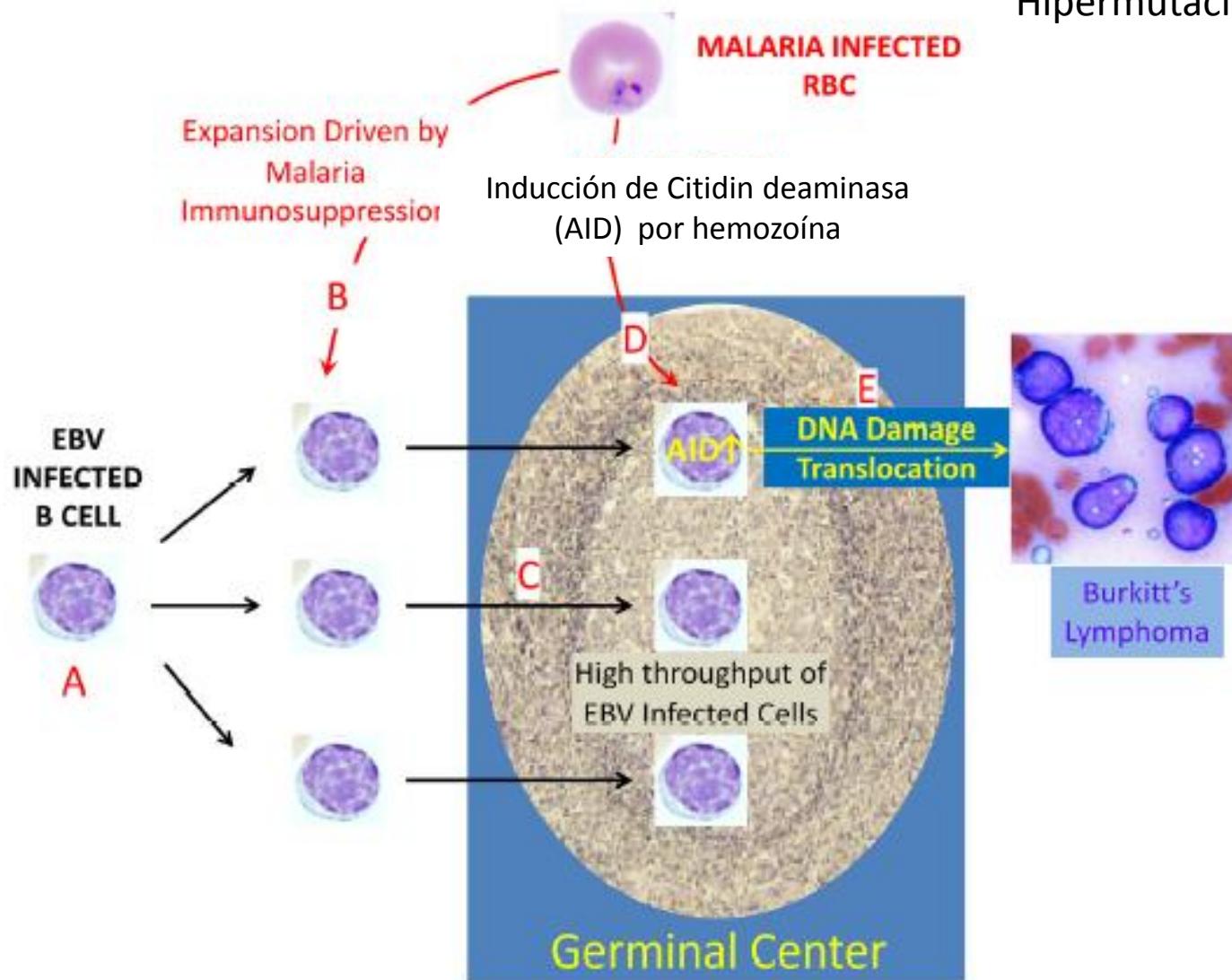


AID - Ctidin deaminasa

Switch isotípico.

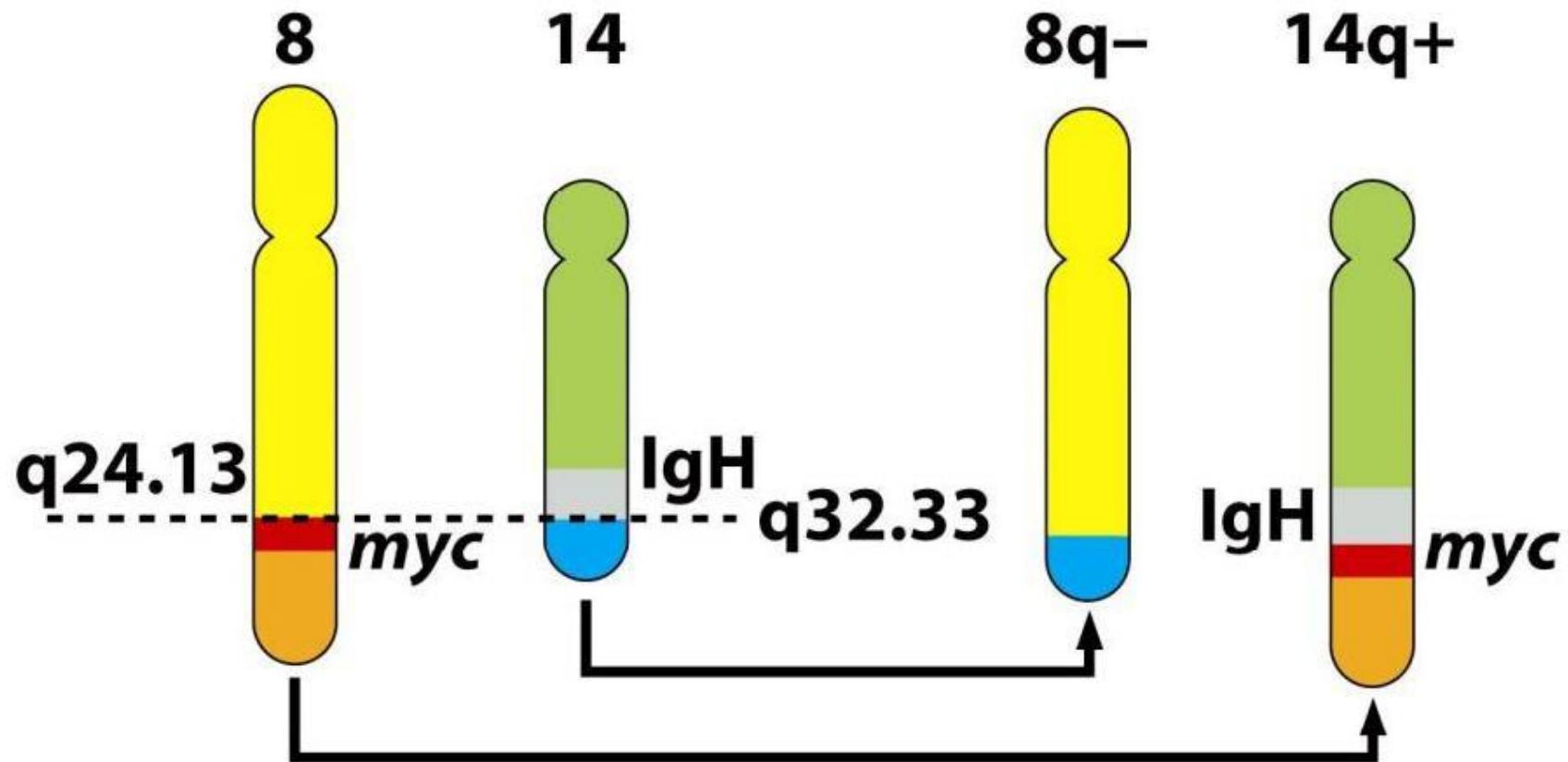
Hipermutación somática

Malaria crónica



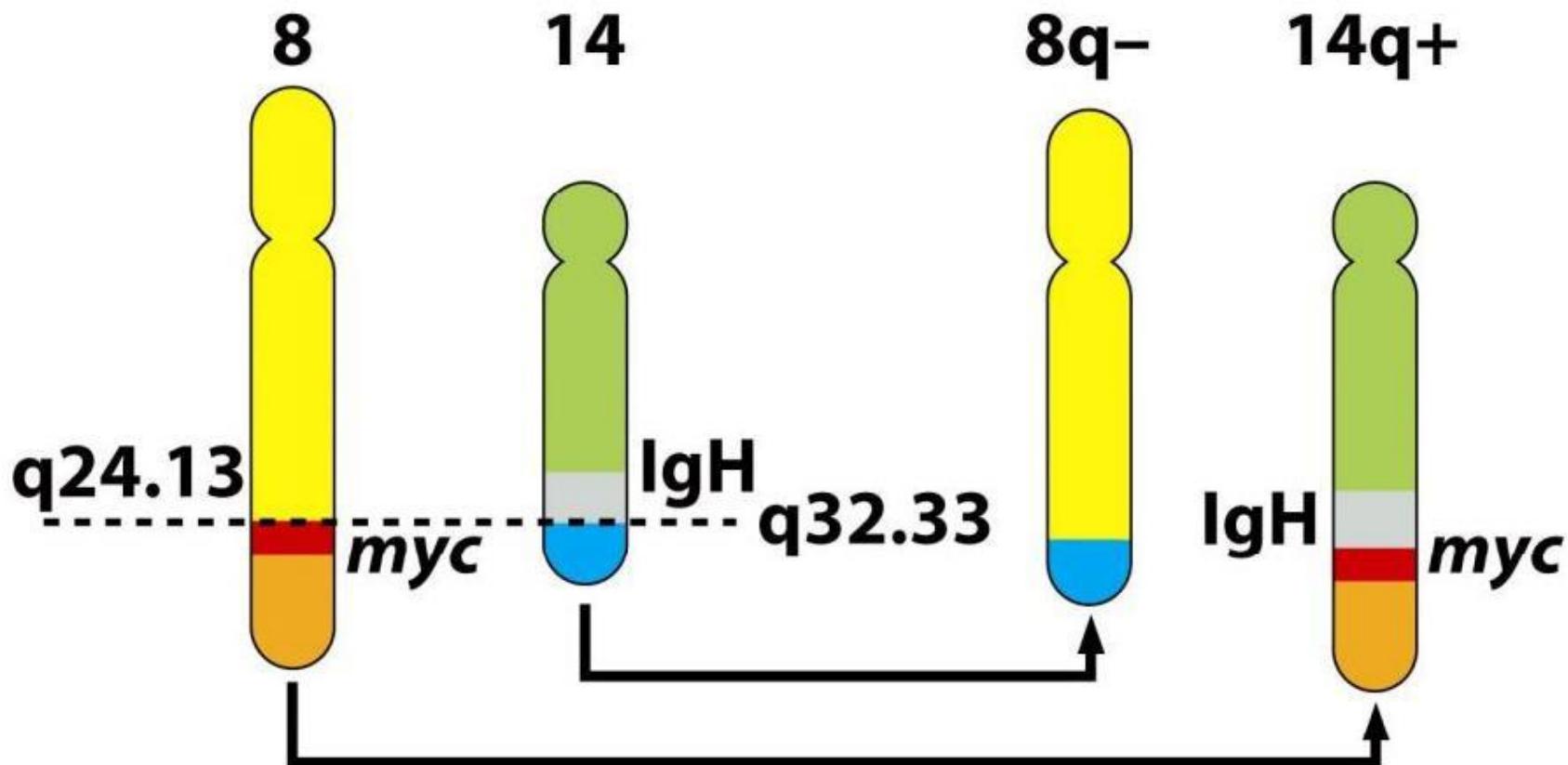
Translocación mediada por AID

normal
chromosomes

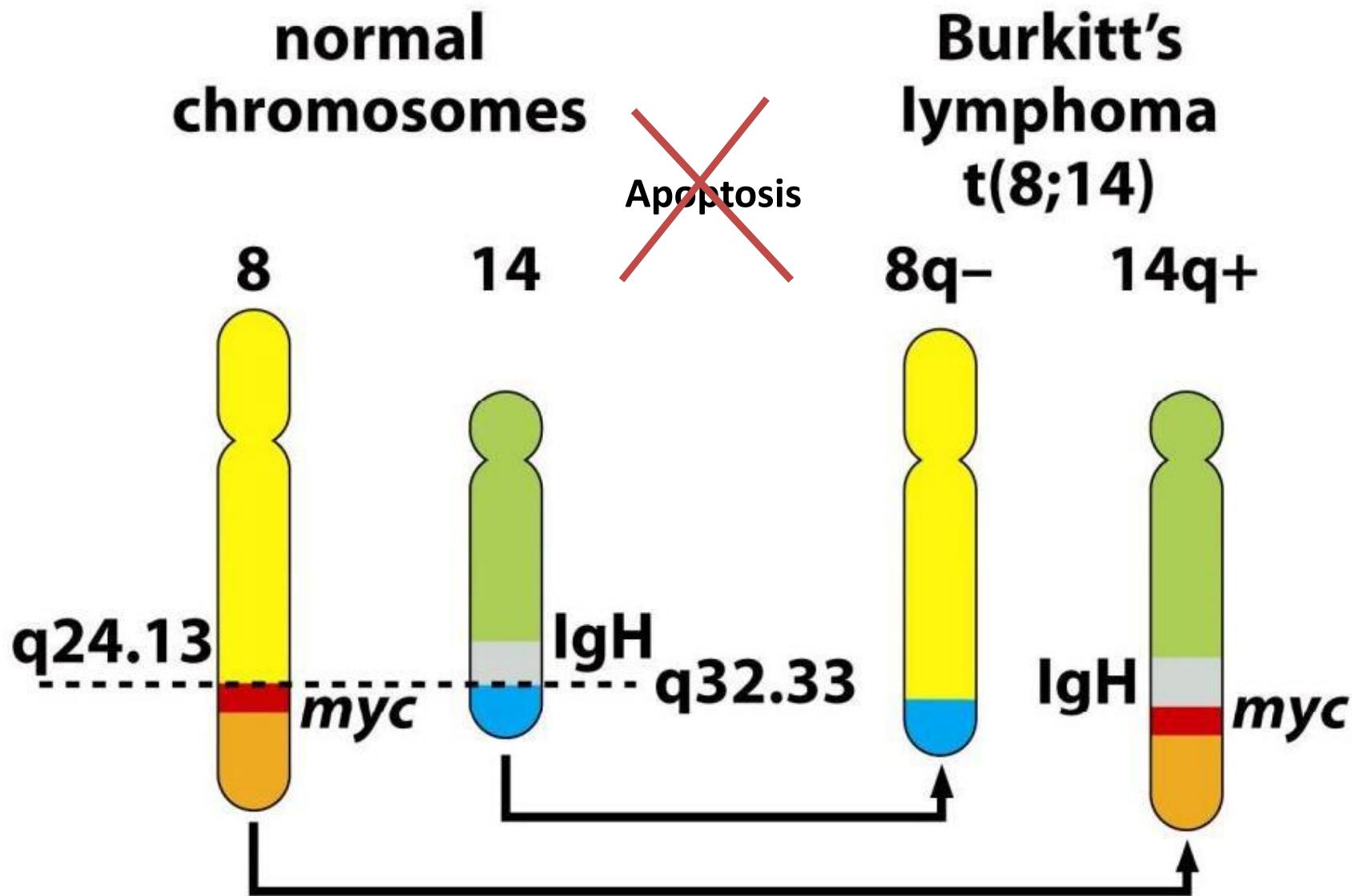


Translocación mediada por AID

Apoptosis!!!!



Translocación mediada por AID



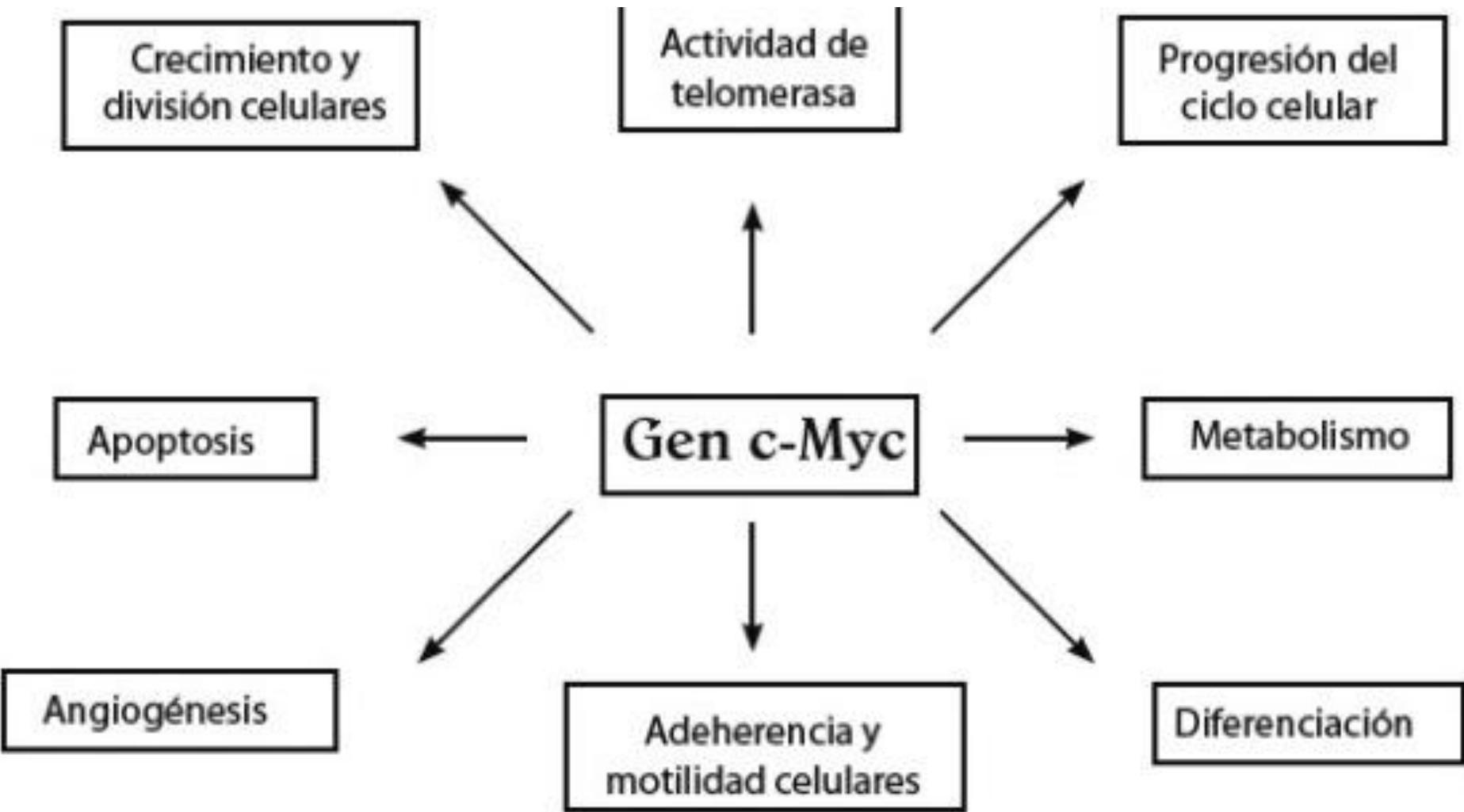


Figura 1. Diagrama que representa las diversas funciones celulares en las que participa el gen c-Myc

Virus herpes humano 8

HHV 8 - 1994

Familia: *Herpesviridae*

Subfamilia: *Gammaherpesvirinae*

Género: *Rhadinovirus*

Sarcoma de Kaposi



Moritz Kaposi
1837 -1902

Sarcoma de Kaposi

Lesiones en la piel, ganglios linfáticos, mucosas oral y nasofaríngea, y otros tejidos que presentan un color púrpura y están compuestas de células transformadas, endotelios vasculares y células sanguíneas

Formas de presentación

- **Clásica.** Fue la primera en ser descripta. Afecta sobre todo a hombres (de 5 a 15 veces más que a las mujeres) de más de 60 años. Se conoce de las regiones orientales del Mediterráneo, sobre todo las penínsulas Itálica y Balcánica y las islas griegas.
- **Endémica.** En África Central y Oriental. Afecta a los hombres de 10 a 15 veces más a menudo que a las mujeres.
- **Postrasplante.** Empezó a observarse en los años 1970 en pacientes de trasplante, sobre todo de riñón, sometidos a tratamientos inmunosupresores, como los que se siguen para evitar el rechazo.
- **Asociada al HIV.** Fue precisamente la concurrencia, en un breve período de tiempo, de un número inusitado de casos entre varones homosexuales de California, la que alertó de la emergencia del SIDA a principios de los años 80.

The New York Times

By LAWRENCE K. ALTMAN
PUBLISHED: JULY 3, 1981

RARE CANCER SEEN IN 41 HOMOSEXUALS

Outbreak Occurs Among Men
in New York and California
—8 Died Inside 2 Years

By LAWRENCE K. ALTMAN.

Doctors in New York and California have diagnosed among homosexual men 41 cases of a rare and often rapidly fatal form of cancer. Eight of the victims died less than 24 months after the diagnosis was made.

The cause of the outbreak is unknown, and there is as yet no evidence of contagion. But the doctors who have made the

NEW HOMOSEXUAL DISORDER WORRIES HEALTH OFFICIALS

By LAWRENCE K. ALTMAN

Published: May 11, 1982

A SERIOUS disorder of the immune system that has been known to doctors for less than a year - a disorder that appears to affect primarily male homosexuals - has now afflicted at least 335 people, of whom it has killed 136, officials of the Centers for Disease Control in Atlanta said yesterday. Federal health officials are concerned that tens of thousands more homosexual men may be silently affected and therefore vulnerable to potentially grave ailments.

Moreover, this immune-system breakdown, which has been implicated in a rare type of cancer, called Kaposi's sarcoma, and seems to invite in its wake a wide variety of serious infections and other disorders, has developed among some heterosexual women and bisexual and heterosexual men.

At a recent Congressional hearing, Dr. Bruce A. Chabner of the National Cancer Institute said that the growing problem was now "of concern to all Americans."

 FACEBOOK

 TWITTER

 GOOGLE+

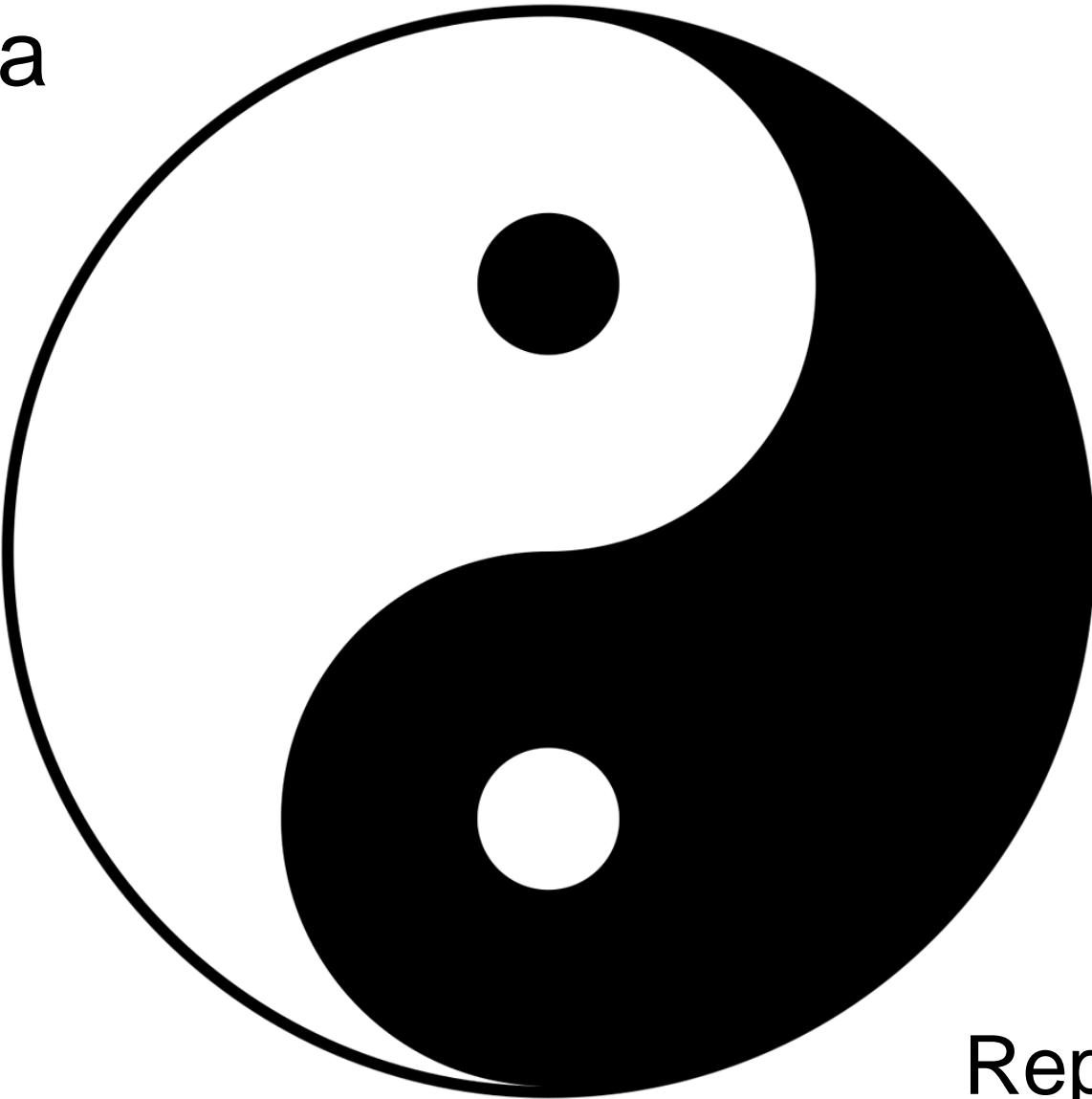
 E-MAIL

 SHARE

 PRINT

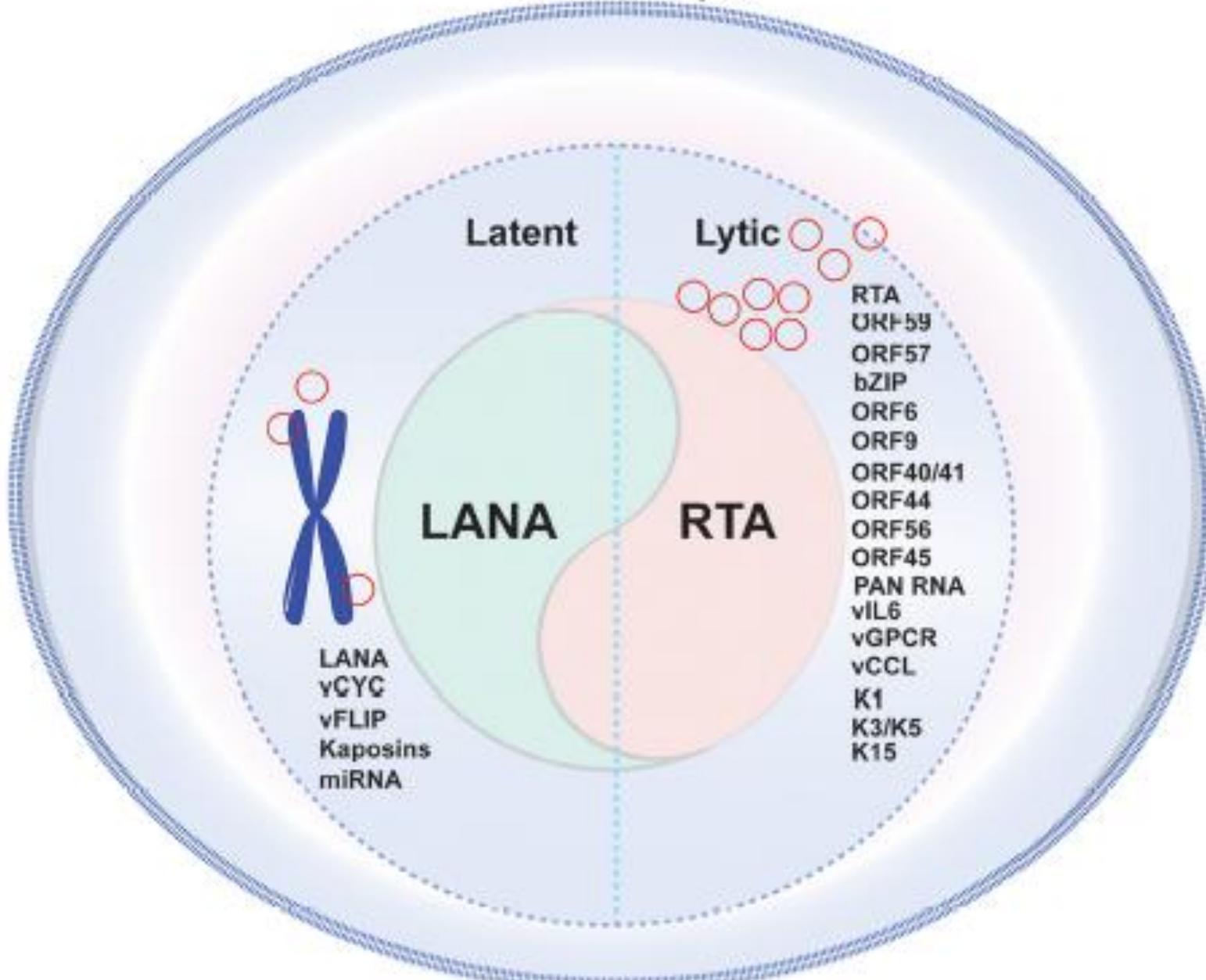
 REPRINTS

Latencia



Replicación

KSHV life cycle



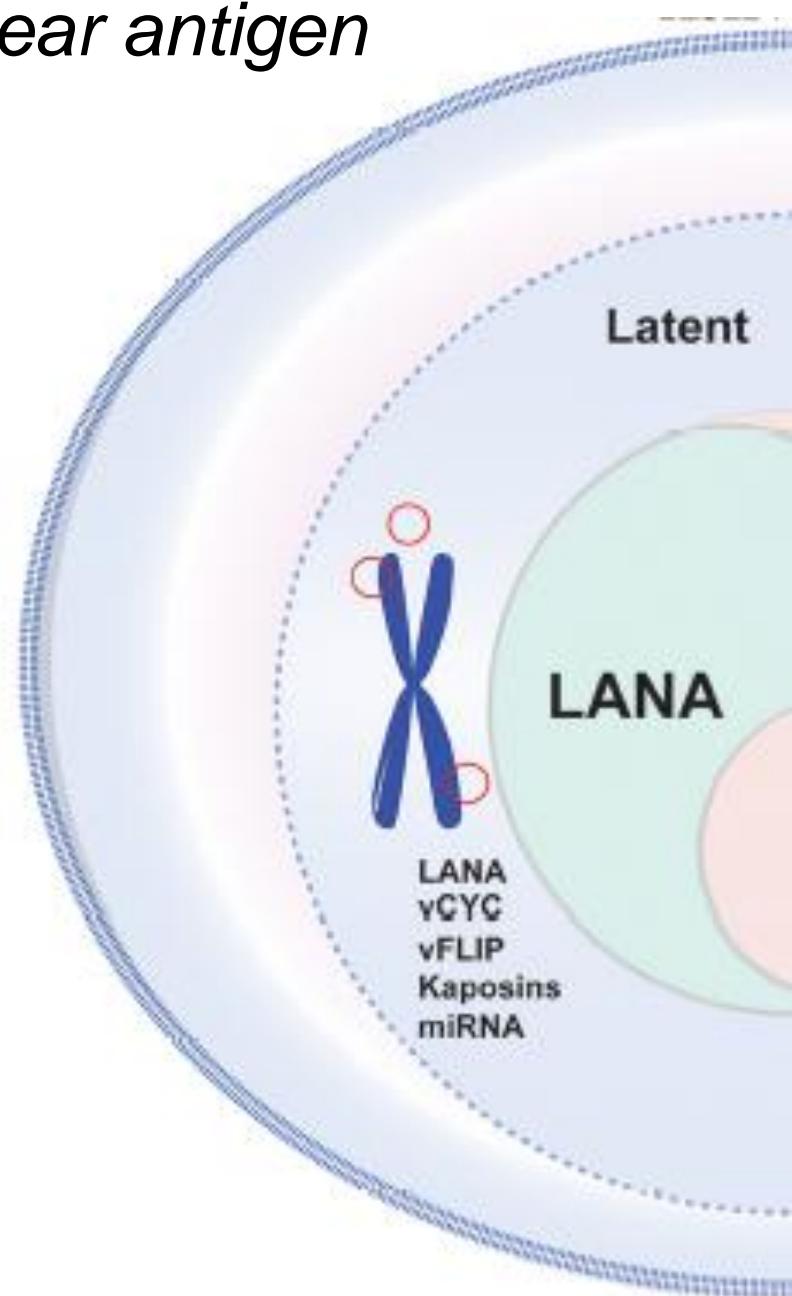
LANA: Latency-associated nuclear antigen

vCYC: *Viral cyclin*

vFLIP: *Viral Fas associated protein*

K12/Kaposins

miRNAs



LANA:

- Facilita la replicación episomal del genoma viral durante la mitosis.
- Interfiere con la replicación viral suprimiendo varias vías de señalización celular.

vCYC: Homólogo a ciclina D

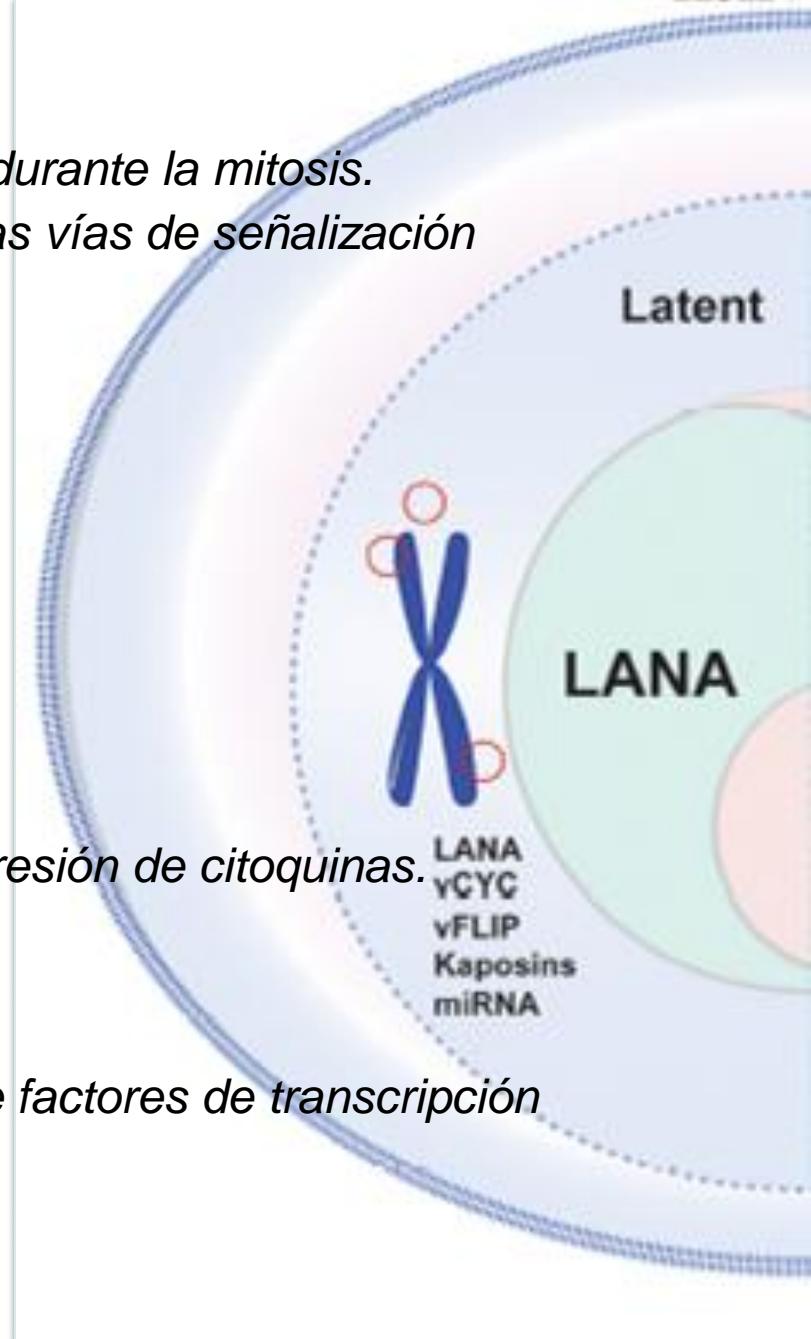
-Promueve la proliferación celular.

vFLIP: Viral Fast associated inhibitor-protein

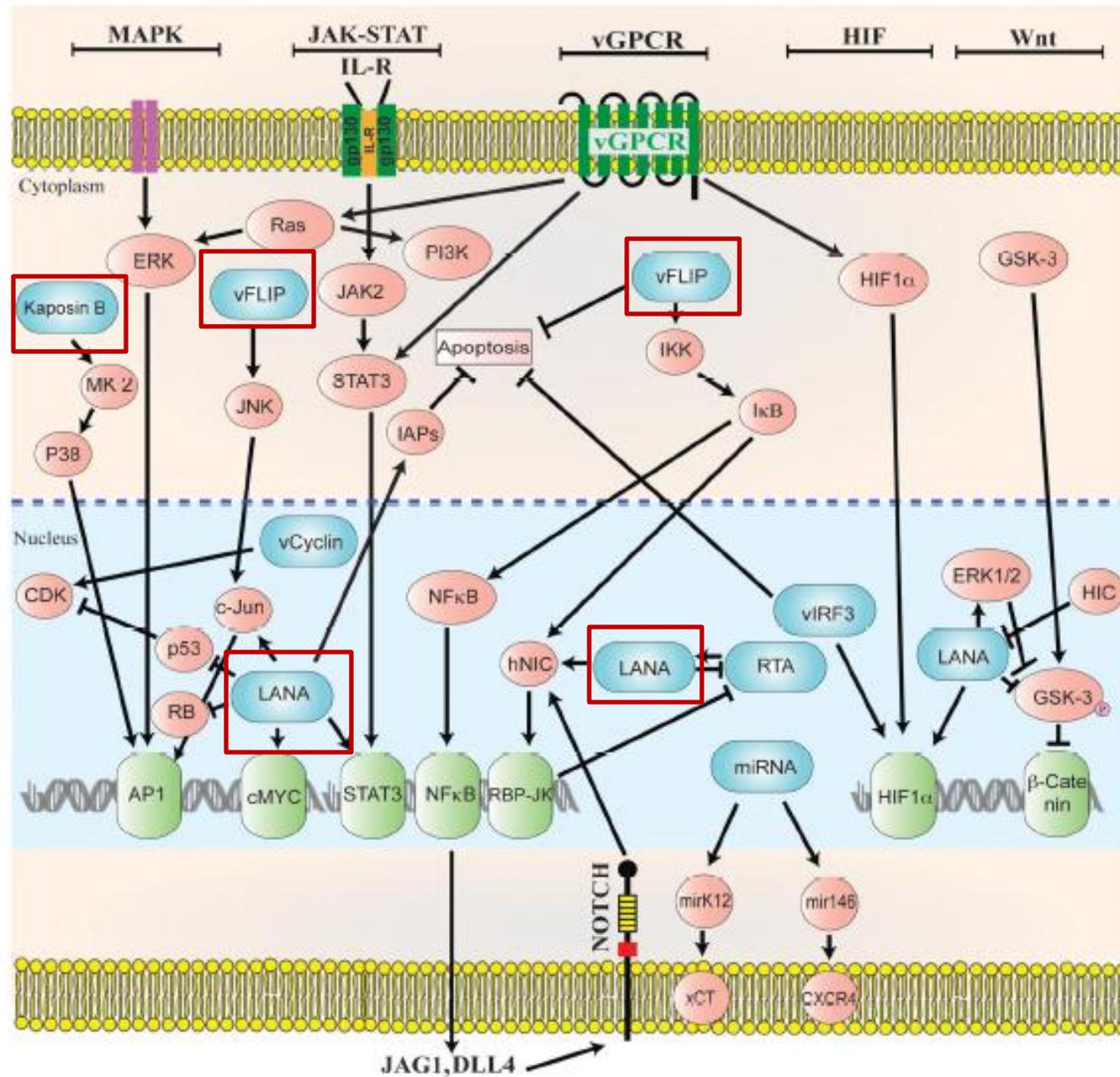
-Regulador de la apoptosis

K12/Kaposinas: Promueven incremento de la expresión de citoquinas.

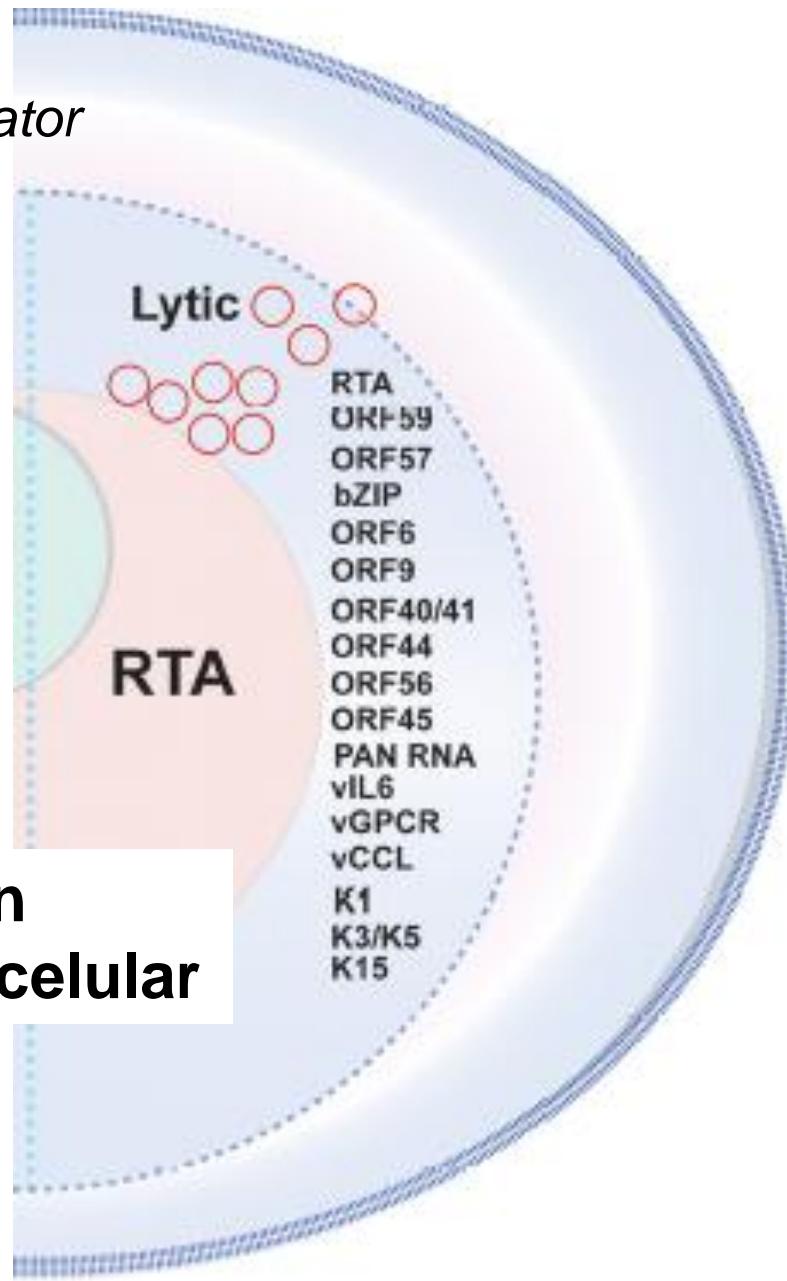
miRNAs: 18 miRNAs que reprimen la expresión de factores de transcripción celular y viral.



Mantenimiento de la latencia



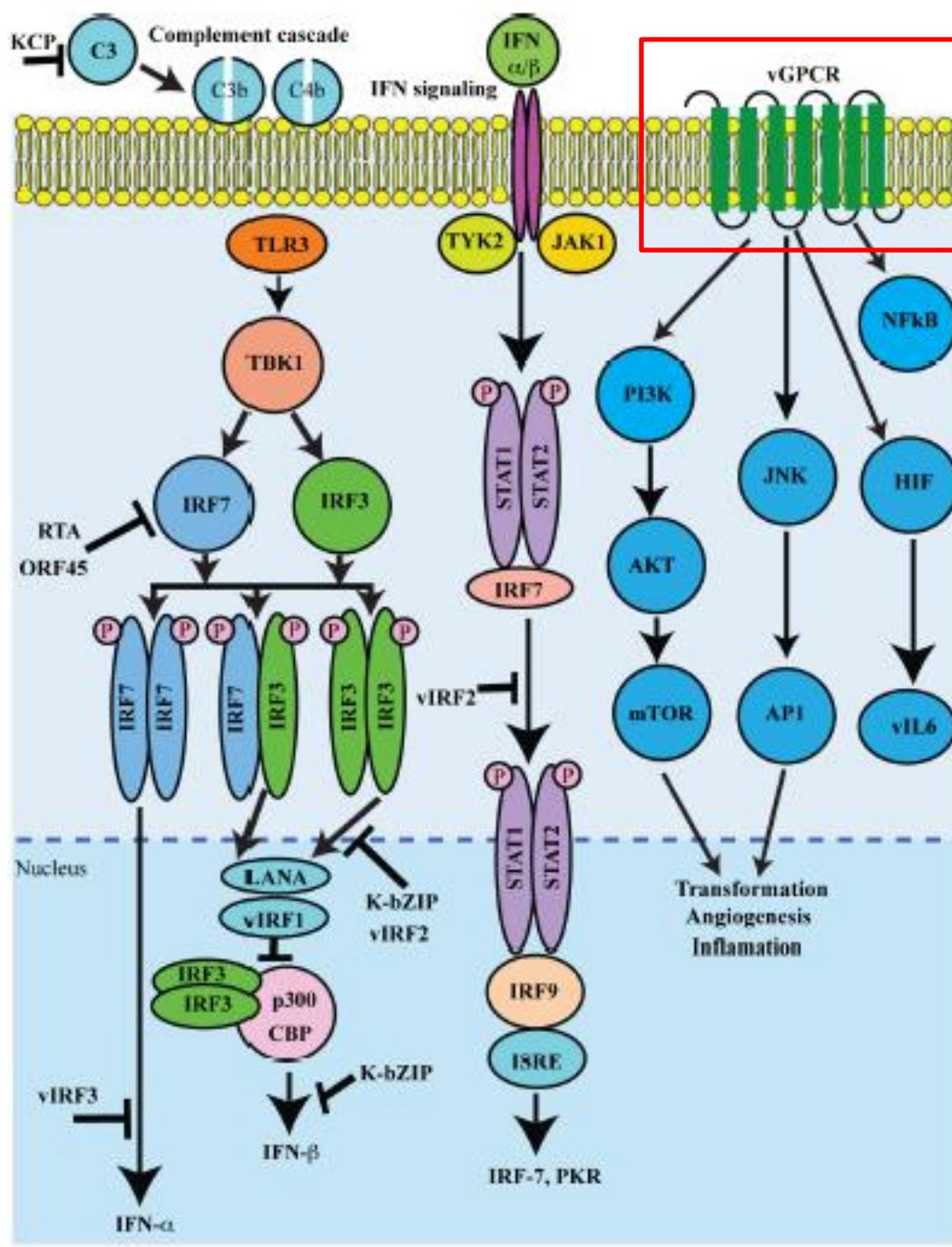
RTA: *Replication and transcription activator*



La reactivación de la replicación contribuye a la transformación celular

Factores virales asociados a la modulación inmune y patogénesis en la activación de la replicación viral

vIL-6	Homólogo de IL-6. Activa JAK-STAT y regula proliferación de linfocitos B.
vMIR1/MIR2	Ubiquitina MHC-I, ICAM-I, Teterinas y DC-Sign
vCCLs	Homólogos de MIP 1, 2 y 3. Bloquea receptores de quimiocinas
vIAP	Inhibidor de la apoptosis vía caspasa 3/BCL2
vINF-1	Inhibe señalización vía receptores de INF, p53 y NFkB
KCP	Homólogo del RCA celular que regula la activación del complemento vía C3 convertasa
ORF64	Deubiquitinasa que suprime activación de RIG-1
PAN RNA	RNA nuclear poliadénilado que modula la expresión génica



vIL-8R

Familia Retroviridae

New name	Examples	Morphology
Alpharetrovirus	Avian leukosis virus (ALV) Rous sarcoma virus (RSV)	C-type
Betaretrovirus	Mouse mammary tumor virus (MMTV) Mason-Pfizer monkey virus (MPMV) Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV)	B-, D-type
Gammaretrovirus	Murine leukemia viruses (MuLV) Feline leukemia virus (FeLV) Gibbon ape leukemia virus (GalV) Reticuloendotheliosis virus (ReT)	C-type
Deltaretrovirus	Human T-lymphotropic virus (HTLV)-1, -2, -3	—
Epsilonretrovirus	Bovine leukemia virus (BLV) Simian T-lymphotropic virus (STLV)-1, -2, -3 Walleye dermal sarcoma virus Walleye epidermal hyperplasia virus 1	—
Lentivirus	Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) HIV-2 Simian immunodeficiency virus (SIV) Equine infectious anemia virus (EIAV) Feline immunodeficiency virus (FIV) Caprine arthritis encephalitis virus (CAEV)	Rod/cone core
Spumavirus	Visna/maedi virus Human foamy virus (HFV)	Immature

HTLV-I

La mayor parte de los infectados son asintomáticos.

5 – 8% tienen riesgo de desarrollar alguna enfermedad asociada luego de muchos años.

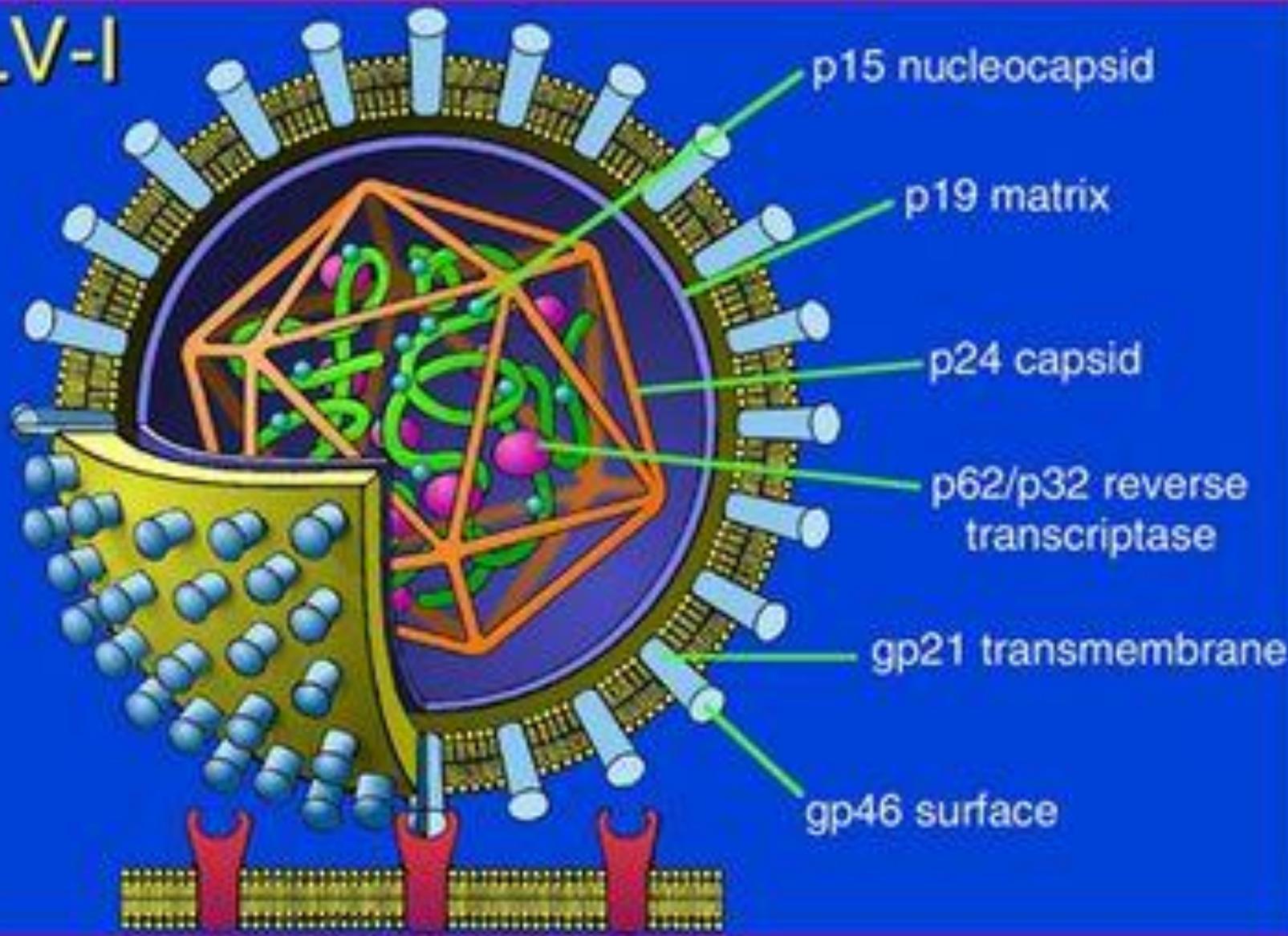
- **Leucemia T del Adulto:**

- Enfermedad linfoproliferativa
- Transformación clonal de LT CD4+

- **Síndromes inflamatorios:**

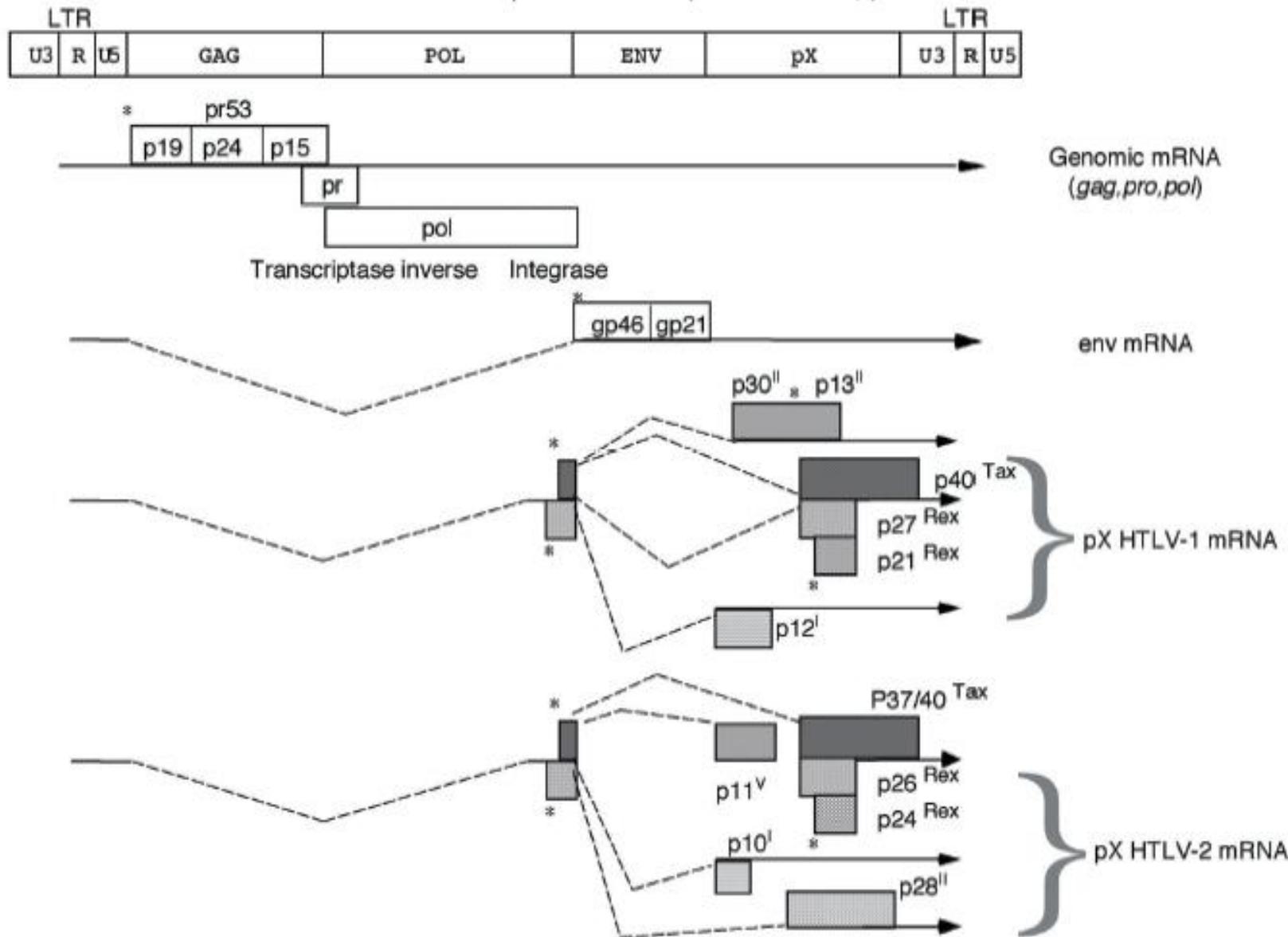
- Mielopatía / Paraparesia Espástica Tropical
- Uveítis
- Artropatías

HTLV-I

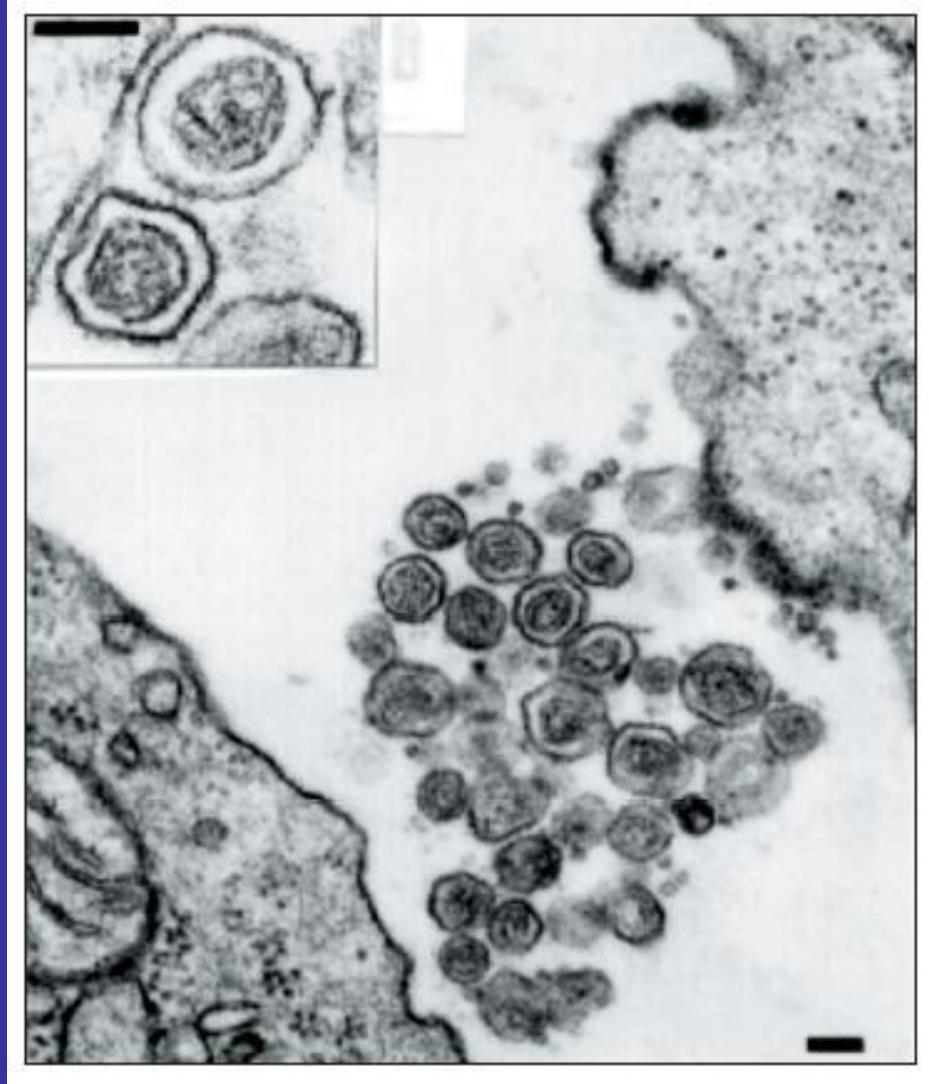
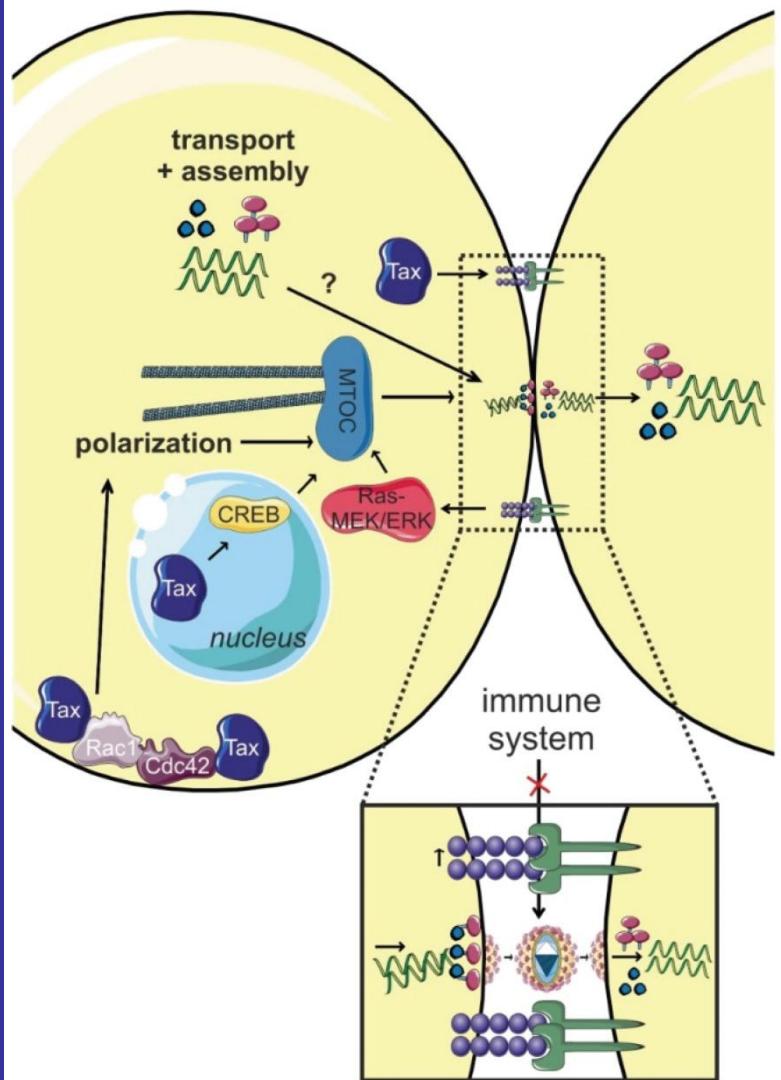


GLUT-1 – Heparán Sulfato – Neuropilina 1

HTLV-1/2 : proviral DNA (9046/ 8952 bp)



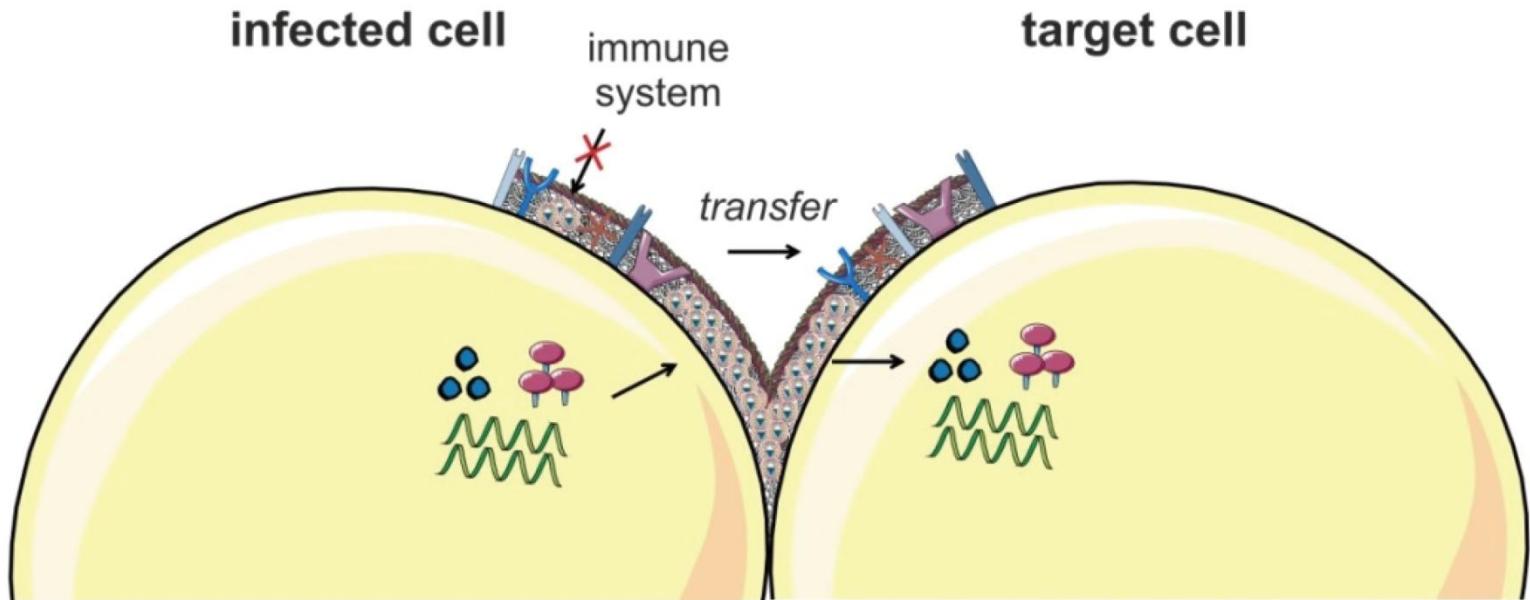
infected cell **target cell**



**Baja replicación “in vivo” -
Transmisión célula a célula**

LFA-1
 ICAM-1
 microtubuli
 HTLV-1
 viral proteins
 viral RNA

“Biofilm viral”



CD43



CD45



tetherin



agrin (HSPG)



galectin-3 pentamer (lectin)



carbohydrates



collagen



HTLV-1



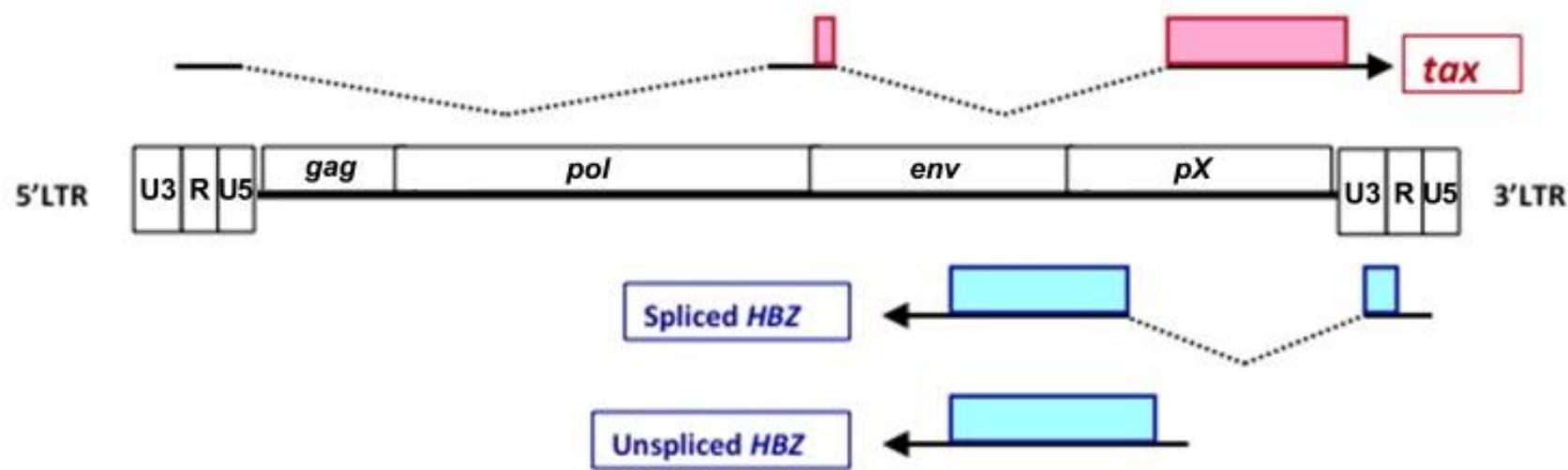
viral proteins



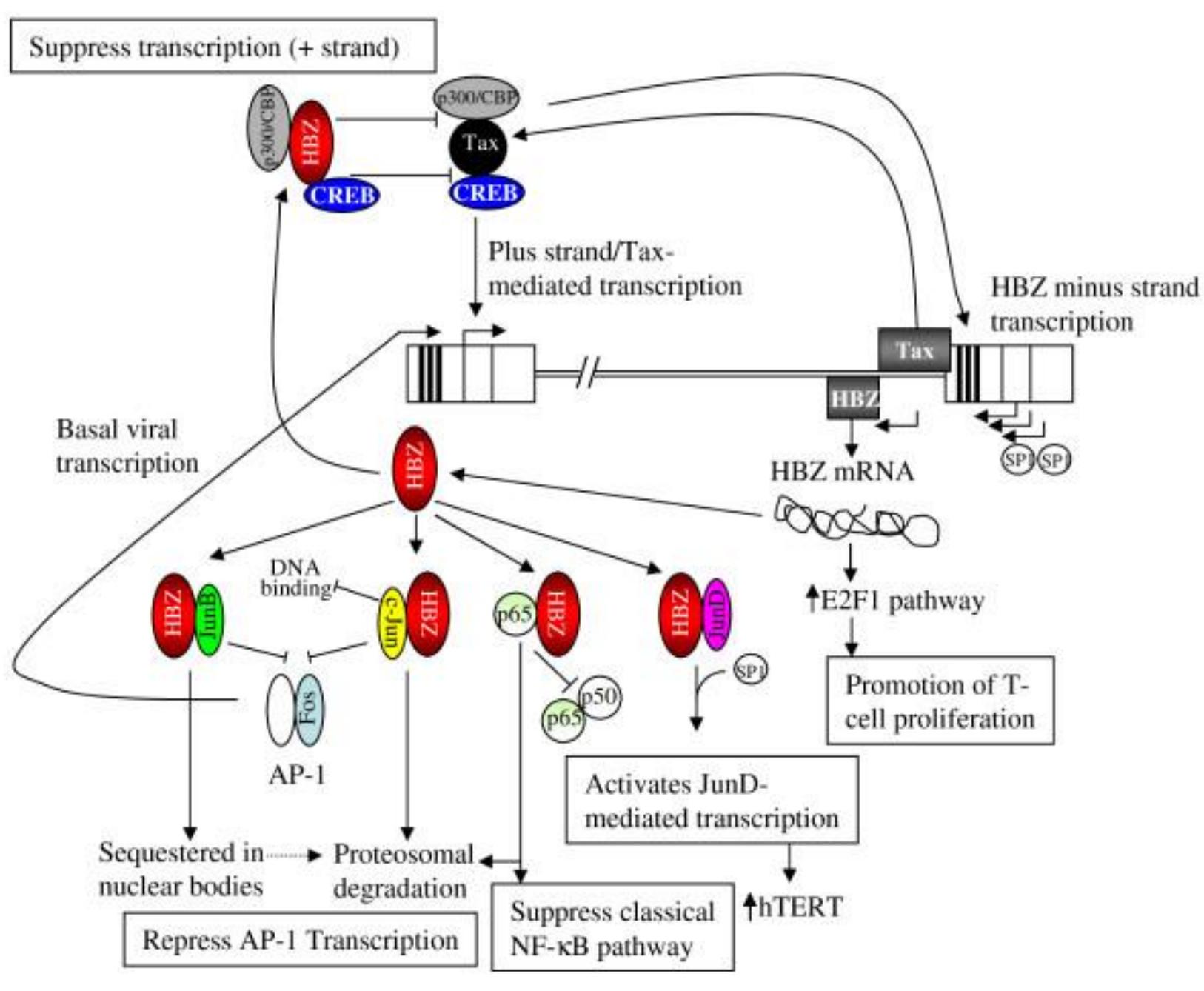
viral RNA

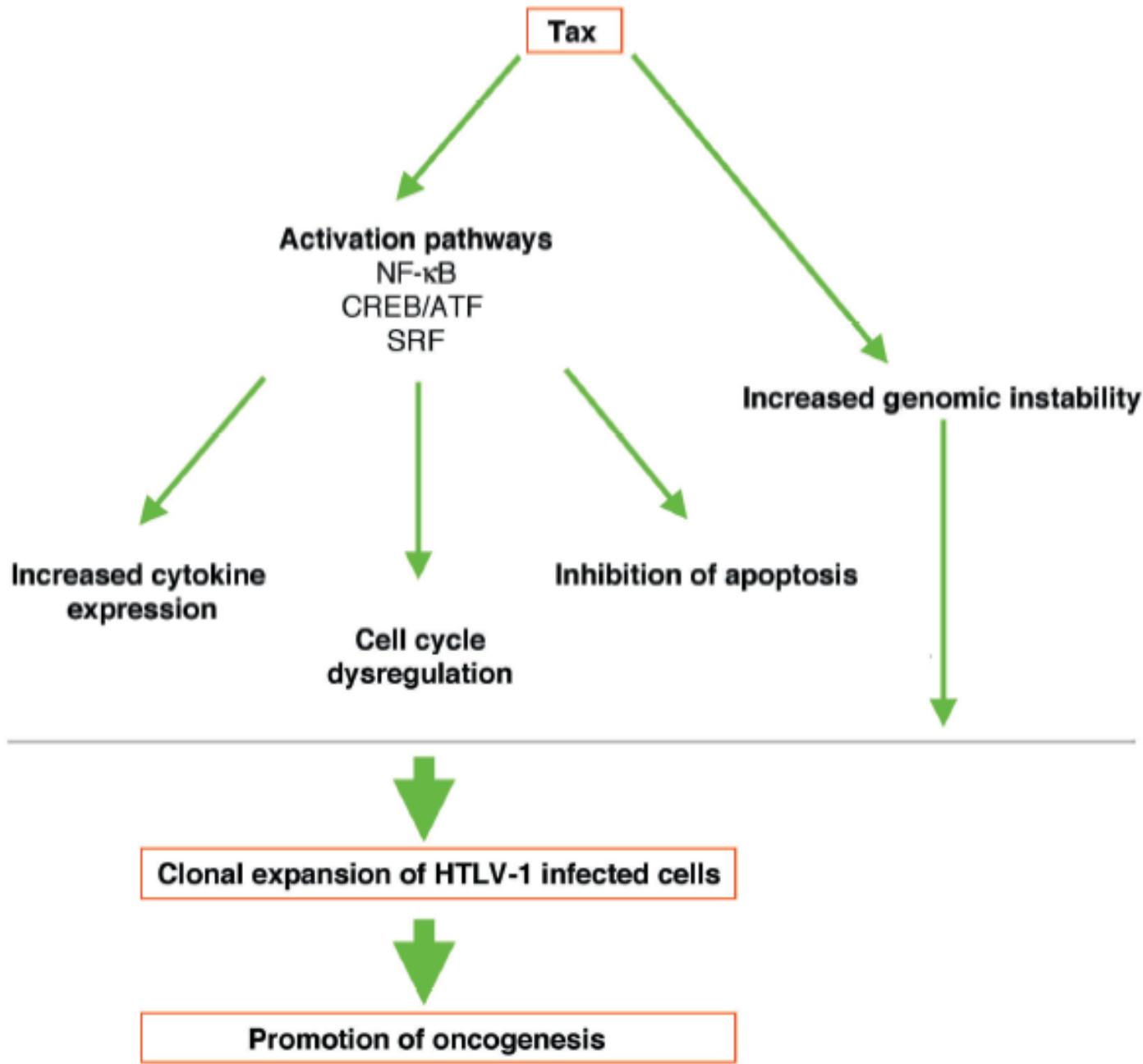
Estimulación de una matriz celular que facilita la transmisión

bZIP factor gene (HBZ)



TAX y HBZ : Principales factores involucrados en la inmortalización celular





HTLV-1
infection

Oligoclonal expansion

Chronic
ATL

Acute Crisis

Acute
ATL

Tax

HBZ

HTLV-1 Infected lymphocyte

Cell-to-cell transmission

Virological synapse

Immune escape

Epigenetic
Crisis

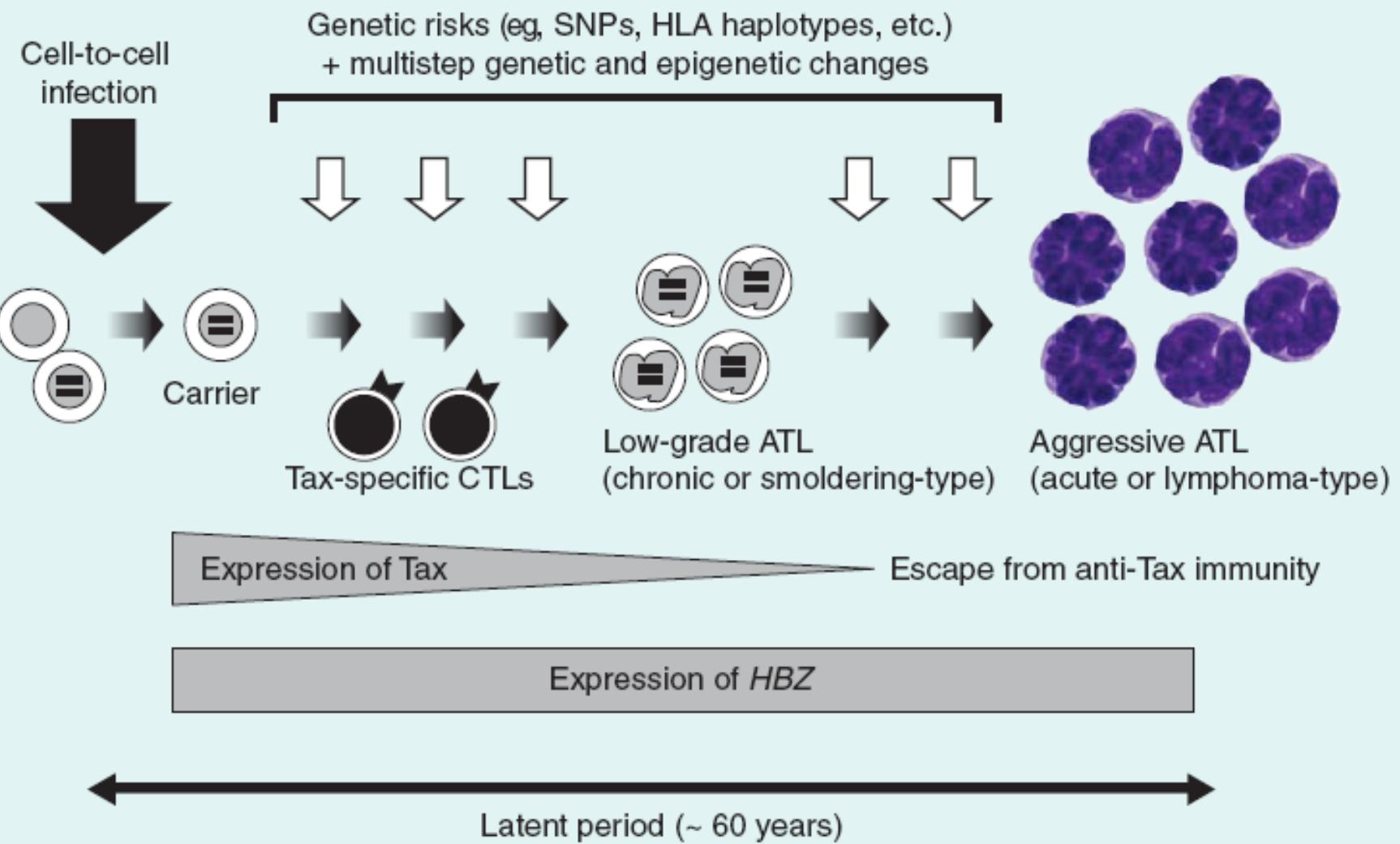
PCG (EZH2)
miR31
Aneuploidy
mutation

Genetic
Crisis

+
Pleiotropic effects
of Tax & HBZ

-
CTL response
against
Tax

+
Pleiotropic effects of the HBZ gene (protein & mRNA)



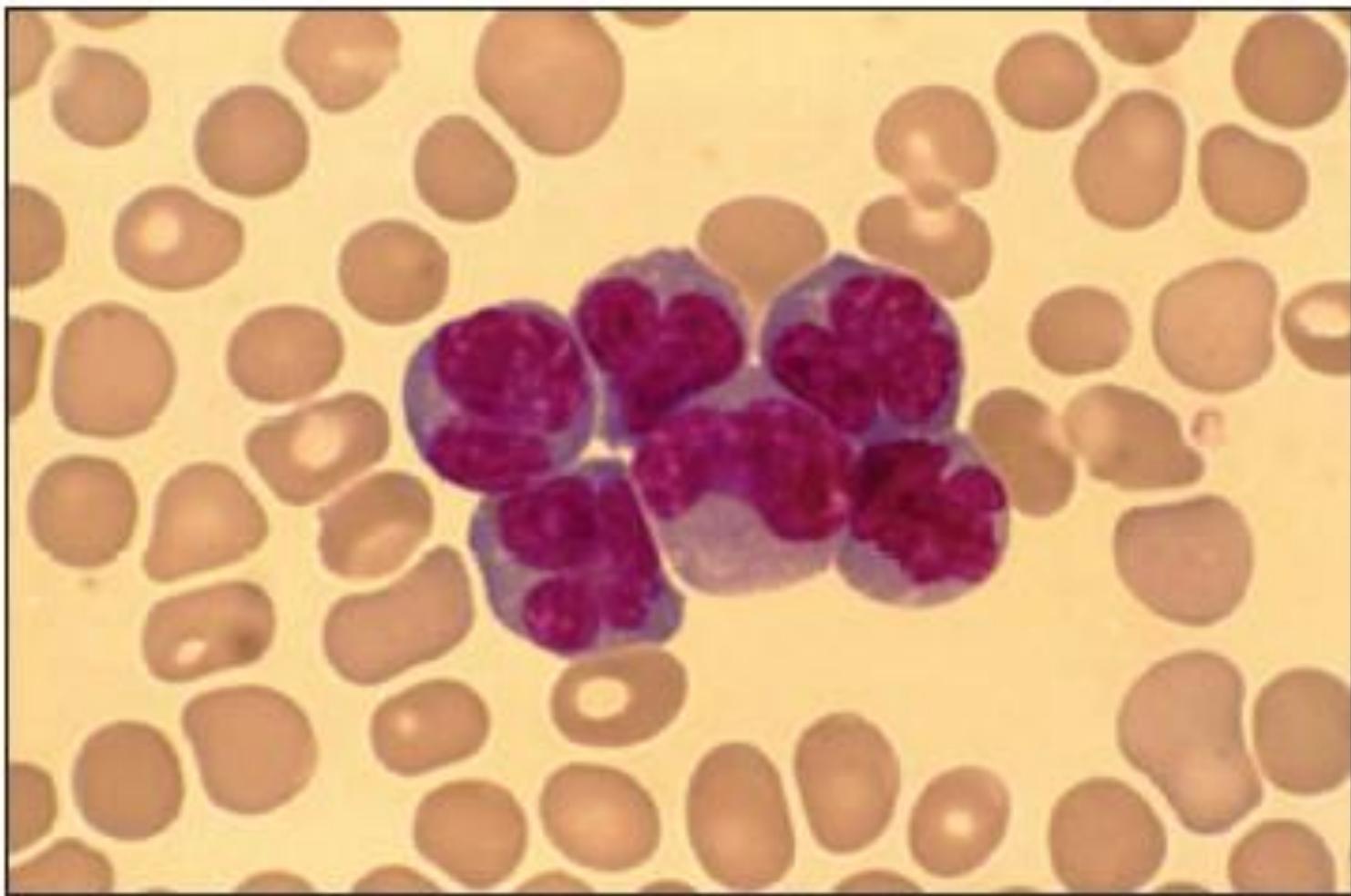
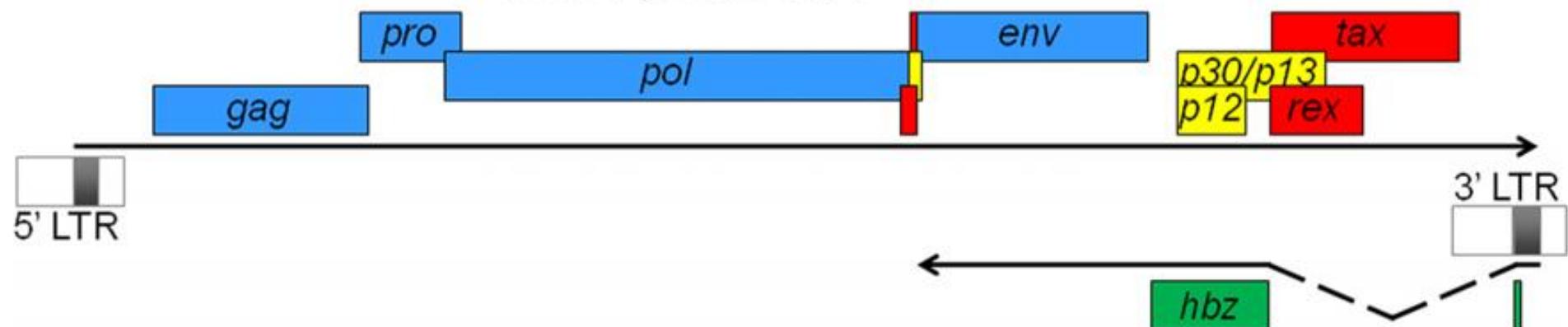
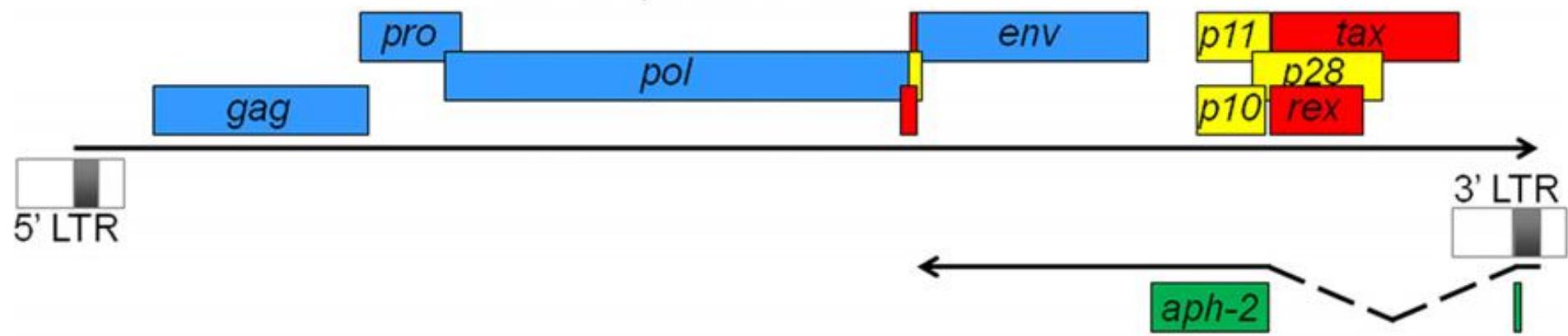


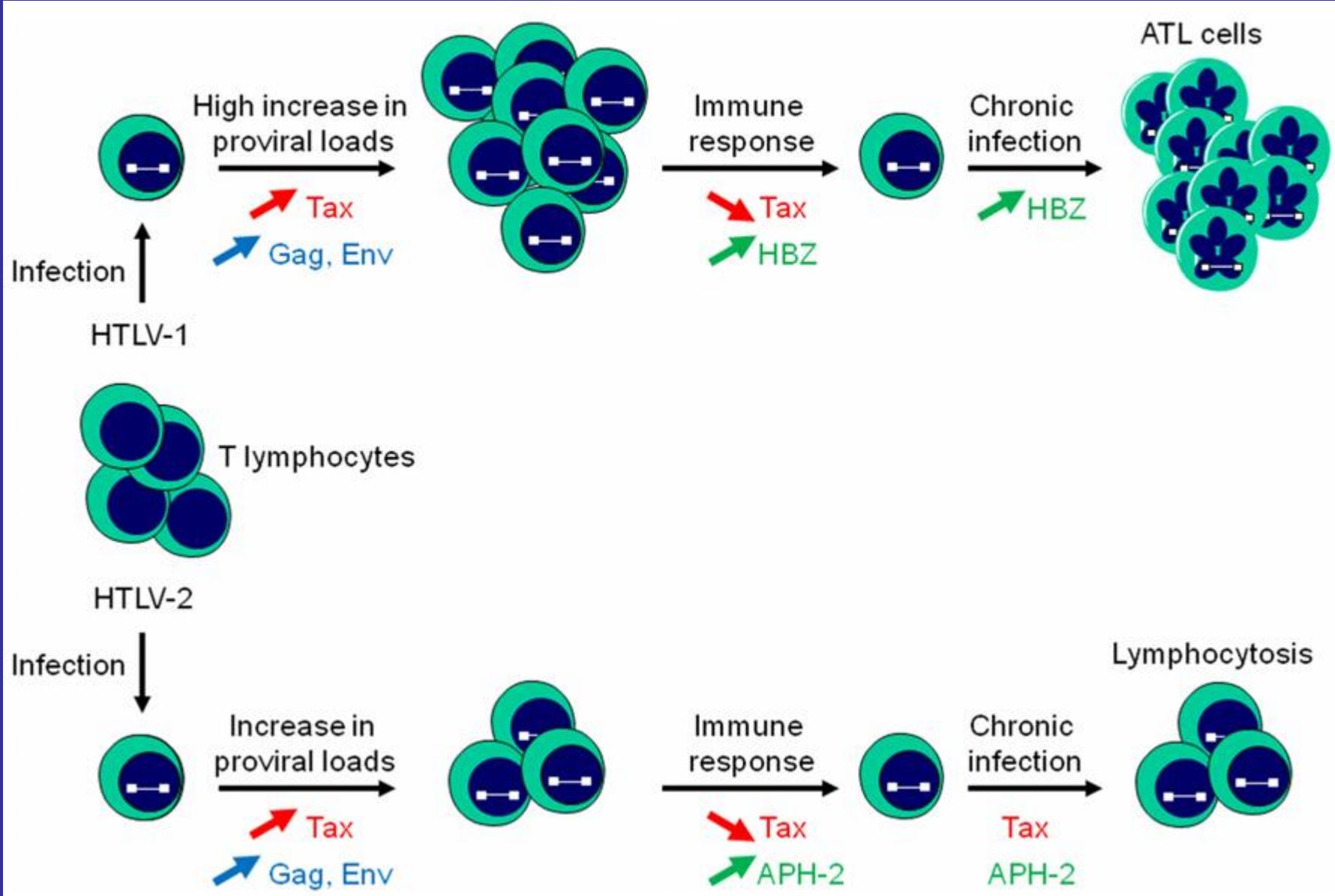
Figure 4: Peripheral blood smear from a Caribbean ATL leukemic patient showing a cluster of atypical lymphoid cells with multilobulated nuclei (May Grunwald Giemsa staining).

HTLV-1 proviral DNA



HTLV-2 proviral DNA





CONCLUSIONES

El desarrollo de cáncer asociado a virus en humanos involucra complejos mecanismos de persistencia y replicación que afectan principalmente a la función celular normal y a la respuesta inmune.

Factores externos -como genéticos y ambientales- pueden acelerar estos mecanismos.