



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

- **1908:** Ellerman y Bang, virus de la leucosis aviar.
- **1910:** Peyton Rous - transmisión libre de células de tumores sólidos a pollos (ahora conocido como sarcoma de Rous).
- **1933:** Richard Edwin Shope descubrió el virus del papiloma de conejo (primer virus de tumor de mamífero).
- **1936:** John J. Bittner virus del tumor mamario de ratón que se transmiten entre las cepas de laboratorio mediante la lactancia.
- **1954-9:** Ludwik Gross , poliomavirus murino.
- **1961:** Eddy, Sweet y Hillman descubren el poliomavirus SV40 en monos y su potencial oncogénico.



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)**





**Denis Parsons Burkitt
(1911-1993)**



¿Teoría infecciosa?



"The commonest children's cancer in tropical Africa:
A hitherto unrecognized syndrome"

El cáncer infantil más común en África tropical:
Un síndrome hasta ahora no reconocido

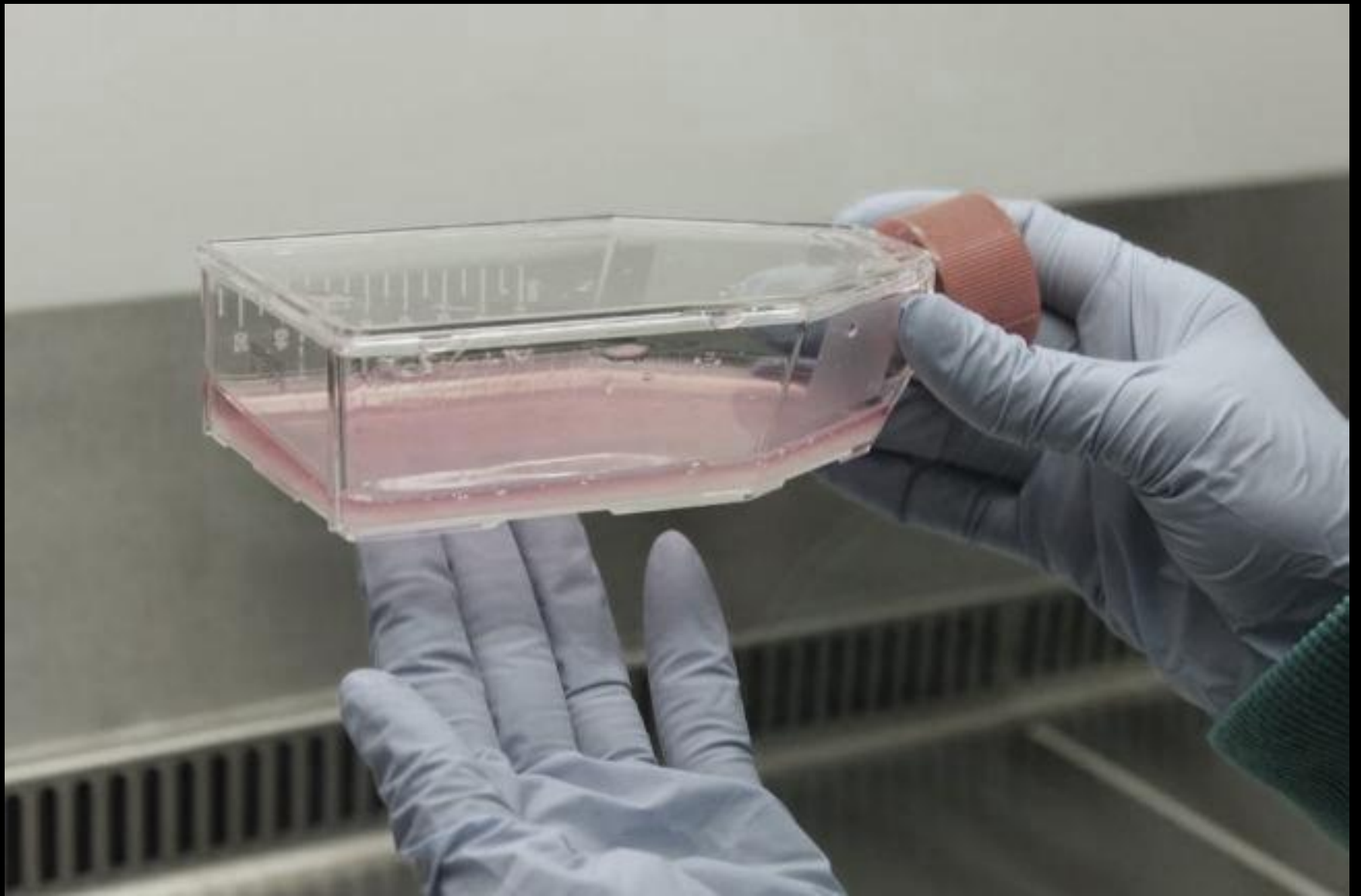
Hospital Middlesex, Londres 1961

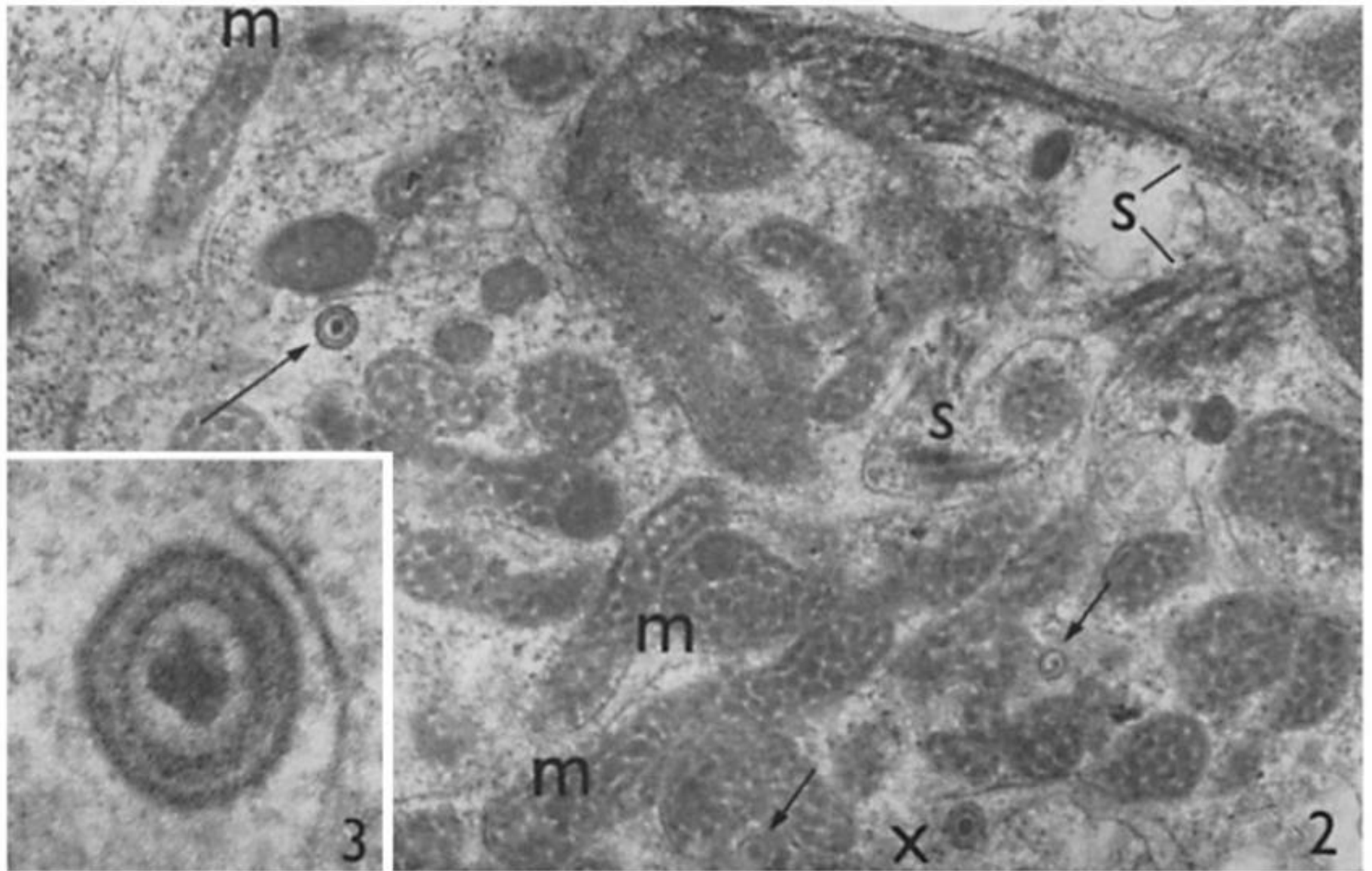
Denis Parsons Burkitt
(1911-1993)











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.CH., 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



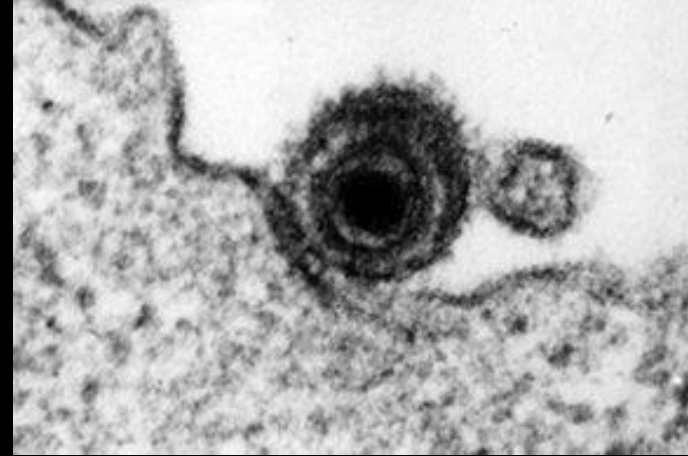
EBV

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.

Primoinfección :

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.



PRIMOINFECCIÓN POR EBV EN EL HUÉSPED INMUNOCOMPETENTE

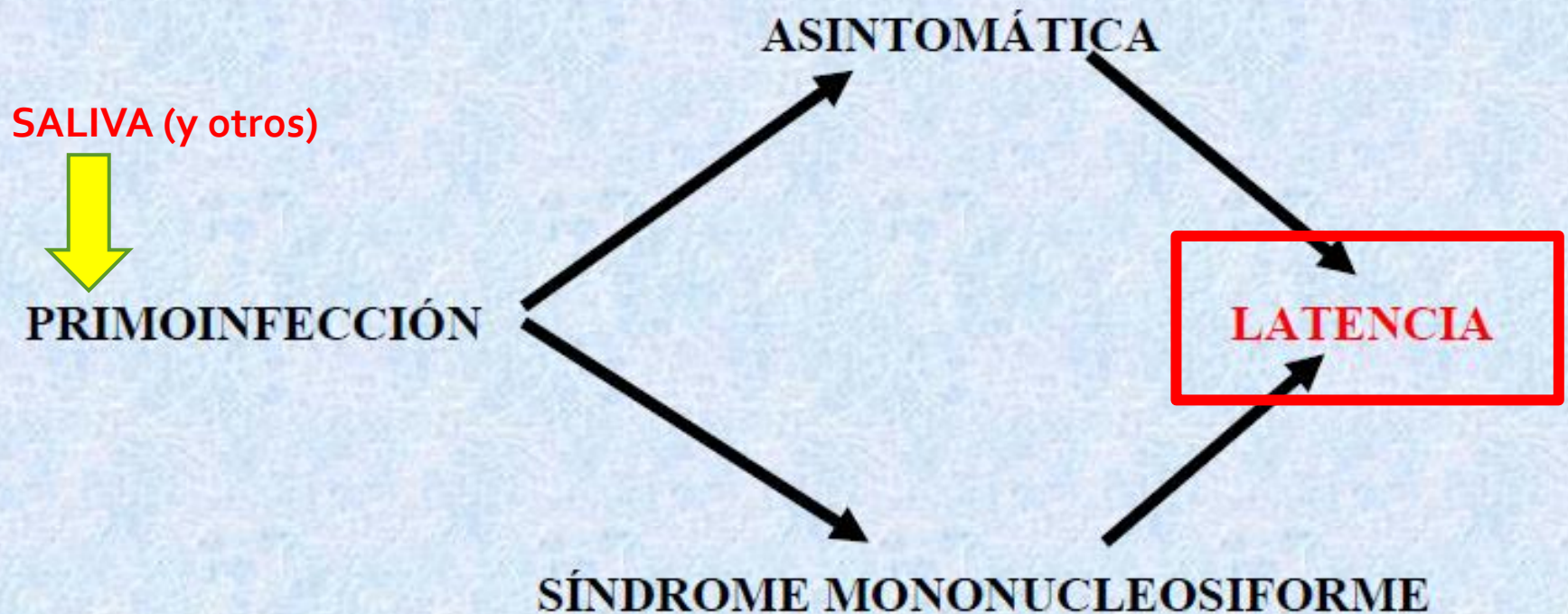


Table 1. EBV positivity discriminated by age groups

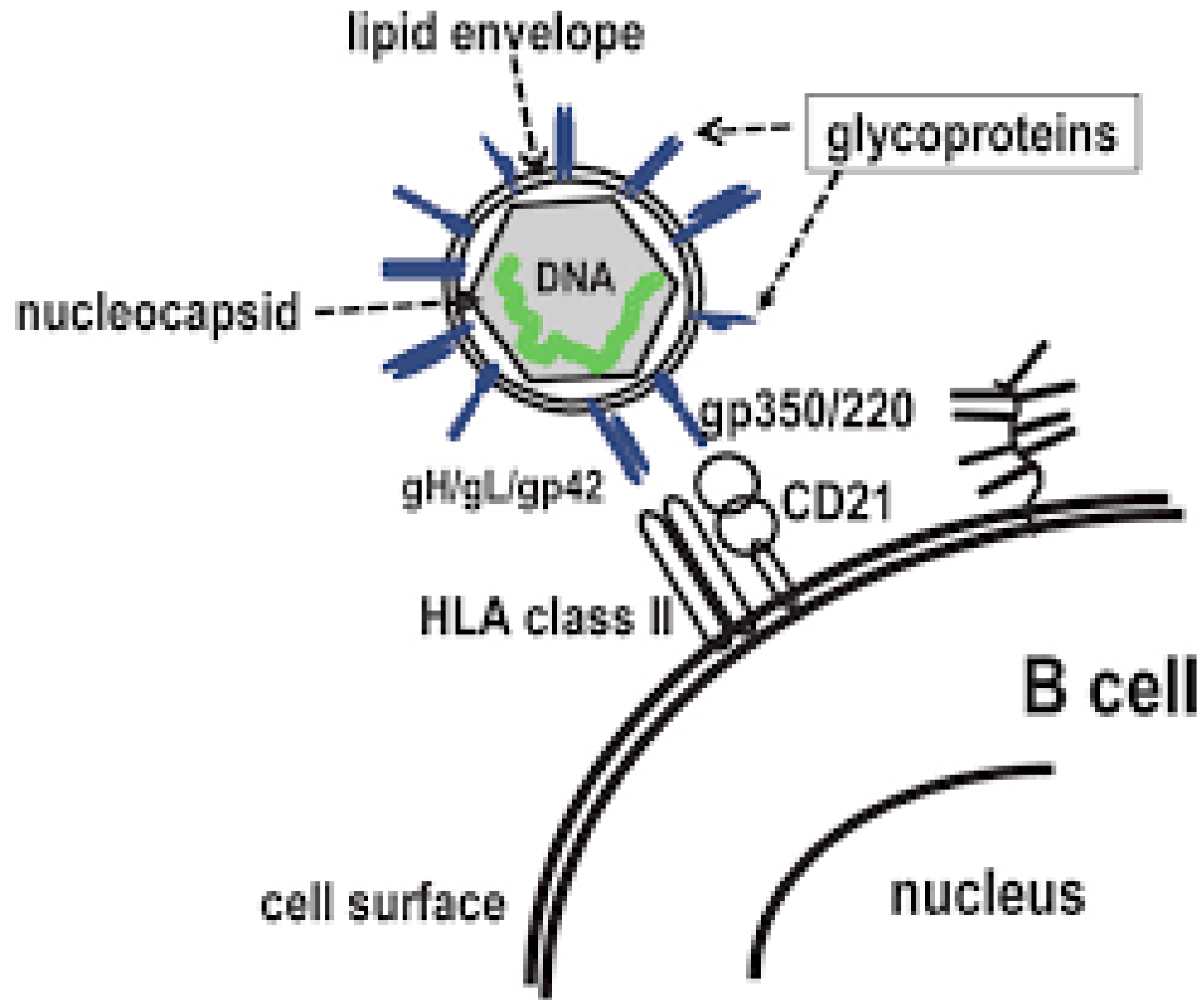
Age	EBV-positive n/total (%) ¹
1–6 months	0/12 (0)
7–12 months	5/19 (26)
13–24 months	15/20 (75)
25–36 months	16/18 (89)
4–6 years	36/43 (84)
7–10 years	23/28 (82)
11–15 years	23/24 (96)
Total	118/164 (72)

Paola A. Chabay and Maria V. Preciado

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

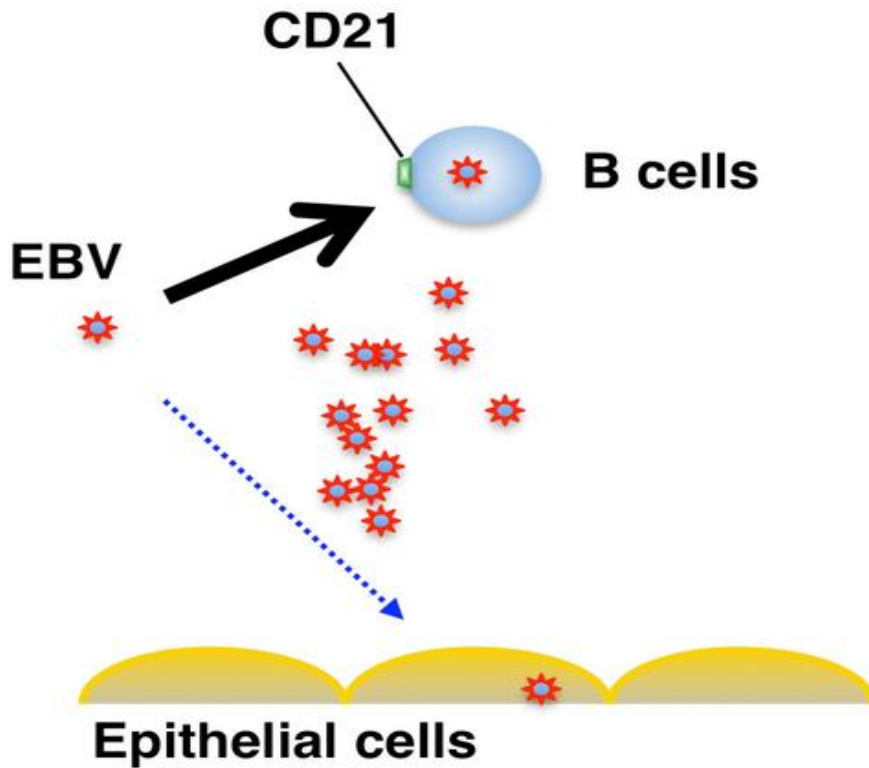






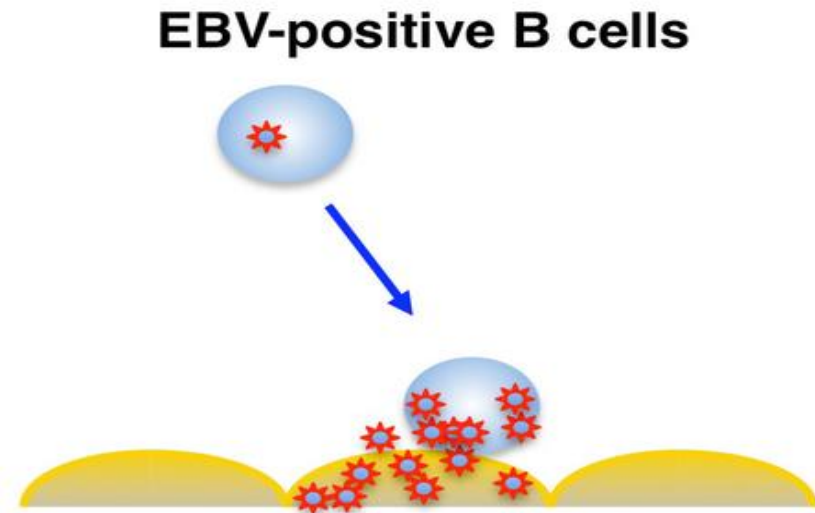
Mecanismos de entrada

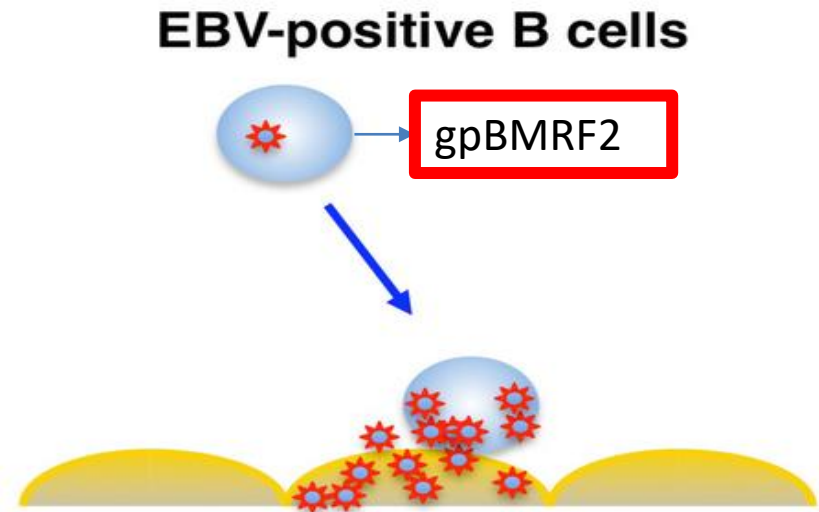
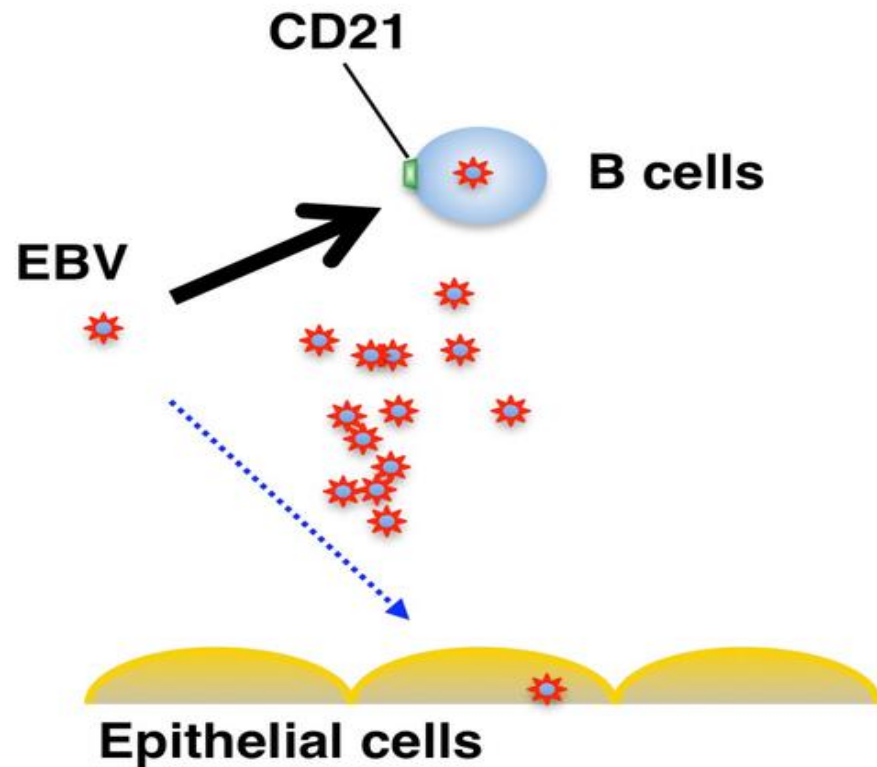
Infección por virus libre



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

Infección por contacto celular



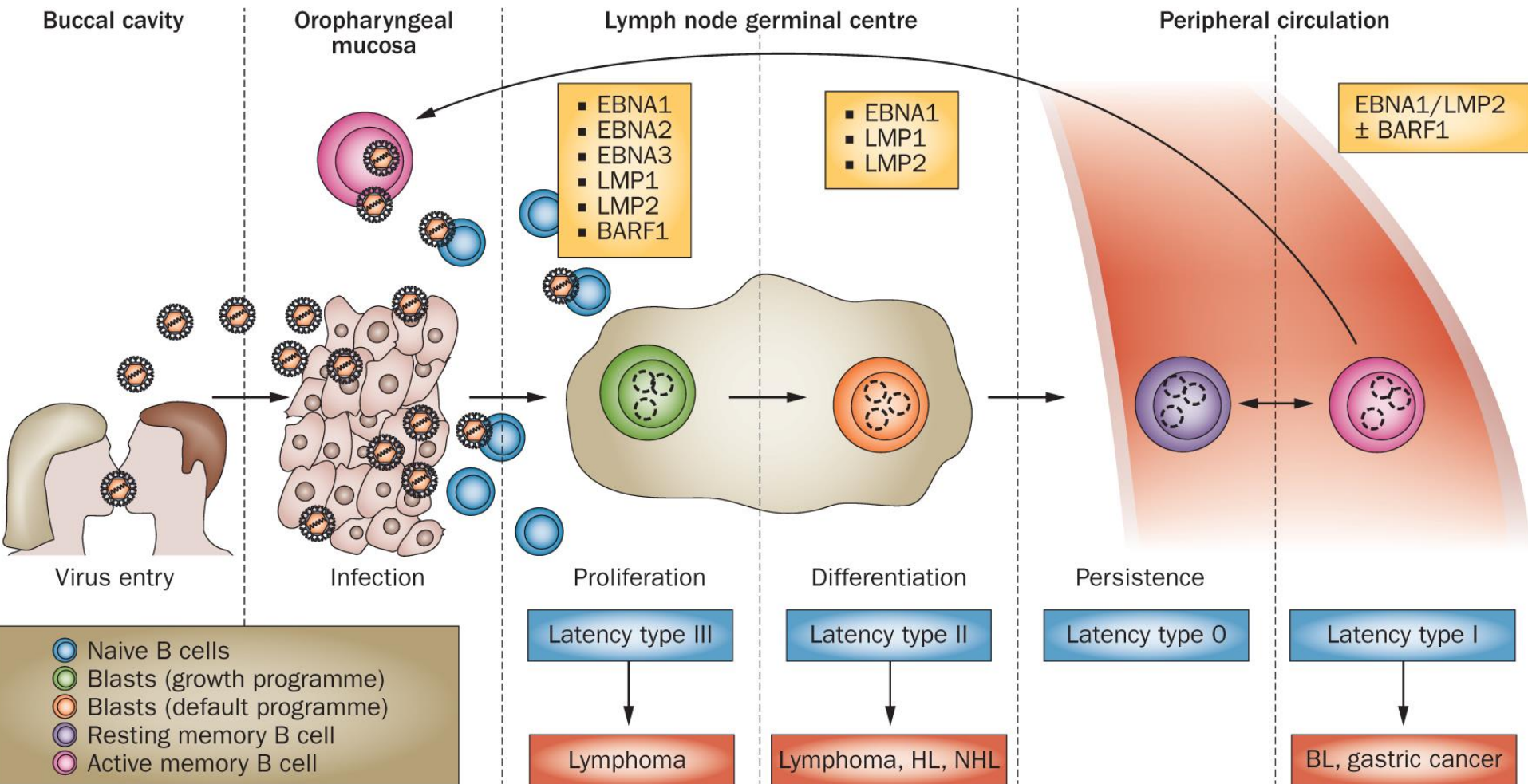


Infection efficiency: 1 < 1,000 to 10,000

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

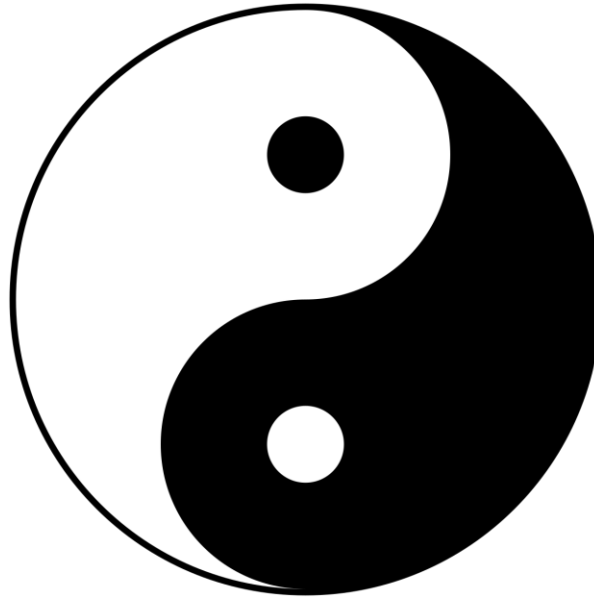


Ciclo del EBV, latencia y linfoma (“modelo del Centro Germinal”)



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





REPLICACIÓN

ADNdc lineal 172 kb

Codifica >80 ORF

LATENCIA

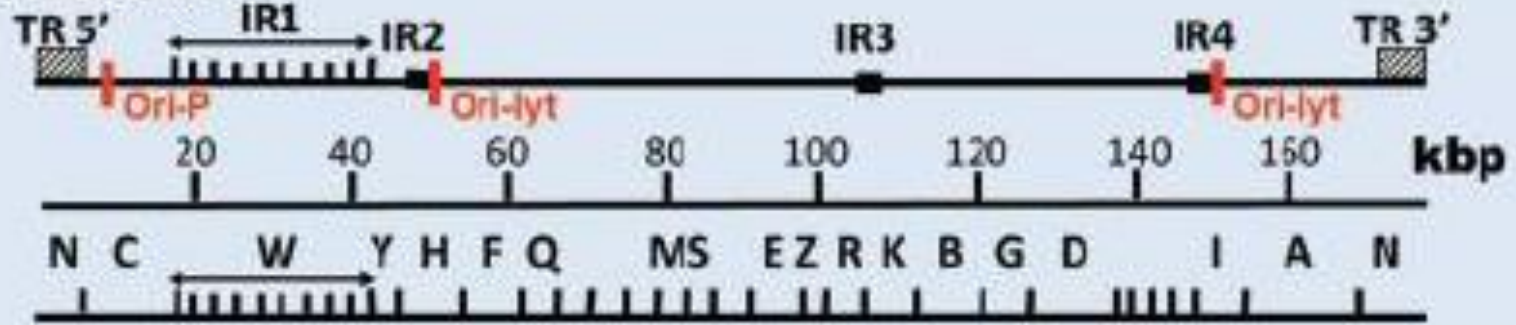
ADNdc circularizado y episomal

No hay integración al ADN celular

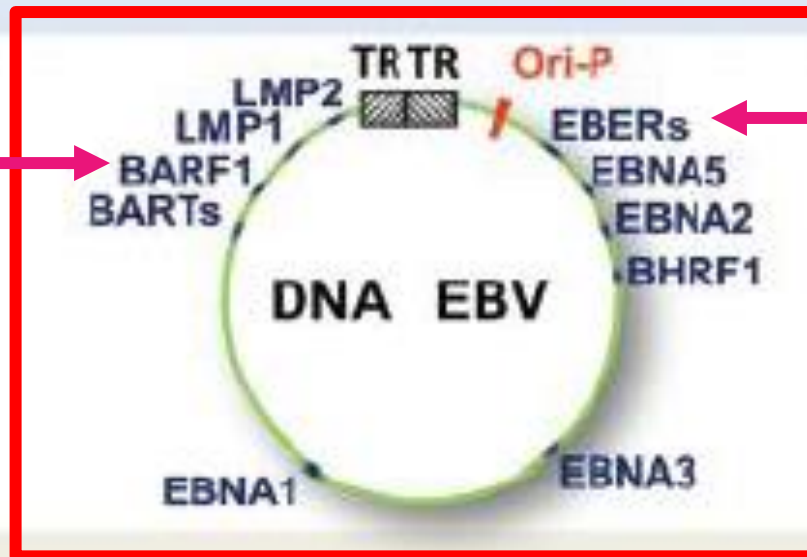
Sólo expresa genes asociados a Latencia.



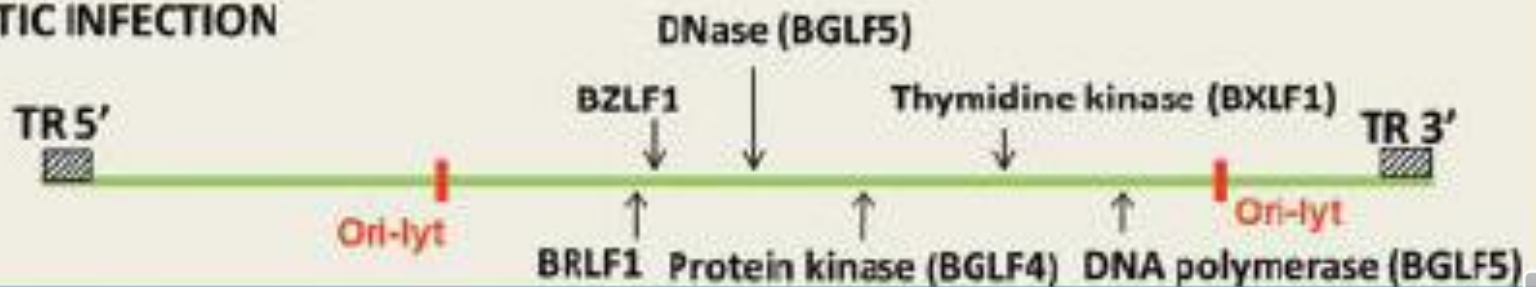
A) EBV GENOME



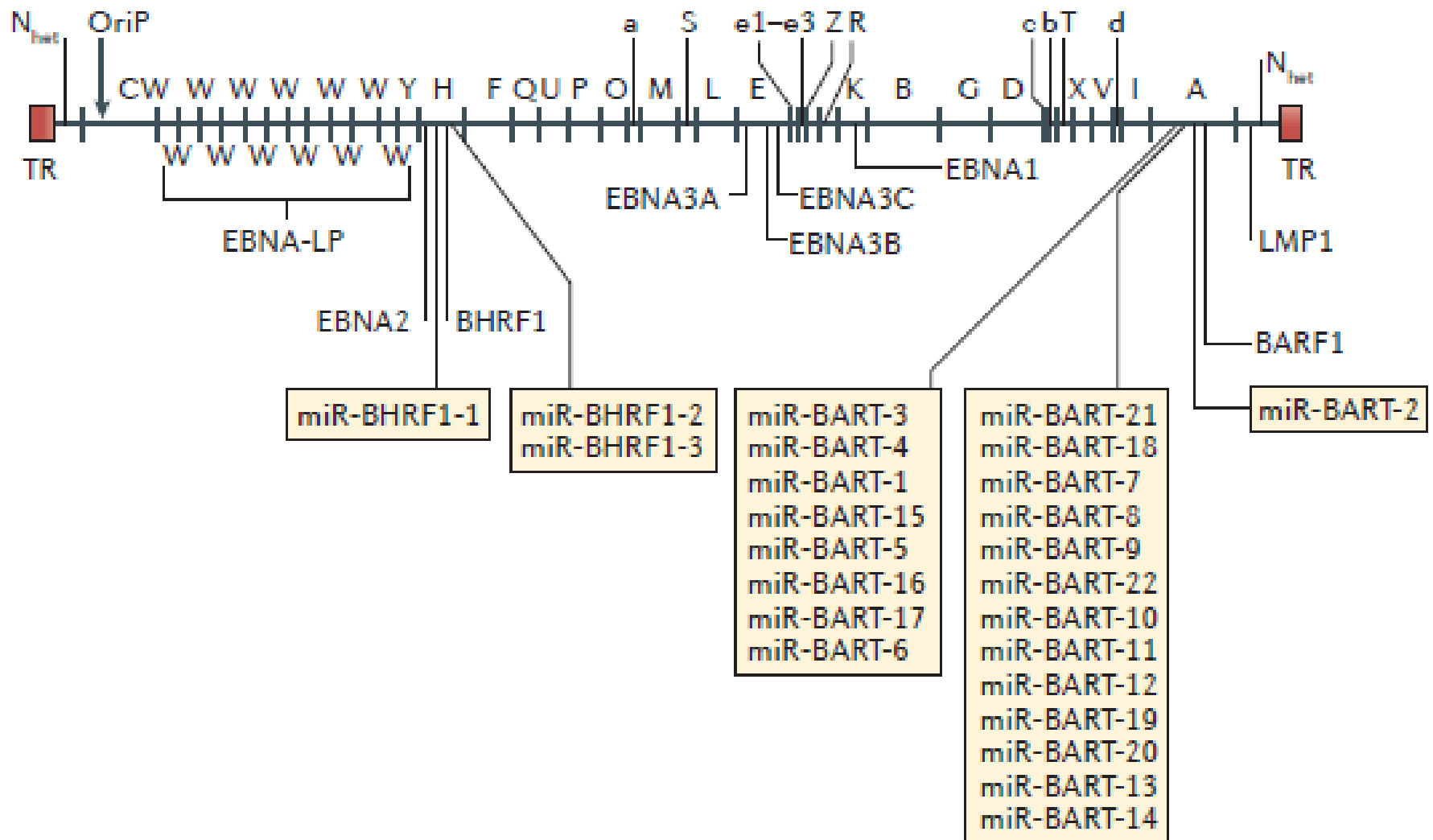
B) LATENT STATE



C) LYTIC INFECTION



b Position of latent gene products on a linear genome



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
- EBNA1P → 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



LATENCIA

Etapas

Establecimiento

C.
EBV
(B cell)

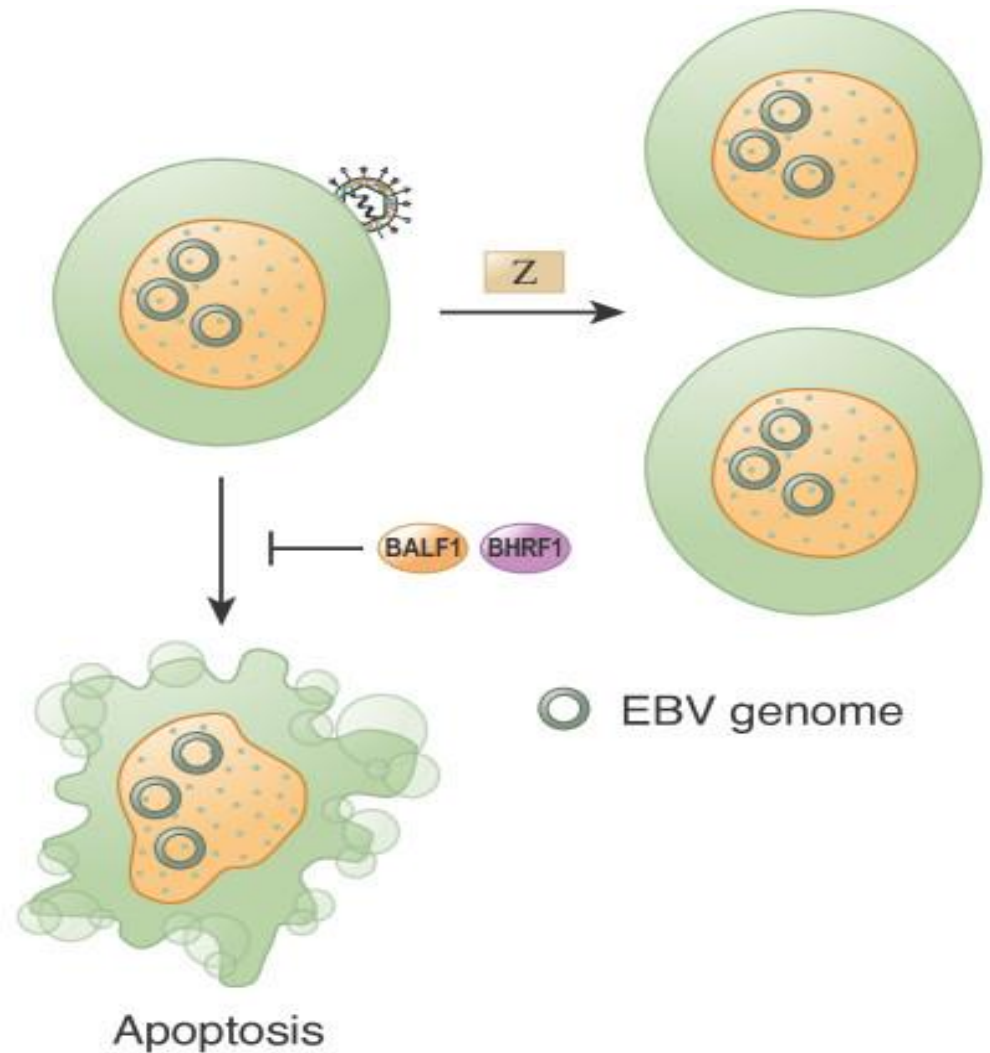
Genes inmediatos tempranos

Z – Induce proliferación

BALF1 y BHRF1 - BCL2 “like”

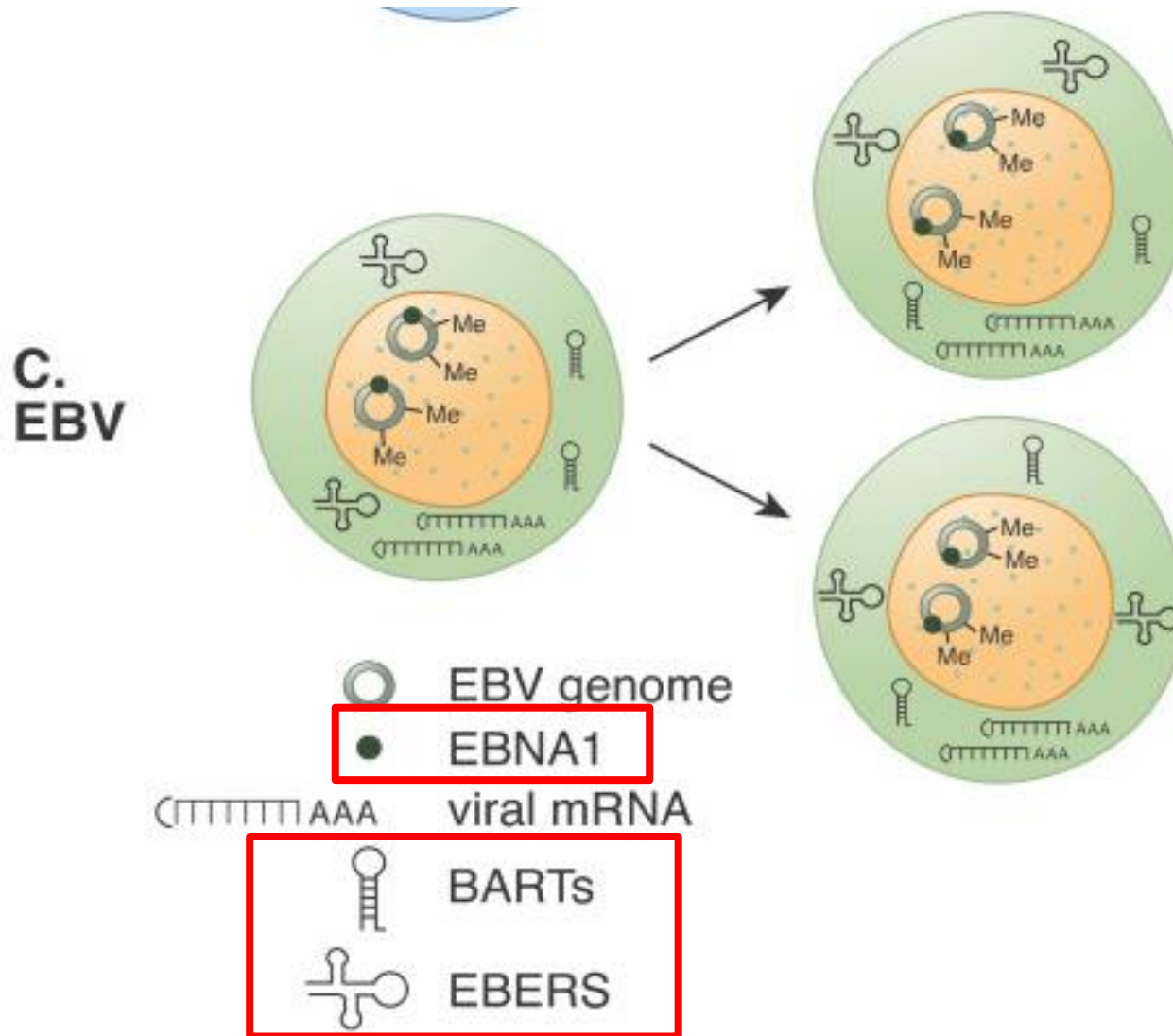
ZEBRA (BZLF1)

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



LATENCIA

Mantenimiento



LMPs

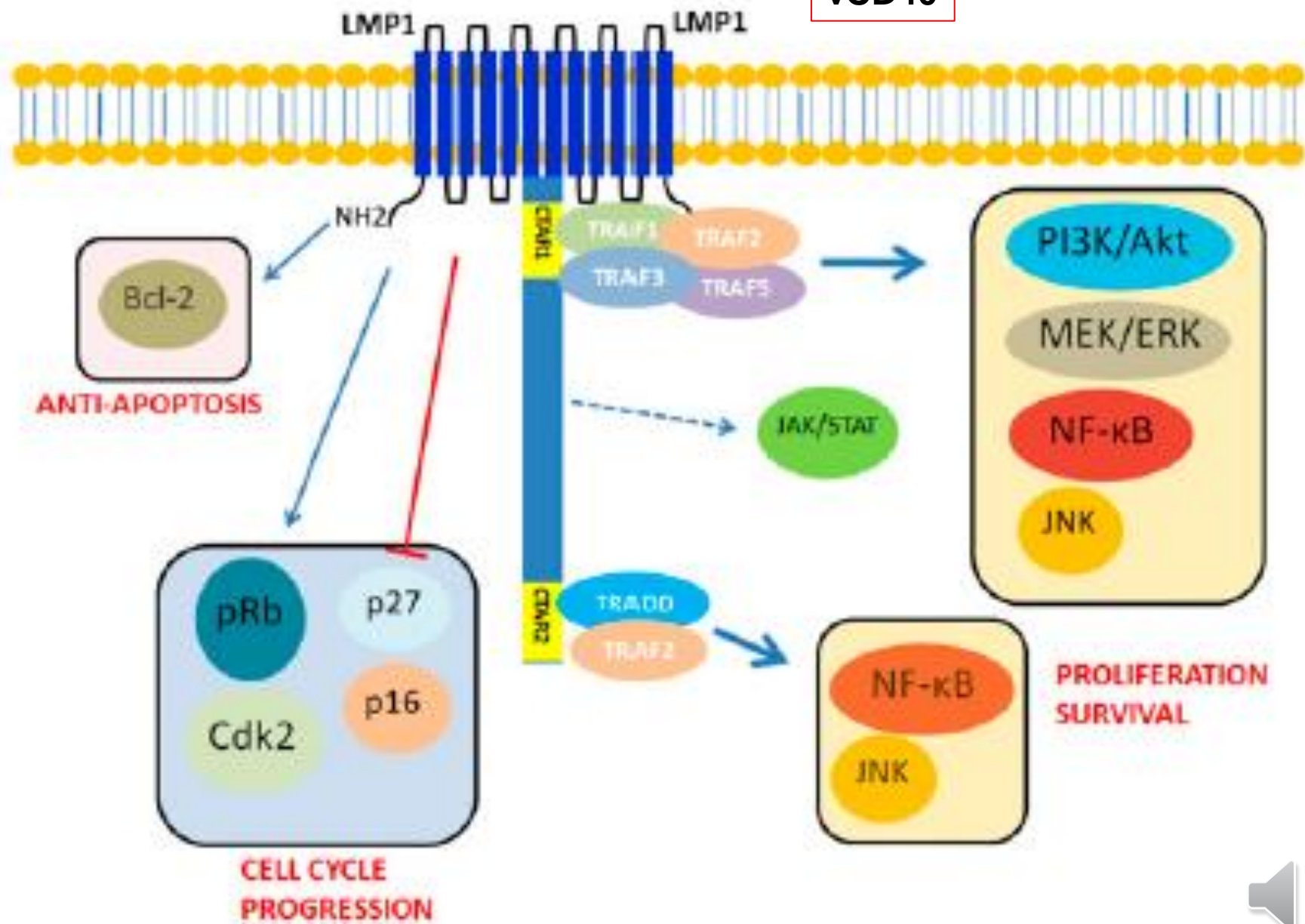
Latent Membrane Proteins

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.

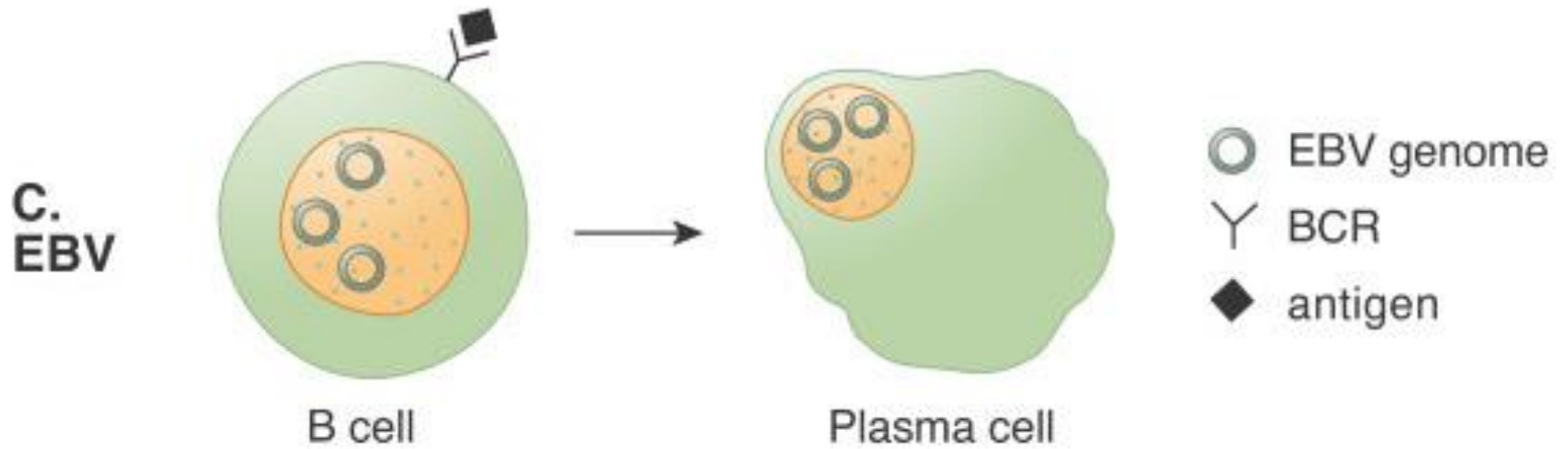


vCD40

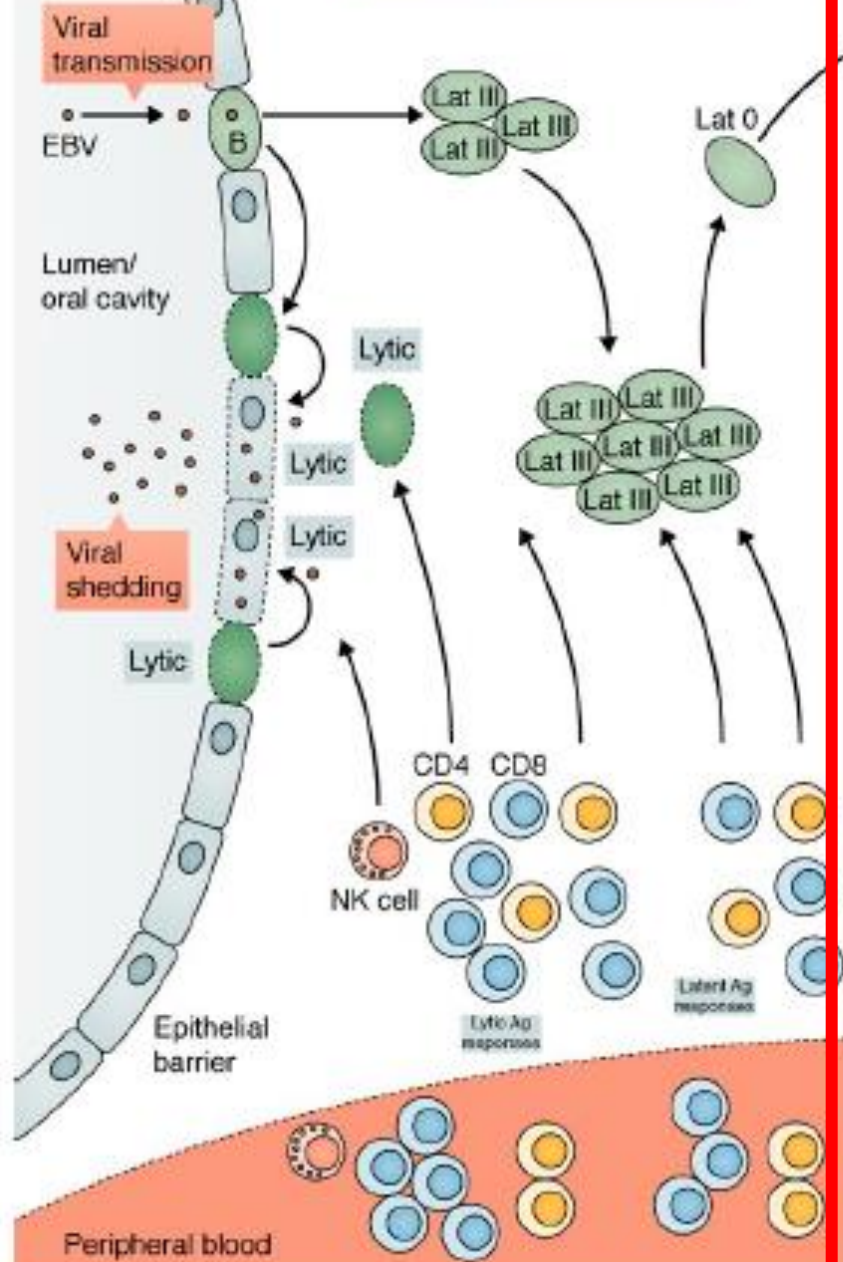


LATENCIA

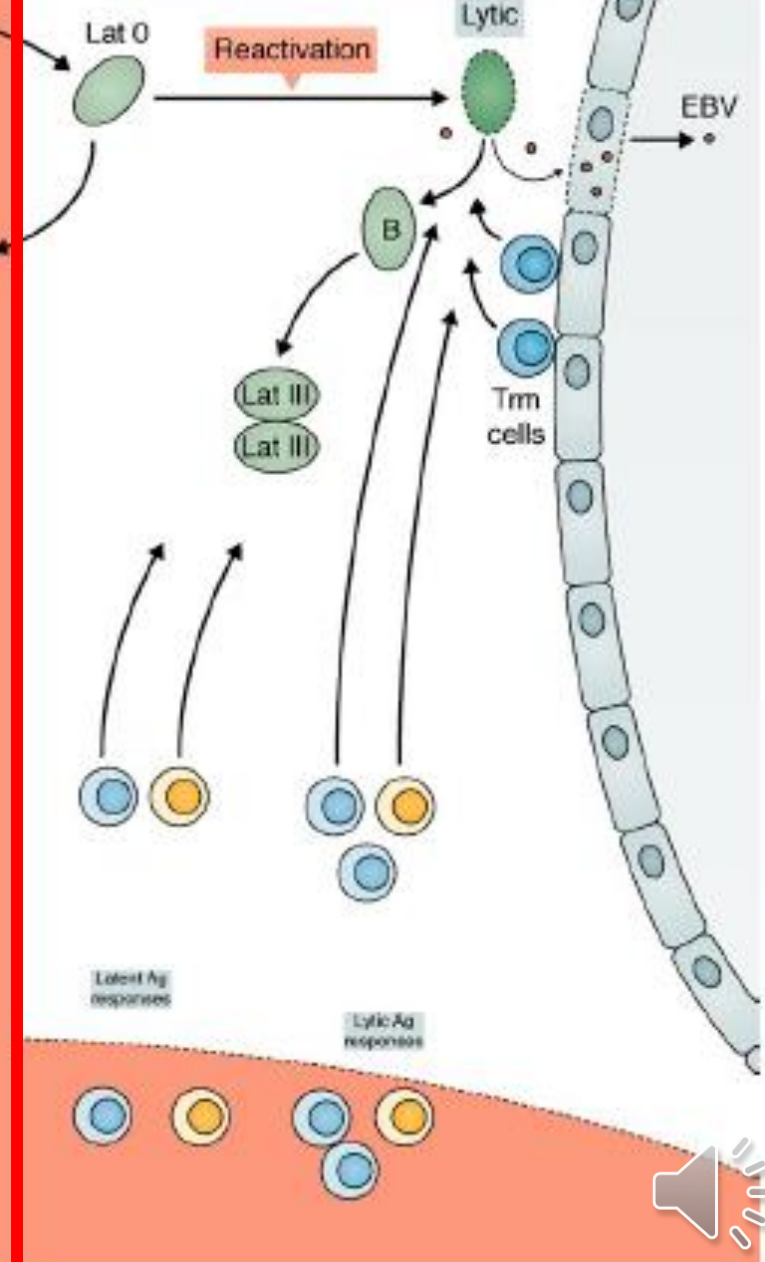
Reactivación



Primary infection Oropharyngeal lymphoid tissue



Persistent infection Oropharyngeal lymphoid tissue



Primary infection
Oropharyngeal lymphoid tissue

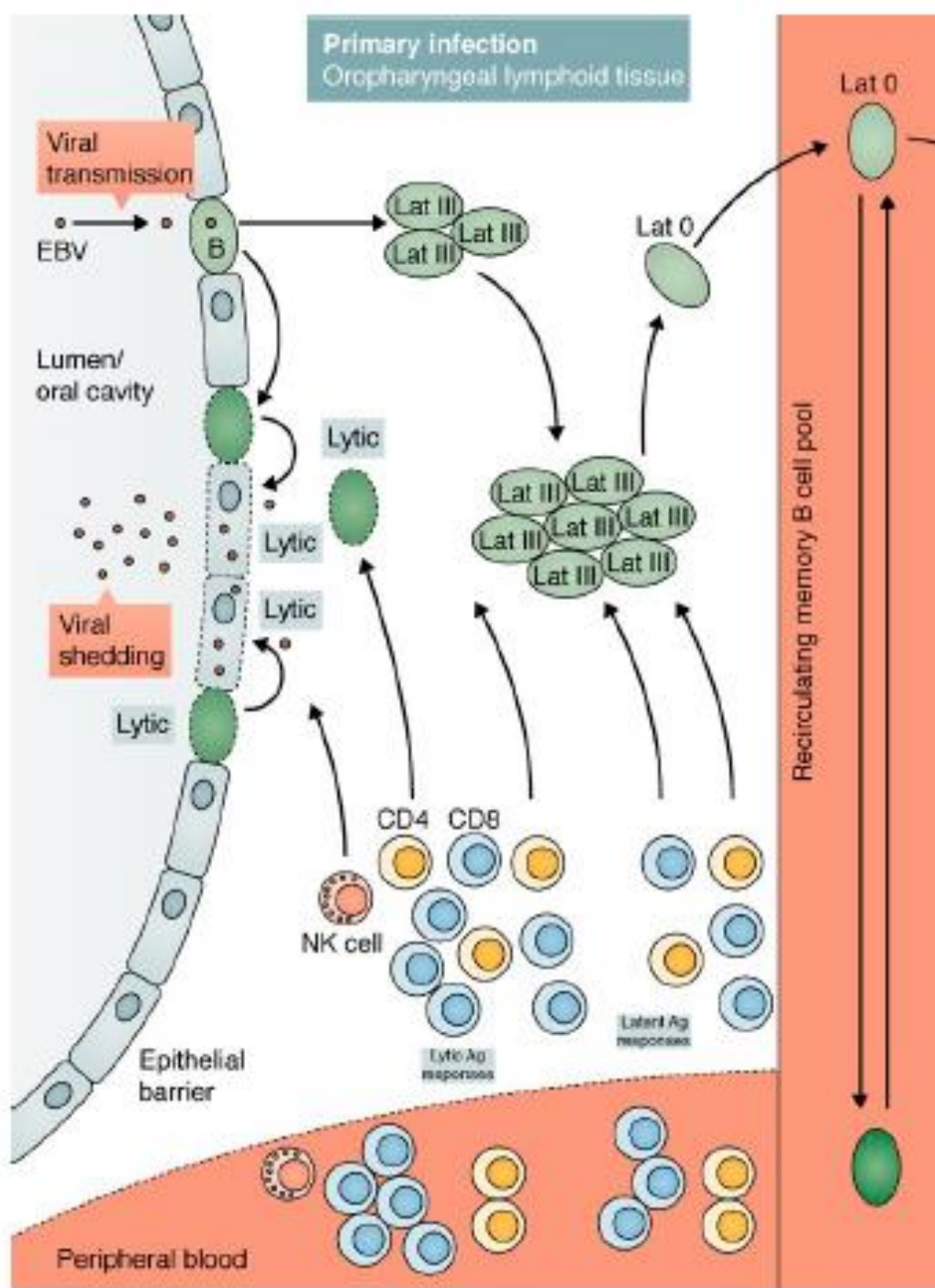
Lat 0



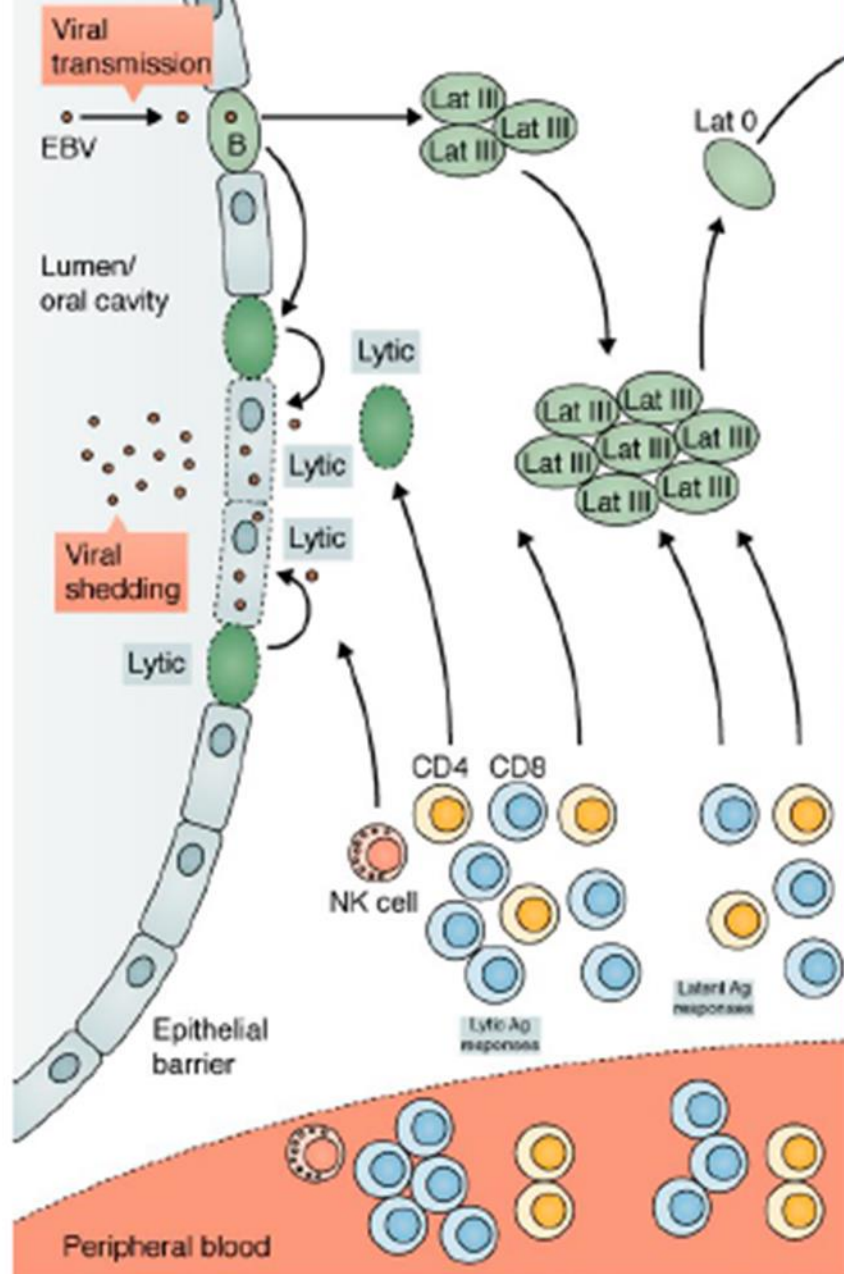
Peripheral blood



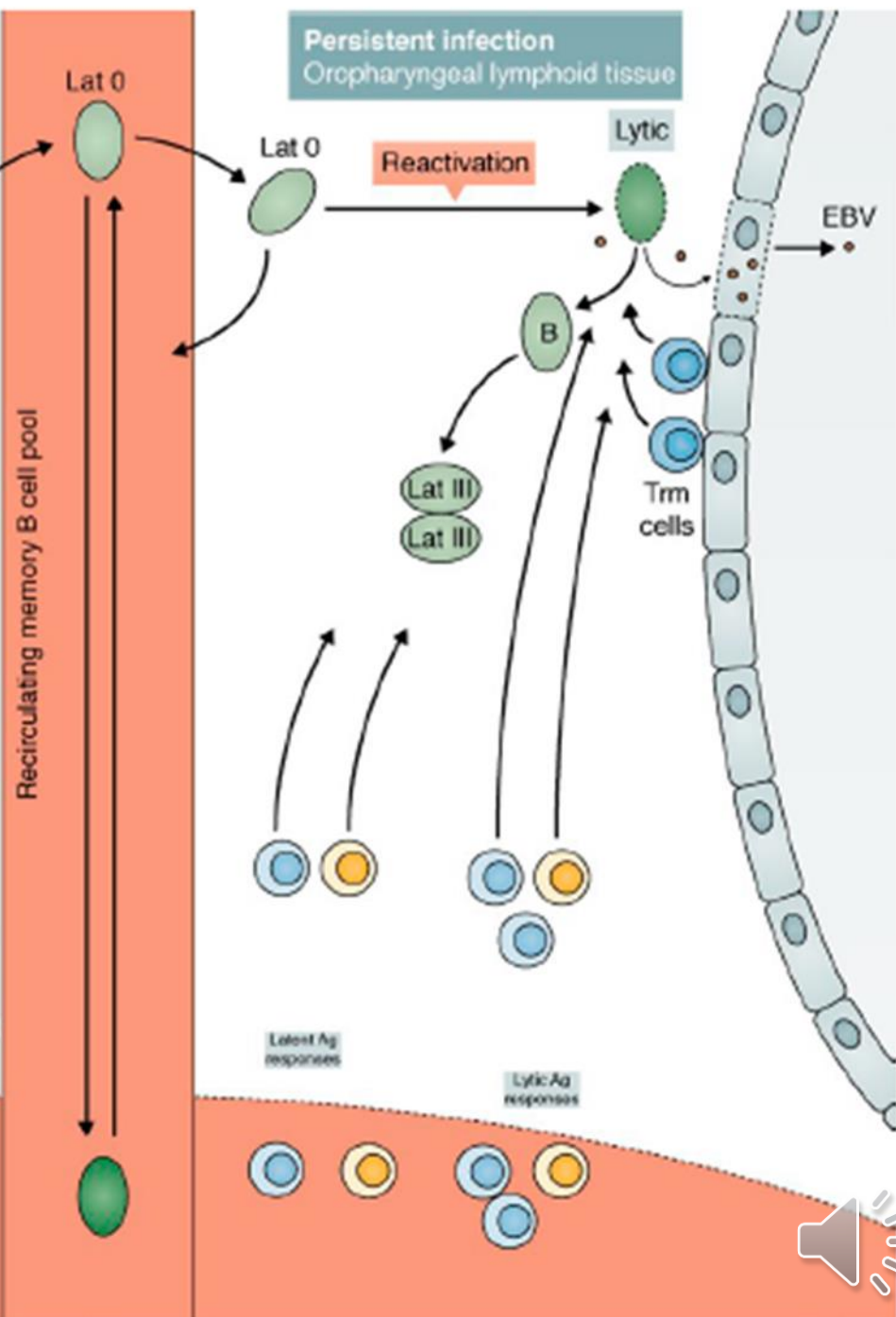
Primary infection
Oropharyngeal lymphoid tissue



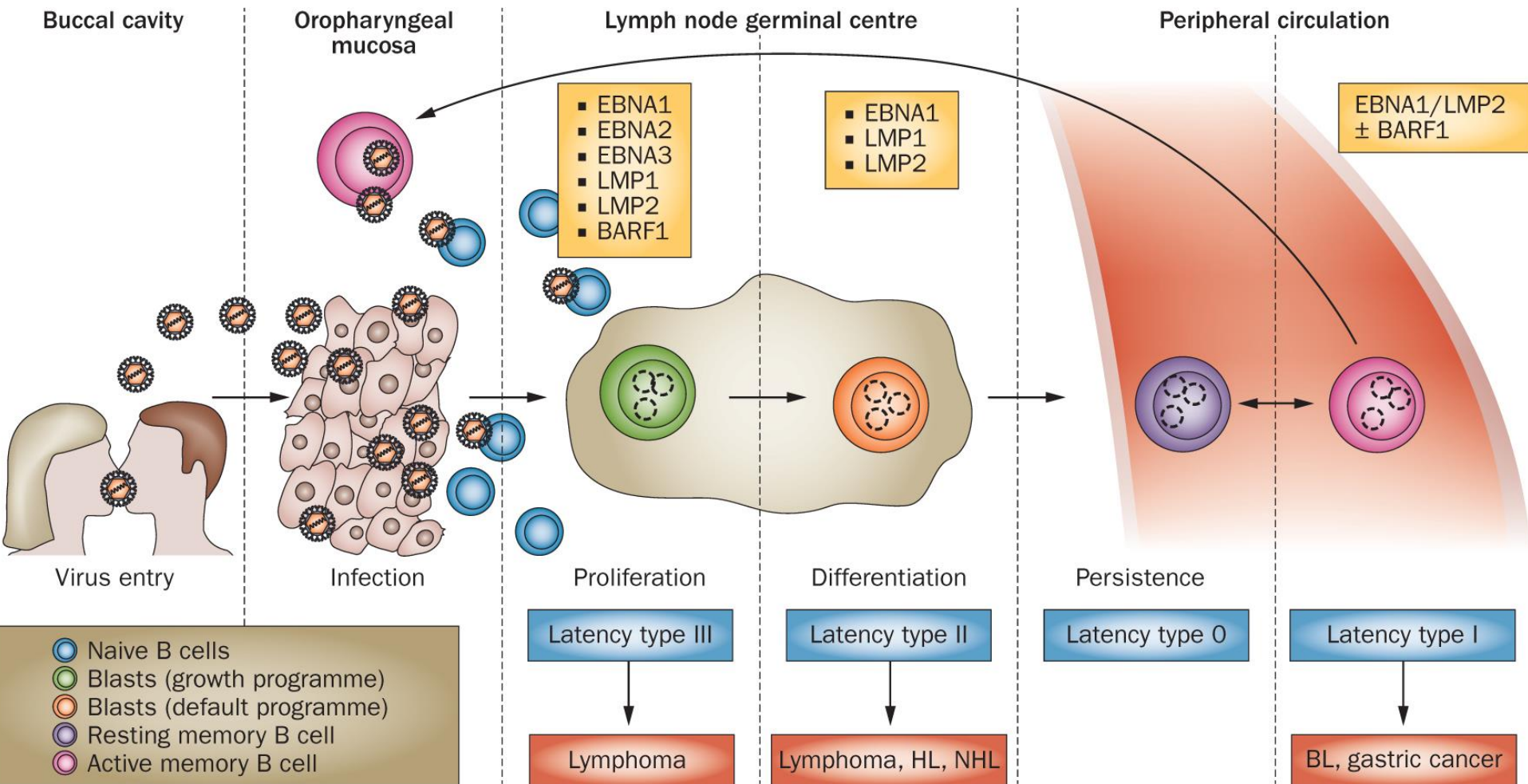
Primary infection
Oropharyngeal lymphoid tissue



Persistent infection
Oropharyngeal lymphoid tissue



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



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



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 nasofaríngeo	Indiferenciado (OMS tipo III) Diferenciados (OMS tipo I y II)	100 30-100	I / II
Otros carcinomas indiferenciados tipo nasofaríngeo [#]	En: estómago, región sinonasal En: timo, amígdalas, glándulas salivales, piel, pulmón, cérvix uterino	100 variable	I / II
Carcinoma gástrico	Adenocarcinomas	5-15	I / II
Leiomiomas	En pacientes inmunosuprimidos	100	III / ?



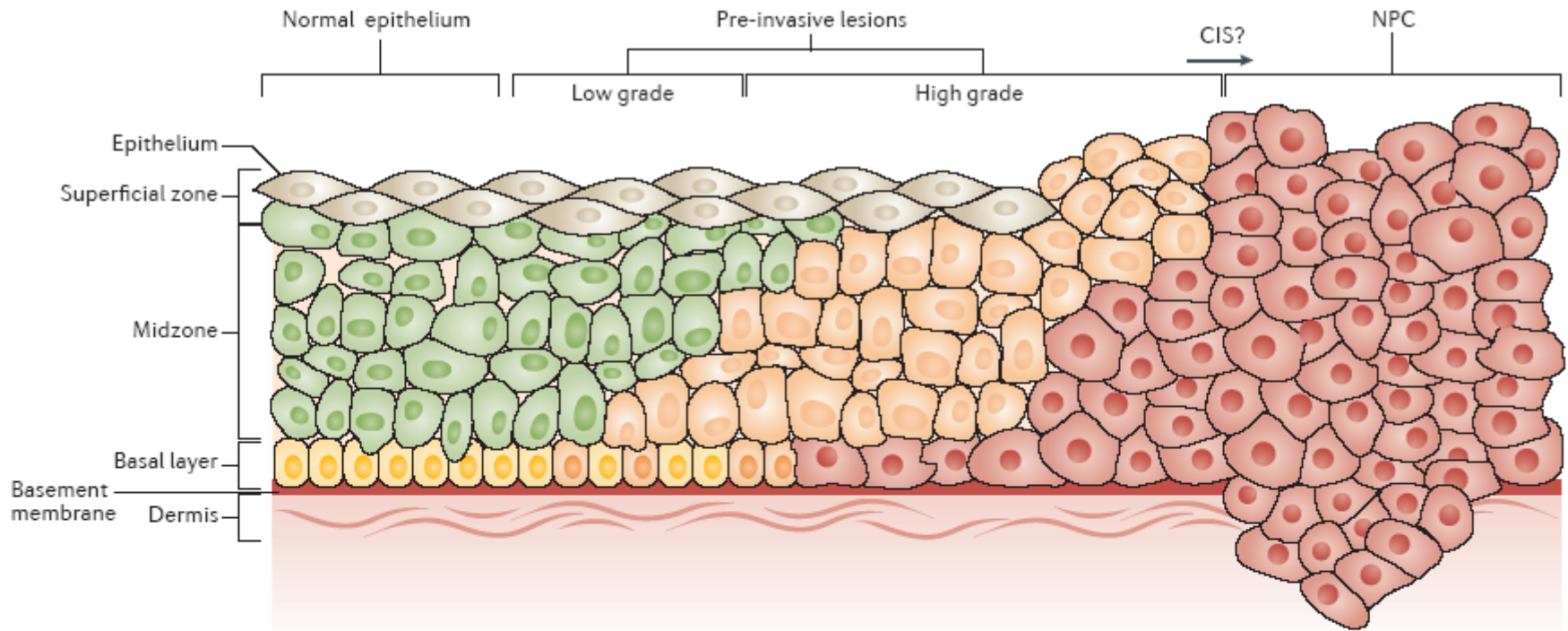
TABLE 1. EXPRESSION OF EBV LATENT GENES IN DISEASE. *

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, infec- tious 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.



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



LATENCIA III

LOH on chromosomes 3p and 9p

Overexpression of CCND1 and BCL-2; increased telomerase activity

Inactivation of *RASSF1A*, *RARB2*, *CDKN2A* and *DAPK1*

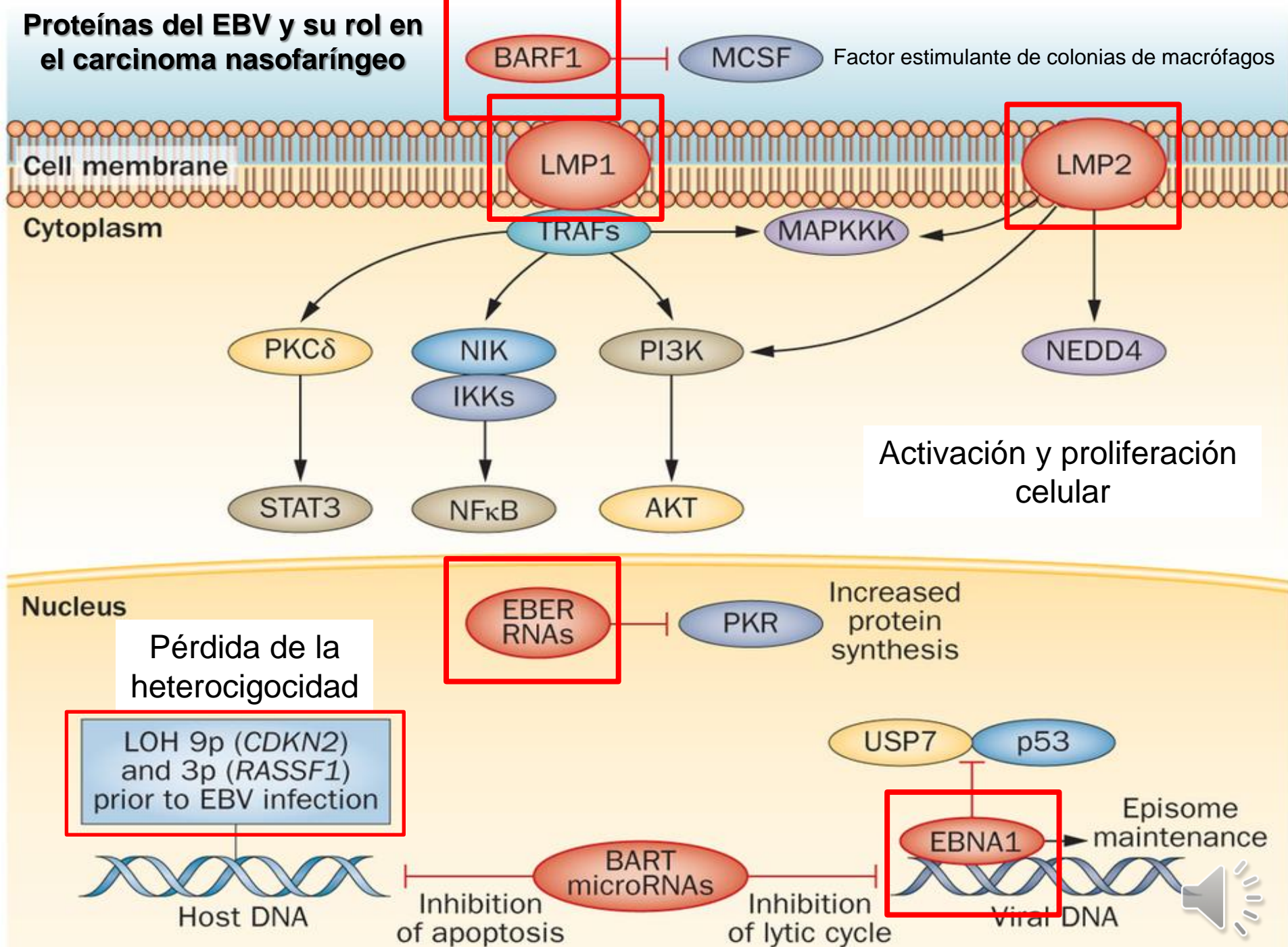
EBV latent infection

LOH on chromosomes 11q, 13q, 14q and 16q

Other genetic changes (for example inactivation of *EDNRB*)

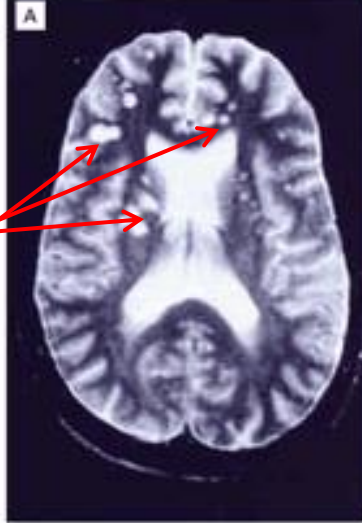


Proteínas del EBV y su rol en el carcinoma nasofaríngeo

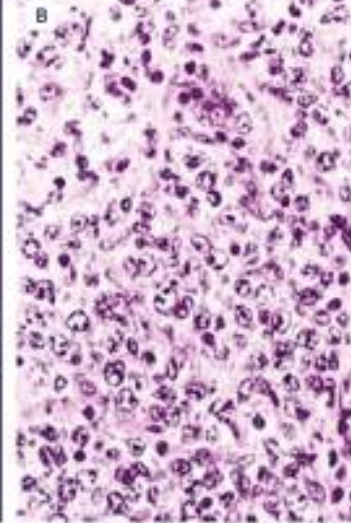


Enfermedad linfoproliferativa en paciente con EBV

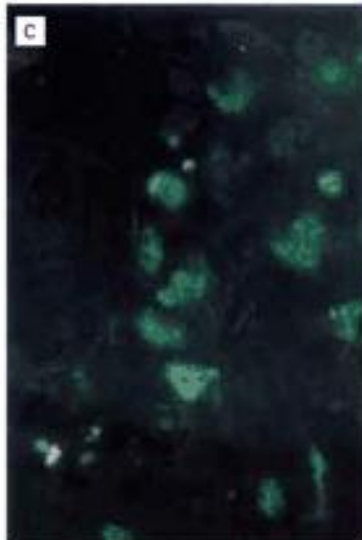
Múltiples
nódulos en
cerebro



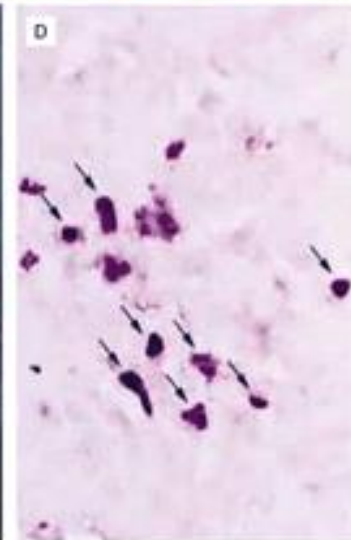
Linfoma inmunoblástico
en tejido perirrenal



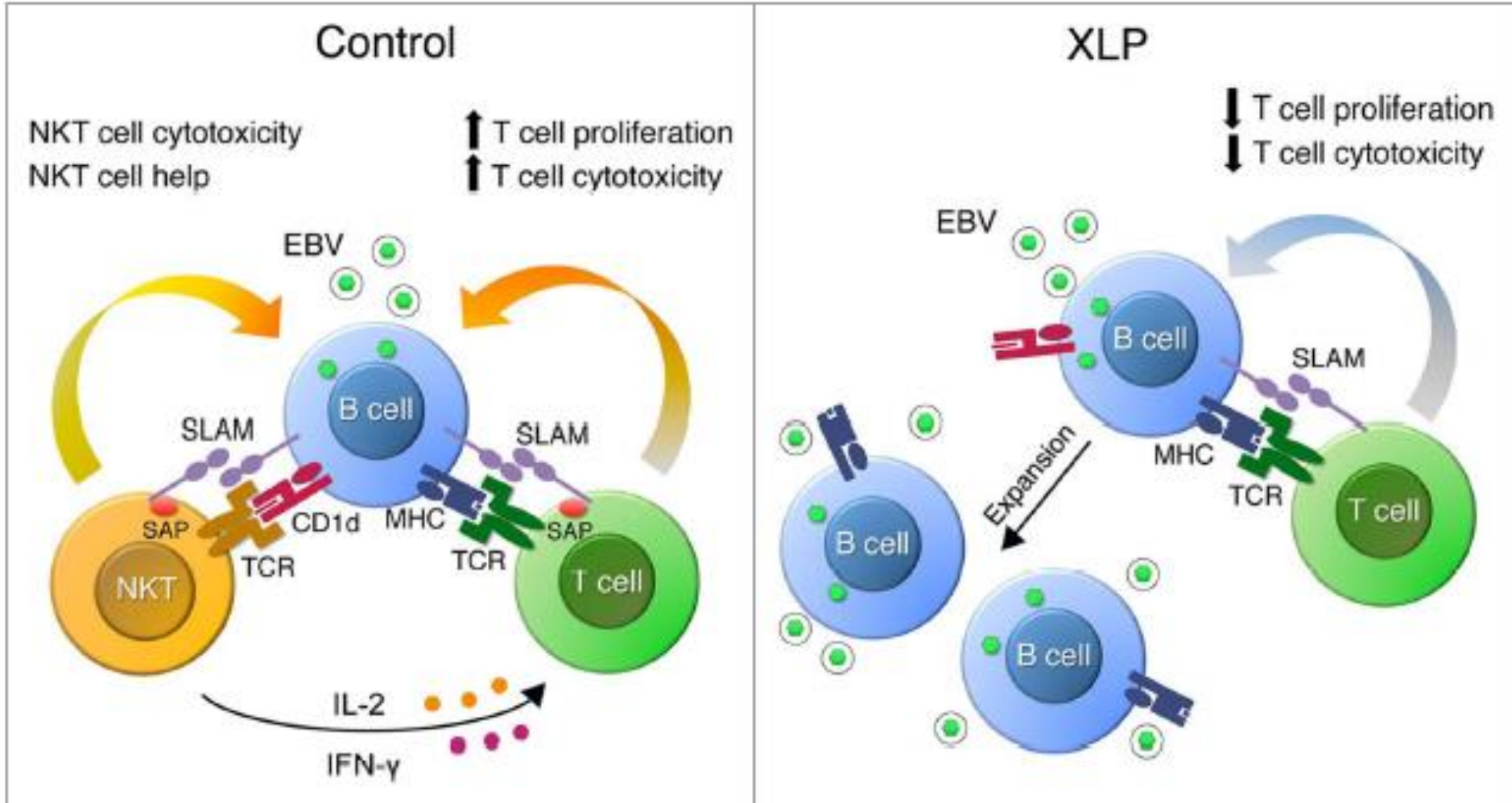
Detección de Ag
EBNA-2
(IF)



Detección de
EBER
(*Epstein Barr
encoded RNA*)



Síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X (síndrome de Duncan)



Mononucleosis infecciosa Fulminante
Linfomas (25%)

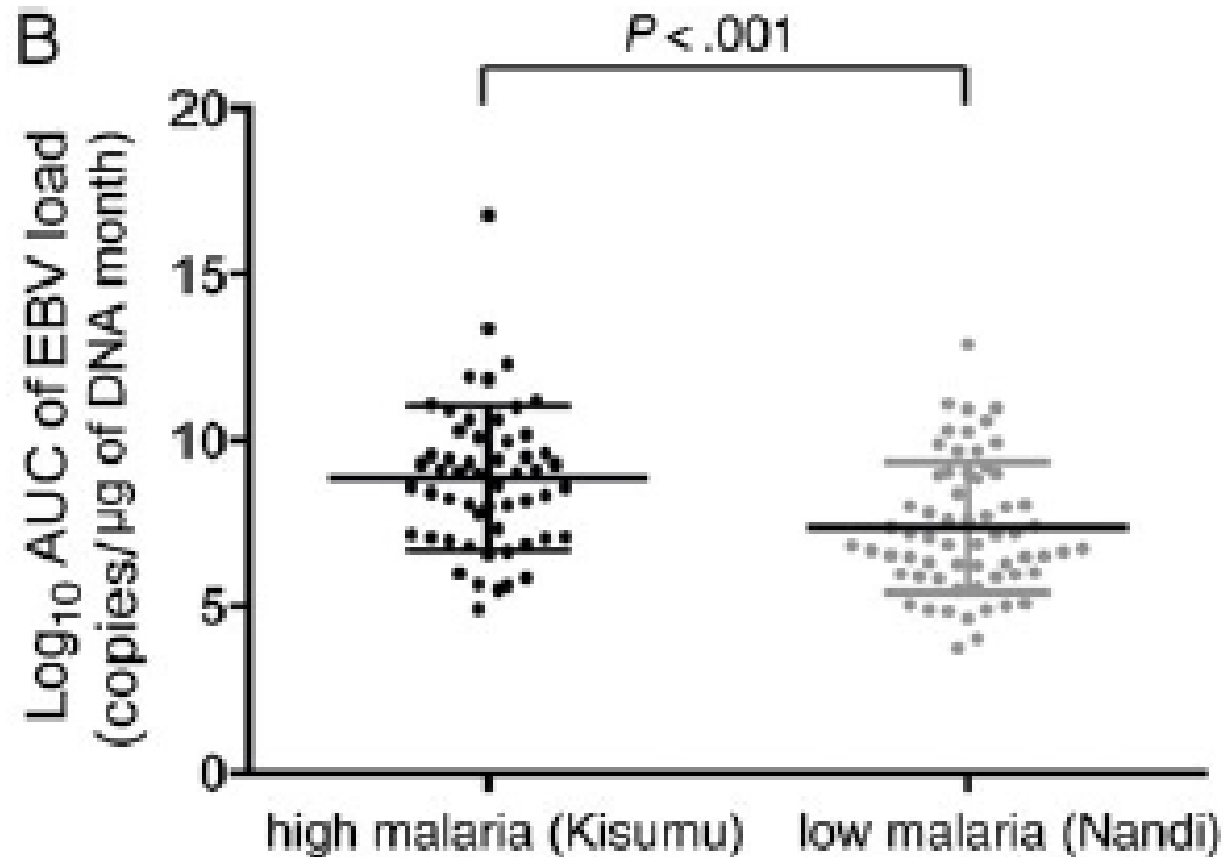


Linfoma de Burkitt endémico...

AFRICAN LYMPHOMA BELT



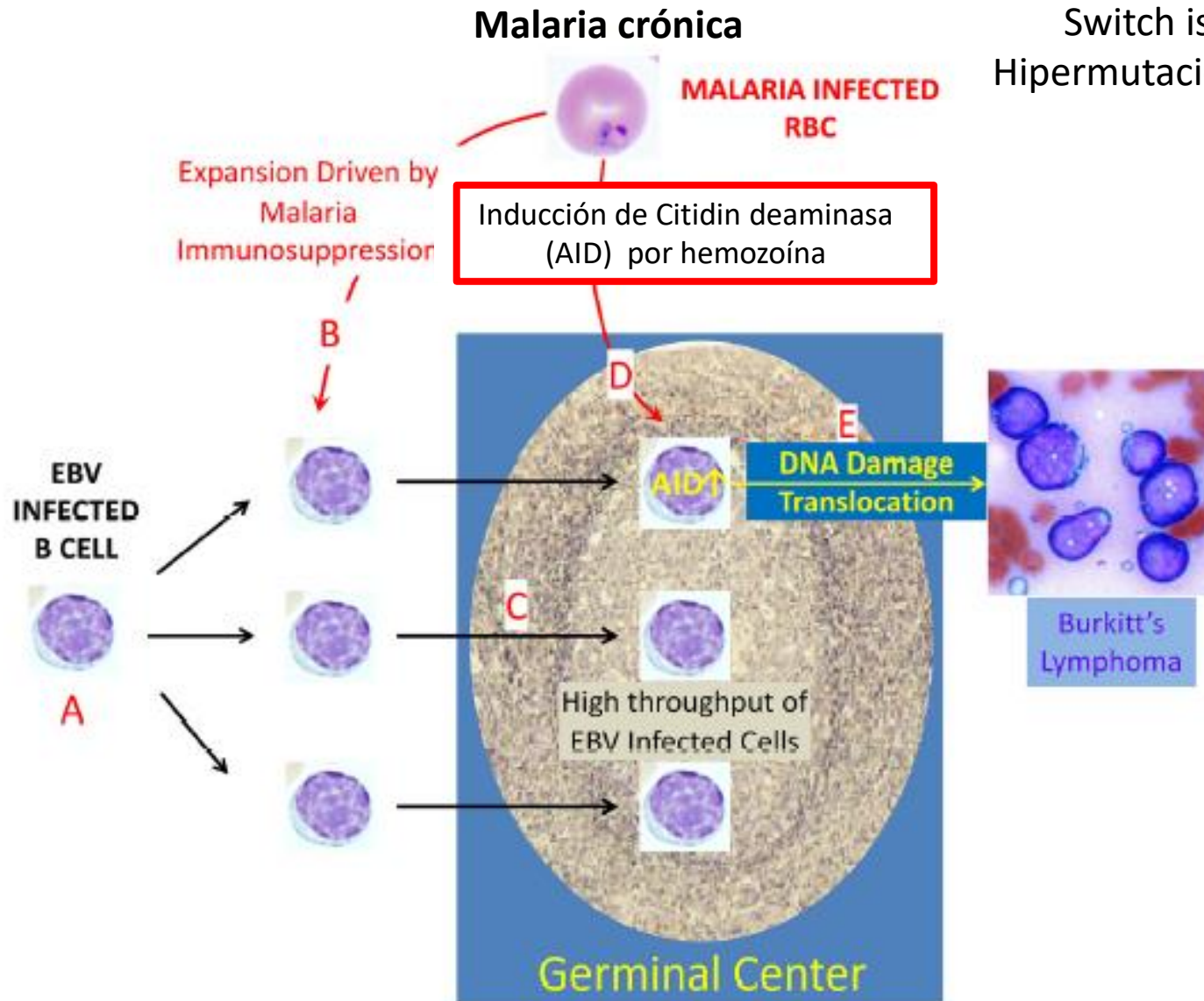
... una asociación entre *Plasmodium falciparum* y EBV ?
(¿Burkitt tenía razón?)



AID - Citidin deaminasa

Switch isotópico.

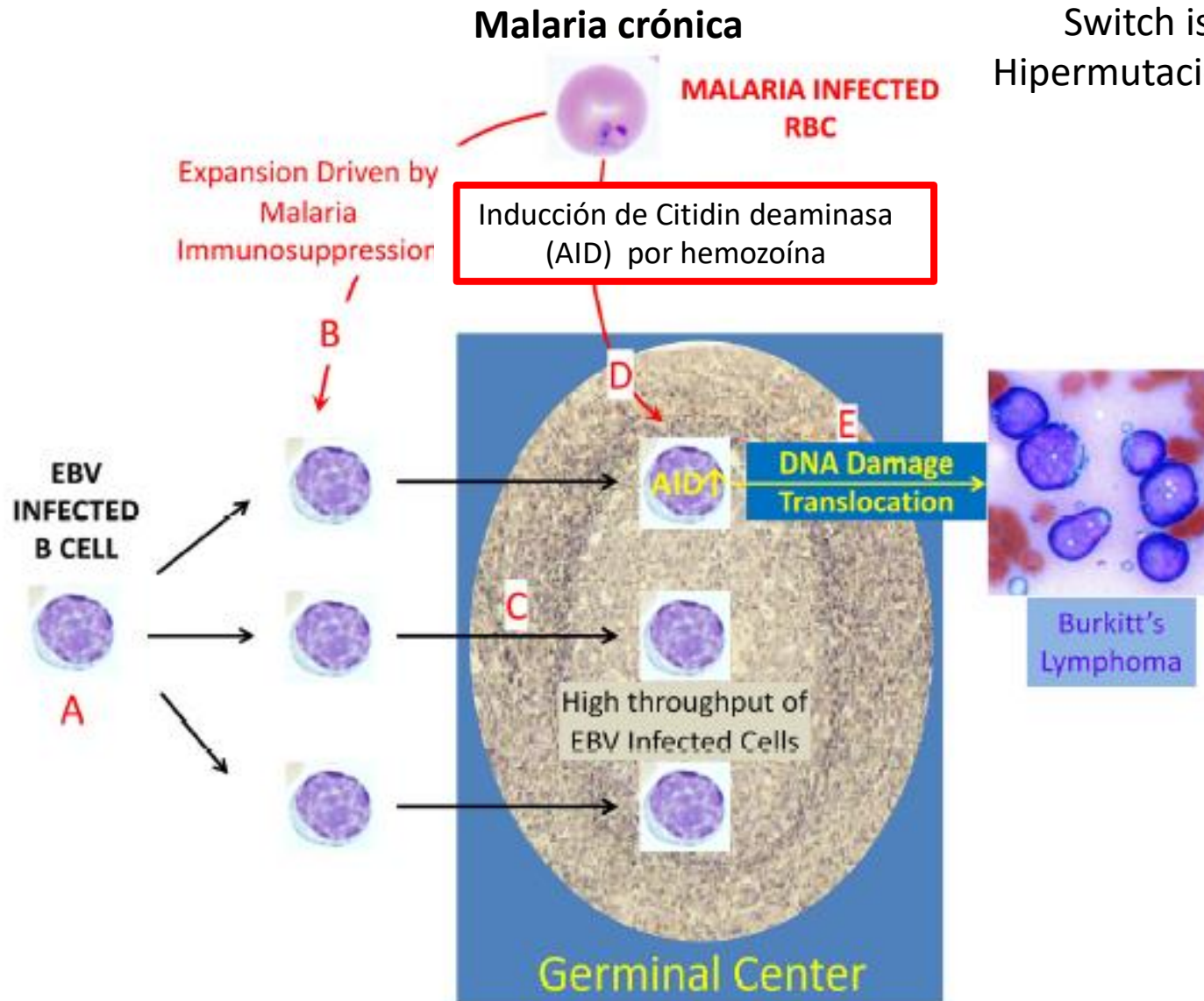
Hipermutación somática



AID - Citidin deaminasa

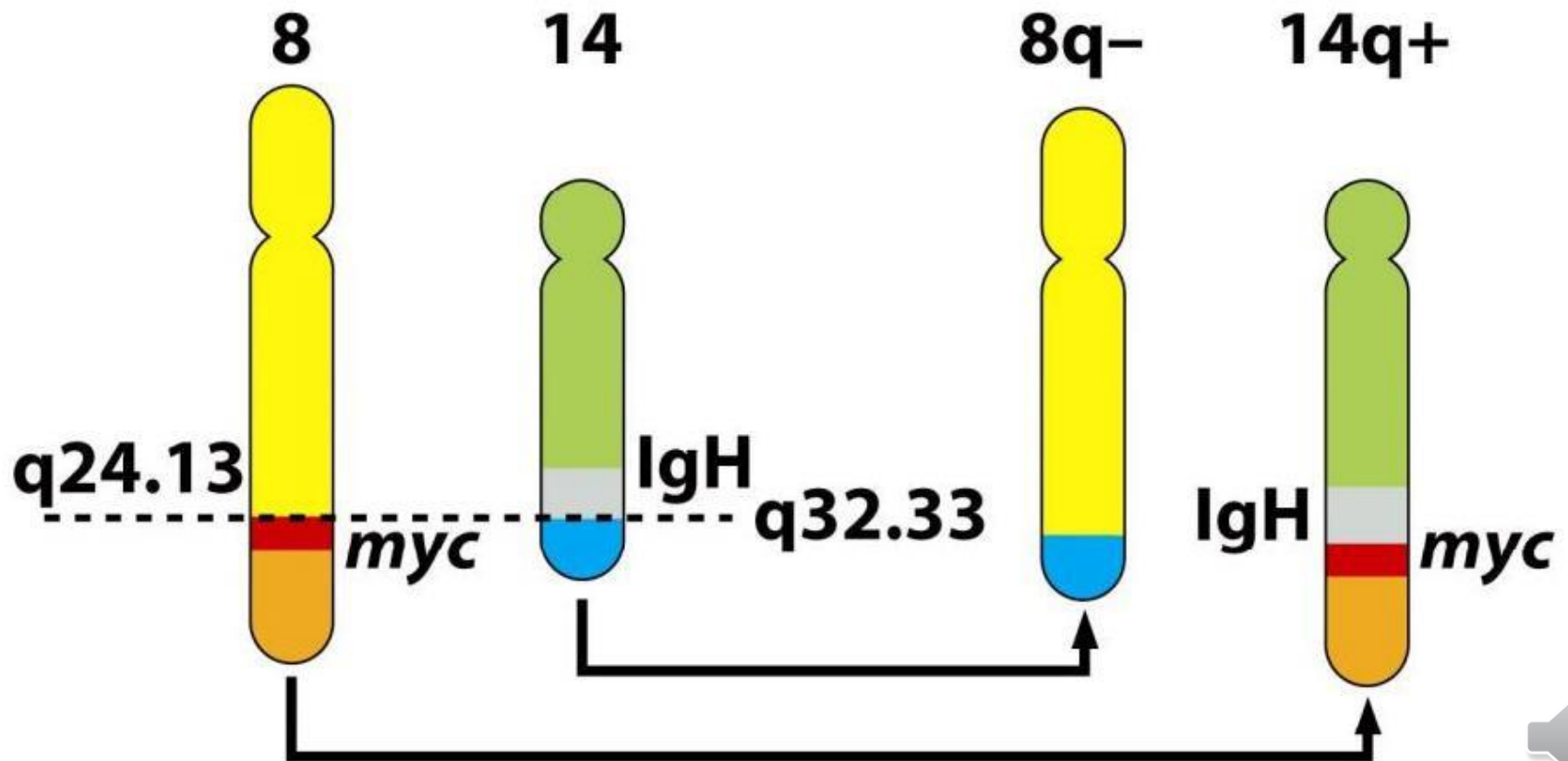
Switch isotópico.

Hipermutación somática

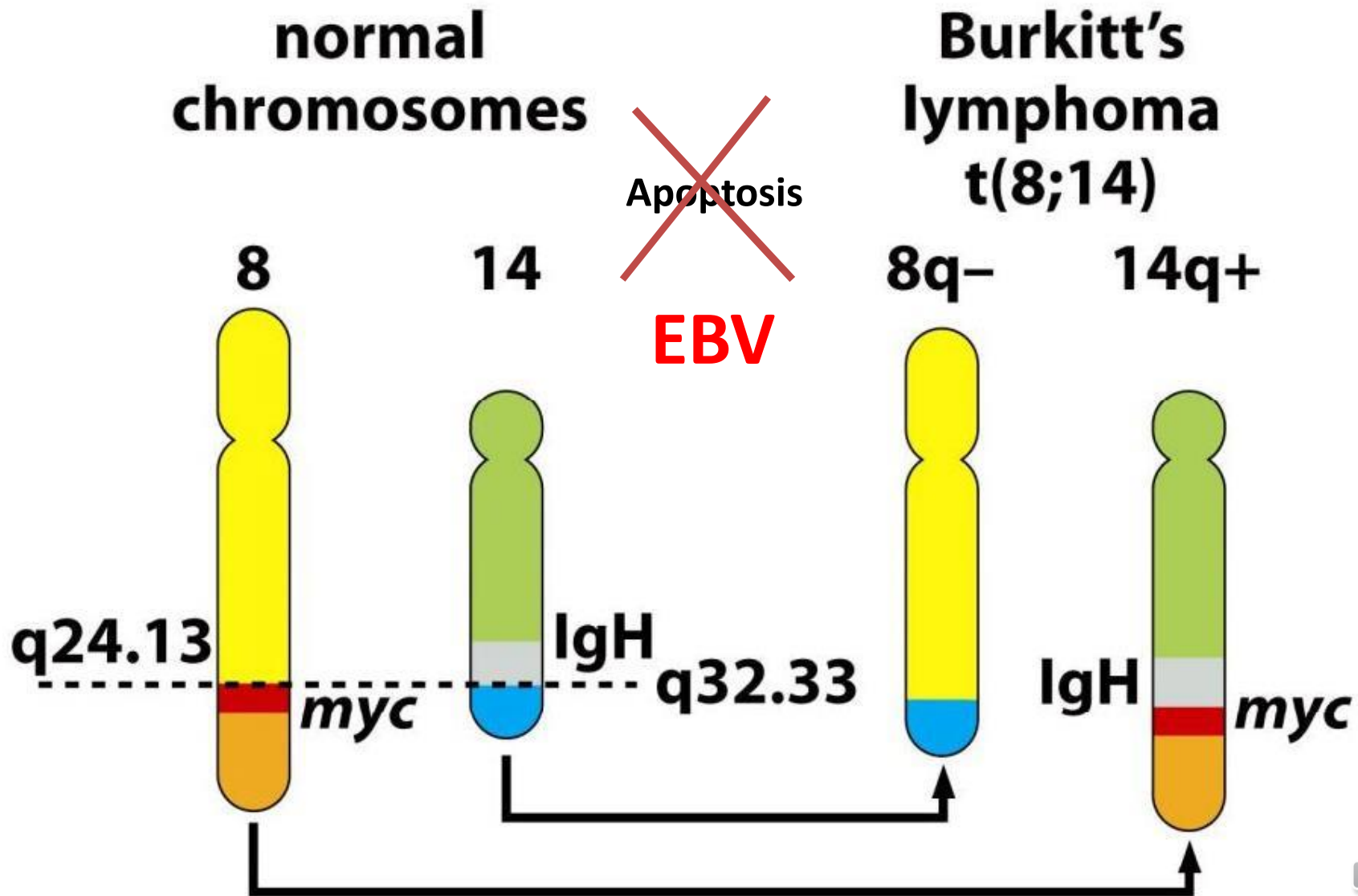


Translocación mediada por AID

Apoptosis!!!!



Translocación mediada por AID



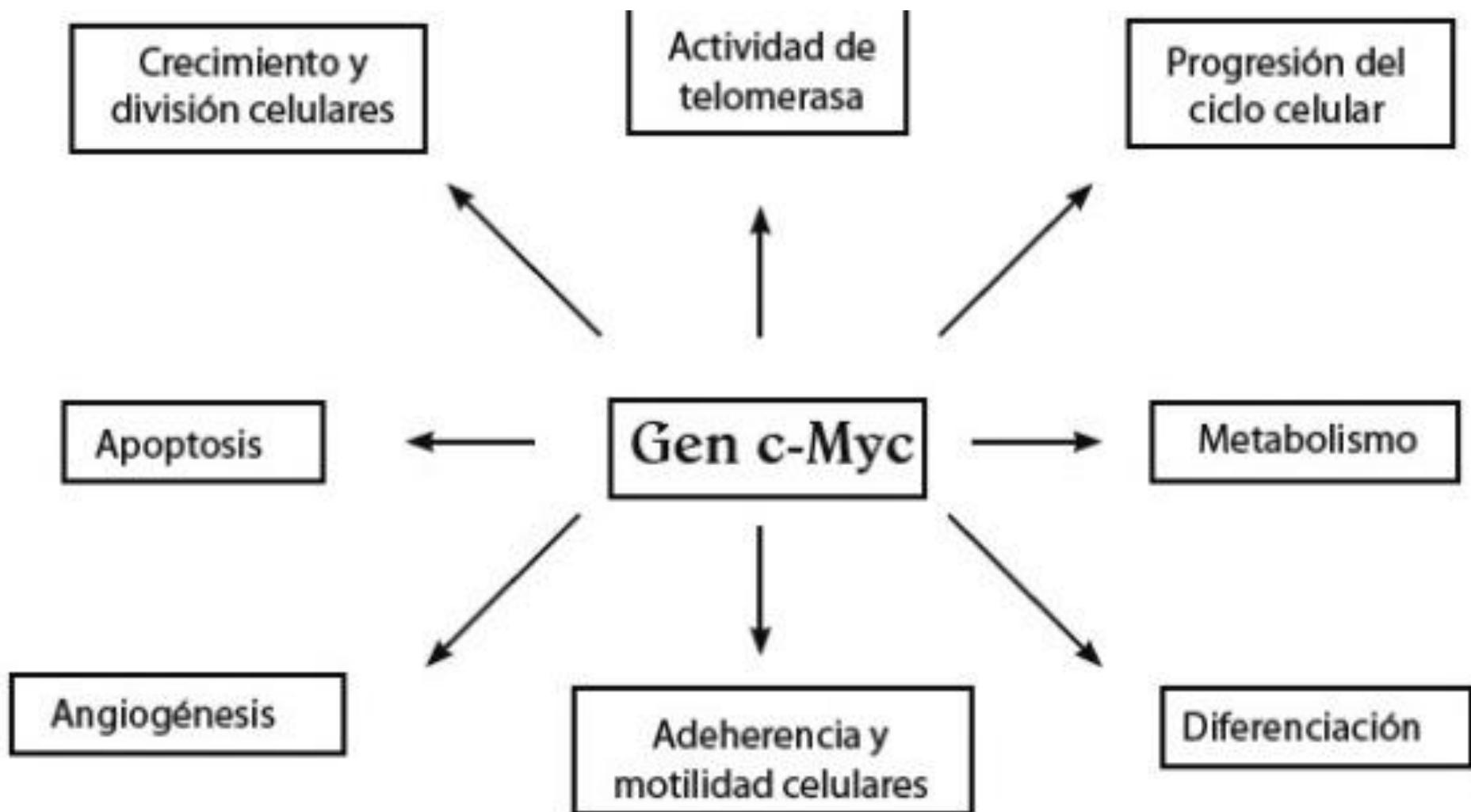


Figura 1. Diagrama que representa las diversas funciones celulares en las que participa el gen c-Myc



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

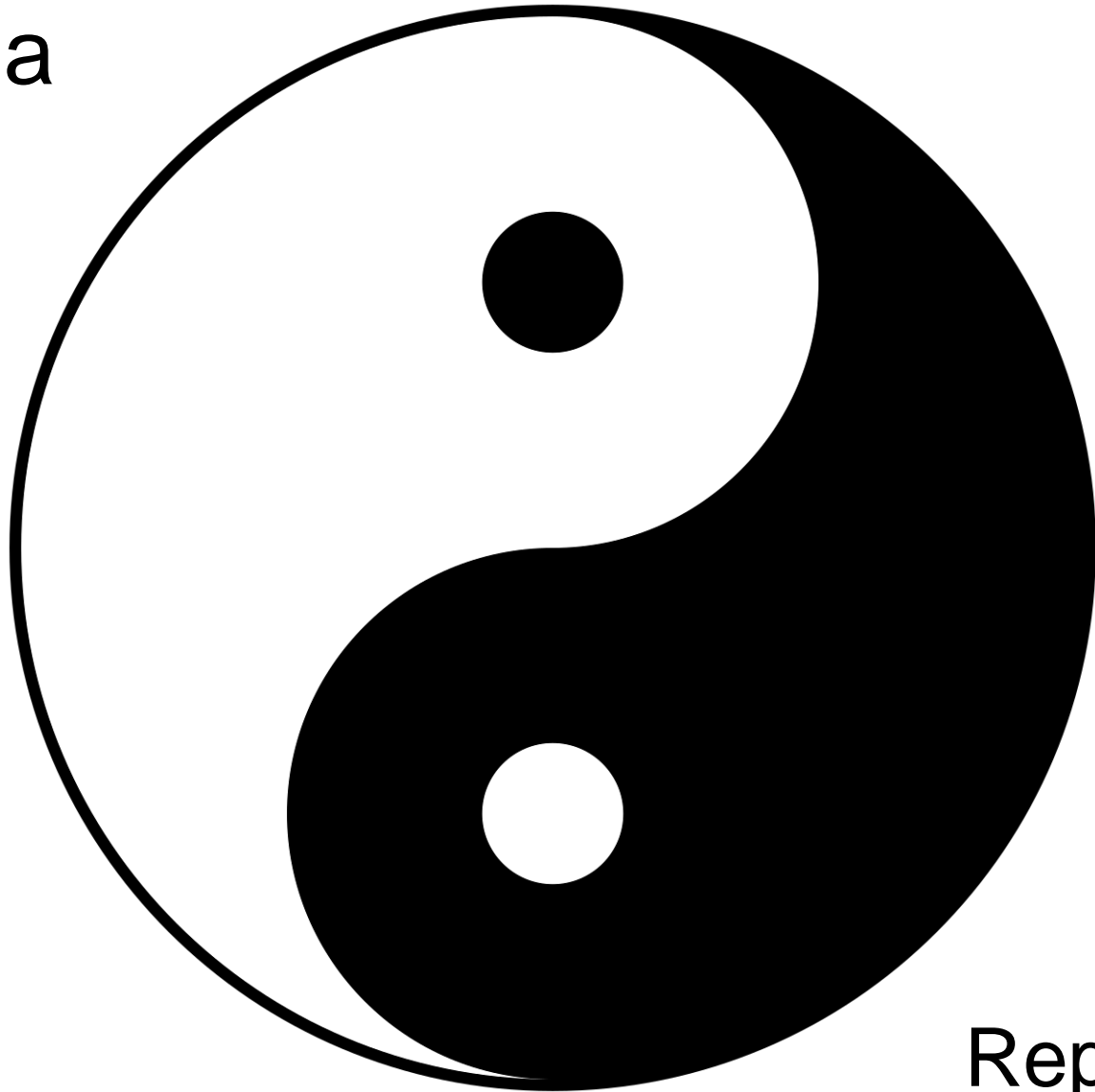
By LAWRENCE K. ALTMAN

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

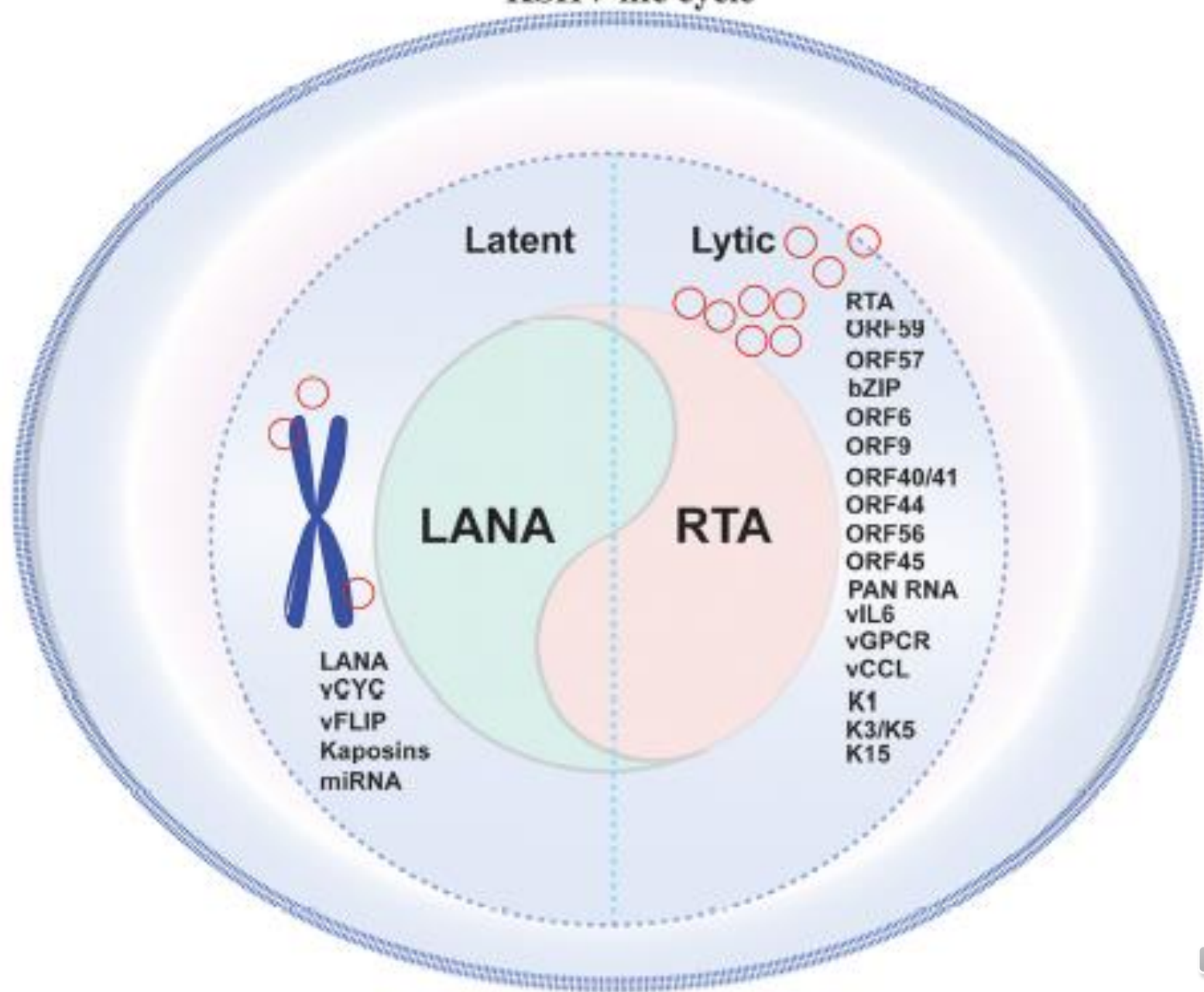


Latencia



Replicación

KSHV life cycle



LANA: Latency-associated nuclear antigen

LANA: Viral ciclin

vFLIP: Viral Fas associated protein

- Facilita la replicación episomal del genoma viral durante la mitosis.
- K12/Kaposinas**
- Interfiere con la replicación viral suprimiendo varias vías de señalización celular.

vCYC: Homólogo a ciclina D

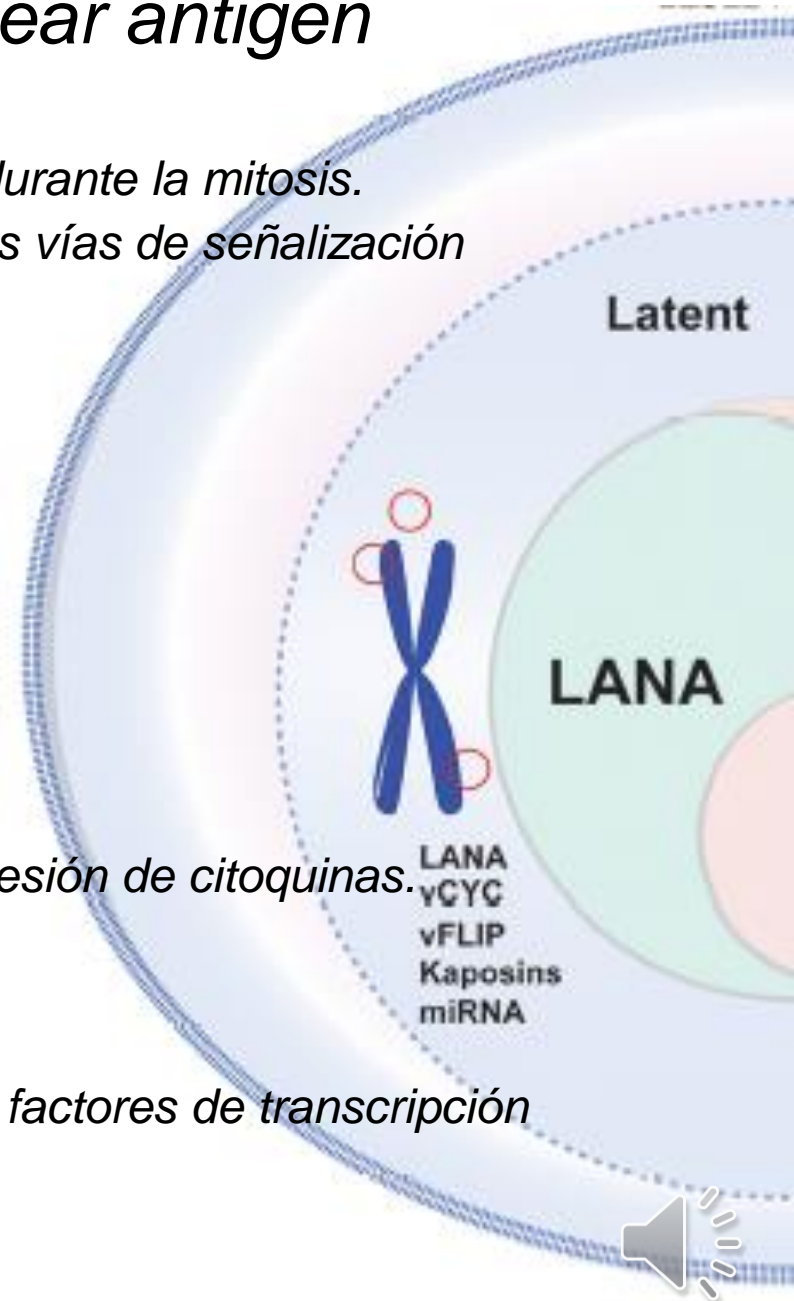
- Promueve la proliferación celular.

vFLIP: Viral Fas associated inhibitor-protein

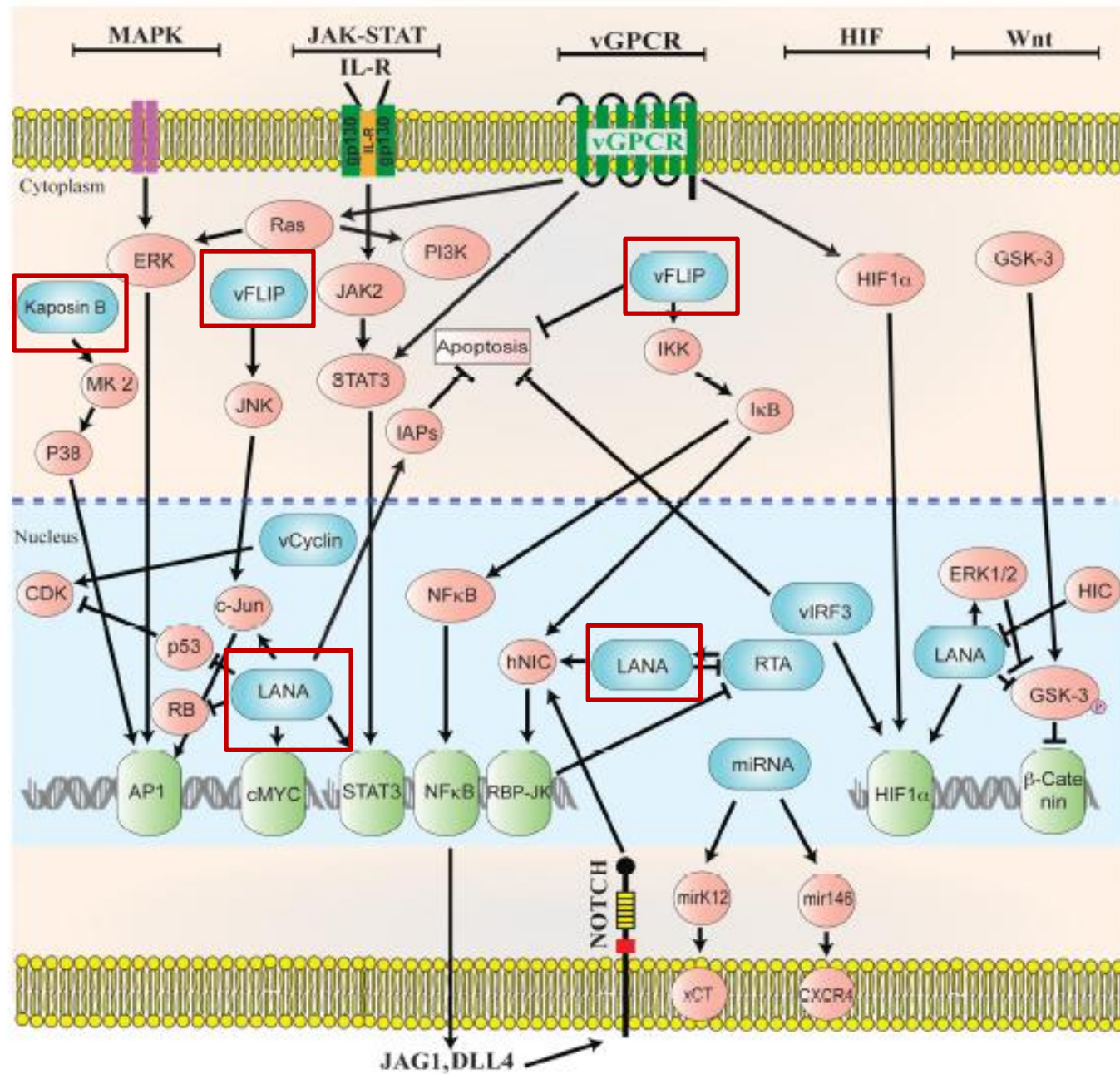
- Regulador de la apoptosis

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

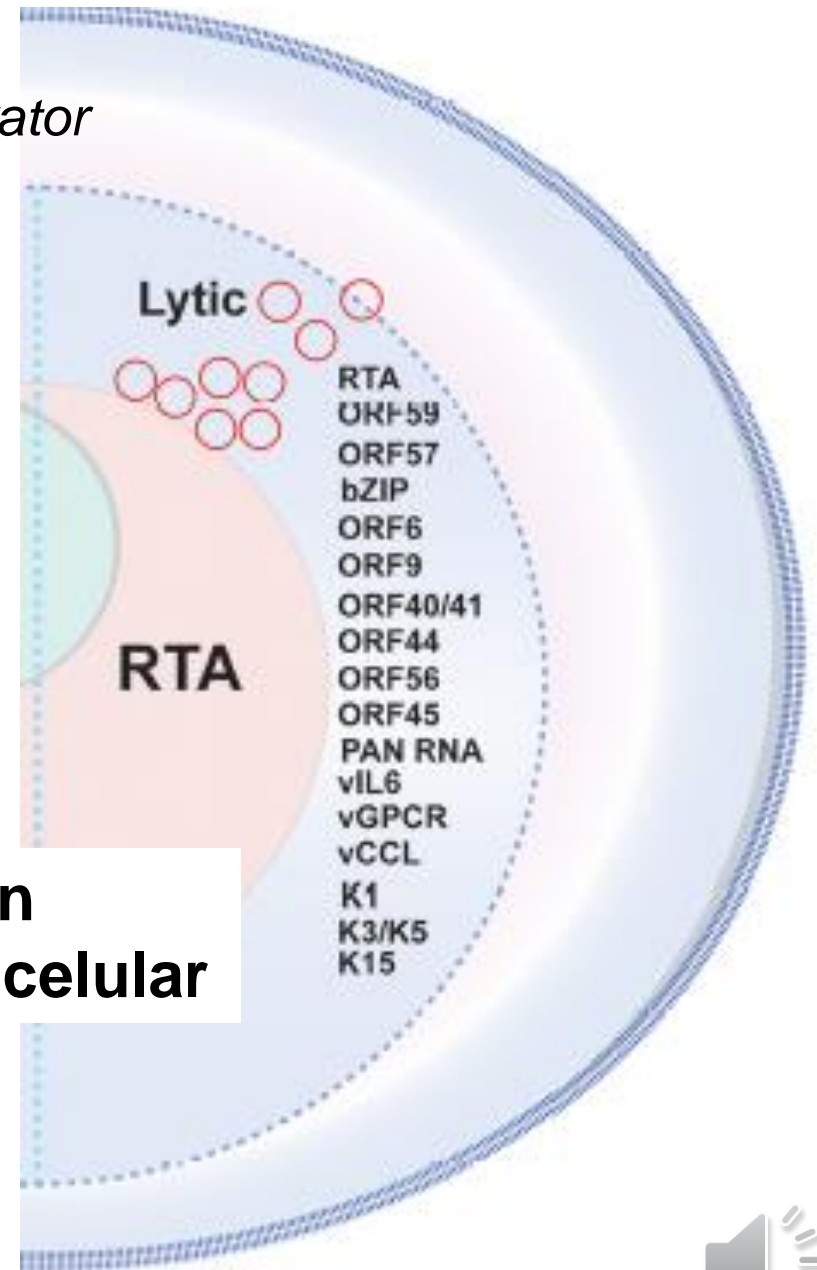
miRNAs: 18 miRNAs que reprimen la expresión de factores de transcripción celular y viral.



Mantenimiento de la latencia



RTA: *Replication and transcription activator*



**La reactivación de la replicación
contribuye a la transformación celular**

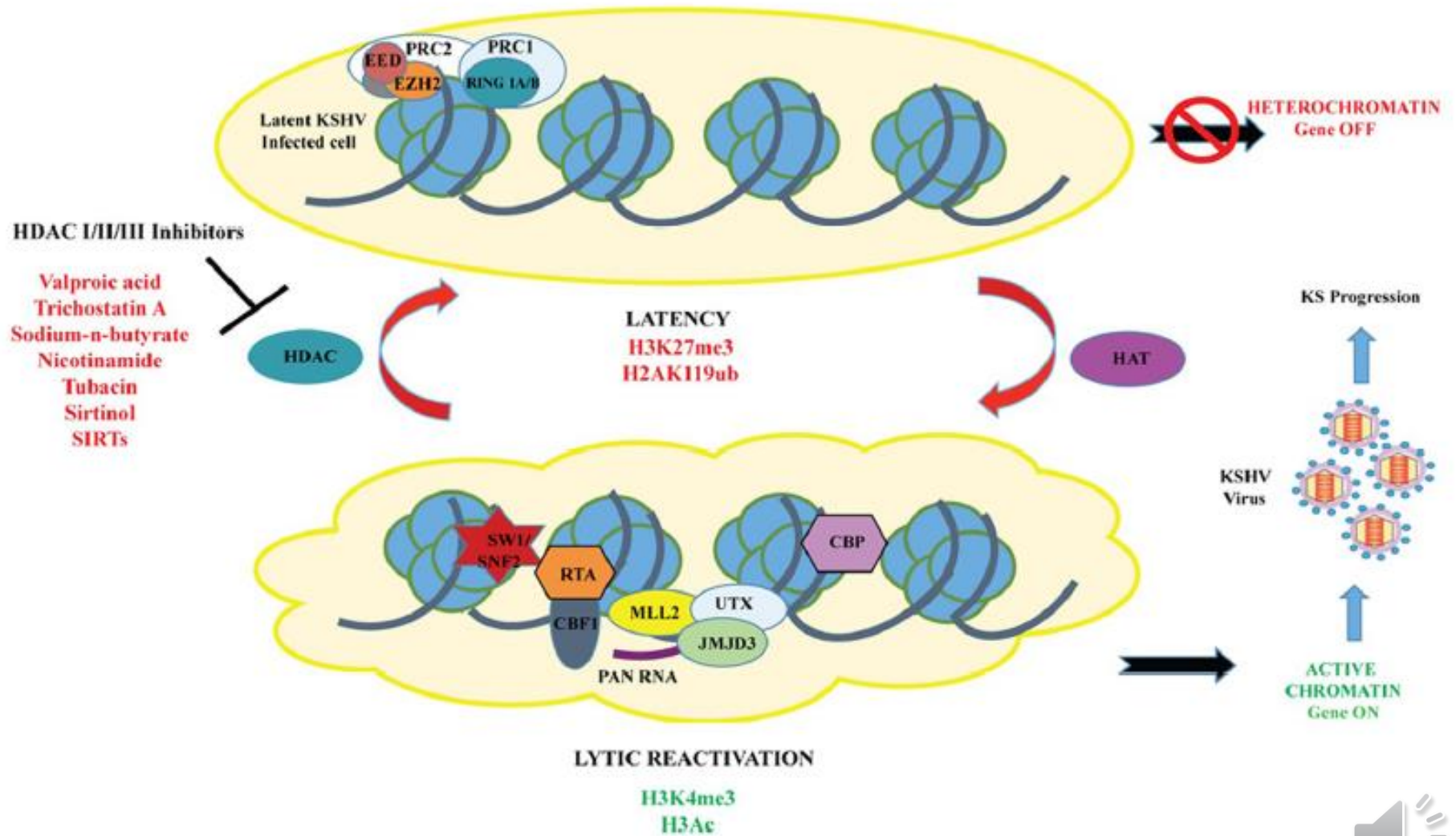


Factores virales asociados a la modulación inmune y patogénesis en la activación de la replicación viral

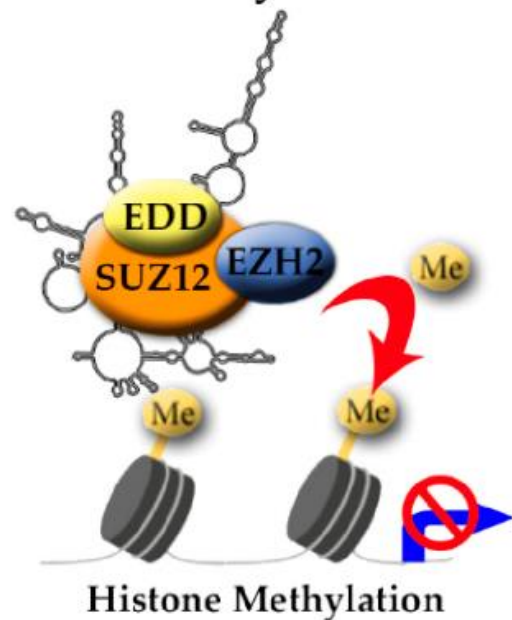
vIL-6	Homólogo de IL-6. Activa JAK-STAT y regula proliferación de linfocitos B.
vMIR1/MIR2	Ubiquitina MHC-I, ICAM-I, Teterinas y DC-Sign
vCCLs	Homólogos de MIP 1, 2 y 3. Bloquea receptores de quimiocinas
vIAP	Inhibidor de la apoptosis vía caspasa 3/BCL2
vINF-1	Inhibe señalización vía receptores de INF, 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 poliadenilado que modula la expresión génica



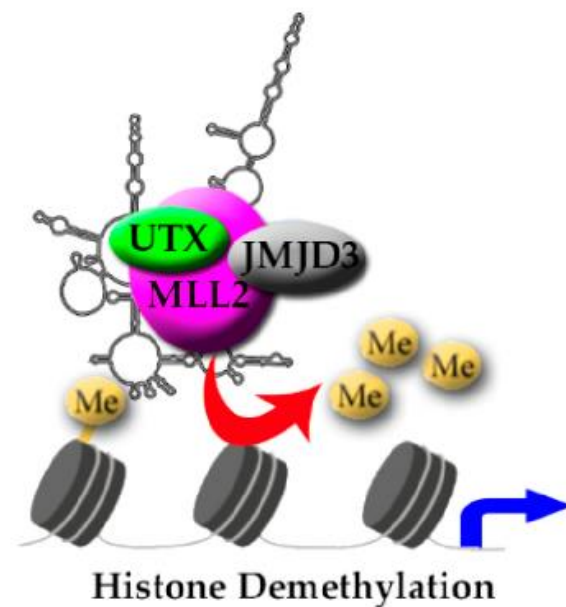
Modelo de reactivación



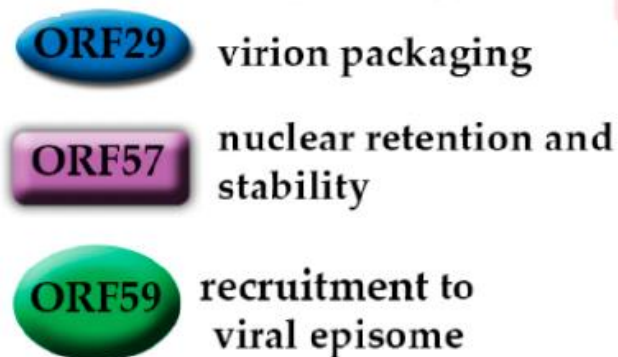
(A) Gene repression through histone methylation



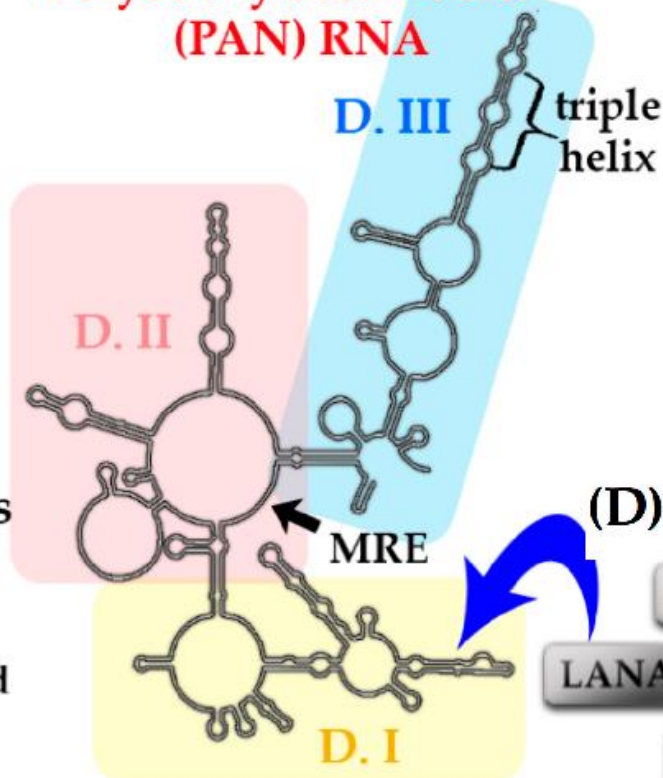
(B) Gene activation through histone demethylation



(C) Scaffolding viral proteins



Polyadenylated nuclear (PAN) RNA



(D) LANA-episome dissociation

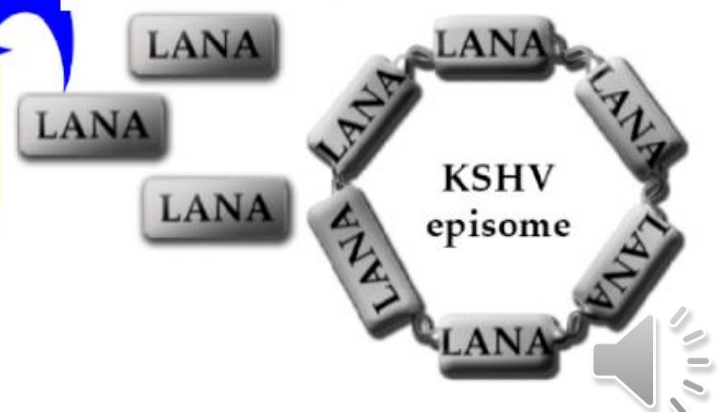
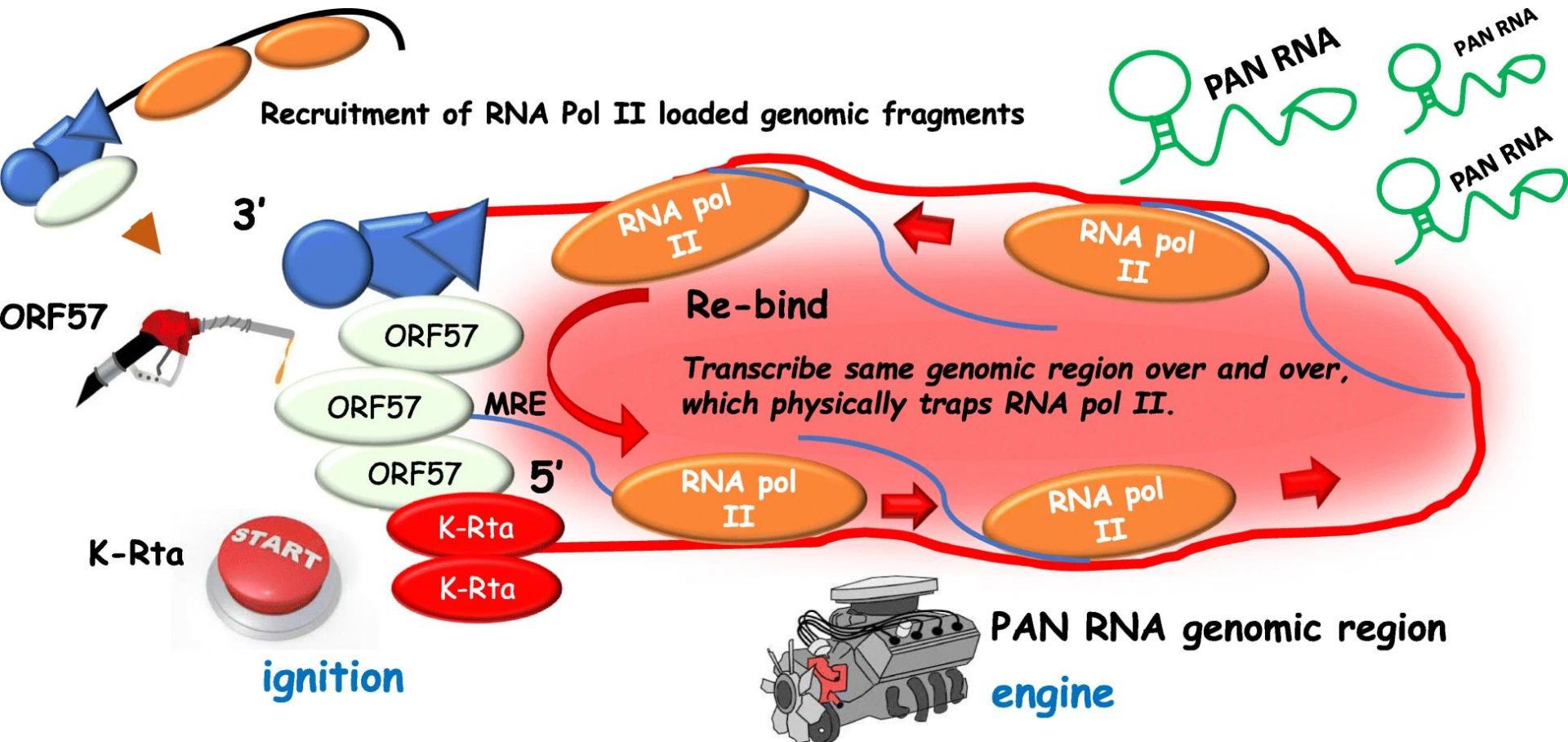
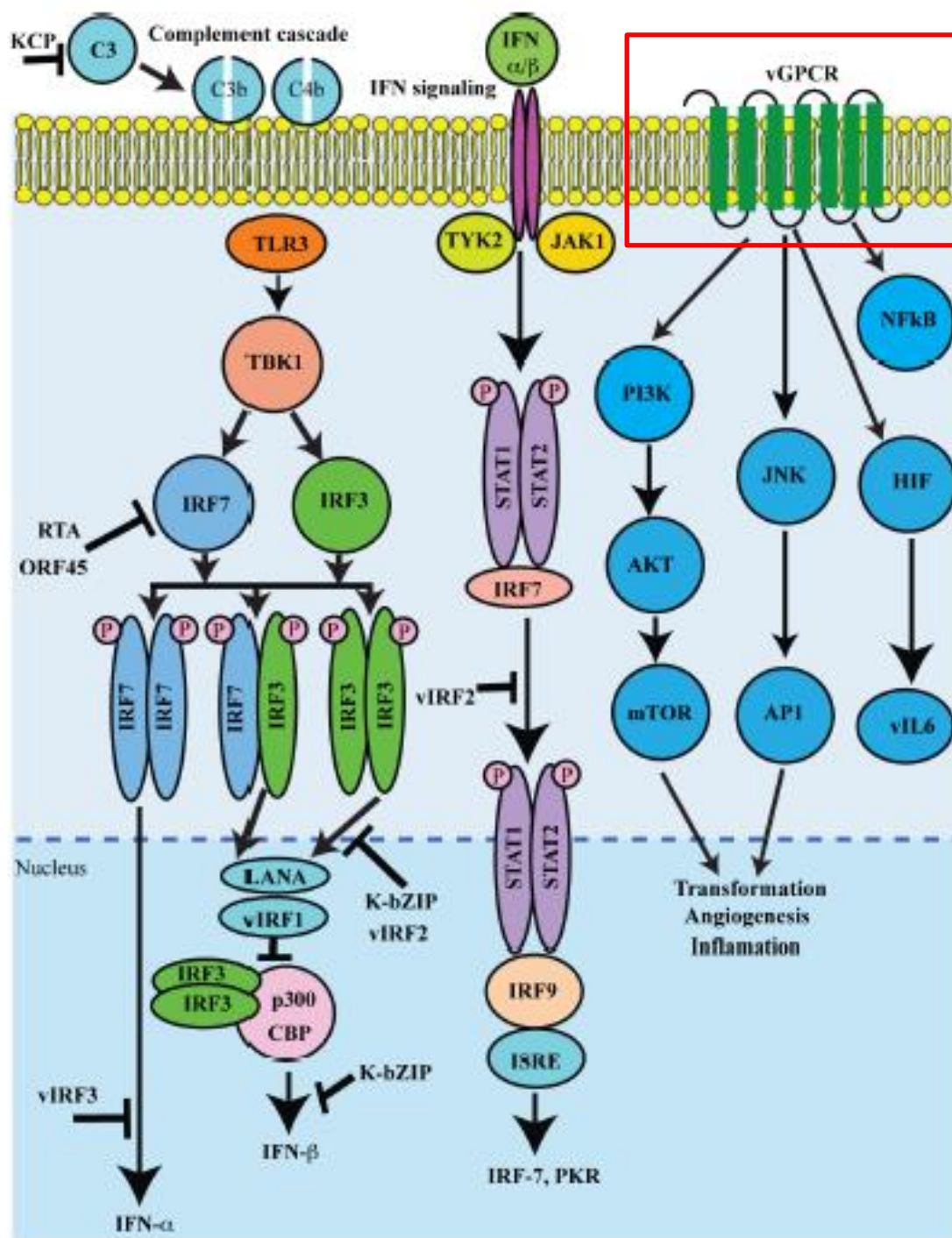


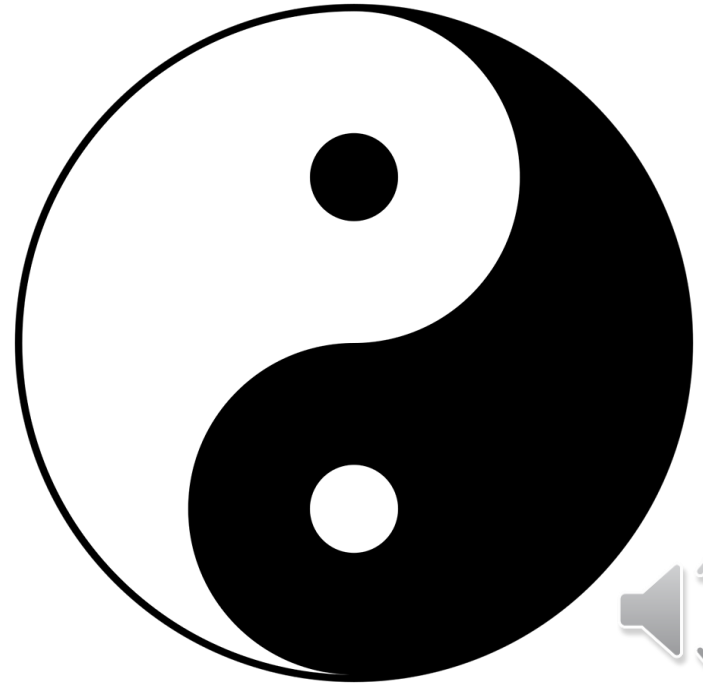
Figure 1. Structure-mediated multi-functionalities of PAN RNA. The RNA domain structure of KSHV PAN RNA is shown. The RNA is a triple helix structure, with regions D.I, D.II, and D.III highlighted in yellow, pink, and blue respectively. The MRE (Multiple Repeat Element) is indicated by an arrow. The LANA-episome dissociation is shown in (D).





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 (REV)	C-type
Deltaretrovirus	Human T-lymphotropic virus (HTLV)-1, -2, 3, 4 Bovine leukemia virus (BLV)	—
Epsilonretrovirus	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) Visna/maedi virus	Rod/cone core
Spumavirus	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:**

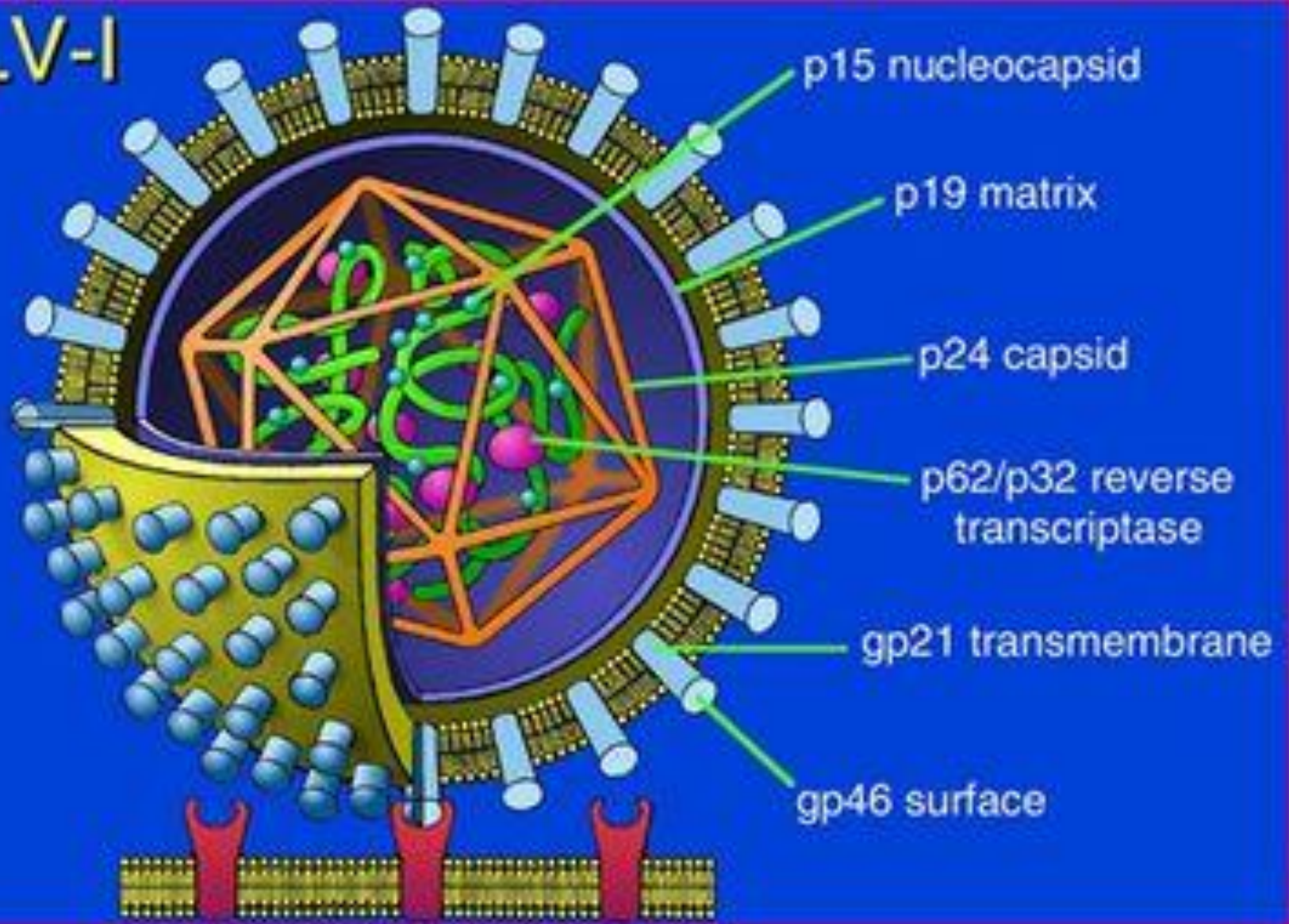
- Enfermedad linfoproliferativa
- Transformación clonal de LT CD4+

- **Síndromes inflamatorios:**

- Mielopatía / Paraparesia Espástica Tropical
- Uveítis
- Artropatías



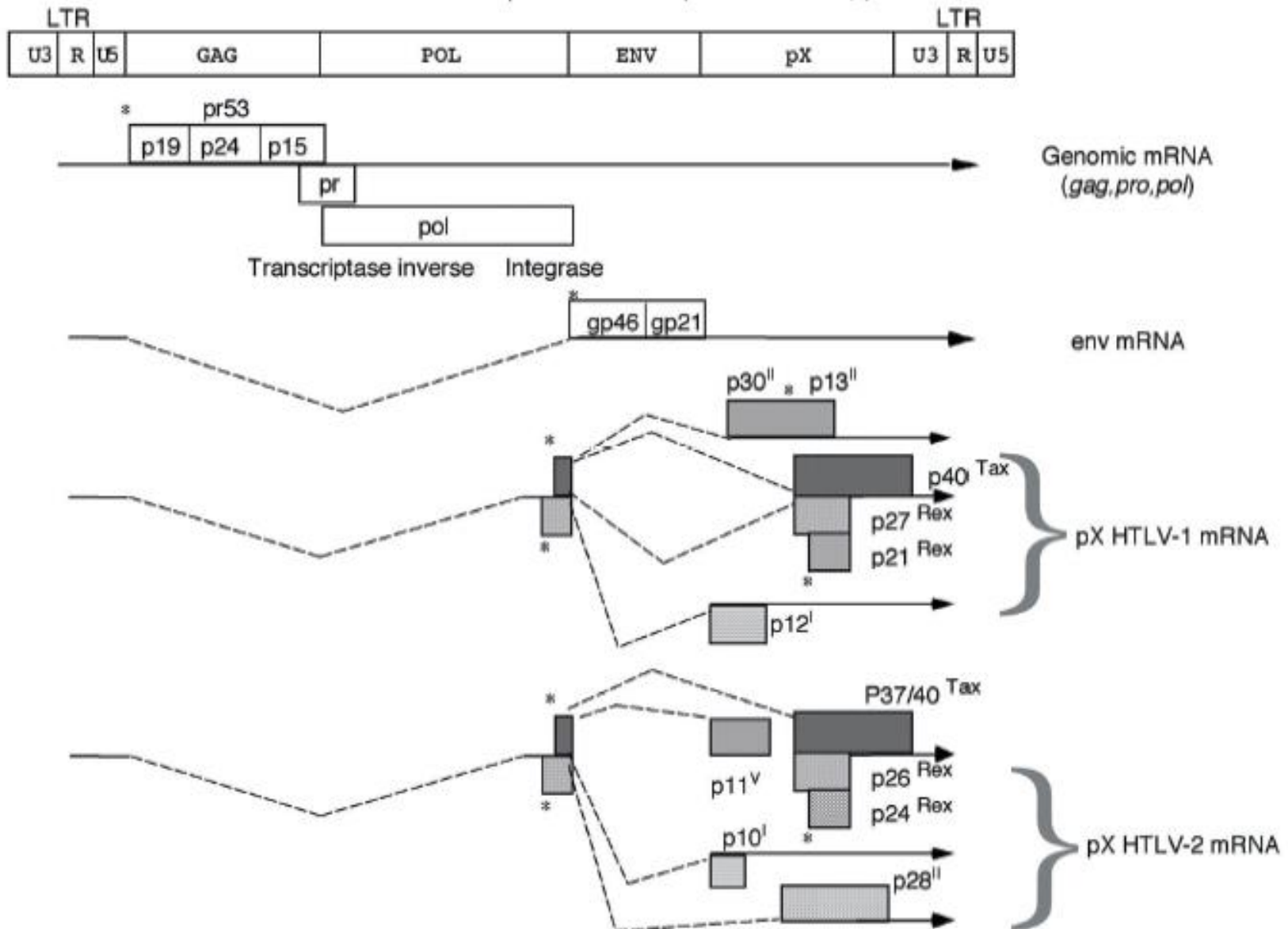
HTLV-I

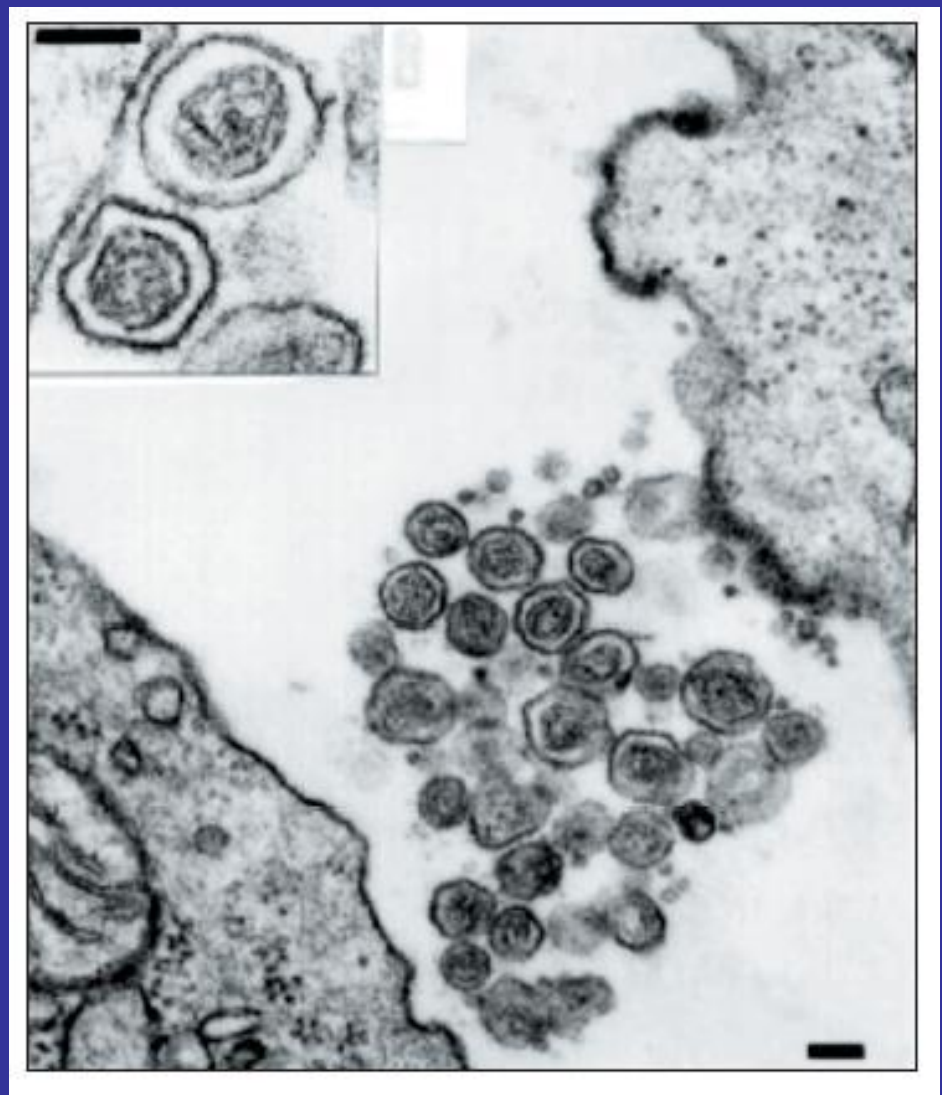
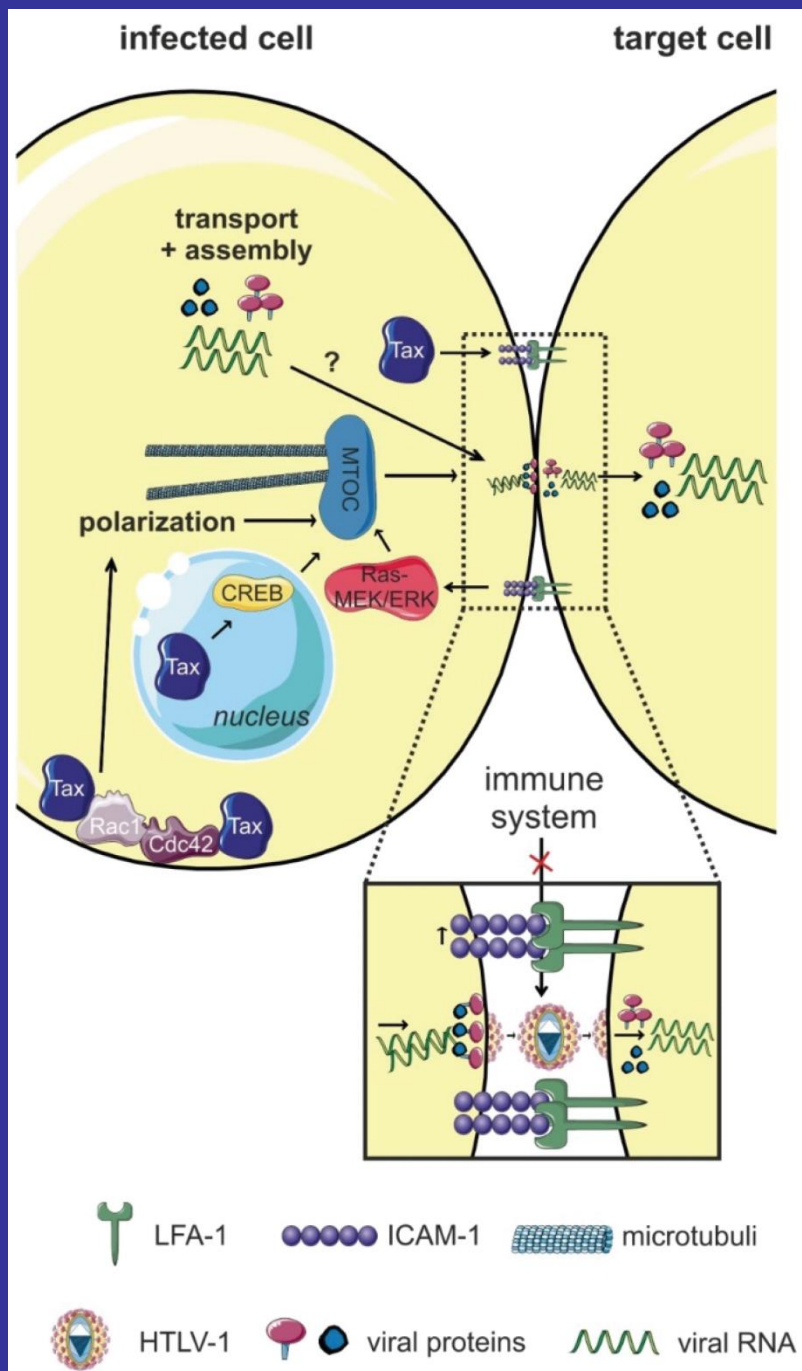


GLUT-1 – Heparán Sulfato – Neuropilina 1



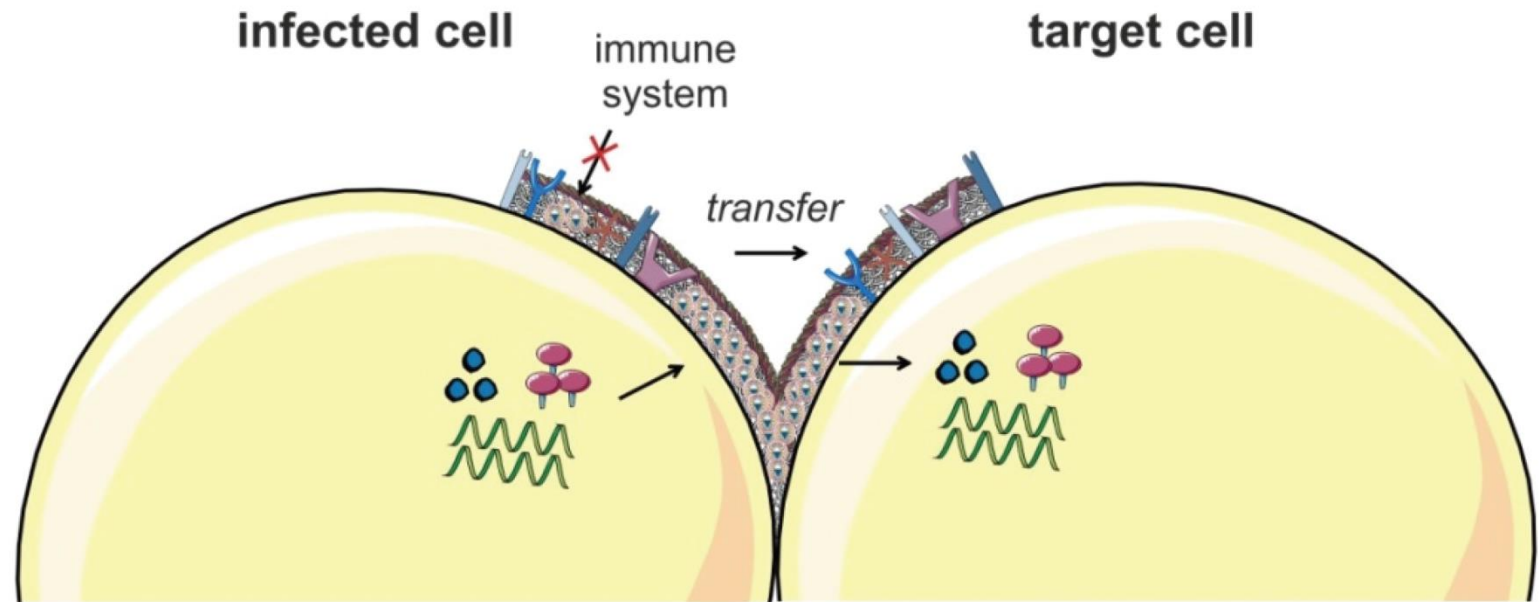
HTLV-1/2 : proviral DNA (9046/ 8952 bp)





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

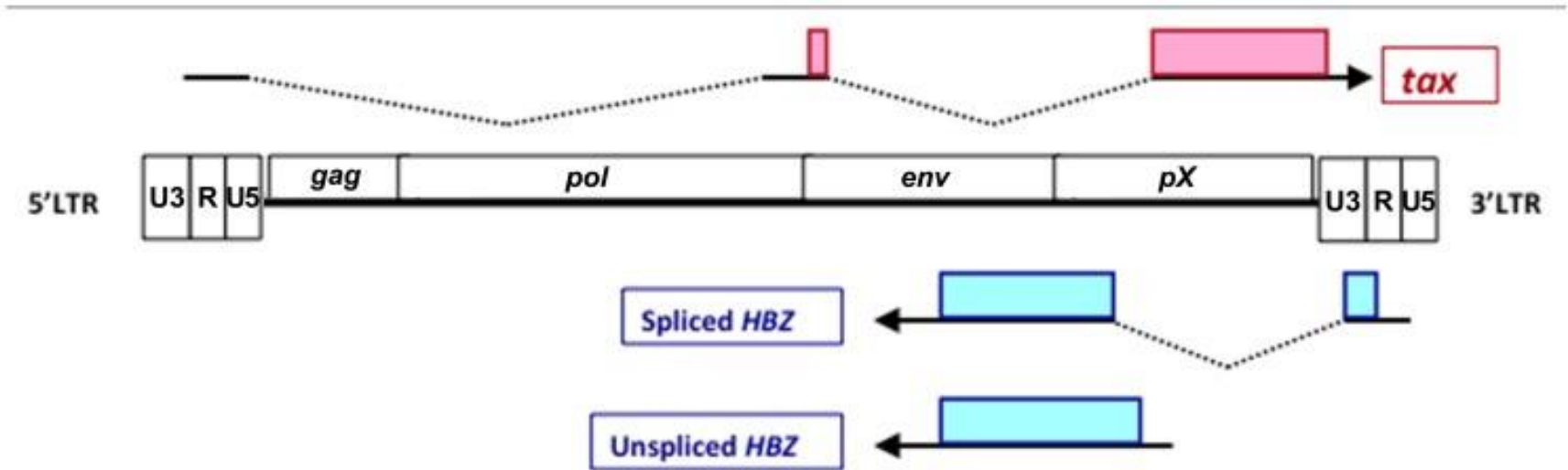
“Biofilm viral”



Estimulación de una matriz celular que facilita la transmisión



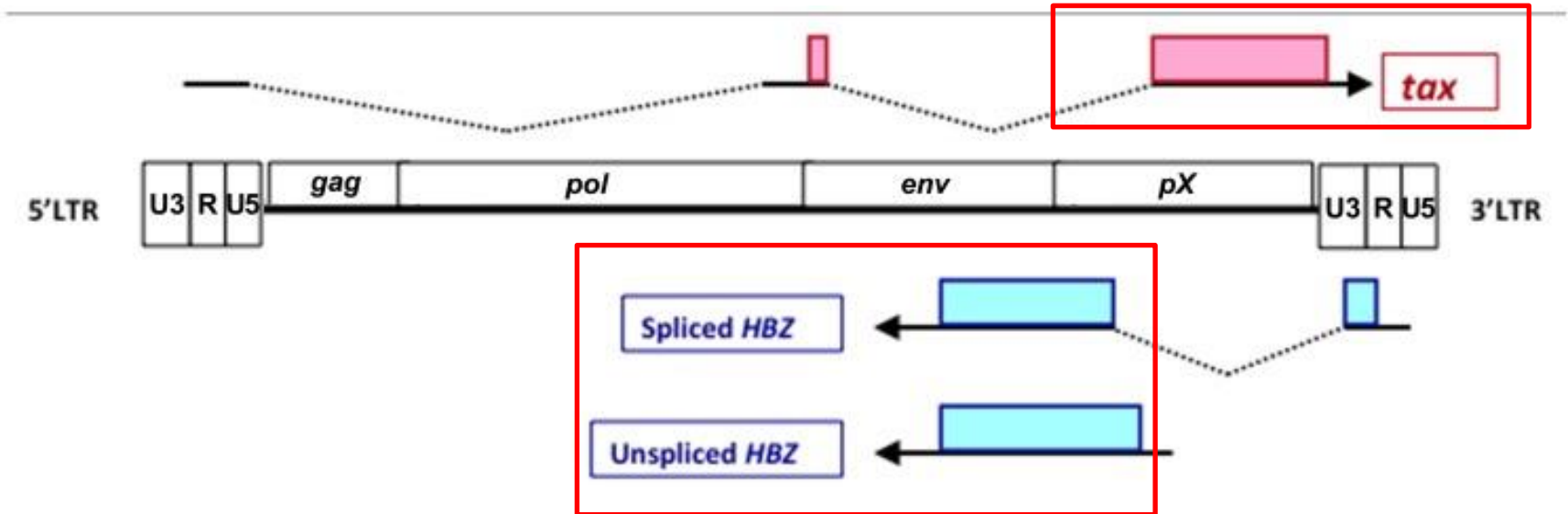
bZIP factor gene (HBZ)



TAX y HBZ : Principales factores involucrados en la inmortalización celular



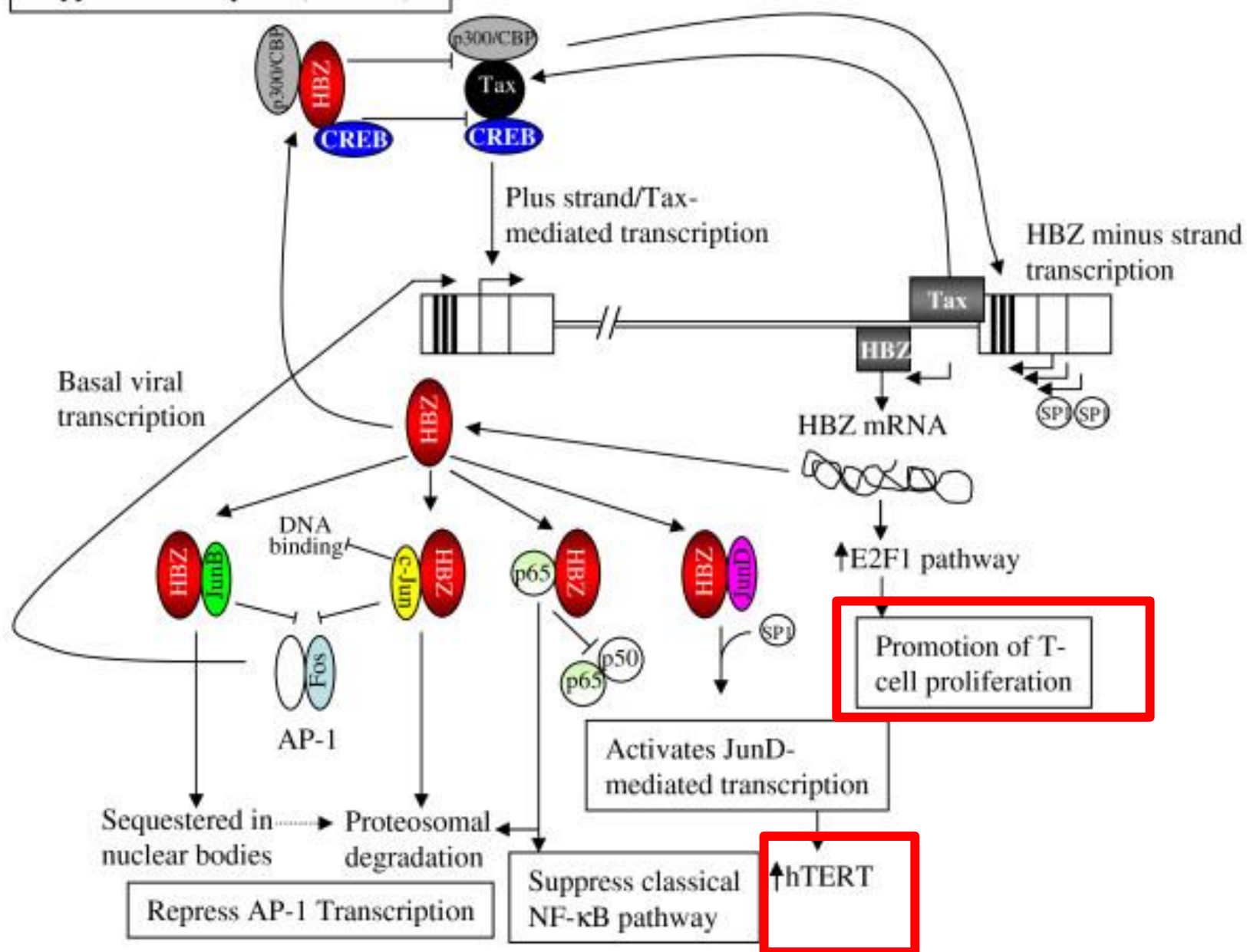
bZIP factor gene (HBZ)

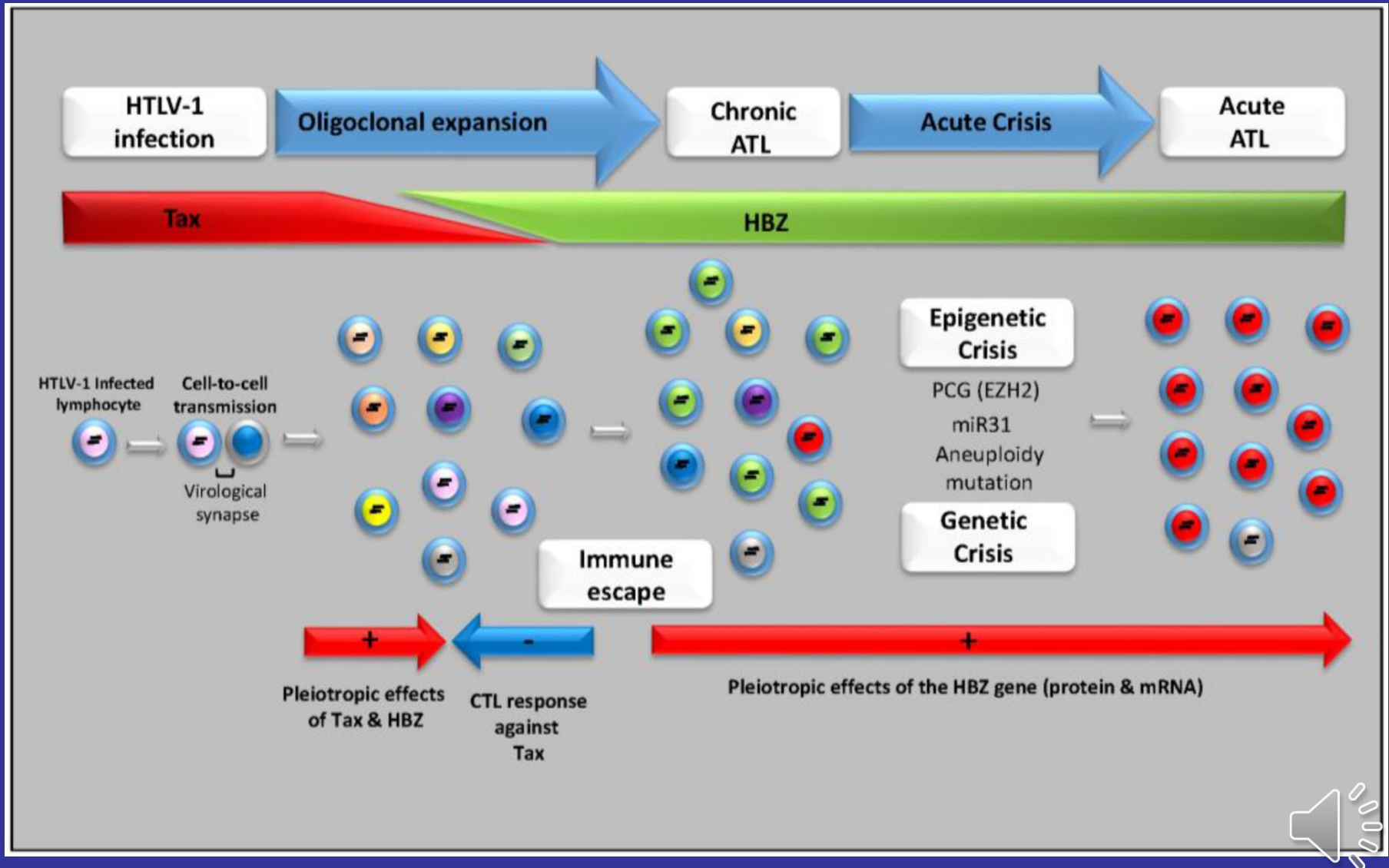


TAX y HBZ : Principales factores involucrados en la inmortalización celular



Suppress transcription (+ strand)





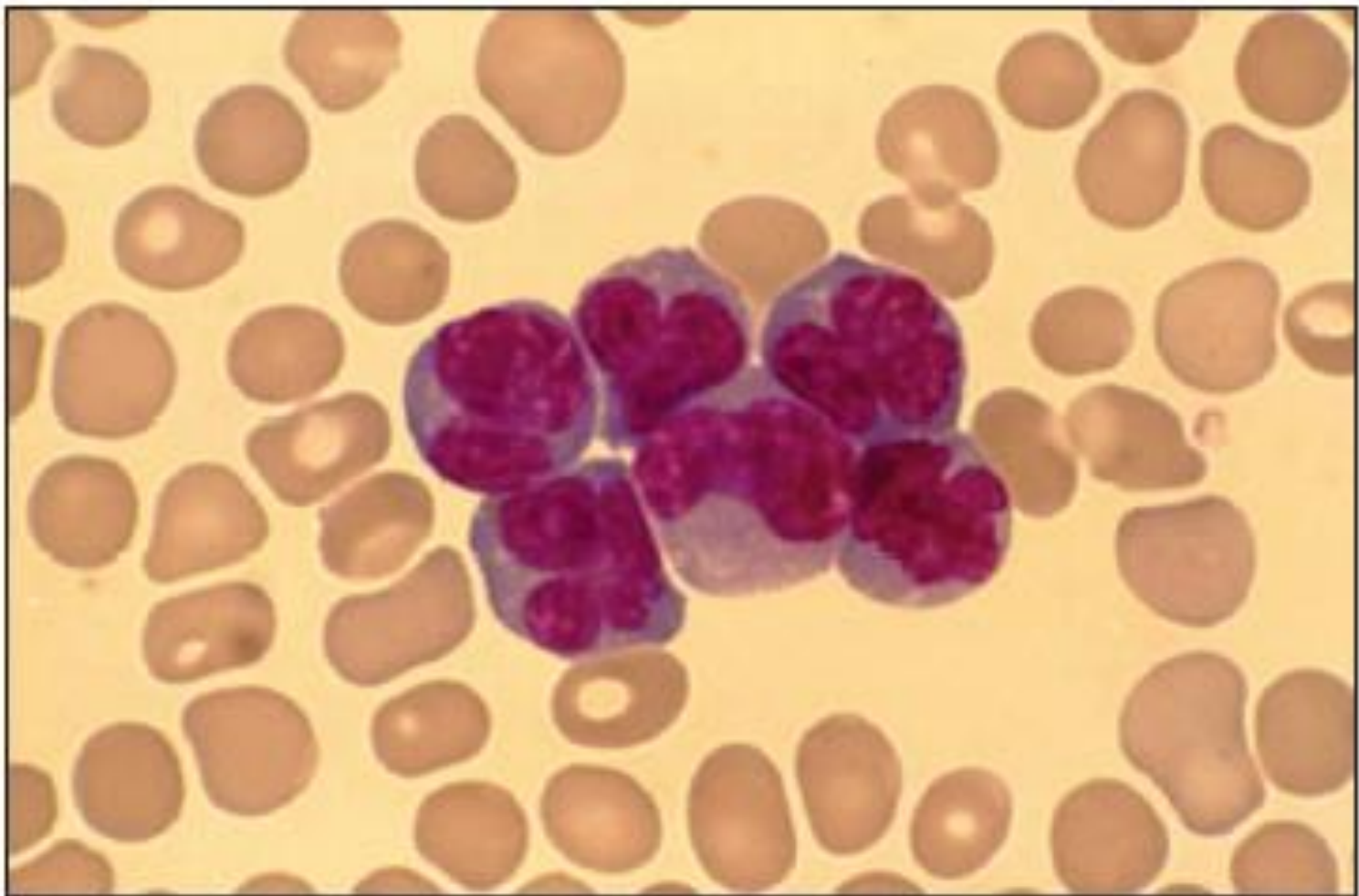
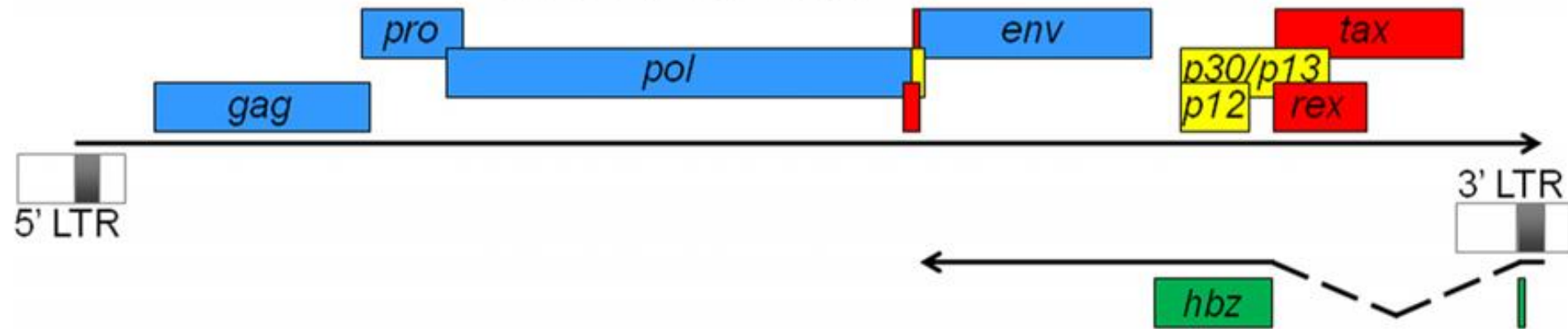


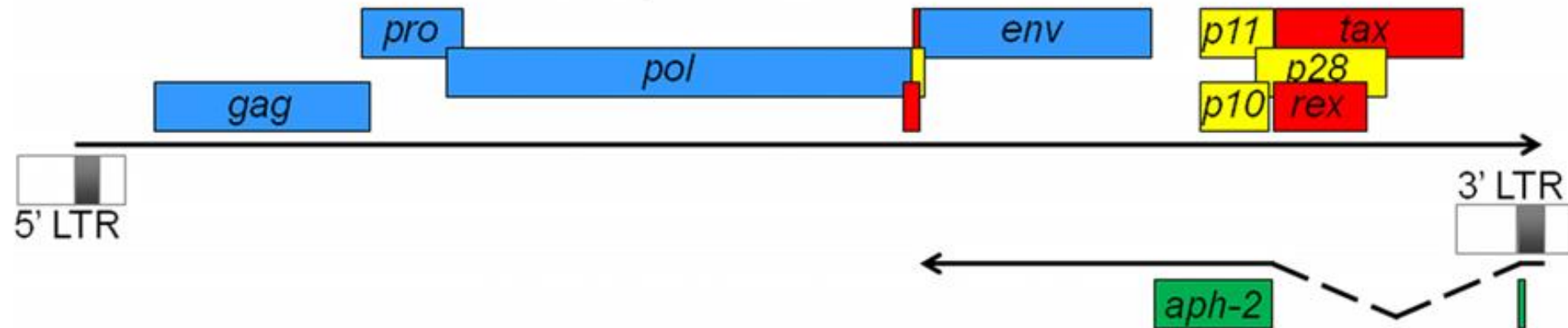
Figure 4: Peripheral blood smear from a Caribbean ATL leukemic patient showing a cluster of atypical lymphoid cells with multilobulated nuclei (May Grunwald Giemsa staining).

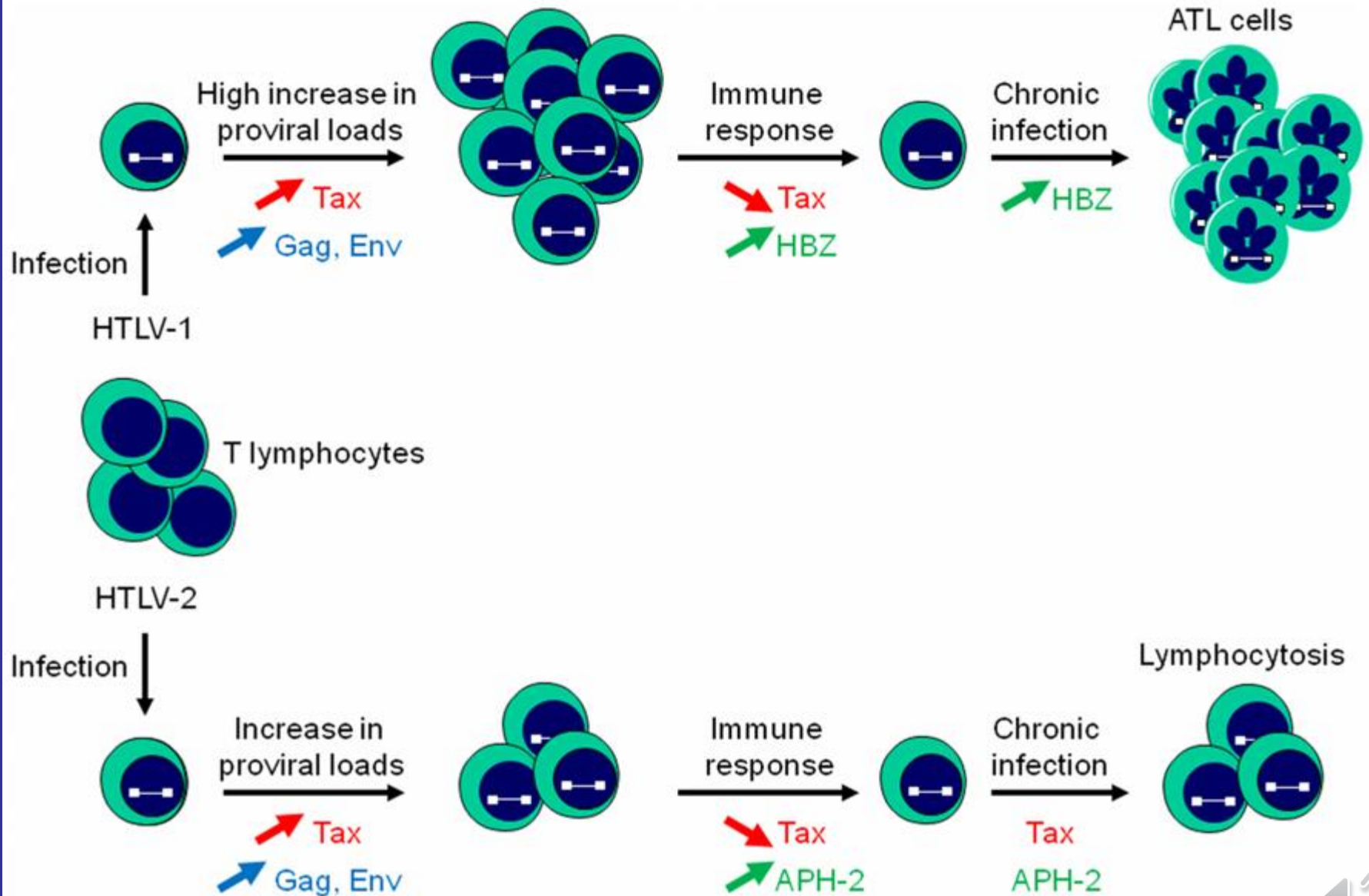


HTLV-1 proviral DNA



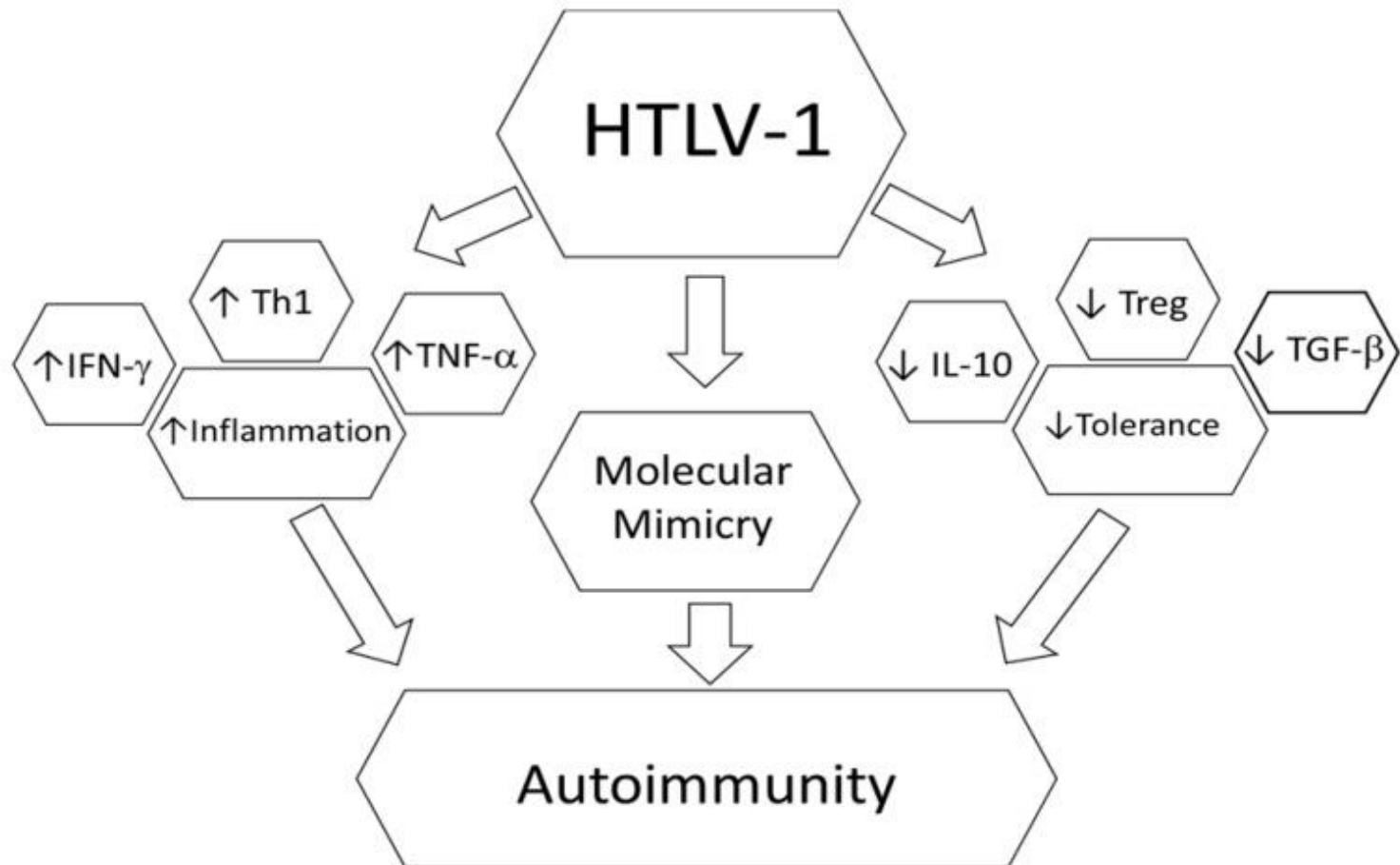
HTLV-2 proviral DNA





•**Síndromes inflamatorios:**

- Mielopatía / Paraparesia Espástica Tropical
- Uveítis
- Artropatías



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.

