

Rola wirusów w onkogenezie

Prof. dr hab. n. med.
Sławomir Majewski

Dr n. med.
Magdalena Malejczyk

Lek. med.
Manjari Goyal-Stec

Centrum Diagnostyki i Leczenia
Chorób Przenoszonych Drogą
Płciową w Warszawie

Z P O G R A N I C Z A A L E R G O L O G I I

Role of viruses in oncogenesis

S U M M A R Y

It is estimated that nearly 20% of human neoplasms are associated with persistent infection with high-risk oncogenic viruses. In a proportion of neoplasms a direct cancerogenic action of viruses was established whereas in some tumors viruses act as co-cancerogens. Recently a modified criteria were created for classification of viruses as cancerogens. One of such criteria proved to be a decreased risk ratio of cancer development after an active immunization with the use of vaccines against causative viruses. At present two anti-viral vaccines, i.e. against hepatitis B virus and against oncogenic human papillomaviruses (HPV) were found to be effective in prevention of a subset of human neoplasms.

Uważa się, że około 20% nowotworów u człowieka związanych jest z przewlekłymi zakażeniami wirusami o wysokim potencjale onkogennym. W niektórych nowotworach udowodniono bezpośrednie działanie wirusów jako kancerogenów a w innych wirusy oddziałują jako ko-kancerogeny. Określone zostały kryteria pozwalające zaklasyfikować danego wirusa jako bezpośredni kancerogen. Jednym z takich kryteriów jest zmniejszenie ryzyka wystąpienia nowotwory w przypadku czynnej immunizacji (szczepienia) w stosunku do wirusa. Obecnie istnieją szczepionki przeciw wirusowi hepatitis B oraz przeciw onkogennym typom HPV, które w praktyce okazały się skuteczne w zapobieganiu nowotworom.

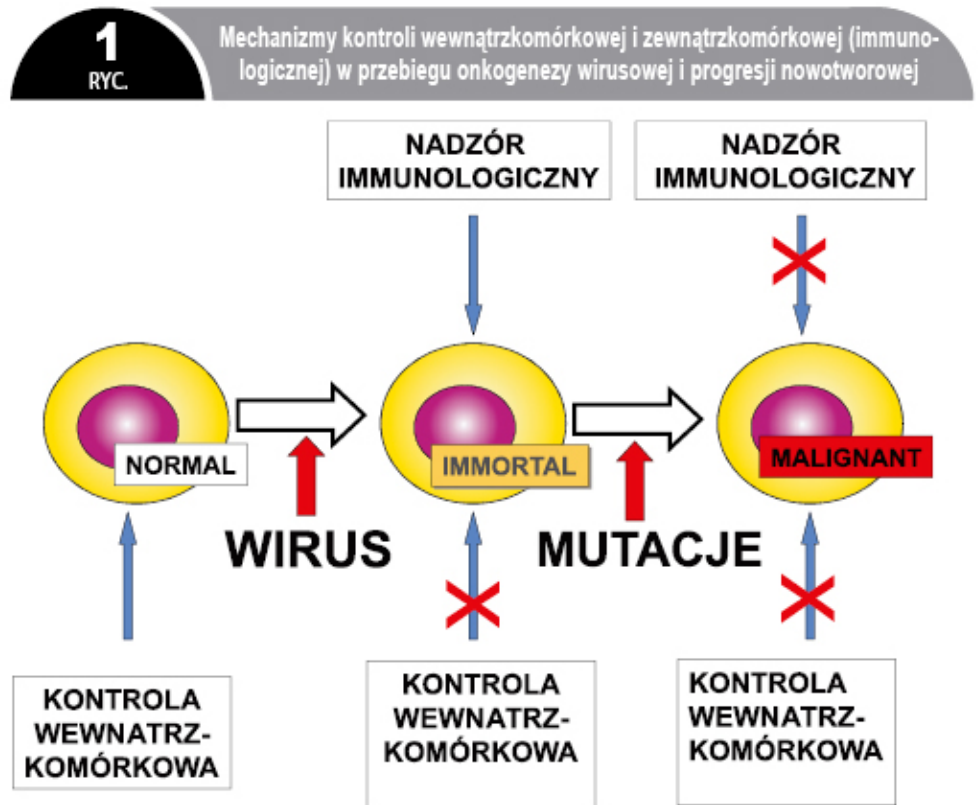
Majewski S.: Rola wirusów w onkogenezie. *Alergia*, 2007, 2: 24-27

W przypadku wielu nowotworów u ludzi i zwierząt można wykryć obecność materiału genetycznego (DNA lub RNA) różnych wirusów. Jest to związane m.in. z ogromną czułością współczesnych metod biologii molekularnej, zwłaszcza PCR. Stwierdzenie obecności genomu wirusowego w tkankach lub komórkach nowotworowych nie stanowi jednak bezpośredniego dowodu na ich rolę w onkogenezie. Nawet w przypadkach, w których udowodniono wirusowe podłoże nowotworu, zwykle ilość wirusowego DNA jest niewielka (mniej niż jedna kopia DNA na 10 komórek nowotworowych) (1). Wirusy mogą bezpośrednio lub pośrednio uruchamiać mechanizmy prowadzące do powstania nowotworu. Istnieje wiele kryteriów pozwalających rozważyć wirusy jako tzw. "bepośrednie kancerogeny".

Według zur Hausena (2) należą do nich:

- wykazanie stałej obecności genomu wirusa (lub jego części) w każdej komórce nowotworowej

- transfekcja komórki za pomocą materiału genetycznego wirusa in vitro lub w odpowiednim modelu zwierzęcym powinna powodować nieśmiertelnienie (immortalization) komórki lub indukcję nowotworu
- usunięcie wirusowego materiału genetycznego z transfekowanych komórek lub zahamowanie funkcji wirusowego kwasu nukleinowego powinno "odwrócić" cechy immortalizacji lub złośliwego fenotypu komórki
- badania epidemiologiczne (w tym prospektywne) powinny zidentyfikować wirusa jako główny czynnik ryzyka nowotworu.

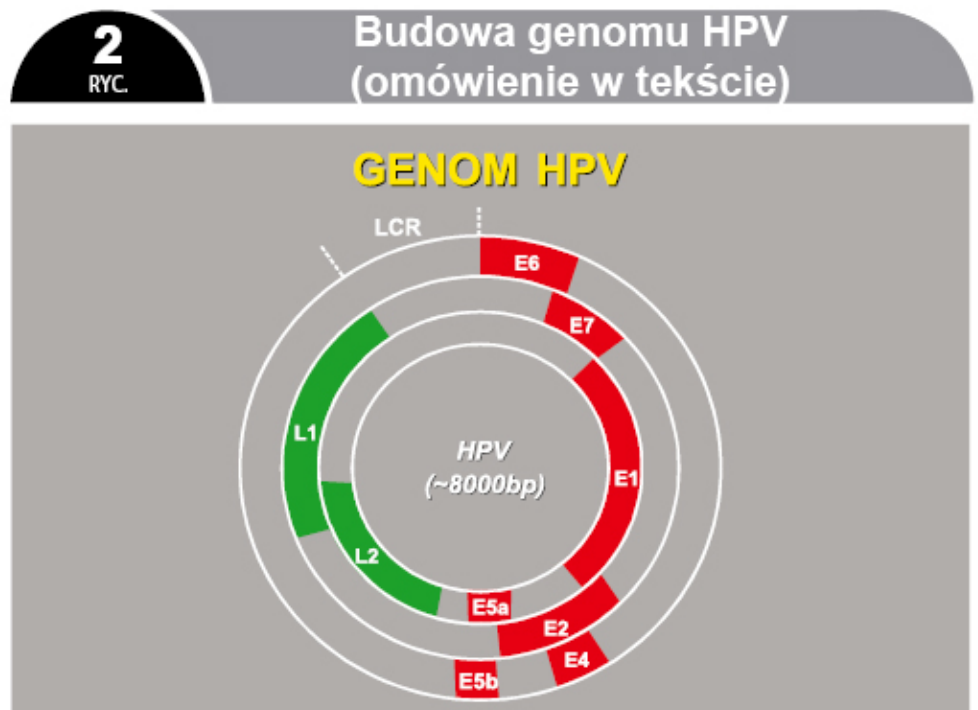


Kolejnym kryterium, które współcześnie staje się bardzo istotnym, jest potencjalna możliwość zapobiegania wystąpieniu zmian przed- i nowotworowych za pomocą tzw. pierwotnej profilaktyki czyli szczepienia przeciw onkogennym wirusom.

Stosując powyższe kryteria można wyodrębnić trzy grupy wirusów o potencjale onkogennym (1):

- wirusy wykazujące ekspresję swoistych onkogenów niezbędnych do transformacji komórki (np. onkogeny wirusów HPV „wysokiego ryzyka”, wirus Epsteina-Barr, ludzki wirus opryszczki typu 8 – HHV8 i ludzkie retrowirusy T-limfotropowe)
- wirusy z nabytymi komórkowymi onkogenami (tzw. „acute transforming viruses”, np. wirus mięsaka Rous’a i inne)
- wirusy, które mają zdolność wbudowywania materiału genetycznego w swoiste miejsca w chromosomach gospodarza, czego konsekwencją jest aktywacja komórkowych onkogenów (np. wirus wywołujący guzy sutka u myszy).

Uważa się, że około 20% wszystkich nowotworów u człowieka związanych jest z przetrwałym zakażeniem onkogennymi wirusami.



Istnieje wiele mechanizmów kontrolujących różne etapy onkogenezy wirusowej. Zalicza się do nich mechanizmy kontroli wewnątrzkomórkowej, których zaburzenia prowadzą w pierwszym etapie do immortalizacji komórki, następnie do akumulacji mutacji w DNA komórki i wreszcie do pełnego fenotypu nowotworowego. Mechanizmy kontroli zewnątrzkomórkowej, polegające na rozpoznaniu i eliminacji stransformowanych komórek przez układ immunologiczny włączają się stosunkowo późno, jeśli mechanizmy wewnątrzkomórkowe nie są wydolne (3) (Ryc. 1).

Mechanizmy onkogenezy związane z wirusami ludzkiego brodawczaka HPV

Udział onkogennych typów HPV został w patogenezie raka szyjki macicy i części innych raków został w pełni potwierdzony. W przypadku onkogenezy związanej z HPV zostały spełnione wszystkie powyższe kryteria niezbędne do wykazania przyczynowej roli patogenu wirusowego jako kancerogenu. Dodatkowo najnowsze badania nad szczepionkami przeciw genitalnym typom HPV potwierdziły jednoznacznie rolę tych wirusów w dużej części raków okolicy narządów płciowych (p. niżej).

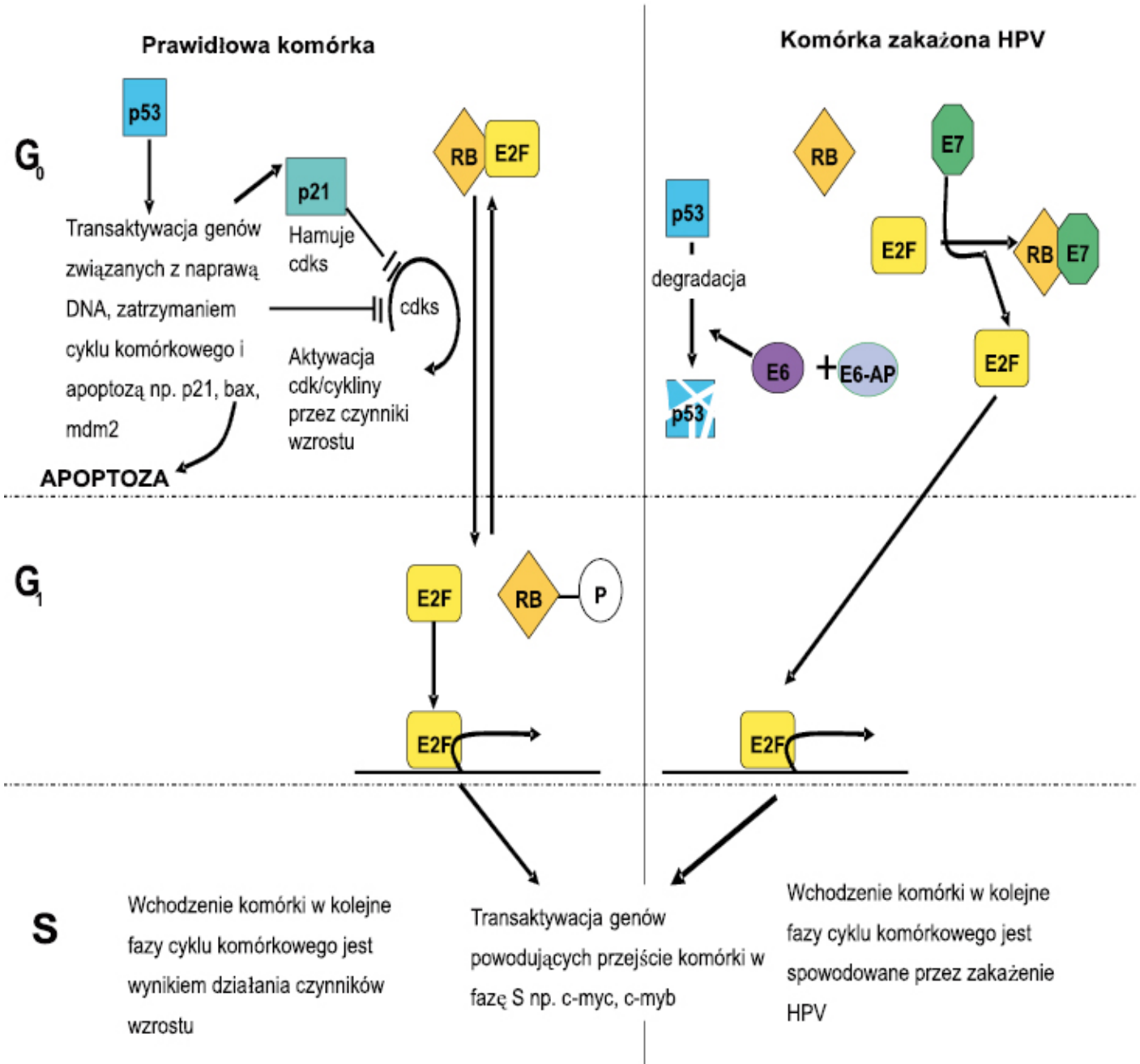
Genom HPV jest cząsteczką dwuniciowego DNA złożoną z około 8000 par zasad. Wyróżniamy w nim trzy regiony:

- region LCR (long control region) -niekodujący białek wirusowych
- region E (wczesny) - kodujący białka wczesne będące produktami genów, które ulegają ekspresji we wczesnych fazach cyklu życiowego wirusa, pełniące funkcje transformujące i regulacyjne
- region L (późny) - kodujący białka strukturalne wirusa- białka kapsydu (4).

Replikacja wirusa związana jest z podziałami zakażonych komórek. W warstwie podstawnej nabłonka ulegają ekspresji tylko geny wczesne, geny późne kodujące białka kapsydu ulegają ekspresji w wyższych warstwach, natomiast nie ulegające podziałom, złuszczające się komórki warstwy rogowej zawierają całe winiony (5). W zmianach łagodnych DNA HPV występuje w jądrze zakażonej komórki w formie episomalnej (6). Transformacja nowotworowa związana jest z integracją DNA HPV z genomem gospodarza. Integracja prowadzi do rozerwania zarówno DNA chromosomalnego jak i kolistej cząsteczki DNA HPV. DNA wirusowe ulega przerwaniu w regionie E1/E2, co powoduje zaburzenie lub utratę funkcji tych genów (1).

Ze względu na proces transformacji nowotworowej ważna jest funkcja trzech białek kodowanych przez geny regionu wczesnego: E6, E7 i E2. Białka E6 i E7 nazywane są onkoproteinami wirusowymi, gdyż tworząc kompleksy z produktami antyonkogenów komórkowych zwiększają proliferację komórki i zaburzają procesy naprawy komórkowego DNA. Białko E2 jest regulatorem ekspresji poszczególnych genów wczesnych a w przypadku HPV 16 i 18 działa głównie jako represor ekspresji genów E6 i E7 (7).

Udział białek E6 i E7 HPV w zaburzeniu procesu proliferacji komórki



Utrata funkcji białka E2 w czasie integracji genomu HPV z genomem gospodarza powoduje wzrost produkcji białek E6 i E7 (8). Analiza sekwencji aminokwasowych białka E7 wykazała, że może ono potencjalnie pełnić funkcje czynnika transkrypcyjnego (4). Może się ono również łączyć z białkami rodziny retinoblastoma takimi jak pRb, p107 i p130 (9). (Ryc. 3). Zdolność wiązania z pRb wywołuje zaburzenia procesu proliferacji komórki powodując efekt stymulacji. Białko Rb (pRb) jest negatywnym regulatorem cyklu komórkowego działającym w fazie G₁/S. Nieufosforylowana forma pRb łączy się z czynnikiem transkrypcyjnym E2F-1. W cyklu komórkowym, w odpowiedzi na sygnał rozpoczynający proliferację komórki, pRb jest fosforylowane przez zależne od cyklin kinazy. Ufosforylowane pRb nie może łączyć się z czynnikiem transkrypcyjnym E2F-1, który jest zdolny do transaktywacji genów związanych z proliferacją komórki takich jak c-myc czy b-myb. Przyłączenie wirusowego białka E7 do pRb powoduje stałe uwolnienie E2F-1 od pRb i wprowadza cykl komórkowy w fazę S (24). Podobne działanie wykazują białka innych wirusów jak E1A - onkoproteina adenowirusów czy onkoproteina wirusa SV40 (10).

Białko E6 w przypadku wirusów wysokiego ryzyka

Tabela 1 Związek różnych wirusów z nowotworami u człowieka (wg. 1)

onkologicznego łączy się z produktem antyjonogenu komórkowego białkiem p53, degradując je w mechanizmie zależnym od ubikwityny (11). W normalnej komórce p53 ulega zwiększonej ekspresji w odpowiedzi na uszkodzenia DNA czy infekcje wirusowe. P53 może indukować ekspresję licznych białek komórkowych między innymi: p21waf1/cip1- inhibitora kinaz zależnych od cyklin, co powoduje brak fosforylacji pRb i zahamowanie cyklu komórki, czy białka bax, które jest związane z indukcją apoptozy (12). Prawdopodobnie białka E6 wszystkich HPV mają zdolność do łączenia się z p53, ale tylko w przypadku wirusów wysokiego ryzyka może dojść do jego degradacji. Zahamowanie aktywności pRb i p53 jest charakterystyczne również dla innych wirusów, które indukują proliferację komórki jak np: adenowirusy, polyomawirusy czy wirusy herpes (13).

Białka E6 i E7 pełnią jeszcze inne funkcje w cyklu życiowym wirusa. W zakażonej wirusem komórce E7 może ulegać ekspresji w wyższych warstwach nabłonka, co pobudza replikację DNA komórki a tym samym sprzyja replikacji wirusa. Białko E6 może natomiast interferować z procesem terminalnego różnicowania keratynocytów w naskórku (1).

Mimo transformacyjnych zdolności białek E6 i E7 wirusów wysokiego ryzyka komórki zakażone tymi typami wirusów nie muszą koniecznie ulegać transformacji nowotworowej. W rzadkich przypadkach brodawki i kłykciny, w których wykryto HPV16 lub 18 mogą nabyć nowotworowy fenotyp po 5 a nawet 20 latach. Wskazuje to na obecność komórkowych mechanizmów modulujących transformacyjną aktywność wirusa (1).

Wirus	Rodzaj nowotworu
EBV	chłoniaki typu B u osób z immunosupresją (~50%) część chłoniaków z komórek T chłoniaki Burkitta część raków noso-gardła choroba Hodgkina (30-40%) rak żołądka (~ 10%)
HPV (typy onkogenne)	rak szyjki macicy, sromu, okolicy odbytu, prącia, pochwy raki szyi i głowy (~30%) raki kolczystokomórkowe skóry (?)
HBV i HCV	rak wątroby
HTLV-1	białaczka typu T dorosłych
HHV-8	Mięsak Kaposi'ego
endogenne ludzkie retrowirusy	nasieniak (?)

W przebiegu onkogenezy związanej z HPV pewną rolę odgrywają także ko-kancerogeny, zarówno udowodnione (wysoka rodność, wieloletnia antykoncepcja hormonalna, długotrwałe palenie tytoniu, immunosupresja (np. w przebiegu zakażenia HIV), jak i potencjalne (konfekcje innymi patogenami przenoszonymi drogą płciową, dieta uboga w anty-oksydanty, endogenne hormony i nieokreślone czynniki genetyczne).

Kolejnym zjawiskiem epidemiologiczno-molekularnym świadczącym o przyczynowej roli HPV w patogenezie raka szyjki macicy (i innych nowotworów okolicy ano-genitalnej) jest wielokrotnie zwiększone ryzyko wystąpienia raka (zwłaszcza szyjki macicy) w przypadku przewlekłej, wieloletniej infekcji onkogennymi typami HPV16, HPV18 i innymi (1) (Ryc. 5).

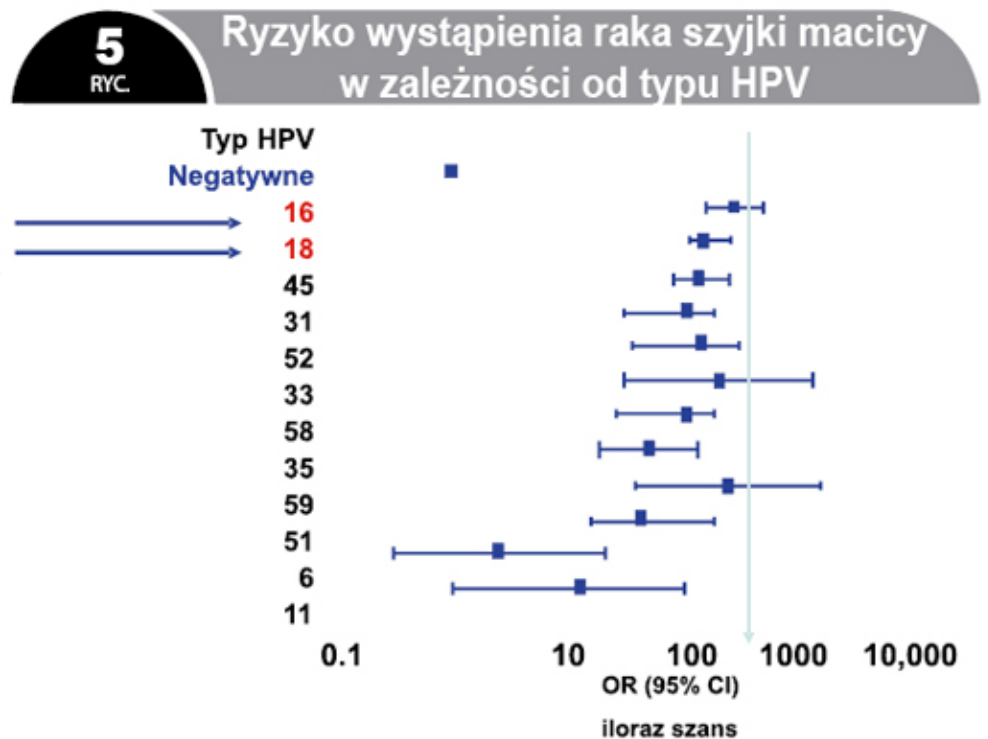
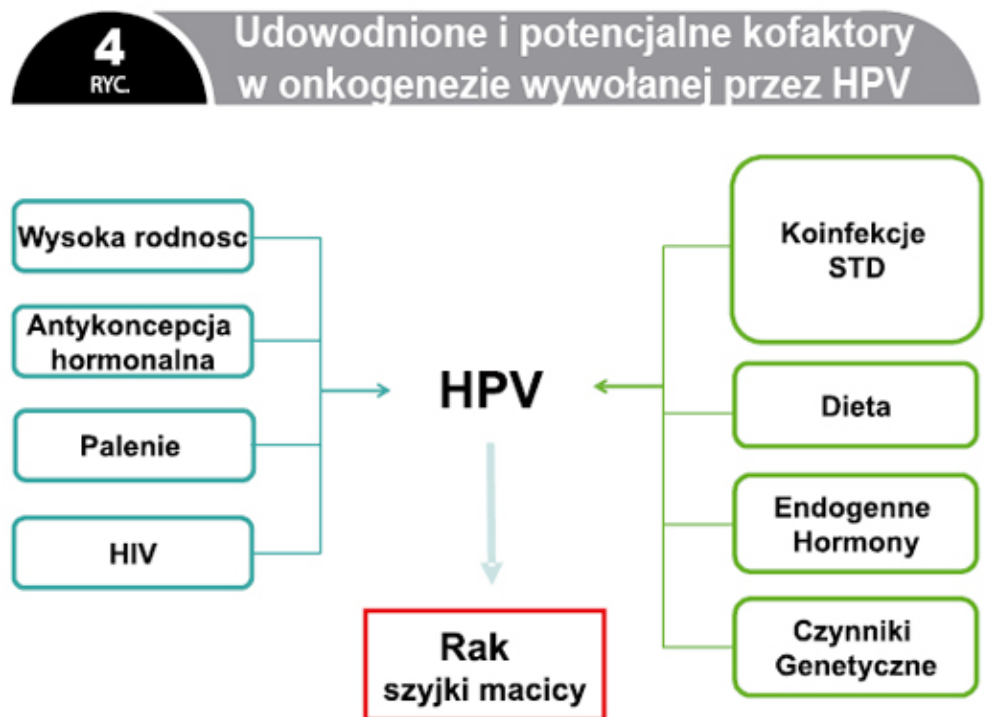
Tak ścisły związek pomiędzy przewlekłym zakażeniem onkogennymi typami HPV a rakiem szyjki macicy skłonił badaczy do rozpoczęcia przez kilkana laty prac nad szczepionką przeciw HPV, która zapobiegałaby występowaniu zmian przed- i nowotworowych narządów płciowych.

Pierwsze wyniki badań nad szczepionką przeciw HPV zostały opublikowane w 2002 roku (14). Były to badania "podwójnie zaślepione", randomizowane, w których udział wzięło 2392 młodych kobiet w wieku 16-23 lat. Zastosowano monowalentną szczepionkę przeciw HPV16, którą podawano w trzech dawkach (0, 2 i 6 miesięcy). Serokonwersja wystąpiła u 99,7% kobiet. W okresie 17 miesięcy obserwacji w grupie szczepionych kobiet nie stwierdzono ani jednego przypadku zmian typu CIN (14). W innych badaniach zastosowano dwuwalentną szczepionkę przeciw HPV16 i HPV18 w grupie 1113 kobiet w wieku 15-25 lat wykazując jej dużą skuteczność zarówno w zapobieganiu incydentalnym infekcjom HPV (91,6%), utrzymującym się infekcjom (100%), jak i zmianom cytologicznym (93,5%) (15). W kolejnych badaniach przeprowadzonych w grupie 277 młodych kobiet po raz pierwszy wykazano 100% skuteczność kliniczną czterowalentnej szczepionki przeciw HPV 6/11/16/18, która zapobiegała występowaniu zmian wywoływanych przez te wirusy (zarówno brodawek płciowych, jak i zmian na szyjce macicy) (16).

W październiku 2005 r. zaprezentowano przełomowe końcowe wyniki wielośrodowego badania nad skutecznością tej czterowalentnej szczepionki (17). Badanie to zatytułowane FUTURE II, było prospektywną randomizowaną podwójnie zaślepioną próbą kliniczną i objęło dwie grupy kobiet w wieku 16-26 lat. Uczestniczki badania w zależności od tego, do której grupy zostały przydzielone otrzymały trzy

dawki tej szczepionki lub placebo w schemacie: pierwsza dawka w pierwszym dniu, a następne odpowiednio w drugim i w szóstym miesiącu od pierwszego szczepienia. Do badania, które przeprowadzono w 90-ciu ośrodkach w Brazylii, Kolumbii, Danii, Meksyku, Norwegii, Peru, Polsce, Singapurze, Szwecji, Wielkiej Brytanii i w stanach Zjednoczonych włączono 12 167 kobiet, z których 6 082 otrzymało czterowalentną szczepionkę, a kolejne 6 075 otrzymało placebo. Badanie FUTURE II miało za zadanie ocenić częstość występowania zmian przedrakowych szyjki macicy tzw.: CIN 2 lub CIN 3 i nieinwazyjnych raków szyjki macicy, związanych z infekcją wirusem HPV typu 16/18, w tym AIS (adenocarcinoma in situ) (17).

Główna analiza w badaniu FUTURE II, w okresie 3-letniej obserwacji dotyczyła oceny częstości przypadków CIN 2/3 i AIS u kobiet, które otrzymały trzy dawki szczepionki, u których badanie przebiegło zgodnie z protokołem, i u których nie doszło do infekcji wirusem HPV typu 16 i/lub 18 przez pierwsze 7 miesięcy. W tej analizowanej grupie szczepionka zapobiegła w 100 procentach przypadkom wysokiego stopnia zmian przedrakowych i raka nieinwazyjnego (CIN 2/3 i AIS) związanych z infekcją z infekcją wirusem HPV typu 16 i 18. Żaden przypadek CIN 2/3 lub AIS nie był obserwowany w grupie, która otrzymała szczepionkę (5 301, kobiet) w porównaniu z kilkudziesięcioma przypadkami w grupie placebo (analizowana grupa liczyła 5 258 kobiet) (18). Różnica ta była istotna statystycznie przy $p < 0.001$, a w praktyce oznacza 100% skuteczność tej szczepionki. W ostatnim okresie opublikowano łączne wyniki badań (4 programy) nad poczwórną szczepionką przeciw HPV6, 11, 16, 18, które potwierdziły jej skuteczność w zapobieganiu zmianom przed- i nowotworowym w bardzo dużej grupie ponad 20 500 kobiet (19).



Przeciwciała neutralizujące powstające w odpowiedzi na podanie HPV L1 VLP wydają się być swoiste dla każdego typu wirusa.

Stąd też podanie np. VLP HPV 16 będzie chronić przeciwko zakażeniu właśnie tym typem wirusa. Niemniej jednak niektóre typy HPV posiadają neutralizujące (dominujące) epitopy, które mogą występować na innych typach HPV i wywoływać krzyżową reaktywność. Istnienie takich epitopów

udowodniono dotychczas w przypadku następujących typów: HPV 6 i HPV 11, HPV 31 i HPV 33 oraz HPV 18 i HPV 45. Tak więc w przypadku zastosowania różnych szczepionek opartych o VLP można oczekiwać częściowej reaktywności krzyżowej powstających przeciwciał, co prawdopodobnie jednak nie zależy od zastosowanego adjuwantu a raczej od występowania podobieństw w budowie i strukturze białek spokrewnionych typów HPV. Najnowsze badania wskazują, że ochronne działanie szczepionki wynosi przynajmniej 5 lat, ale okres ten będzie zapewne znacznie dłuższy.

Dotychczasowe badania nad szczepionkami przeciw genitalnym typom HPV wskazują na ich ogromną skuteczność (19). Przyjmuje się, że w przypadku ich globalnego zastosowania, zapadalność na inwazyjnego raka szyjki macicy obniżyłaby się o 80-85%, a liczba zgonów z powodu tego raka o około 95%.

Ponadto szczepionki skierowane przeciw różnym typom wirusa (np. HPV6/11/16/18) mogą istotnie zmniejszyć występowanie innych zmian, zarówno łagodnych jak i złośliwych, wywołanych przez HPV w obrębie narządów płciowych oraz jamy ustnej, krtani i górnego odcinka przełyku.

Różnorodne analizy farmako-ekonomiczne wskazują, że szerokie zastosowanie szczepionek profilaktycznych przeciw genitalnym typom HPV może przynieść ogromne korzyści także dla systemu ochrony zdrowia (20).

W podsumowaniu, wydaje się wysoce prawdopodobne, że stosując w przyszłości szczepionki przeciw różnym onkogennym wirusom ludzkim będzie możliwe drastyczne zmniejszenie zapadalności na różne zmiany przed- i nowotworowe, w patogenezie których wirusy odgrywa rolę kancerogenu, podobnie jak to wykazano w przypadku raków HPV-zależnych.

Piśmiennictwo: 1. zur Hausen H. Infections causing human cancer. Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2006 2. zur Hausen H. Papillomavirus host cell interactions in the pathogenesis of anogenital cancers. W: Brugge J, Curran T, Harlow E (red). Origins of Cancer: A comprehensive Review. Cold Spring Harbor Laboratory Press, str. 685-705, 1991 3. Malejczyk J, Majewski S, Jablonska S. Cellular immunity in cutaneous and genital HPV infections. Clin Dermatol 15:261-274, 1997 4. Iftner T. (1990) Papillomaviruses genomes: sequence analysis related to the functional aspects. W: Papillomaviruses and Human Cancer, Pfisrer H. (red.), CRC Press, Boca Raton, FL., str. 181-202. 5. zur Hausen H. (2001) Oncogenic DNA viruses. Oncogene Review. 20: 7820-7823. 6. Lambert P. F. (1991) Papillomavirus DNA replication. J. Virol. 65: 3417-3420. 7. Desaintes C., Derneret C., Goyat S., Yaniv M., Thierry F. (1997) Expression of the papillomavirus E2 protein in HeLa cells leads to apoptosis. EMBO J. 16: 504-514. 8. Jeon S., Lambert P. F., (1995) Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis. Proc. Natl. Acad. Sc. USA 92: 1654-1658. 9. Münger K., Werness B.A., Dyson N., Phelps W.C., Howley P.M. (1989) Complex formation of human papillomavirus E7 protein with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. EMBO J. 8: 4099. 10. Dyson N., Guida P., Munger K., Harlow E. (1992) Homologous sequences in adenovirus E1a and human papillomavirus E7 proteins mediate interaction with the same set of cellular proteins. J. Virol. 66: 6893-6902. 11. Scheffner M., Werness B. A., Huibregtse J. M., Levine A. M., Howley P.M. (1990) The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. Cell 63: 1129-1136. 12. Miyashita T., Reed J.C. (1995) Tumor suppressor p53 is direct transcriptional activator of human bax gene. Cell 80: 293-299. 13. Steeganga W.T., Riteco N., Jochensen A.G., Fallaux F.J., Bos J.L. (1998) The large E1B protein together with the E4orf6 protein target p53 for active degradation in adenovirus infected cells. Oncogene. 16: 349-357. 14. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. New Engl J Med 2002;347:1645-1651 15. Harper DM, Franco EL, Wheeler C. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. Lancet 2004;364:1757-1765 16. Villa LL, Costa RLR, Petta CA. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomized double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. Lancet Oncol 2005;6:271-278 17. Koutsky LA (for the FUTURE II Steering Committee). Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) (types 6, 11, 18, 18) L1 virus-like particle (VLP) vaccine (Gardasil®) reduces cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2/3 risk. Congress of the Infectious Diseases Society of America, San Francisco, October 2005. 18. The FUTURE II Study Group. Quadrivalent vaccine against human papillomaviruses to prevent high-grade cervical lesions. N Engl J Med 356:1915-1927, 2007 19. The FUTURE II Study Group. Effect of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine on risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2, grade 3, and adenocarcinoma in situ: a combined analysis of four randomized clinical trials. Lancet 369:1861-1868, 2007 20. Insinga RP, Glass AG, Rush BB. The health care costs of cervical human papillomavirus-related disease. Am J Obstet Gynecol 2004; 191:114-120

Adres do korespondencji:
smajewski@kl.amwaw.edu.pl

Zamknij

Drukuj