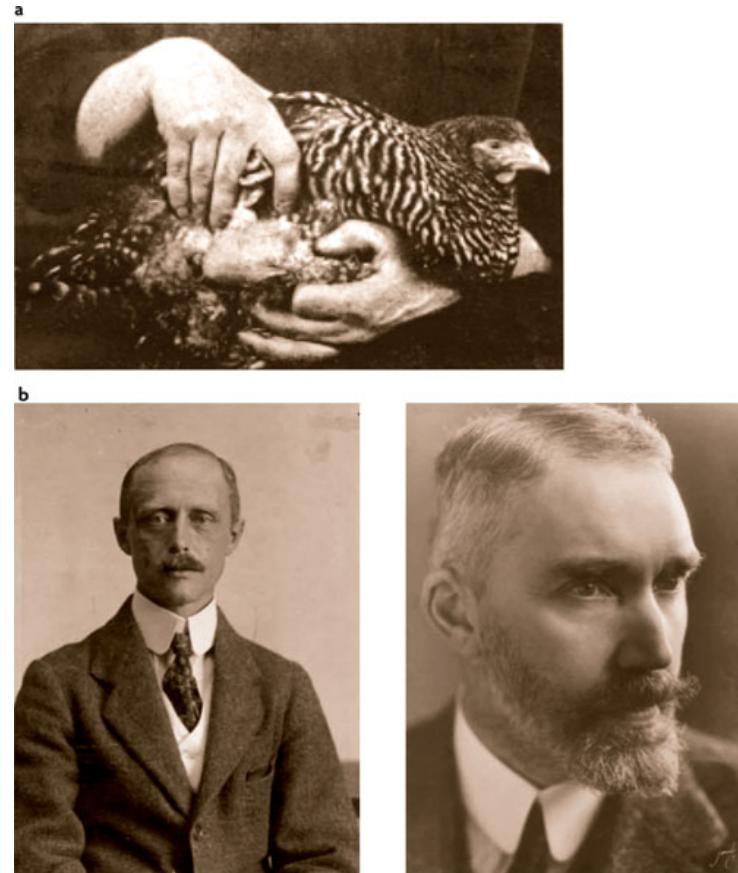


Tuumor-/onkoviiruste avastamine

- 1908 aastal näitasid Taani teadlased Vilhelm Ellerman (1871-1924) ja Oluf Bang (1881-1937) et lindude leukeemia (*avian viral leukemia*) kandub viraalsel teel üle.
- 1909-11 aastatel katsetas Francis Peyton Rous (1879-1970) talle uurimiseks toodud kana sarkoomiga ja leidis samuti, et seda tuumorit on võimalik kanadel üle kanda vähi rakkudest sõltumatult.



Nature Reviews | Cancer

Rousi kana sarkoomi mudeli skeem



Rous pälvis selle töö eest 1966 aastal Nobeli preemia



Figure 3-1 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)



Peale esialgseid avastusi oli onkoviiruste alal tükk aega vaikus

- 1930-ndatel kirjeldati Richard E. Shope (1901-1966) and E. Weston Hursti (1900-1980) poolt küülikute papiloomiviirus ja John Joseph Bittneri poolt (1904-1961) hiirte piimanääärme viirus (*mouse mammary tumor virus, MMTV*).
- 1950-ndatel avastati Ludwig Grossi (1904-1999) poolt hiirte leukeemiaviirus (retroviirus) ja hiirte polüoomiviirus

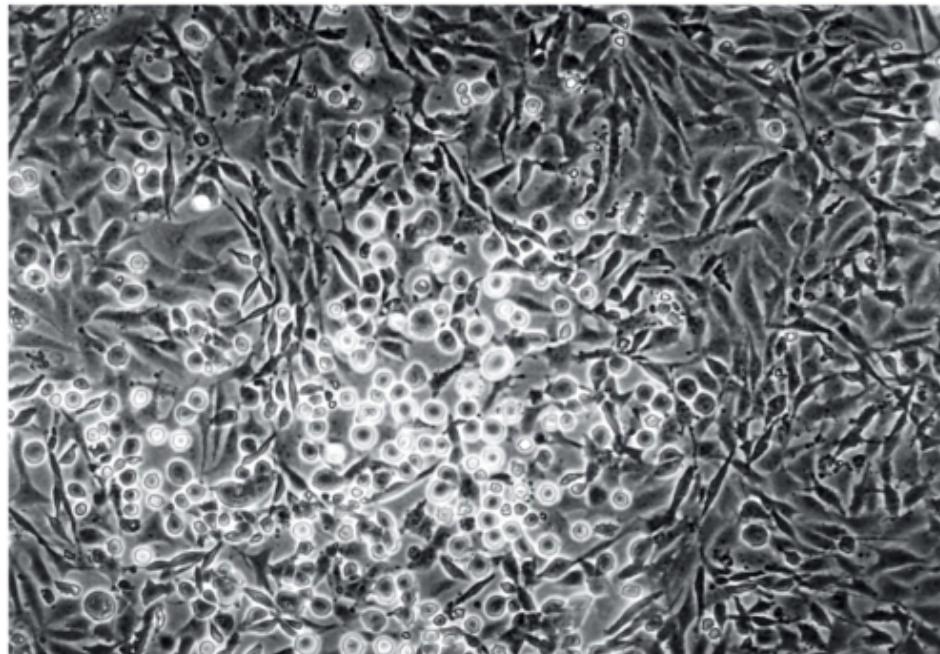
Life magazine 1962: "Cancer may be infectious."



Möödunud sajandi 50-ndatel aastatel, kui oli hirrite peal leitud seosed leukeemia ja viirusnakkuse vahel, tekkis hüpotees, et vähk ongi viirushaigus.

Viirused põhjustavad rakkude transformatsiooni

1950-ndate lõpus ja 1960-ndatel uuris Harry Rubin Rousi sarkoomiviirust (RSV) koekultuuris, kasutades kana fibroblaste (CEF)



Tähelepanekud:

- RSV nakatatud CEF-id moodustavad **kolooniad (*foci/clusters*)**
- kolooniaid moodustavad rakud on muutunud morfoloogiaga (**trasformeerunud**) ja sarnanevad sarkoomi rakkudega

Transformeerunud rakkude iseloomulikud omadused

- kontakt-inhibitsiooni kadumine
- sõltumatus adhesioonist (*anchorage independence*) -- rakud kasvavad mitmes kihis
- poolduvad ~lõpmatult (immortaliseerumine)
- sõltumatus kasvufaktoritest, rakkude jagunemine ei arresteeru kasvufaktorite eemaldamisel
- kõrge gükoositransport
- tumorigeensus: moodustavad peremees-loomas tuumoreid

Vähki indutseeriva toimega on väga erinevad viirused

TUUMORVIIRUS	VIIRUSPEREKOND	GENOOMI SUURUS (KB)
DNA viirused		
B-hepatiidi viirus (HBV)	hepadna	3
SV40/polüoomi (<i>polyoma</i>)	papova	5
inimese papilloomiviirus 16 (HPV)	papova	8
inimese adenoviirus 5	adenoviirus	35
inimese herpesviirus 8 (HSV-8; KSHV)	herpesviirused	165
Shope fibroomiviirus	poxviirused	160
RNA viirused		
Rousi sarkoomiviirus (RSV)	retroviirused	9
inimese T-raku leukeemia viirus (HTLV-I)	retroviirus	9

“ Inimesel otsiti vähkidest pikalt RSV sarnast lihtsat retroviirust, kuid vähiga seoses leiti ainult komplekssed retroviirused nagu HTLV-I ja HIV-1/-2. ”

Seitse viirust

- Praegusel ajal hinnatakse, et viirused vastutavad 10-15% vähijuhtumite eest maailmas.
- Inimestel on leitud seitsmel viirusel seos vähi tekkega.



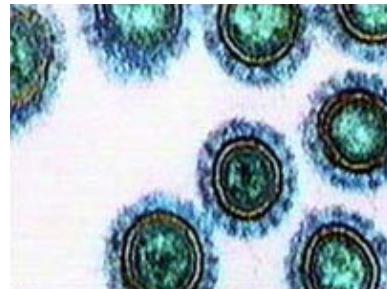
Inimese kasvaja-viirused

VIIRUS	GENOOM	KASVAJA	ESMAKIRJELDUS
Epstein-Barr viirus (EBV; <i>human herpesvirus 4</i>)	dsDNA herpesviirus	Burkitt'i lümfoom	1964
B-hepatiidi viirus (HBV)	ss/dsDNA hepatenoviirus	maksa kartsinoomid	1965
inimese T-lümfotroopne viirus I (HTLV-I)	pluss-ahelaline ssRNA retroviirus	T-rakuline leukeemia	1980
inimese papilloomiviirused (HPV) 16 ja -18	dsDNA pappilloomiviirus	emakakaela (<i>cervical</i>) vähk, peenisekasvajad, anogenitaal- ja pea-kaela kasvajad	1983-84
C-hepatiidi viirus (HCV)	pluss-ahelaline ssRNA flaviviirus	maksa kartsinoomid ja lümfoomid	1989
Kaposi sarkoomi herpesviirus (KSHV; ; <i>human herpesvirus 8</i>)	dsDNA herpesviirus	Kaposi sarkoom, kehaõõne-lümfoom	1994
Merkeli rakkude polüoomiviirus	dsDNA polüoomiviirus	Merkeli rakkude kartsinoom	2008

“Inimese kasvajaviirused on kõik eri klassidest ja hõlmavad kogu viirus-spektrit”

Epstein-Barri viirus (EBV)

- EBV partiklid avastati elektronmikroskoopia teel nn. Aafrika Burkitti lümfoomi patsientidel.
- EBV on laialt levinud ekvatoriaal Aafrikas ja Paapua Uus-Guineas.
 - Ainult 2.3% lümfoomidest on nn. Burkitti lümfoomid.
 - ~100% patsientidest nakatunud.
 - võib kaasneda malaariast või kollapalavikust tingitud immuun-puudulikkusega.
- Sporaadiline Burkitti lümfoom esineb arenenud maades.
 - EBV negatiivne, kuid sisaldab iseloomulikke MYC-i translokatsioone.

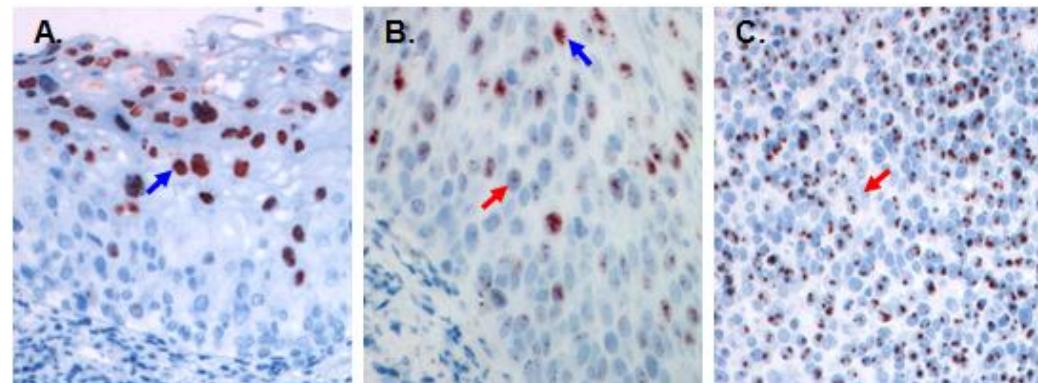


Kasvajates reeglina viiruspartikleid ei leita

- Lisaks EBV-le on veel ainult üks inimese onkoviirus (T-lümfotroopne viirus I, HTLV-I) tuumorites kirjeldatud kasutades klassikalisi viroloogi töövahendeid: mikroskoopi ja viiruskultuuri.
- B hepatiidi seos maksakartsinoomiga tehti kindlaks 22707 Taiwani meest hõlmavas populatsiooniuringus.
- HPV-16/18, C hepatiidi, Kaposi sarkoomi ja Merkeli rakkude polüoomiviirus identifitseeriti kasvajates molekulaarbioloogia meetodeid kasutades.

HPV ja emakakaelavähk

- 1980-ndatel oli teada, et inimese papilloomiviirused põhjustavad kondüloomide (*genital warts*) teket.
- Selle põhal oletas Harald zur Hausen, et HPV võib olla seotud ka emakakaela vähi tekkega.
- Oma hüpoteesi kontrollimiseks hübridiseeris ta papilloomiviiruse DNA emakakaelavähi DNA-le.



Viirused põhjustavad kasvajaid mitut moodi

Mehhanismid langevad kahte laia kategooriasse.

- otsene mehhanism: **insertsiooniline mutagenees**, onkviirused nakatavad normaalseid rakke ja integreeruvad genoomi põhjustades muutunud lokaalset geeniekspressiooni. Kui rakud koguvad veel lisamutatsioone või leiab aset immuunsüsteemi nõrgenemine, siis võivad sellised rakud viia vähi tekkeni.
- kaudne mehhanism, viirusinfektsioon põhjustab põletikku. Krooniline põletik tõstab vähitekke riski selles koes.

Kaposi sarkoom ja AIDS

Enne AIDSi epideemiat oli Kaposi sarkoom üliharuldane.



HIV ise ei ole tumorigeenne, kuid loob immuunpuudulikkuse näol keskkonna kasvaja-viiruste "kapist välja" tulemiseks.

src paradigma

Põhinedes RSV võimel mõni päev peale nakatamist rakke transformeerida, töötati 1958 Temini a Rubini poolt välja nn *focus assay*

- Fookuste hulk oli otseses seoses rakkudele lisatud RSV hulgaga, seega oli RSV täiesti piisav peremeesraku transformeerimiseks.

Kasutades seda katsesüsteemi, leiti et

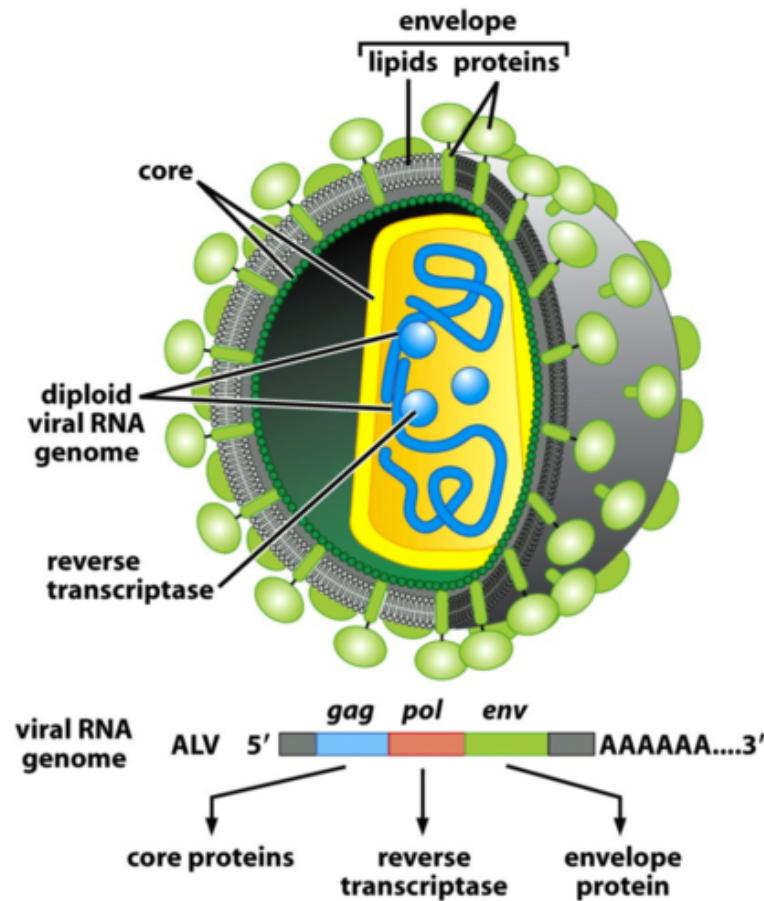
Paljunemine ja raku transformeerimine on viirusel eraldi funktsioonid.

- raku fenotüüp on viiruse genoomi kontrolli all, on olemas RSV mutandid, mis põhjustavad transformeerimisel rakkudel pikenenud fenotüübi;
- viiruse paljunemine pole raku transformsiooniks vajalik, replikatsiooni-defektne mutant transformeeris rakke ilma viirust tootmata;
- tekivad spontaansed mutandid mis replitseeruvad kuid enam ei transformeeri, enamus RSV liine on mitte-defektsed (neil on genoomis olemas kõik viiruse replikatsiooniks vajalikud geenid ja onkogeen).

RSV geenide aktiivsus on vajalik transformatsiooniks

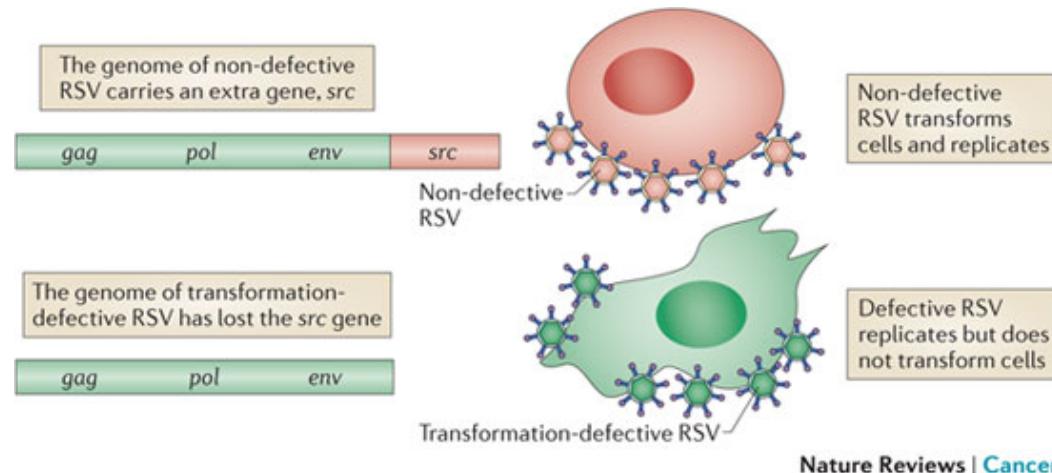
- RSV-indutseeritud transformatsioon kandub järglasrakkudele edasi.
- Kas tegemist on nn. *hit and run* mehhanismiga või on viiruse aktiivsus transformatsiooniks permanentsett vajalik
 - *hit and run*: transformeerunud fenotüüp kandub edasi juba viirusest sõltumatult.
- Viirus geenide vajalikkus selgus 1970 kui avaldati *Nature* artikkel kus kirjeldati temperatuuritundliku (*ts*) RSV mutandiga tehtud katseid:
 - transformatsioon oli temperatuuritundlik, kuid viiruse replikatsioon mitte.

ALV/RSV virion

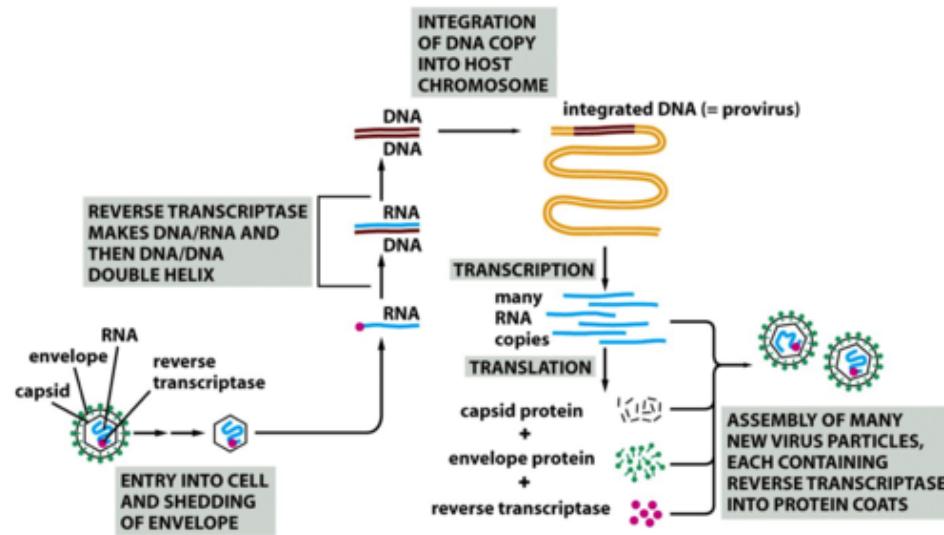


Metsik tüüpi RSV vs. transformatsioonidefektne (td)

td RSV genoom on väiksem



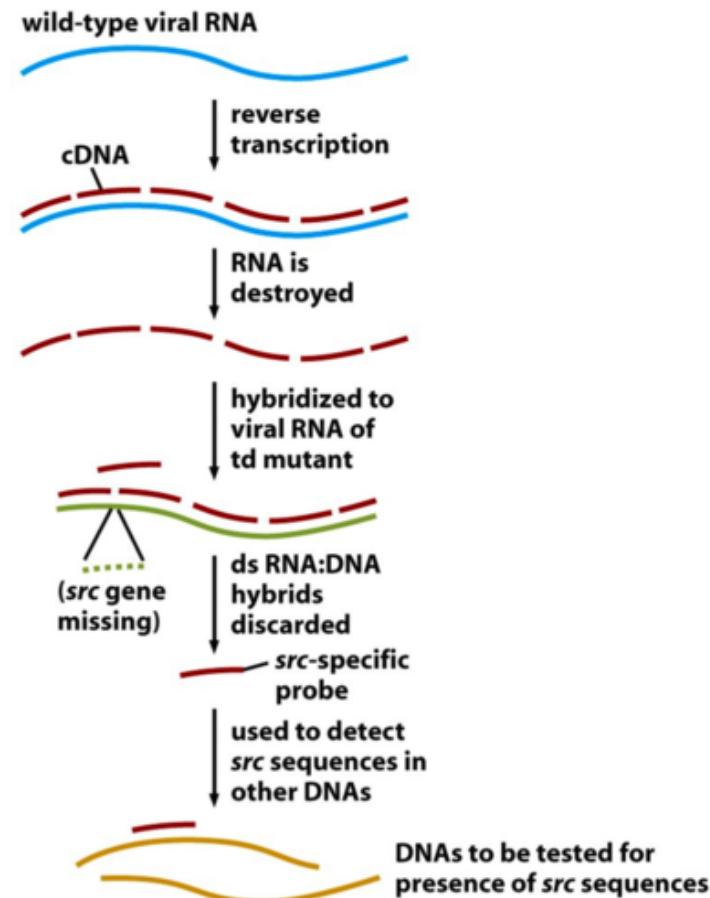
Lihtsa retroviiruse elutsükkel



RSV src päritub raku genoomist

Kasutades ära 1970 aastal RSV-st avastatud RNA sõltuvat DNA polümeraasi (pöördtranskriptaas) näidati, et selles viiruses olev transformeeriv src RNA järestus on pärit linnu genoomist.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1975 was awarded jointly to David Baltimore, Renato Dulbecco and Howard Martin Temin "for their discoveries concerning the interaction between tumour viruses and the genetic material of the cell".



Retroviiruste onkovalkude funktsionaalsed klassid

KLASS	NÄIDE	VIIRUS
kasvufaktor	Sis (PDGFB)	ahvi sarkoomiviirus
retseptor TK	ErbB (EGFR)	linnu erütroblastosi viirus
hormoonretseptor	ErbA (THRA)	linnu erütroblastosi viirus
G valk	Ha-ras, GTPase	Harvey sarkoomiviirus
	Ki-ras, GTPase	Kirsten sarkoomiviirus
adaptorvalk	Crk, modulaarne signaali link CT10	linnu sarkoomiviirus
mitte-retseptor TK	Src, tsütoplasma kinaas	Rousi sarkoomiviirus
	Abl, tsütoplasma kinaas	Abelsoni hiire leukemia virus
seriin/treoniin kinaas	Akt, tsütoplasma kinaas	Akt8 hiire thymoma virus
	Mos, tsütoplasma kinaas	Moloney hiire sarkoomiviirus
transkriptsiooni regulaator	Jun, AP1 TF kompleks	linnu sarkoomiviirus 17
	Fos, AP1 TF kompleks	Finkel-Biskis-Jenkins hiire sarkoomiviirus
	Myc, transkriptsioonifaktor	linnu müelotsütomatoosi viirus MC29
lipiidikinaas	Pi3k	linnu sarkoomiviirus 16

Ka mitte transformeerivad viirused võivad aktiveerida proto-onkogeene genoomi insertsioonil

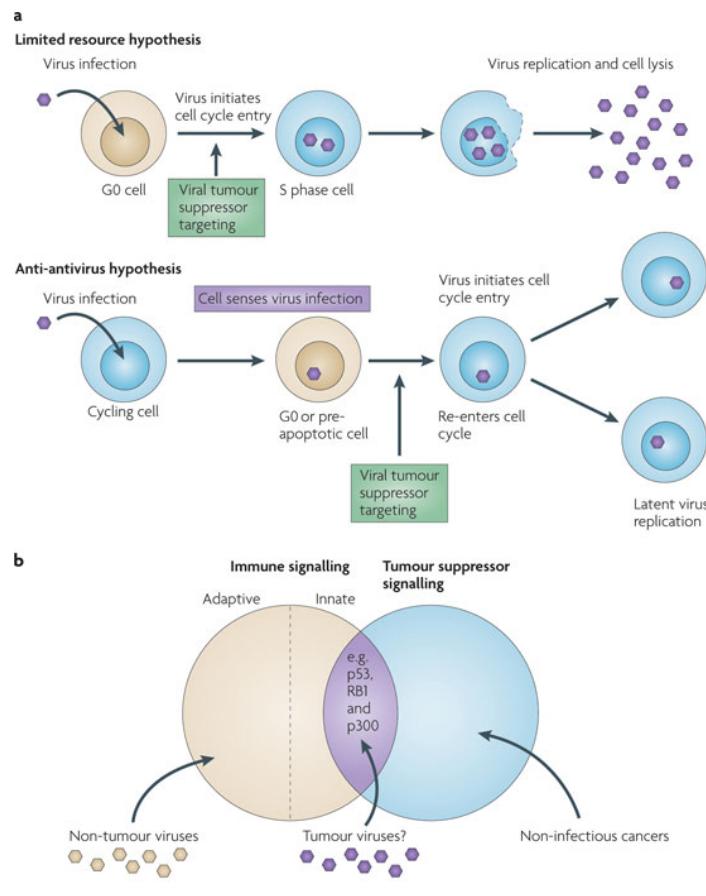
GEEN	VIIRUS	KASVAJA	LIIK	ONKOVALK
myc	ALV	B-raku lümfoom	kana	transkriptsiooni faktor
myc	ALV, FeLV	T-raku lümfoom	kana, kass	transkriptsiooni faktor
nov	ALV	nefroblastoom	kana	kasvufaktor
erbB	ALV	erütroblastoots	kana	retseptor TK
int-1 (Wnt-1)	MMTV	rinnanäärme kartsinoom	hiir	kasvufaktor
int-2 (FGF)	MMTV	rinnanäärme kartsinoom	hiir	kasvufaktor
int-3 (notch)	MMTV	rinnanäärme kartsinoom	hiir	retseptor
pim-1	Mo-MLV	T-raku lümfoom	hiir	ser/thr kinaas
bmi-1	Mo-MLV	T-raku lümfoom	hiir	transkriptsiooni repressor
tpl-2	Mo-MLV	T-raku lümfoom	hiir	mitte-retseptor TK
lck	Mo-MLV	T-raku lümfoom	hiir	mitte-retseptor TK
p53	Mo-MLV	T-raku lümfoom	hiir	transkriptsionifaktor
IL2	GaLV	T-raku lümfoom	gibbon ape	tsütokiin
K-ras	F-MLV	T-raku lümfoom	hiir	väike G valk
CycD1	F-MLV	T-raku lümfoom	hiir	G1 tsükliin

Viiruse onkogeenid: RNA versus DNA viirused

- Retroviiruste onkogeenid on rakulist päritolu ja peamiselt dereguleerivad signaalatsiooni ja transkriptsiooni kontrolli (SRC, MYC, RAS, ERBB).
- Onkogeensed DNA viirustel on aga genoomis isiklikud onkogeenid: HPV E6, SV40 LT (*large T*).
- DNA viiruste onkogeenid toimivad rakuliste kontrollmehhanismide blokeerimise teel, nt. HPV E6 ja SV40 LT inhibeerivad p53, HPV E7 inhibeerib RB-d.

Viiruse onkovaalkude päritolu

Kas (i) viirus paneb rakulise jagunemise masinavärgi tööle selleks, et paljuneda või (ii) üritab immunsüsteemile märkamatuks jäädva.

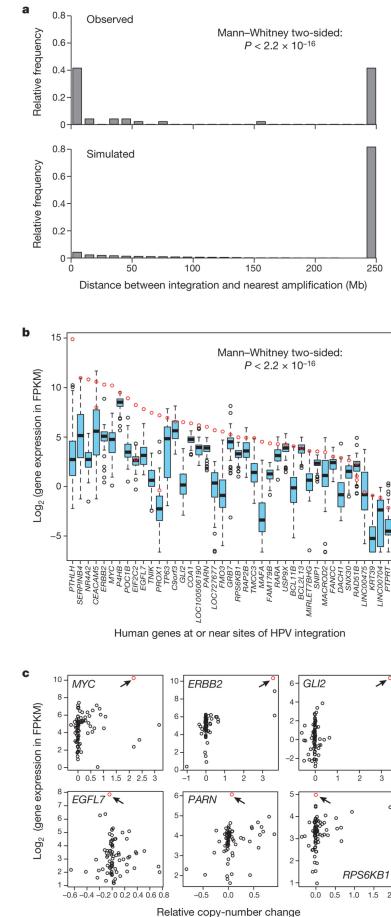


- Viiruse onkogenid inhibeerivad raku tuumor-suppressor funktsoone (**piiratud ressursid**), et tagada viiruse paljunemine ja vähi teke on tingitud juhuslikest mutatsioonidest.
- Viiruse strateegia on peremehe kaasasündinud (*innate*) immuunsuse vaiki hoidmine: tuumorsuppressorid on hõivatud ka kaasasündinud immuunsuses.

Landscape of genomic alterations in cervical carcinomas

Relationships between HPV integration, copy-number amplifications and gene expression in cervical carcinoma

- HPV integration occurred closer to amplified regions than expected by chance.
- Viral integration was localized to one locus in most tumours investigated.
- Many of the genes involved in the integration events are members of cellular pathways known to have important roles in cancer.

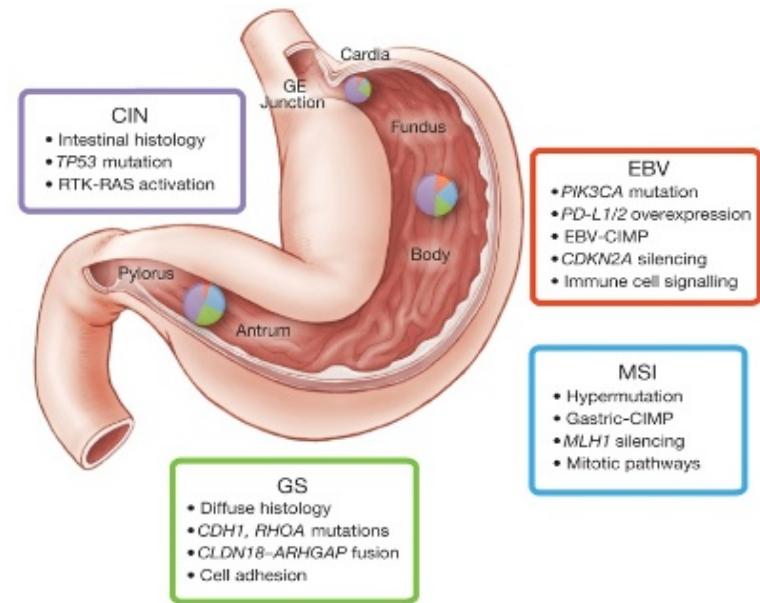


Altered immune response in cervical carcinomas

- Mutations in the HLA-B, HLA-A and in the β 2-microglobulin (B2M) genes.
- All mutations in these three genes were within the antigen-presenting domains of each respective protein.
- Pathway analyses also revealed that the most significantly mutated gene set in squamous cell carcinomas involves immune response genes in the interferon- γ signalling pathway, including mutations in IFNG and JAK2.
- Together, these data highlight the significance of the synergy between HPV infection and an altered immune response in squamous cell carcinomas of the cervix.

Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma

- EBV is found within malignant epithelial cells in 9% of gastric cancers.
- Amplification of 9p locus containing JAK2, CD274 and PDCD1LG2 was enriched in the EBV subgroup (15% of tumours).
 - JAK2 encodes a receptor tyrosine kinase and potential therapeutic target.
 - CD274 and PDCD1LG2 encode PD-L1 and PD-L2, immunosuppressant proteins.



Viited

- Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology
Patrick S. Moore & Yuan Chang Nature Reviews Cancer 10, 878-889 (December 2010)
doi:10.1038/nrc2961
- Retroviral oncogenes: a historical primer Peter K. Vogt Nature Reviews Cancer 12, 639-648 (September 2012) doi:10.1038/nrc3320
- The Biology of Cancer Robert A. Weinberg Garland Science (2007) ISBN: 9780815340782
- Landscape of genomic alterations in cervical carcinomas Nature 506, 371–375 (20 February 2014) doi:10.1038/nature12881
- Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma The Cancer Genome Atlas Research Network Nature 513, 202–209 (11 September 2014) doi:10.1038/nature13480

