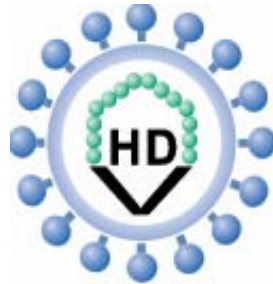


**Molekulare Mechanismen der Pathogenese bei  
Infektionskrankheiten**

**Latente Infektion und Reaktivierung  
am Beispiel der Herpesviren**



**Hans-Georg Kräusslich**

Abteilung Virologie, Hygiene Institut

INF324, 4. OG

**<http://virology.hyg.uni-heidelberg.de>**

# Beispiele für latente Virusinfektionen

| <b>Virus</b>          | <b>Krankheit</b>              | <b>Latenz</b>                     |
|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| <b>HERPESVIRIDAE</b>  |                               |                                   |
| <b>HSV</b>            | <b>Oral/genital</b>           | <b>Sensorische Ganglien</b>       |
| <b>VZV</b>            | <b>Windpocken, Gürtelrose</b> | <b>Ganglien</b>                   |
| <b>CMV</b>            | <b>subklinisch, Pneumonie</b> | <b>Speicheldrüse</b>              |
| <b>EBV</b>            | <b>Mononukleose, Lymphom</b>  | <b>B Lymphozyten</b>              |
| <br>                  |                               |                                   |
| <i>PAPOVAVIRIDAE</i>  |                               |                                   |
| <i>JC-Virus</i>       | <i>PML</i>                    | <i>Nierenepithelium</i>           |
| <i>Papillomavirus</i> | <i>Warzen, Karzinome</i>      | <i>Basalschicht der Haut</i>      |
| <br>                  |                               |                                   |
| <i>RETROVIRIDAE</i>   |                               |                                   |
| <i>HTLV</i>           | <i>Adulte T-Zell-Leukämie</i> | <i>T Lymphozyten (integriert)</i> |

# Mechanismen viraler Persistenz und Latenz

**Persistenz** kann durch kontinuierliche (low level) Replikation bei gleichzeitiger Immunevasion, durch kontinuierliche Neuinfektion oder durch latente Infektion ohne oder mit geringer Genexpression bewirkt werden

## **Latenz** durch

Integriertes Genom, das wie zelluläres Gen repliziert wird  
(Retroviren)

Episomale Genomreplikation bei minimaler Genexpression  
(Herpesviren, z.B. EBV)

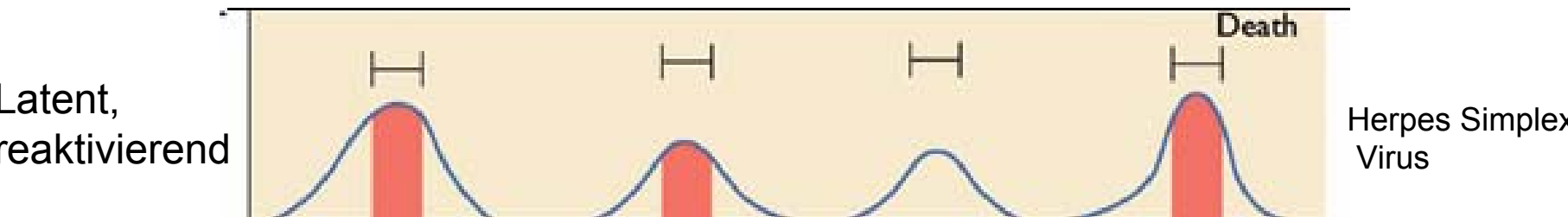
Episomales Genom in terminal differenzierten Zellen (keine Zellteilung), das nicht mehr repliziert wird (z.B. Herpes simplex Virus)

# Latente Infektion und Reaktivierung bei Herpesviren

Nach der Primärinfektion verbleibt das Virus dauerhaft im Organismus in nicht-infektiöser Form

Das virale Genom persistiert ohne Bildung infektiöser Viruspartikel

Episomale Erhaltung des viralen Genoms wird durch virale und zelluläre Faktoren bestimmt



# Herpesviren



Lineares, doppelsträngiges DNA-Genom

Ca 120 – 230 kb Genomgröße, umhüllt mit ikosaedrischem Kapsid und Tegument zwischen Kapsid und Hülle

Das Genom kodiert für ein komplettes Replikationssystem mit DNA Polymerase, Genomreplikation mit RNA Primer und Replikationsgabel

Virale Transaktivatoren im Partikel verpackt (Tegument) stimulieren die sofortige Transkription (immediate early genes)

Alle Herpesviren induzieren eine latente Infektion:

**Einmal Herpes – Immer Herpes**

# Herpesviren

Große, umhüllte dsDNA-Viren, häufigste humanpathogene Viren

**$\alpha$  Herpes-Simplex-Virus-1 und -2:**  
Herpes labialis, Herpes genitalis, HSV-Enzephalitis

**Varizella-Zoster-Virus:**  
Windpocken, Herpes Zoster

**$\beta$  Cytomegalo-Virus:**  
CMV Pneumonie, CMV Retinitis, pränatale CMV-Infektion

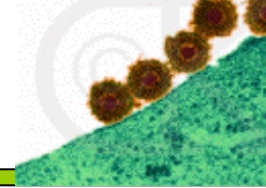
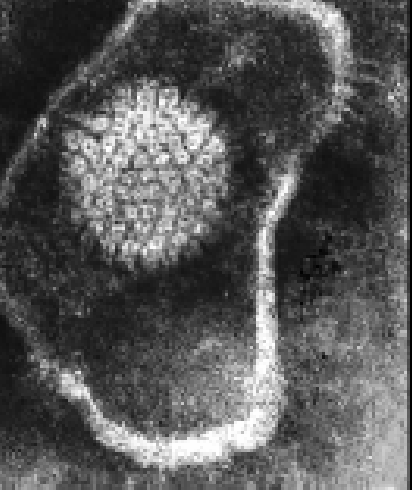
**Humanes Herpesvirus-6 und -7:**  
Erythema Subitum (Drei-Tages-Fieber)

**$\gamma$  Epstein-Barr-Virus:**  
Pfeiffer'sches Drüsenfieber (assoziiert mit  
Burkitt-Lymphom, Nasopharynx-Karzinom)

**Humanes Herpesvirus-8:**  
Kaposi-Sarkom



# Herpes-Simplex-Virus (HSV)



**Primärinfektion** der  
Mundschleimhaut (HSV-1),  
des Auges (Konjunktiven, Cornea)  
oder des Genitale (HSV-2)  
Asymptomatische Persistenz in sensorischen  
Ganglien  
**Latenz, Reaktivierung** durch Sonnenlicht,  
Nervenreizung, Fieber, Stress  
Virus wandert wieder in die Peripherie

**Komplikationen:** Meningitis, Enzephalitis



# Ausbreitung von alpha-Herpesviren

## Primäre Infektion, normaler Zyklus



Schleimhäute

Virämie

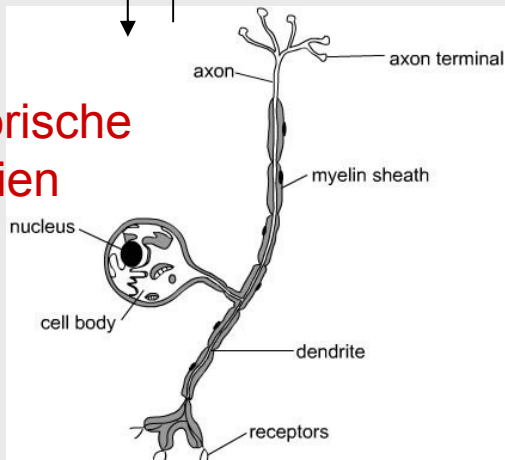
## Dissemination

Organsysteme

Latenz

Reaktivierung

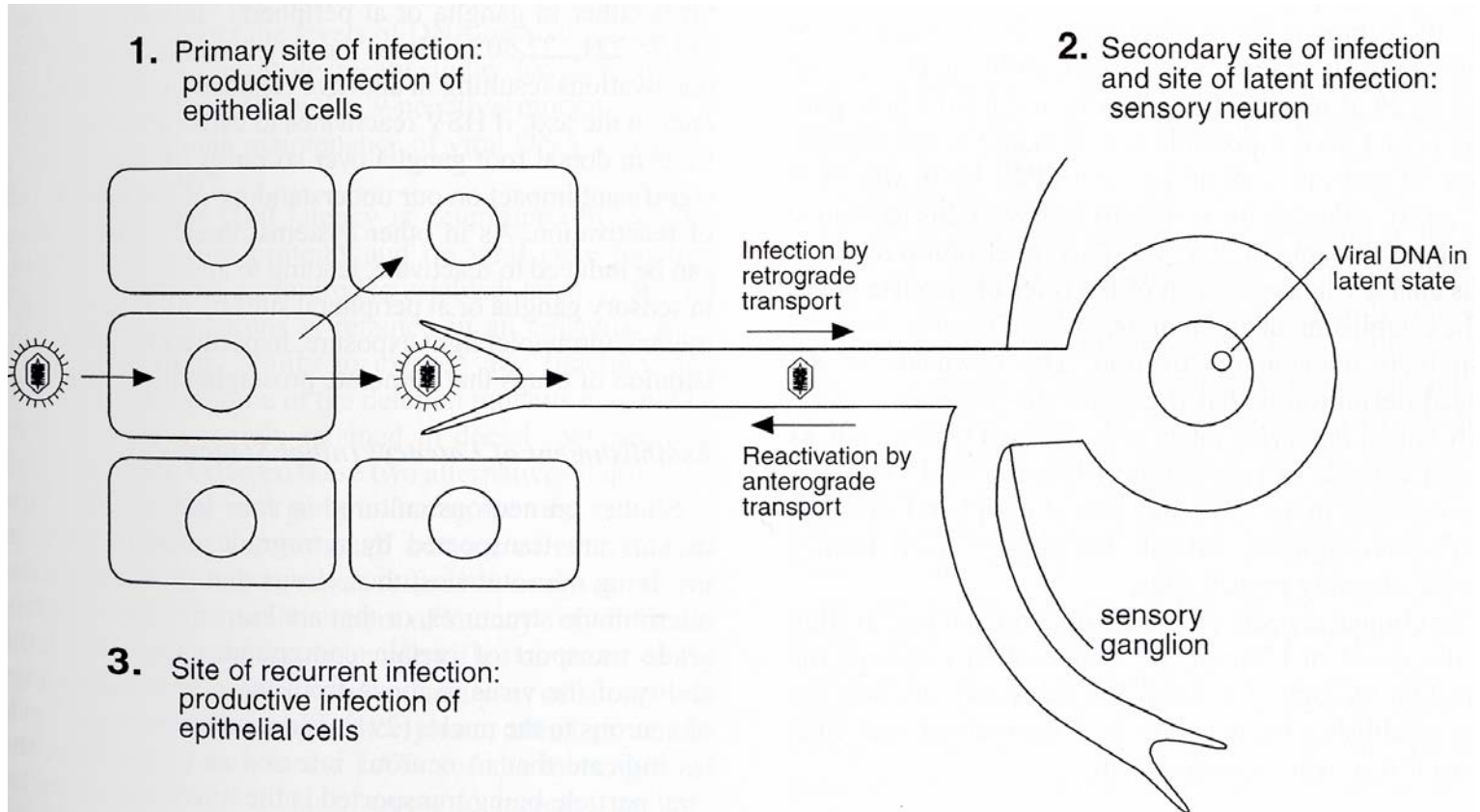
Sensorische  
Ganglien



ZNS

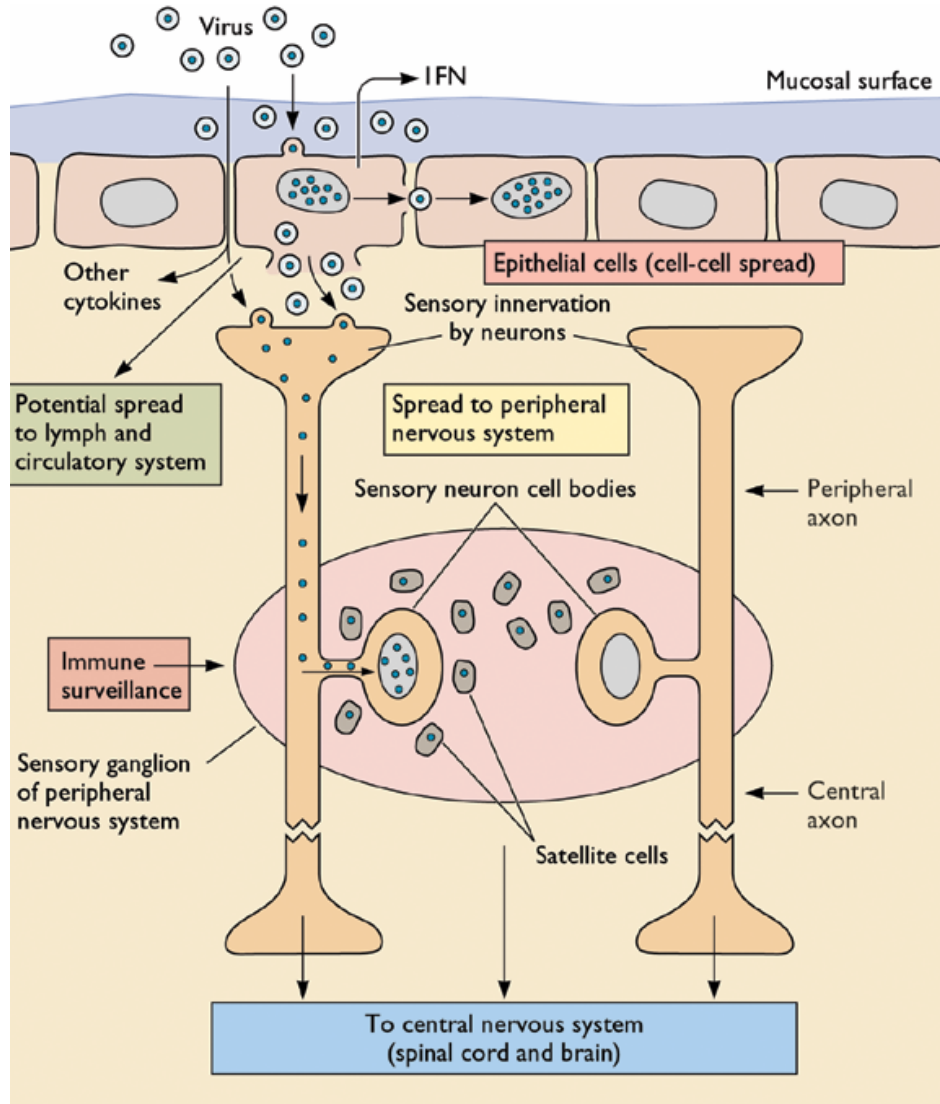


# Ausbreitung von alpha-Herpesviren



- 1) Primärinfektion des Epithels und Transfer in die peripheren Nerven-Endigungen, Axonaler Transport,
- 2) Asymptomatische Persistenz in sensorischen Ganglien, **Latenz**
- 3) **Reaktivierung** und Transport in die Peripherie, Reinfektion des Epithels

# Axonaler Transport von HSV



# Definition des latenten Herpes simplex Virus und HSV Genexpression während der Latenz

Kein Nachweis infektiöser Viruspartikel

Herpes simplex Virus DNA bleibt durch PCR oder *in situ* PCR  
nachweisbar

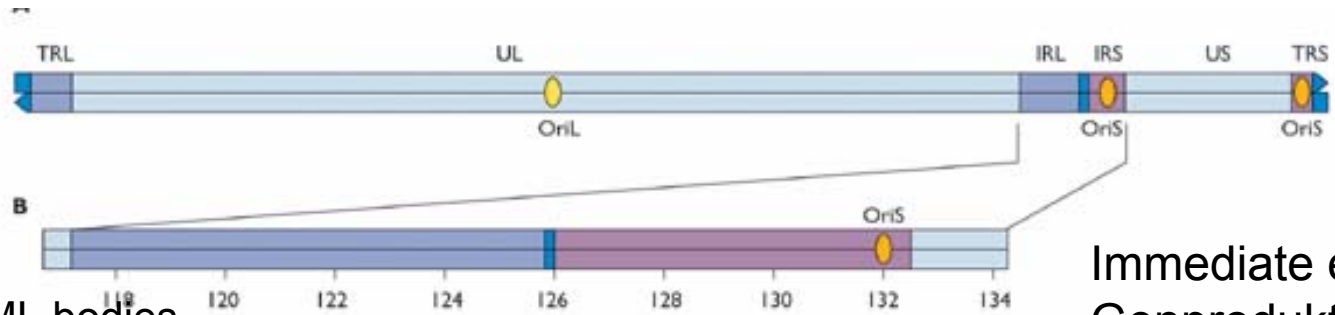
Latente virale DNA liegt in episomaler Form verpackt in Nukleosomen  
vor, repliziert aber nicht

Latenz-assoziierte Transkripte (LAT) können durch *in situ* Hybridisation  
nachgewiesen werden (keine anderen Transkripte)

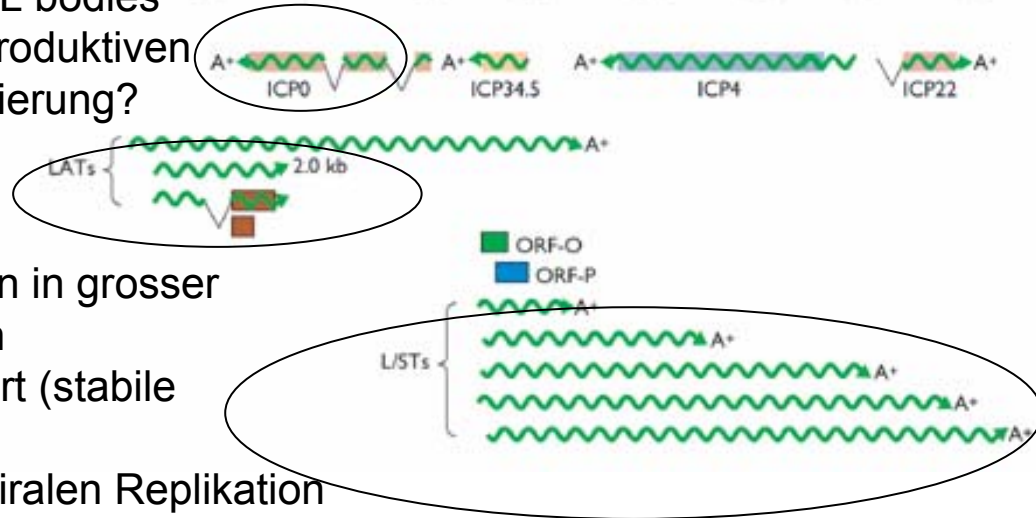
Die LAT umfassen mehrere Transkripte, die gespleißt werden, bisher  
keine bekannten Translationsprodukte

# Latenz-assoziierte Transkripte von HSV

Aktivierung eines Latenz-spezifischen Transkriptionsprogramms  
 Gene, die in der produktiven Infektion transkribiert werden, werden herunterreguliert



Reorganisiert PML bodies  
 Etablierung der produktiven Infektion, Reaktivierung?

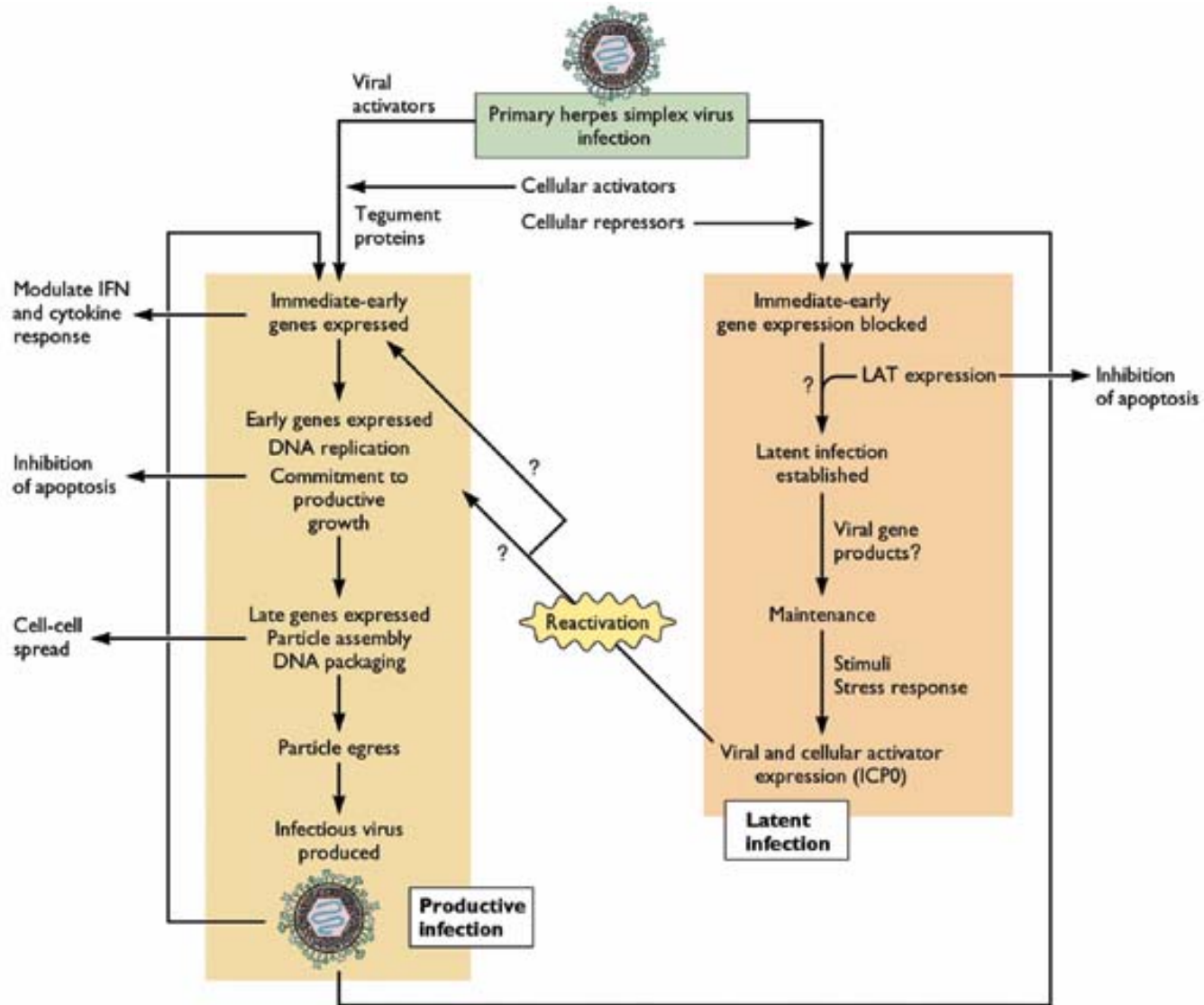


LATs akkumulieren in grosser Menge im Zellkern  
 Nicht polyadenyliert (stabile Introns?)  
 Suppression der viralen Replikation

Immediate early Genprodukte sind wichtig für die produktive Infektion

Blockieren die Bindung von ICP4 an Promotersequenzen  
 Expression viraler Gene wird verhindert

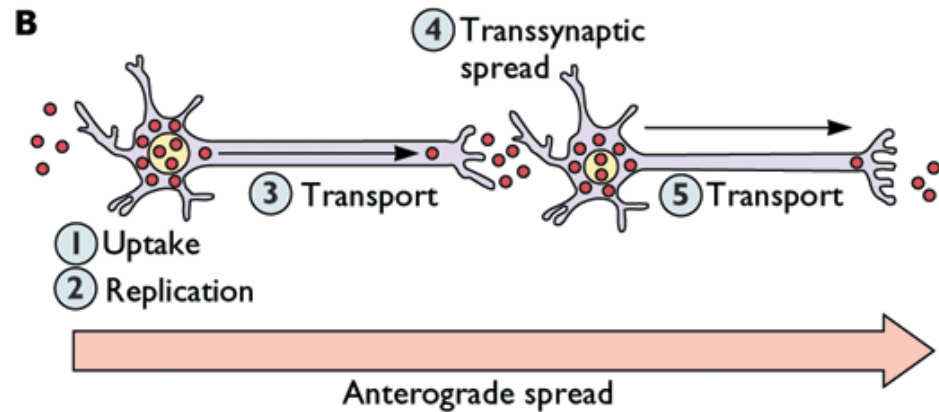
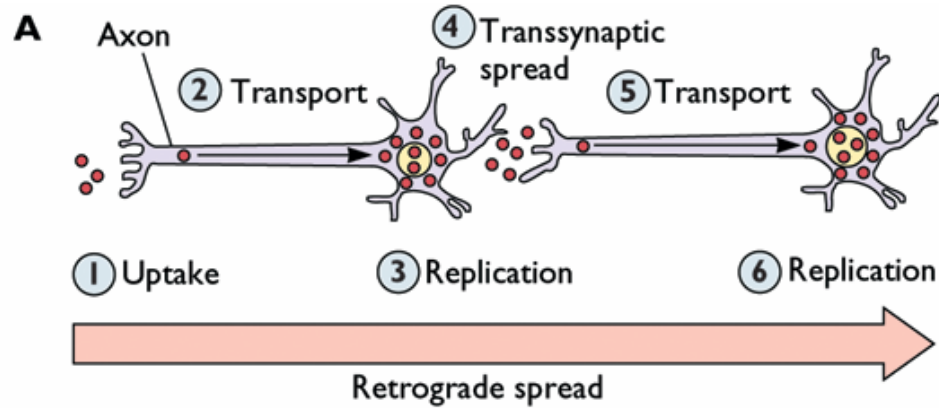
# HSV: Produktive und latente Infektion



# Reaktivierung von Herpes simplex Virus

- Wirtsfaktoren wie Stress, UV-Exposition, Immunsuppression etc induzieren HSV-Reaktivierung, wobei die genauen Signale und Mechanismen der Reaktivierung bisher nicht bekannt sind
- Expression des viralen Transaktivator-Proteins ICP0 ist anscheinend der erste Schritt der Reaktivierung und führt zur Genexpression und Virusproduktion latent infizierter Zellen
- Nur wenige latent mit HSV infizierte Neurone reaktivieren die Virusreplikation und führen zur Rekurrenz in den peripheren Epithelzellen
- Die restlichen latent infizierten Neurone verbleiben in der Latenz und können zu einem späteren Zeitpunkt zur Reaktivierung führen

# HSV Latenz und Reaktivierung



# Varicella-Zoster-Virus

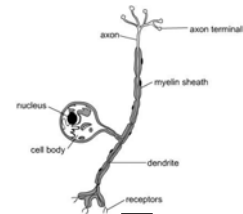
Primärinfektion: **Windpocken**

Hohe Kontagiosität

95% Durchseuchung im Kindesalter

## Komplikationen

- Bakterielle Sekundärinfekte
- Vernarbungen
- Pneumonie
- Meningoenzephalitis, Zerebellitis
- Embryopathie (8.-21. SSW)
- Perinatale Infektion (25% letal)
  
- **Persistenz in sensorischen Ganglien**
- **Reaktivierung** nach Dekaden  
(Schwächung des Immunsystems im Alter): **Gürtelrose (Herpes zoster)**
- Dermatombezogenes, stark schmerzhaftes Exanthem
  
- postherpetische Neuralgie





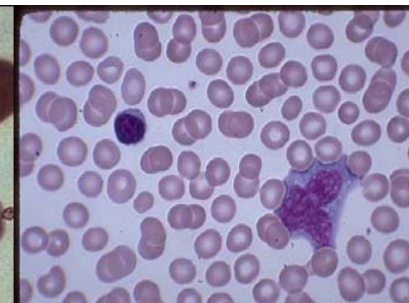
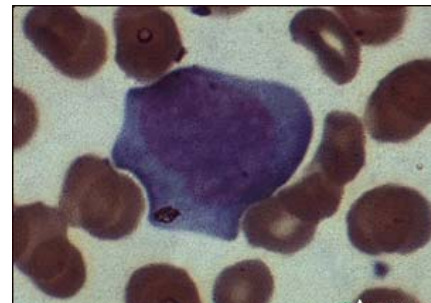
# Epstein-Barr-Virus

## Primärinfektion: Infektiöse Mononukleose (Pfeiffer'sches Drüsenfieber)

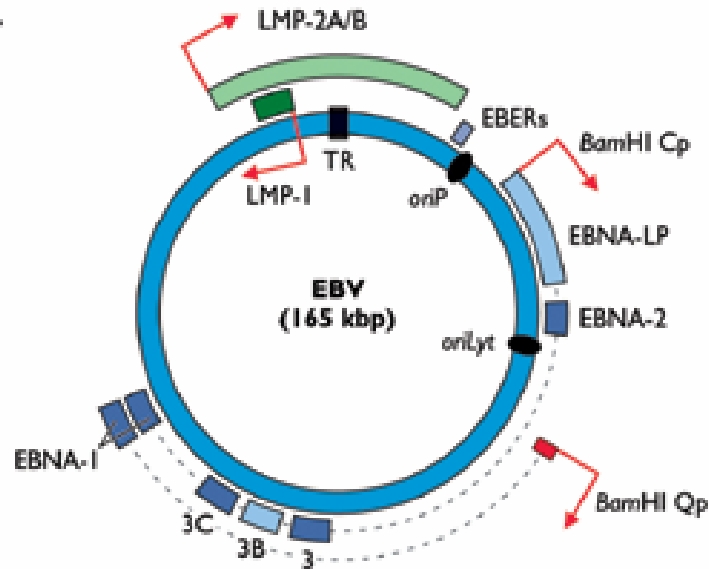
Bei Kleinkindern meist asymptomatisch, Erkrankung von Schulkindern, Studierenden und Erwachsenen als „*kissing disease*“  
Prävalenz >90%

**Fieber, Lymphadenitis, Angina tonsillaris,**  
oft mit Hepato-Splenomegalie  
langanhaltende Müdigkeit und erhöhte  
Temperatur über Monate  
selten Milzruptur, Hepatitis

**mikroskopisch:** atypische Lymphozyten  
im Blutausstrich (zytotoxische CD8+  
T-Lymphozyten)



# EBV Latenz und Reaktivierung



EBV infiziert ruhende B-Zellen und repliziert episomal in diesen Zellen

EBV-Infektion führt zur B-Zell Proliferation

Selten lytische Replikation, in der Regel wird Latenz induziert

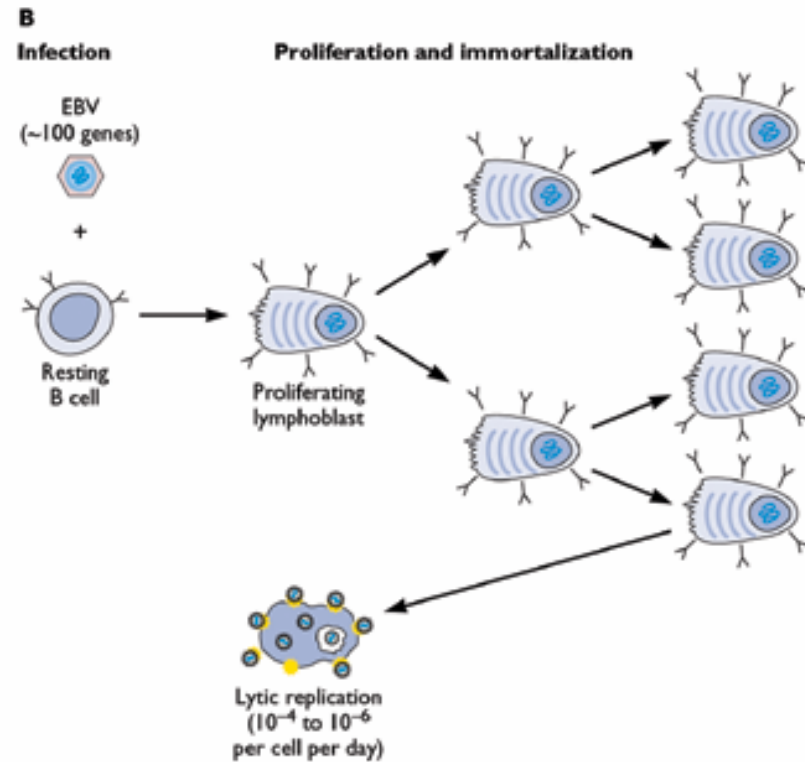
Im latenten Zustand werden nur wenige virale Genprodukte exprimiert

Reaktivierung z.B. durch Antigen-Stimulierung oder anders ausgelöste B-Zellaktivierung

# EBV: Infektionsmuster in B-Zellen

Modell für die frühe Infektion im Patienten:  
Infektion von B-Zellen in vitro

- Zellen proliferieren
- 25% der infizierten Zellen entwickeln sich zu immortalisierten Zellen
- ~ 1 in 10.000 bis 1 in 1.000.000 Zellen pro Tag produziert Viruspartikel



# EBV: Infektionsmuster in B-Zellen

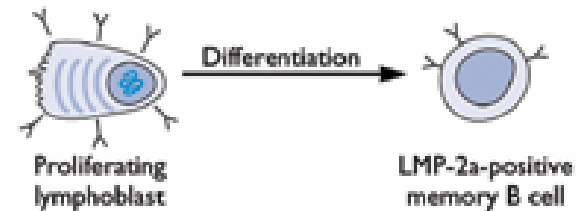
Elimination infizierter B-Zellen durch das Immunsystem

~ 1 in 100.000 Zellen persistiert als immortalisierte

Gedächtniszelle in Lymphorganen

Synthetisiert ausschliesslich LMP-2A mRNA

- selbst-limitierende Proliferation (Gleichgewicht zwischen Proliferation und Elimination durch das Immunsystem)
- Mononukleose
- B-Zell-Lymphom



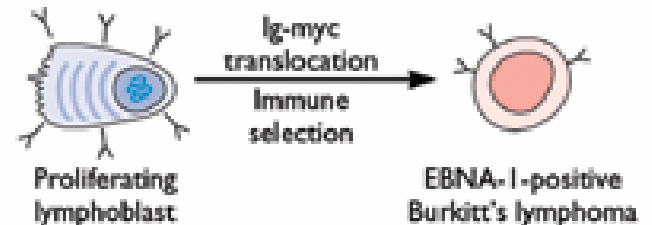
Chromosomale Translokation > konstitutive Expression von c-myc

B-Zellen proliferieren

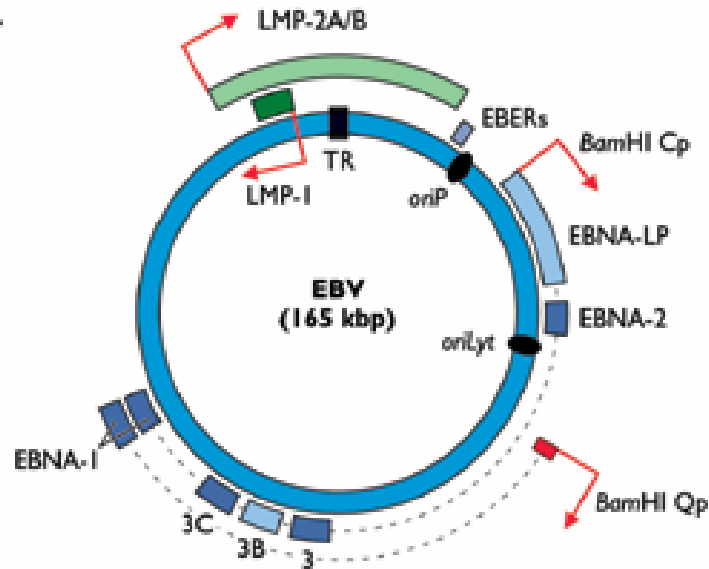
Immunantwort selektioniert für Zellen, die kaum virale Proteine exprimieren

Expression von EBNA-1 von eigenem Promoter

- Burkitt-Lymphom



# Latenz-assoziierte Transkripte von EBV



Lytische Replikation: > 90% aller Gene werden exprimiert; starke Immunantwort

Latenz: nur LATs werden exprimiert

**EBNA-1**: episodale Replikation des EBV-Genoms

**EBNA-2**: koordiniert Virus- und Wirts-Gen-Expression in der latenten Phase

**LMP-1**: Membranprotein, schützt infizierte Zelle vor Immunantwort (stimuliert Adhäsionsmoleküle und Apoptose-Inhibitor Bcl-2)

**LMP-2** Membranprotein, Blockiert Signaltransduktion durch src-Kaskade, inhibiert Reaktivierung

**EBER-1 und -2**: kleine PolIII-Transkripte, nicht-kodierend

Akute Infektion: Expression **aller LATs**, Etablierung des latenten Phänotyps, Promotion der Zellteilung

> **Lymphome unter Immunsuppression**

Typ-1 Latenz: **nur EBNA-1** wird exprimiert

> **Burkitt-Lymphom**

Expression von **EBNA-1** zusammen mit **LMP-1** und **-2**

> **Hodgkin-Lymphom, Nasopharynx-Carcinom, T-Zell-Lymphom**

# Cytomegalovirus (CMV)

β-Herpesvirus

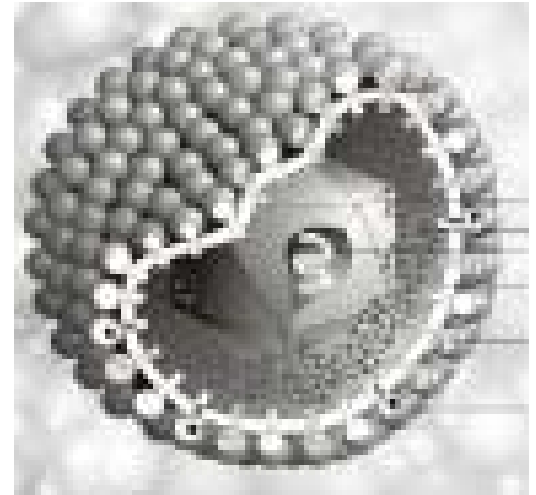
Infiziert breites Spektrum von Wirtszellen

Infektion **intrauterin** über **Muttermilch**  
oder engen **Kontakt**

10% 1. LJ; 40-45% bis Adoleszenz

meist inapparente Infektion

selten Splenomegalie, Fieber, Hepatitis



Replikation in: Fibroblasten, Endothelzellen, Epithelzellen, Muskelzellen,  
Myelomonozytäre Zellen

Persistenz in: Lymphozyten, Granulozyten, Hepatozyten

Klinisch bedeutsam bei

➤ **Intrauterinen Infektionen**

➤ **Reaktivierung unter Immunsuppression**

➤ Transplantation (CMV-Pneumonie)

➤ AIDS (v.a. CMV-Retinitis)