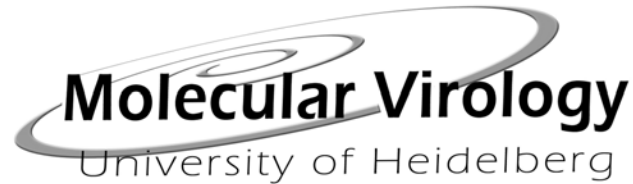


Molekularbiologie IV: Virologie

Latenz, Persistenz und Reaktivierung



Ralf Bartenschlager

Abteilung Molekulare Virologie, Hygiene Institut

INF 345, 1.OG

<http://molecular-virology.uni-hd.de>

Latenz, Persistenz und Reaktivierung

Virale Mechanismen, die die Viruselimination verhindern

Akute Infektion → Viruselimination

Persistente Infektion → lang andauernde Infektion
ohne/späte Viruselimination

↙
persistent

nachweisbare Virusreplikation
zu (jedem) Zeitpunkt

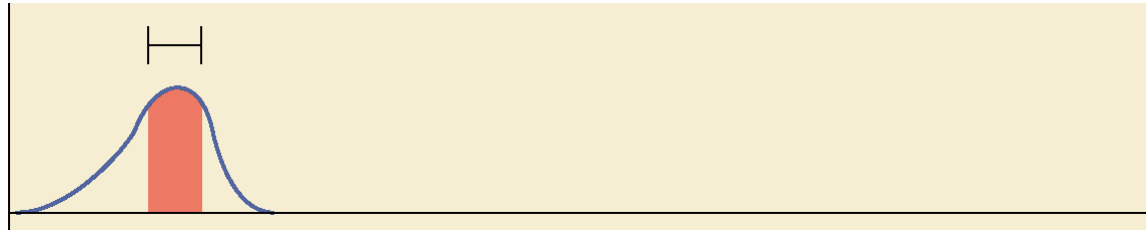
↘
latent

Phasen ohne nachweisbare
Virusreplikation

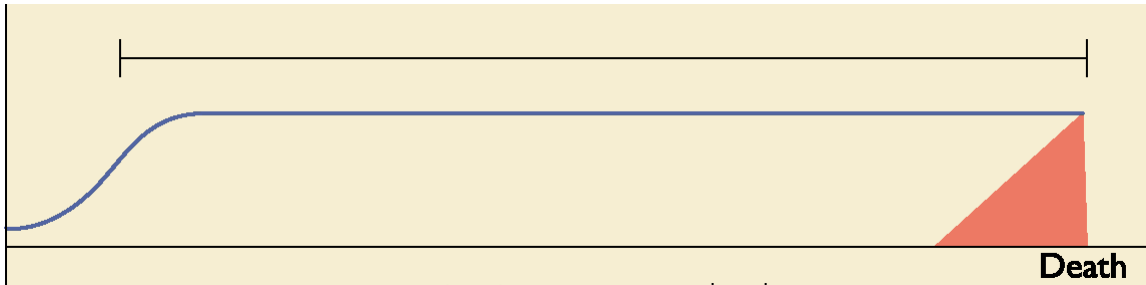
↓
Reaktivierung der Replikation

Verlaufsformen viraler Infektionen

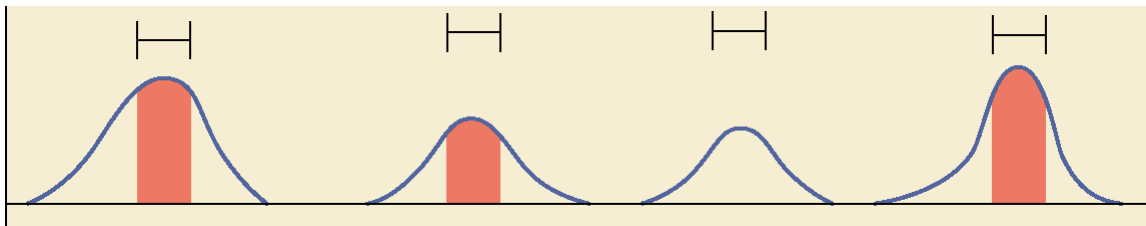
Virusproduktion



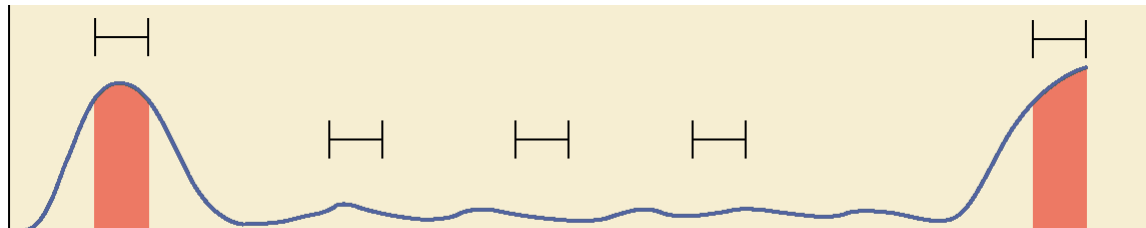
Akute Infektion
Influenza



Persistente Infektion
LCMV, HCV



Latente Infektion
mit Reaktivierungen
Herpesviren (HSV)



Slow virus Infektion
HIV, Masern (SSPE)

Zeit

Death

Humanpathogene Viren, die persistente Infektionen verursachen können

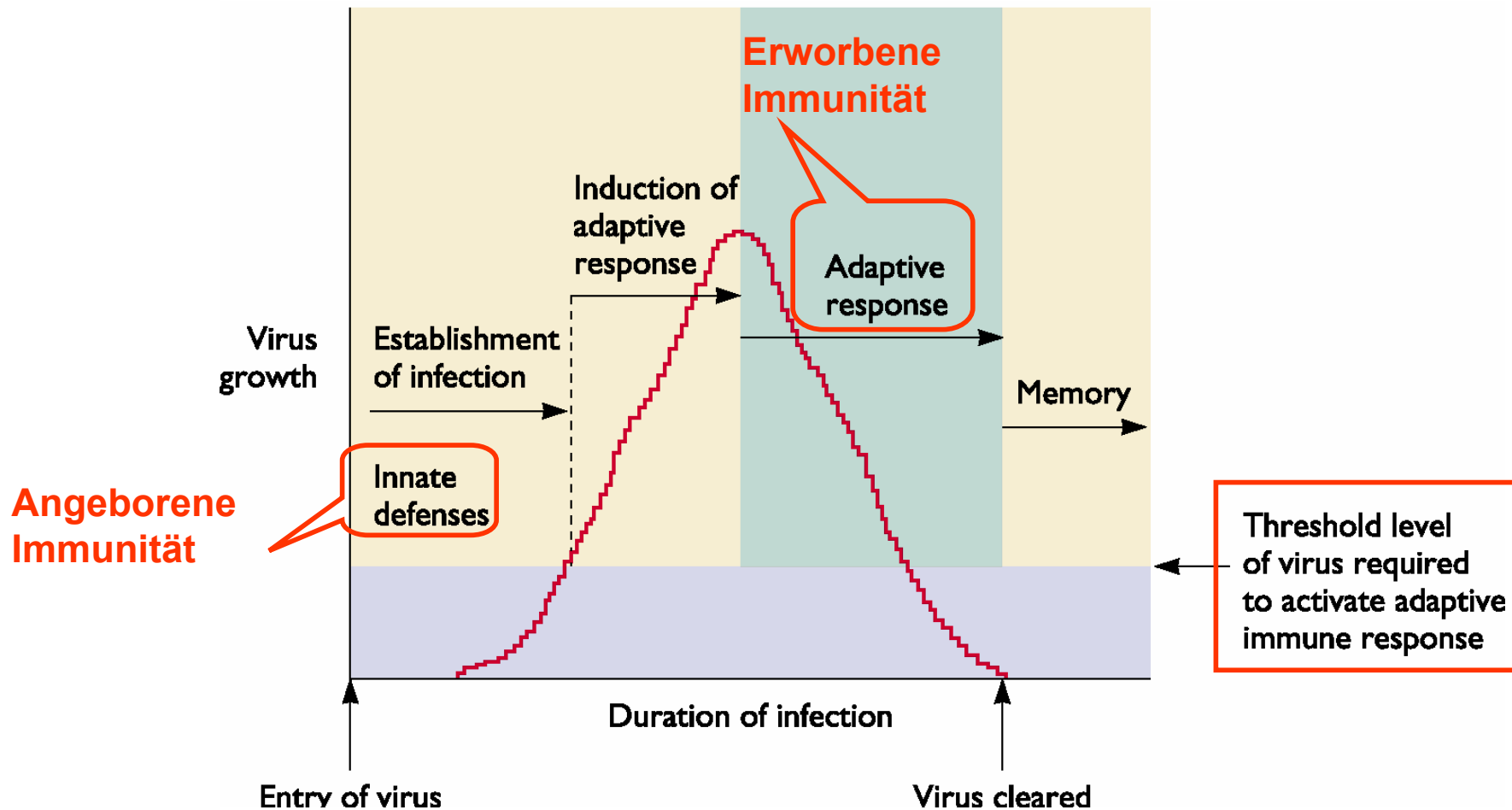
Table 15.5 Persistent viral infections of humans

Virus	Site of persistence	Consequence(s)
Rubella virus	CNS ^a	Progressive rubella panencephalitis
Hepatitis C virus	Liver	Cirrhosis, hepatocellular carcinoma
Measles virus	CNS	Subacute sclerosing panencephalitis, measles inclusion body encephalitis
Human immunodeficiency virus	CD4 ⁺ T cells, macrophages, microglia	AIDS
Human T-cell leukemia virus types 1 and 2	T cells	Leukemia
Hepatitis B virus	Liver, lymphocytes	Cirrhosis, hepatocellular carcinoma
Hepatitis D virus	Liver	Pathological synergy with hepatitis B virus
Polyomavirus JC	Kidneys, CNS	Progressive multifocal leukoencephalopathy
Polyomavirus BK	Kidneys	Hemorrhagic cystitis
Papillomavirus	Skin, epithelial cells	Papillomas, carcinomas
Adenovirus	Adenoids, tonsils, lymphocytes	None known
Varicella-zoster virus	Sensory ganglia	Zoster (shingles), postherpetic neuralgia
Herpes simplex virus types 1 and 2	Sensory and autonomic ganglia	Cold sores, genital herpes
Epstein-Barr virus	B cells, nasopharyngeal epithelia	Lymphoma, carcinoma
Human cytomegalovirus	Kidneys, salivary glands, lymphocytes, macrophages, stromal cells	Pneumonia, retinitis

^aCNS, central nervous system.

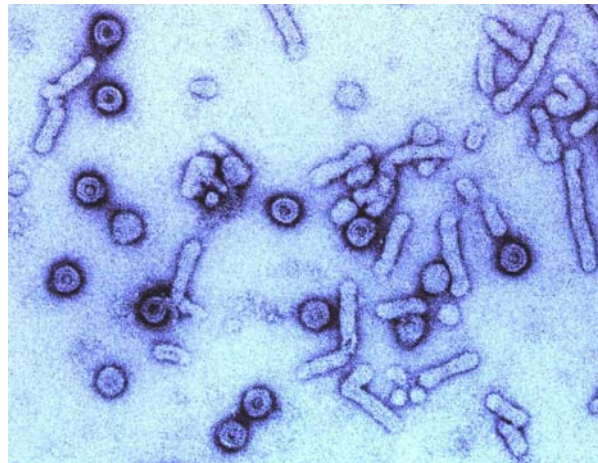
Verlauf einer akuten Infektion:

Welche Barrieren müssen Viren überwinden, um Persistenz zu etablieren?



Strategien der Immunevasion (1)

Induktion immunologischer Toleranz am Bsp. des Hepatitis B Virus



by courtesy of Hanswalter Zentgraf

Infektion Erwachsener	→	5-10% Persistente Inf.
perinatale Transmission	→	> 90% Persistente Inf.

Strategien der Immunevasion (2)

Infektion von Organen/Zellen mit geringer immunologischer Kontrolle

Gehirn/ZNS

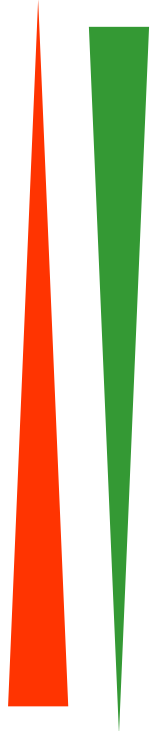
Blut-Hirn Schranke (Ausschluß von z.B. Komplement)

keine/geringe MHC-I Expression

Gewebe, das in direktem Kontakt mit der Umwelt (Haut)

Virale Persistenz am Beispiel von HPV

Antigen

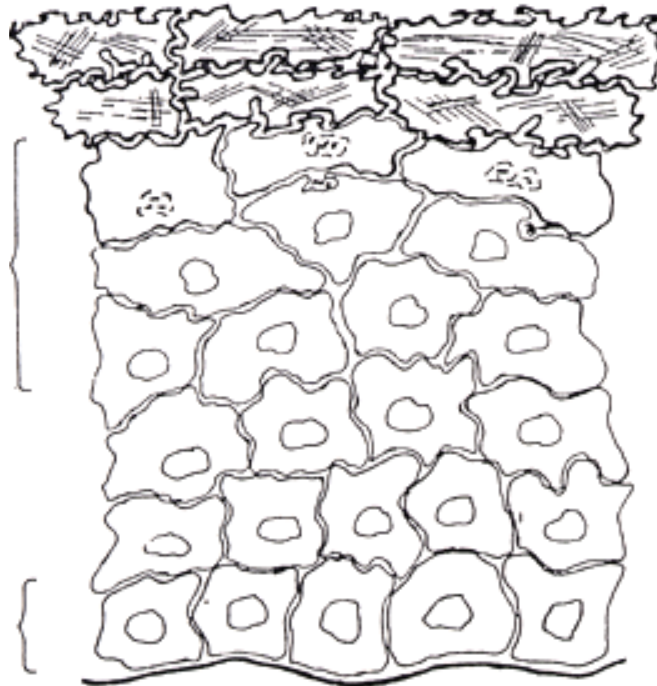


Immun
Überwachung

PAPILLOMAVIRUS
LIFE CYCLE

- Virion Assembly
- Vegetative DNA Replication
- Capsid Protein Expression

Episomal DNA



EPIDERMAL LAYERS

Stratum
Corneum

Granular
Layer

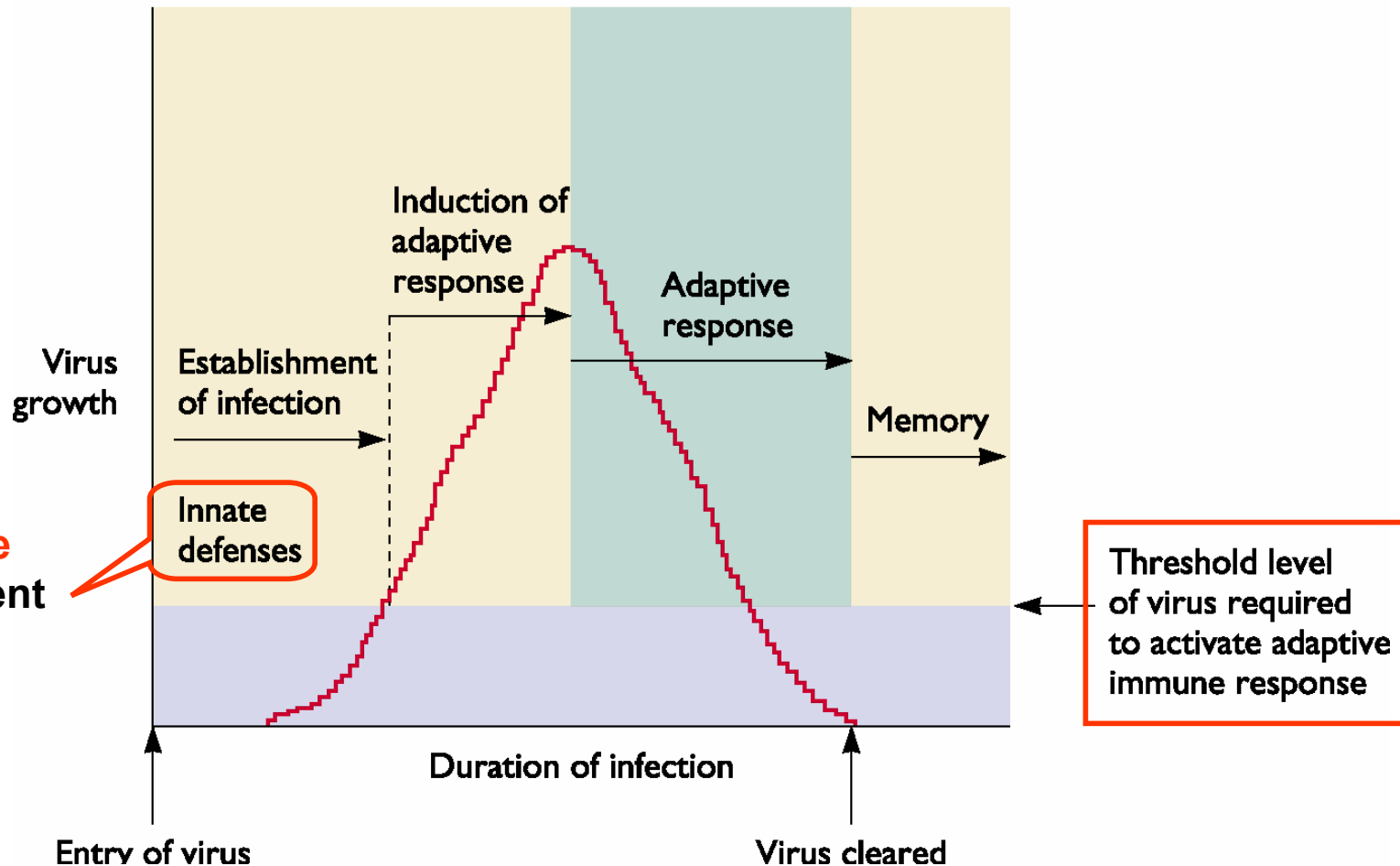
Stratum
Spinosum

Basal

Basement Membrane

Verlauf einer akuten Infektion:

Welche Barrieren müssen Viren überwinden, um Persistenz zu etablieren?



Angeborene Immunität

- Die einzige immunologische Abwehr, die sofort verfügbar nach Virusinfektion
- Unterscheidet zwischen der Art des Eindringlings (Toll-like receptros)
- Wichtig für Induktion der ‚erworbenen Immunität‘

‚Komplementsystem

Serumkomponenten, die Bakterien und Viren inaktivieren

Sentinel cells‘

Dendritische Zellen und Makrophagen

Natural Killer Cells

zytolytische Zellen, die ohne T-Zellrezeptor lysieren

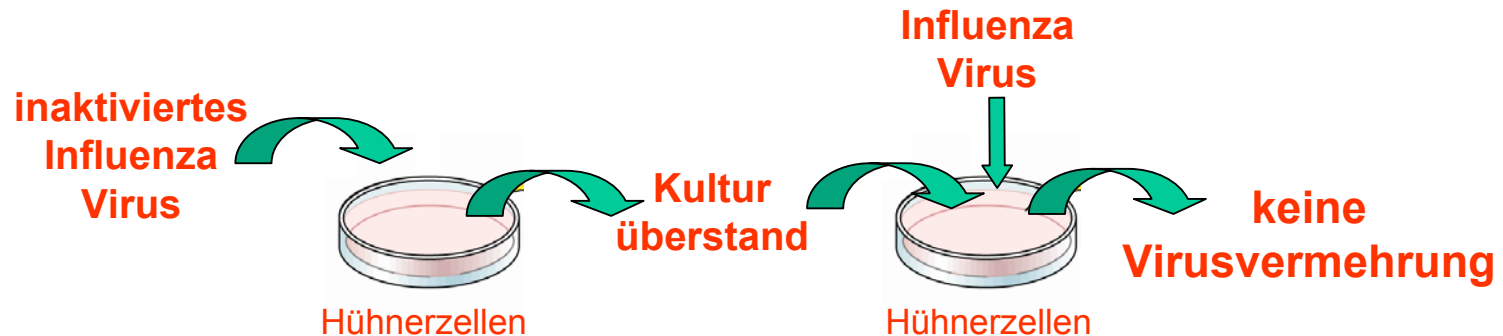
Zytokine

Beeinflussung der Entzündungsreaktion (TNF, IL-10)

Induktion eines antiviralen Status (**Interferone**)

Interferone

1957 Issacs und Lindemann: Entdeckung von Typ I IFN

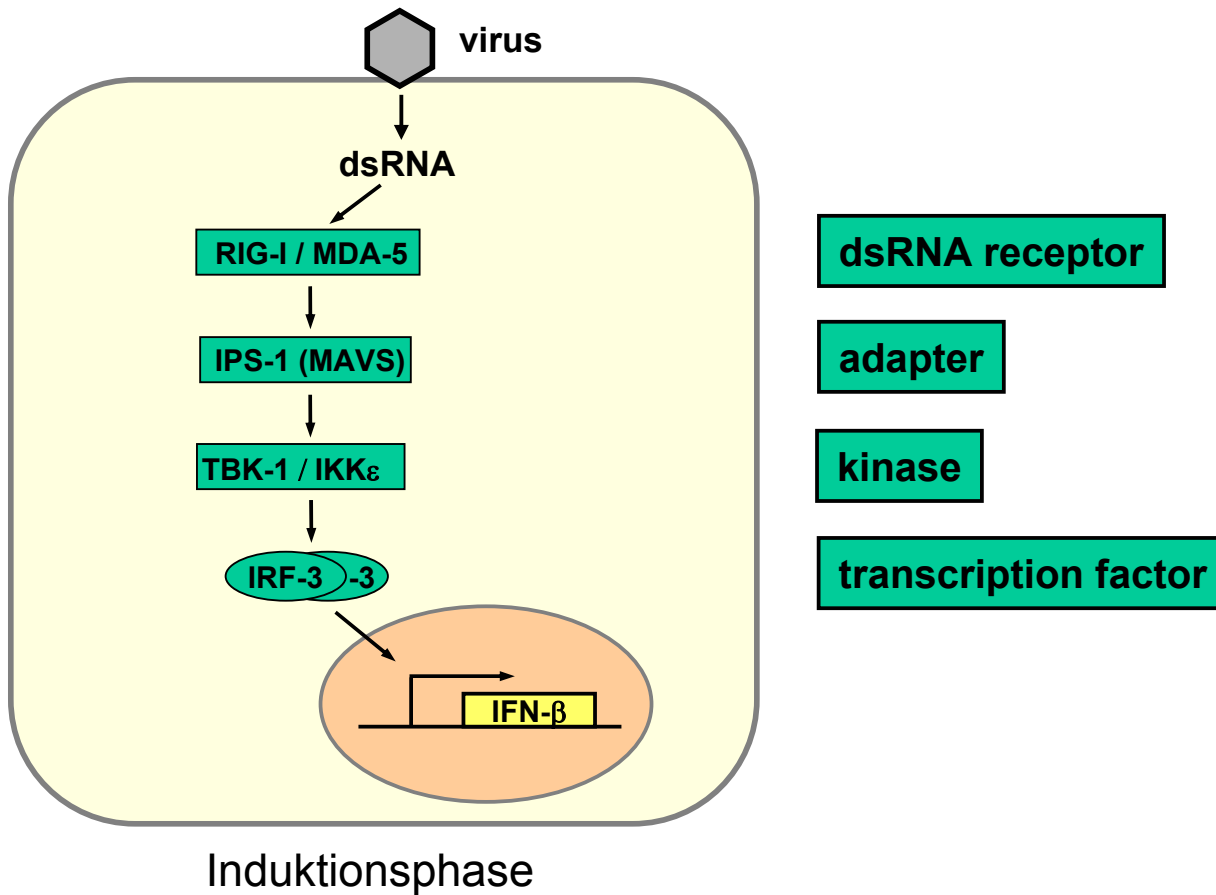


2 Klassen: Typ I (IFN-alpha und beta); Leukozyten, Fibroblasten
 Typ II (IFN-gamma = Immuninterferon); T-Zellen, NK-Zellen

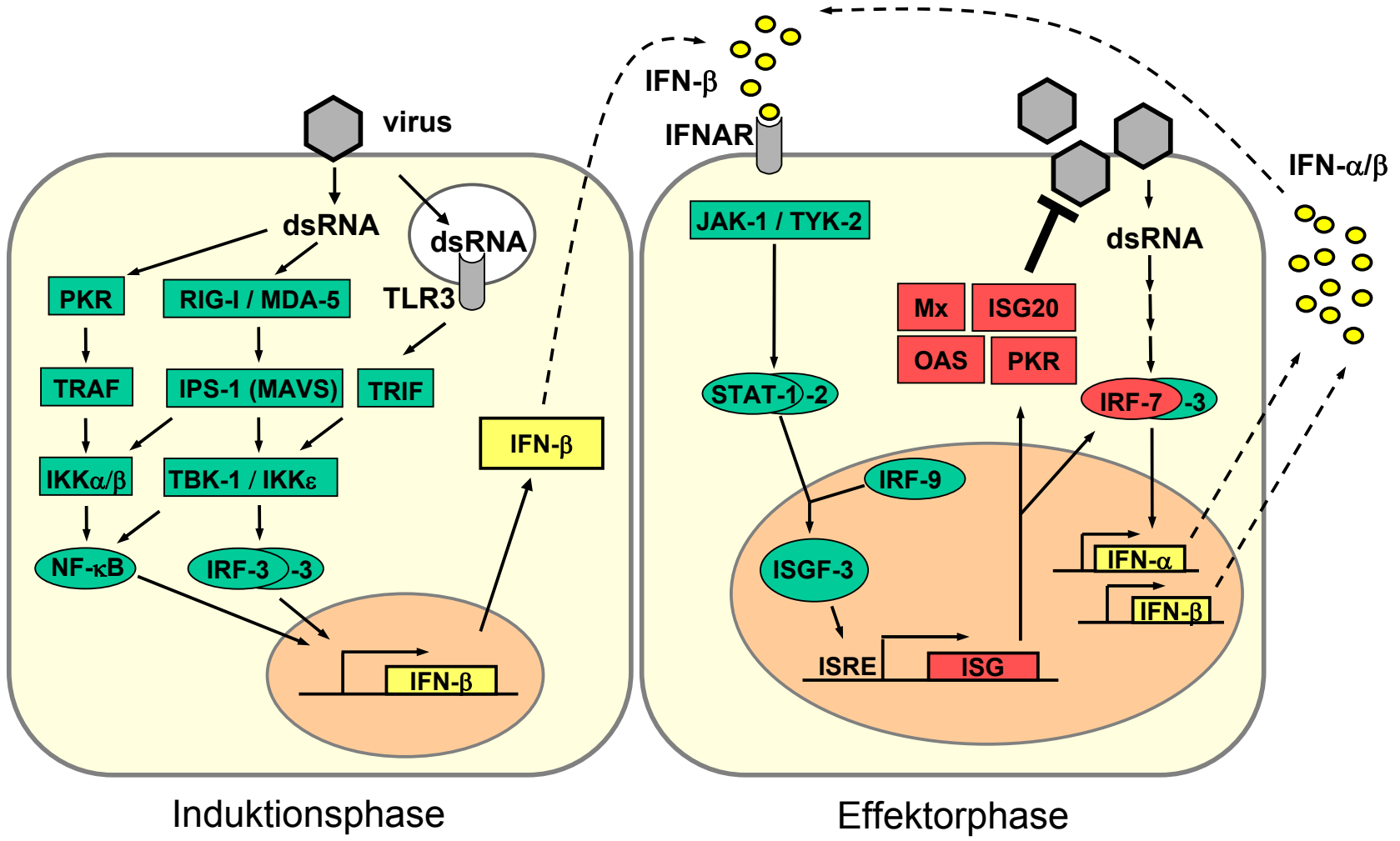
Induktion: Typ I durch Virusinfektion, ds RNA
 Typ II durch Antigene, andere Zytokine

Effekt: Induktion von Genen => antiviraler Status der Zelle
 nicht spezifisch für Virus

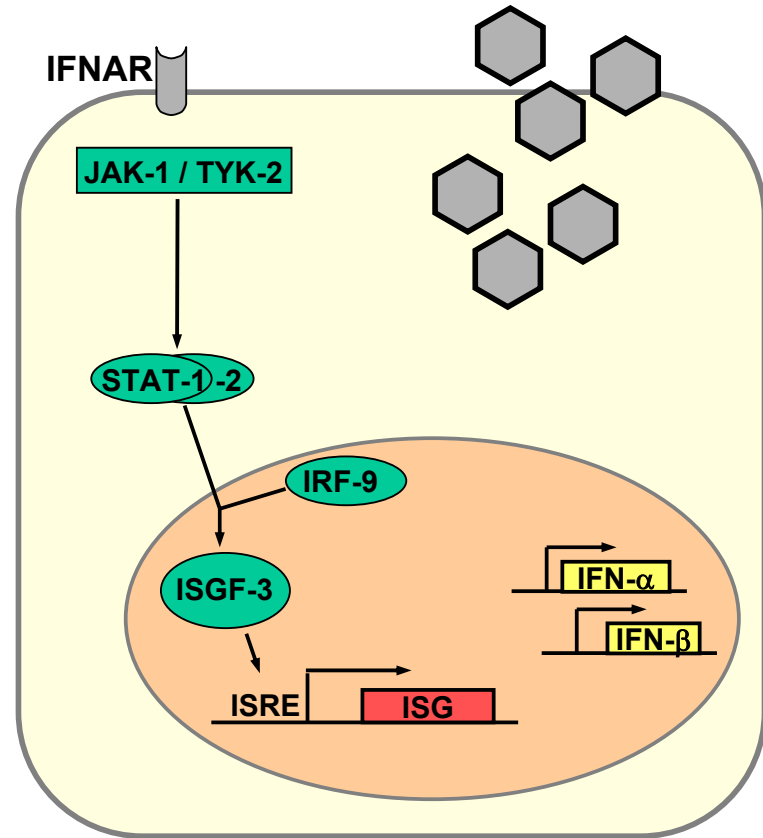
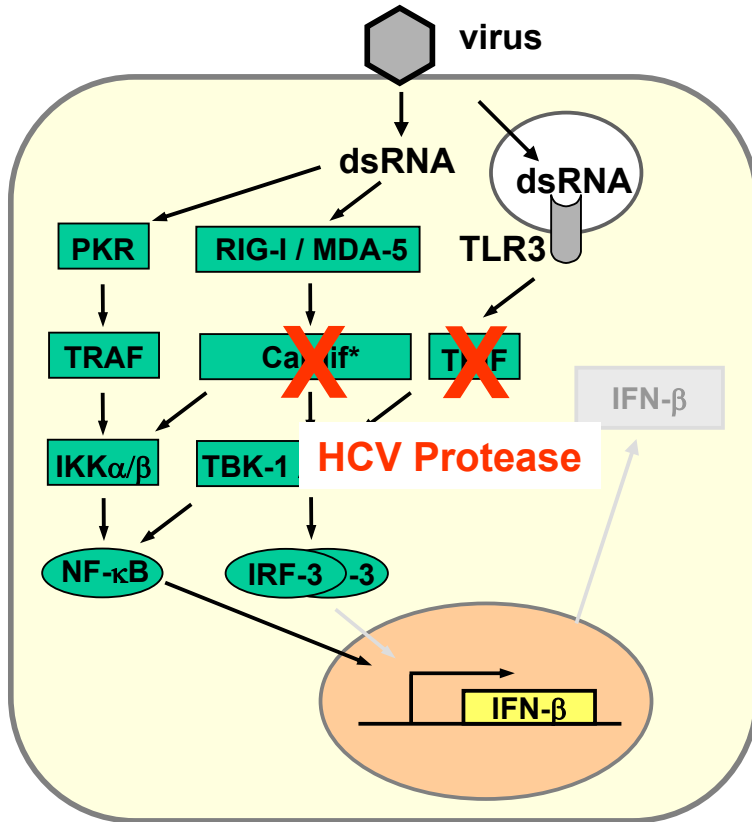
Induktion der Interferone und antiviraler Status



Induktion der Interferone und antiviraler Status

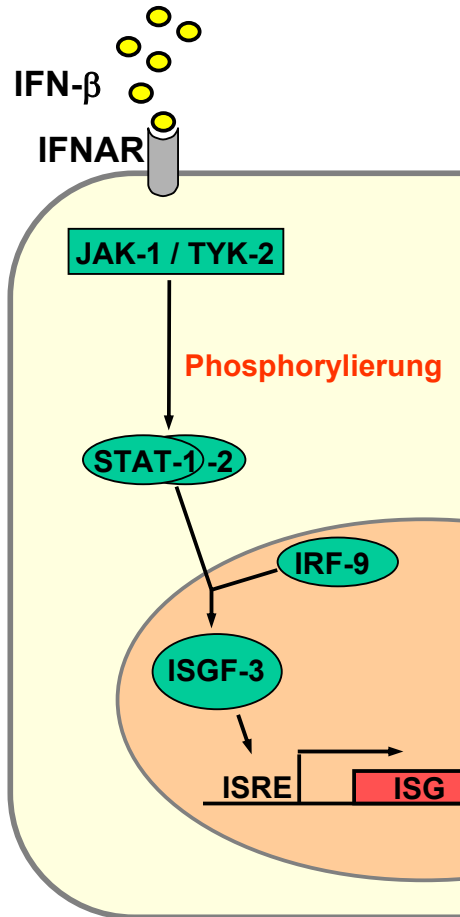


Virale Antagonisten des Interferonsystems



*Cardif (MAVS, Ips-1, VISA)

IFN- α induzierter antiviraler Status und virale Gegenwehr



Hemmung der Stat Phosphorylierung
(Sendai, Parainfluenza, HSV, Dengue Virus)

Stat Degradation
(Parainfluenza, Simian Virus 5, Dengue Virus)

Hemmung der Di-/Trimerisierung
(Adenovirus)

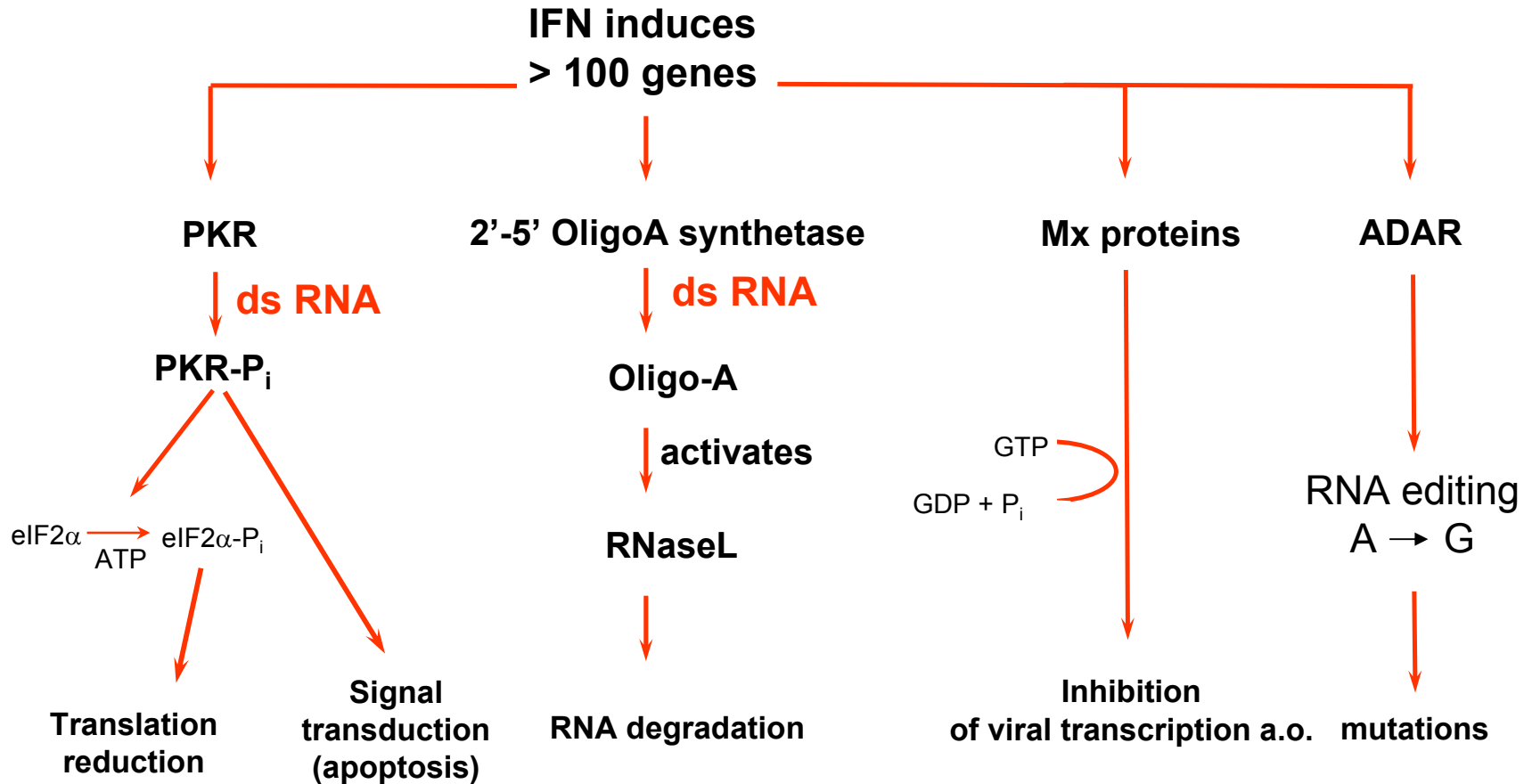
Stat = signal transducer and
activator of transcription

Tyk = tyrosine kinase

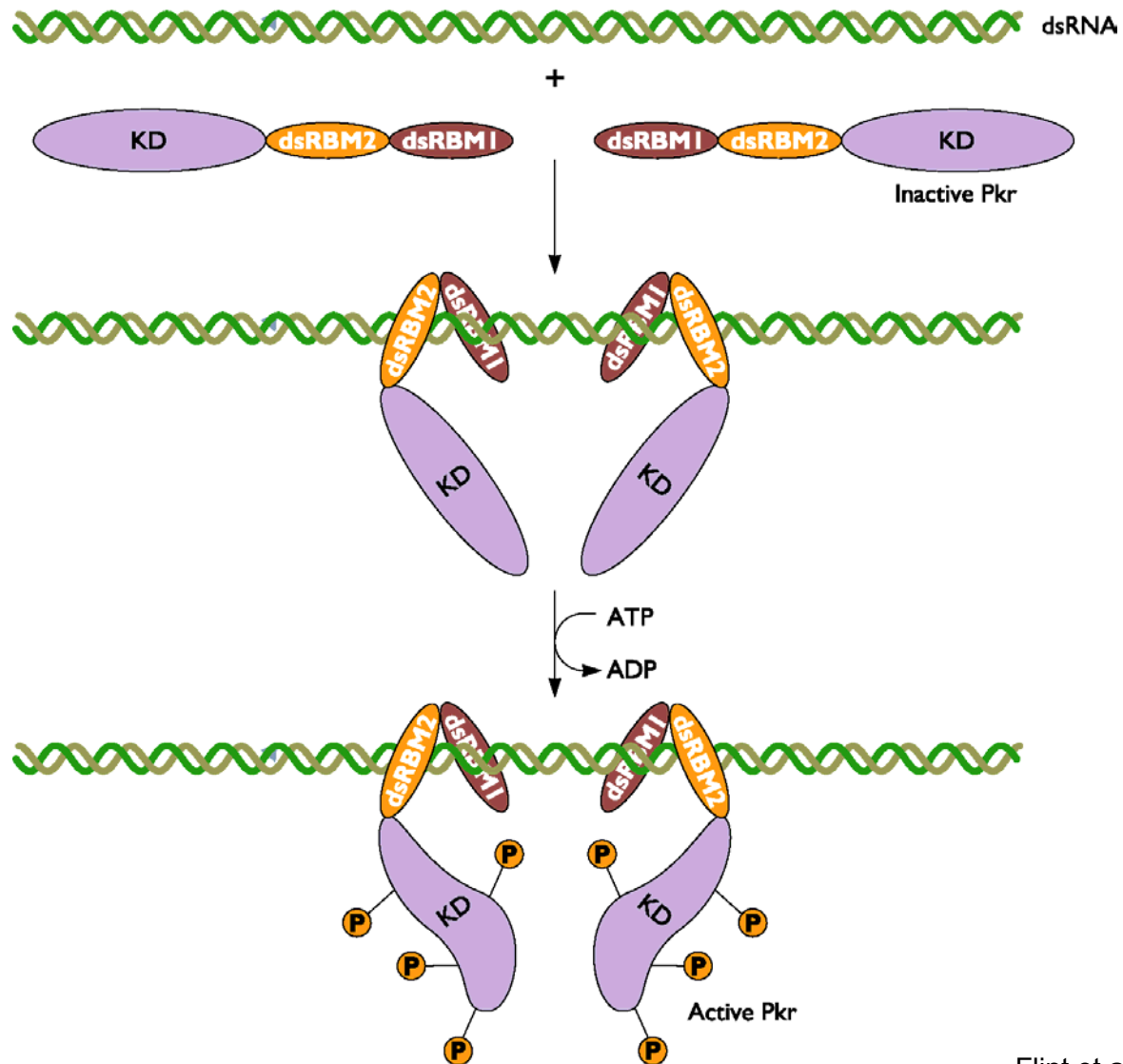
JAK = janus kinase

ISGF-3 = Interferon stimulated
regulatory element

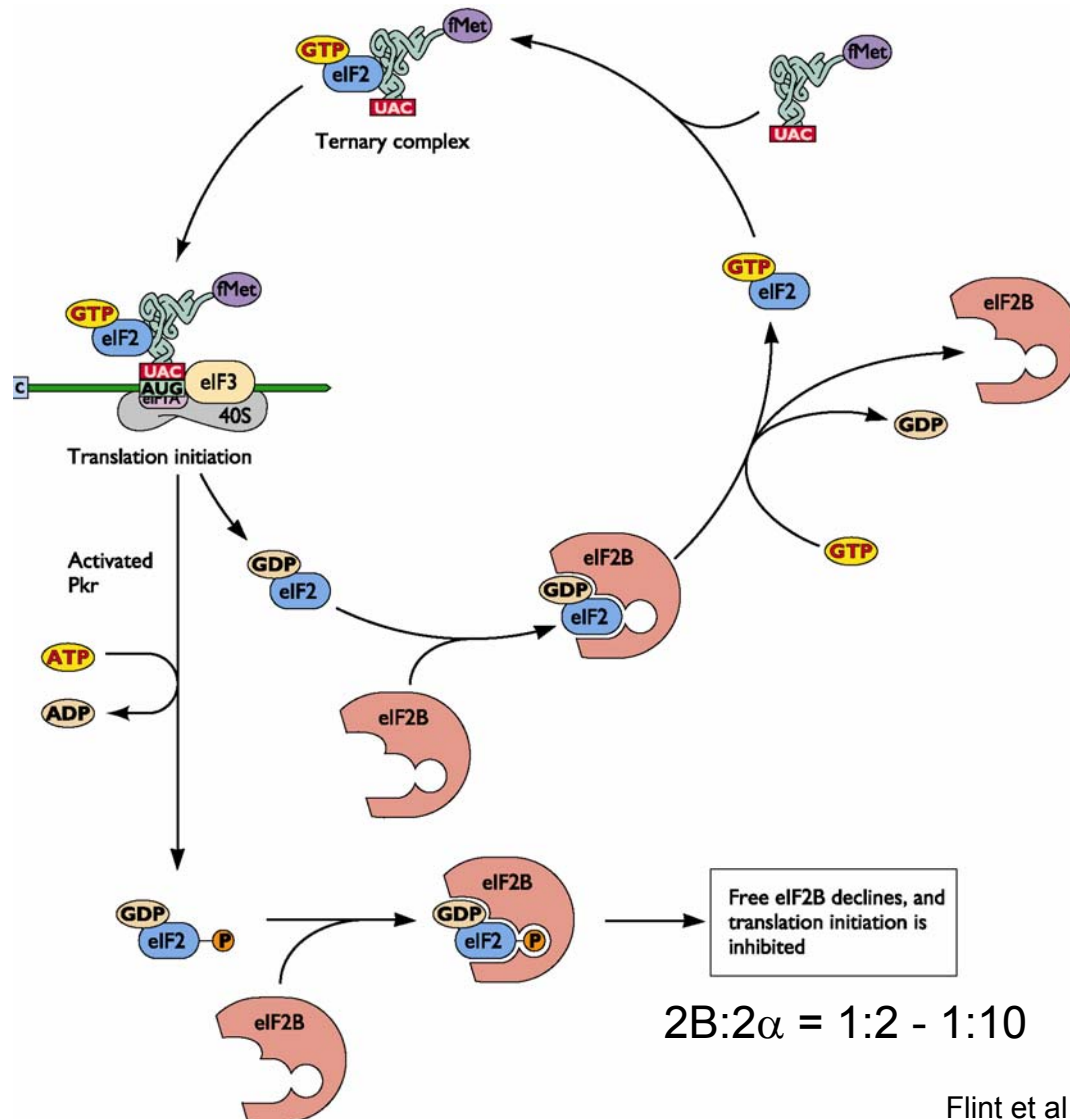
Typl Interferon-induzierter antiviraler Status



Modell der PKR-Aktivierung

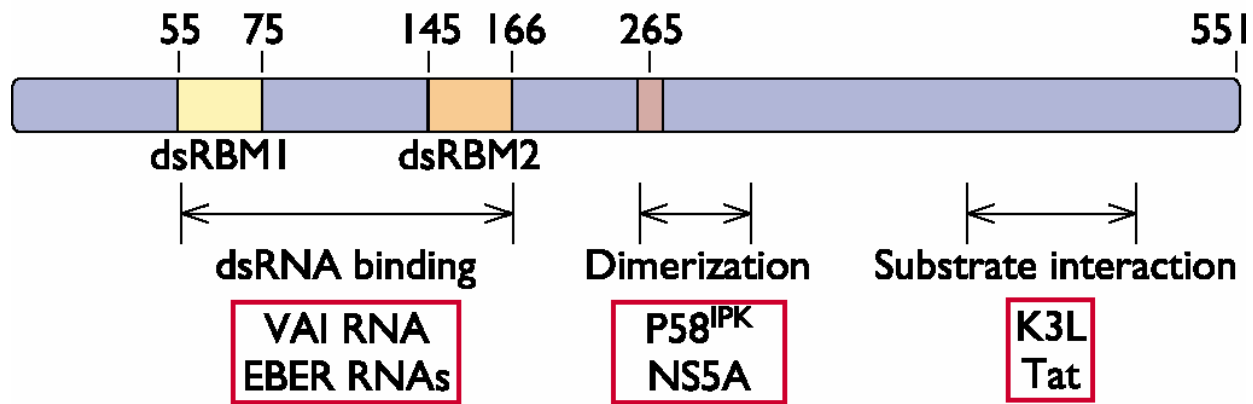


Konsequenz der eIF2 α Phosphorylierung

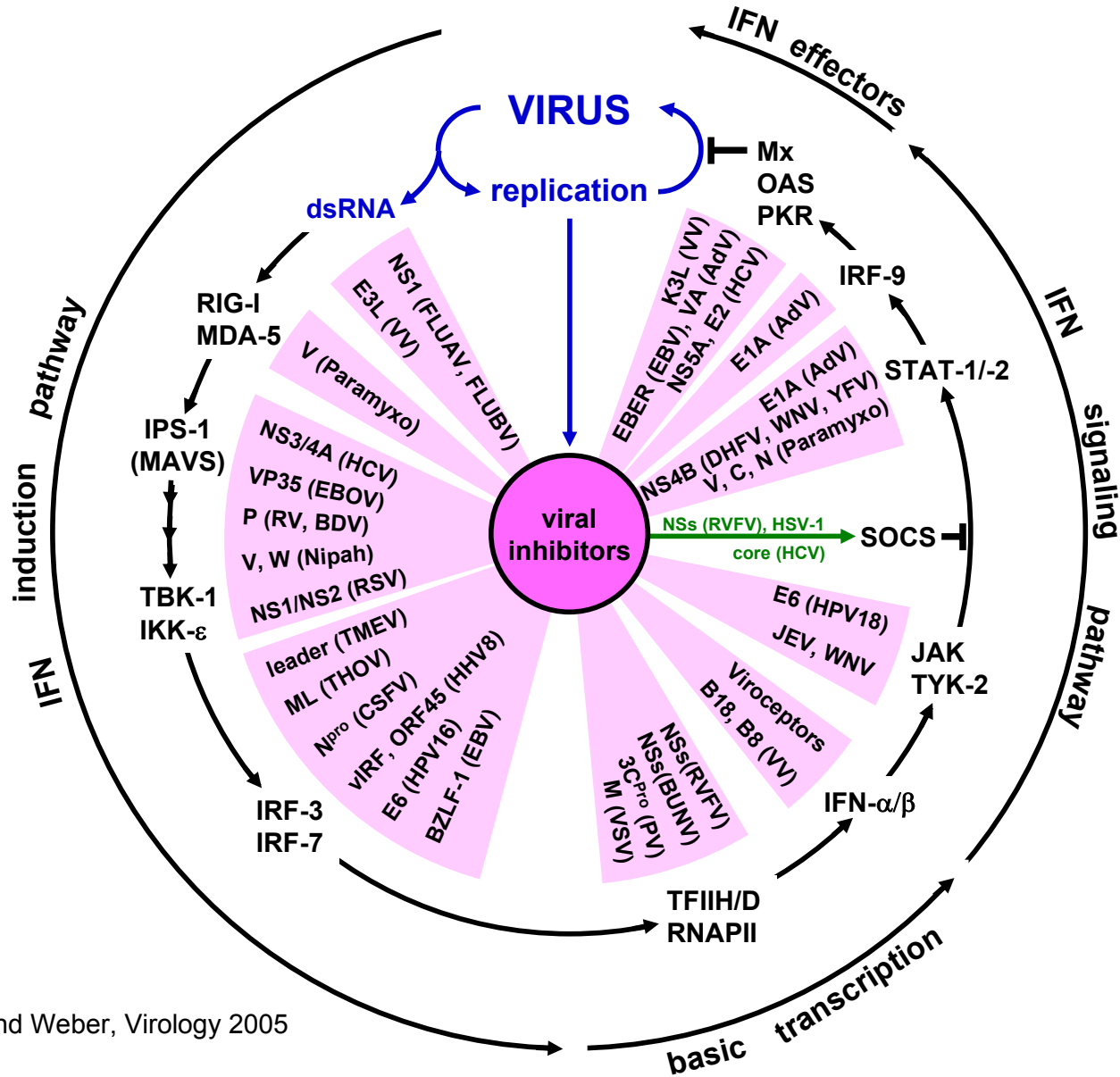


Virale PKR-Antagonisten

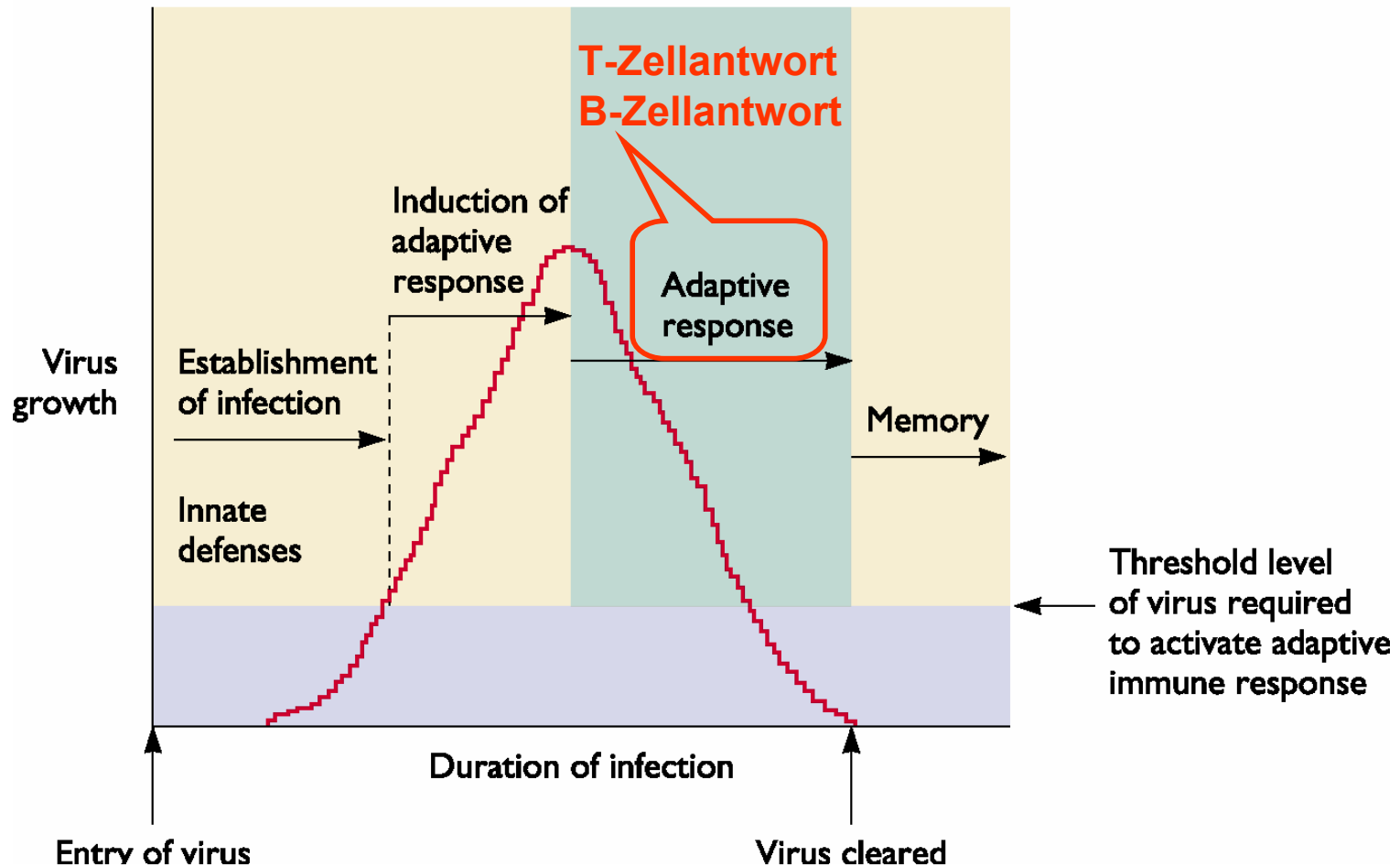
- Bindung von ds RNA: Vaccinia E3L; Influenza NS1
- Nicht-aktivierende RNAs: Adeno VA RNA; EBV EBER-RNA
- Hemmung der Dimerisierung: HCV NS5A
- Aktivierung des PKR-Inhibitors: Influenza, Polio
- Pseudosubstrat: HCV E2; Vaccinia K3L; HIV Tat



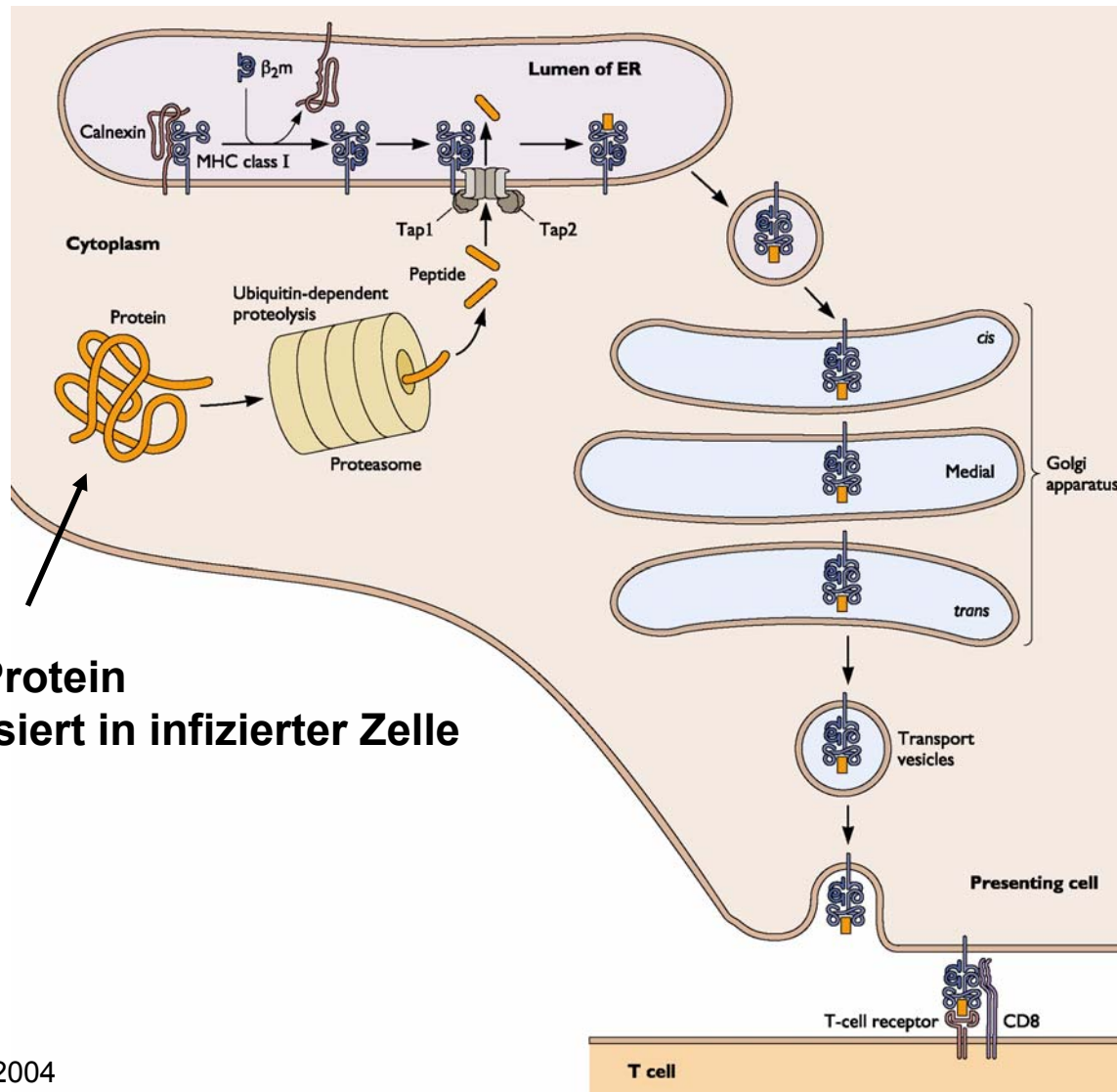
Virale Antagonisten des Interferonsystems



Verlauf einer akuten Infektion

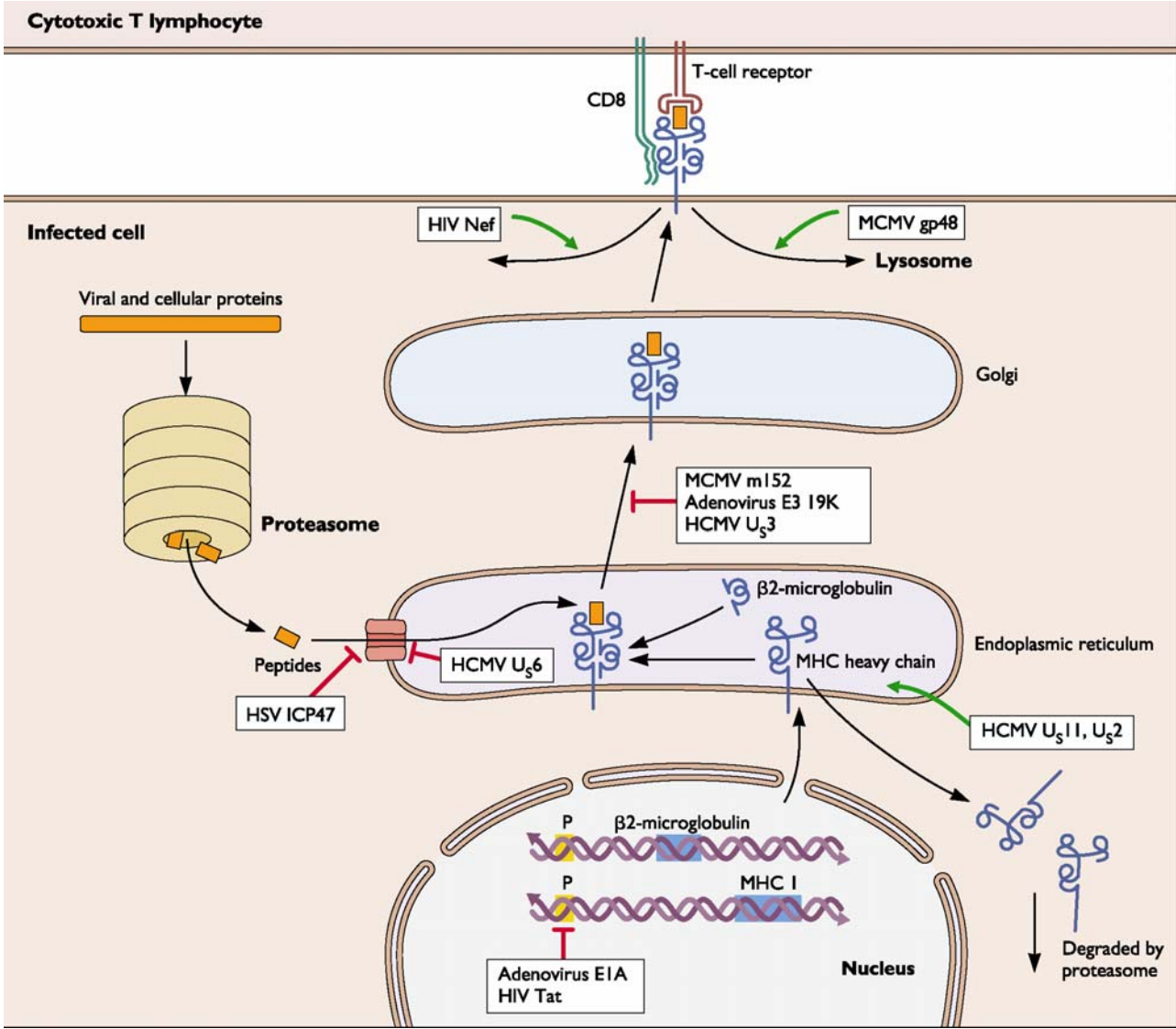


Antigenprozessierung und –präsentation auf MHC-I



**virales Protein
synthetisiert in infizierter Zelle**

Hemmung der Antigenpräsentation durch virale Proteine



Hemmung der Antigenpräsentation

Table 16.3 Viral regulation of MHC class I antigen synthesis

Virus	Observed effect or postulated mechanism
RNA	
Human immunodeficiency virus type 1	Tat protein-induced reduction in MHC class I gene transcription; Vpu interferes with an early step in synthesis of MHC class I; Nef promotes endocytosis of MHC class I from the cell surface
Mouse hepatitis virus	Decrease in transcription of specific MHC class I genes
Respiratory syncytial virus	Decrease in MHC class I gene transcription
Poliovirus	Protein 3A inhibits transport of vesicles containing MHC class I proteins
DNA	
Adenovirus	E3 gp19kDa retains MHC class I in endoplasmic reticulum (ER); reduced transcription of MHC class I genes
Epstein-Barr virus	EBNA-4 may block production of antigenic peptides or their transport from the cytosol to the ER; allele-specific decrease in MHC class I appearance on cell surface
Human cytomegalovirus	US3 retains MHC class I molecules in the ER; US6 inhibits peptide translocation by Tap (ER luminal domain); US11 and US2 dislocate MHC class I molecule from the ER lumen to the cytosol by different mechanisms; UL10 slows rate of MHC class I export from ER; UL83 blocks IE1 peptide presentation
Herpes simplex virus	ICP47 binds to Tap transporter and blocks import of peptides into the ER
Vaccinia virus	Lower abundance of MHC class I on cell surface by unknown mechanisms

Antigene Variation und Immunescape Varianten

Mutationen in B-Zellepitopen

Verlust der neutralisierenden Wirkung von Antikörpern

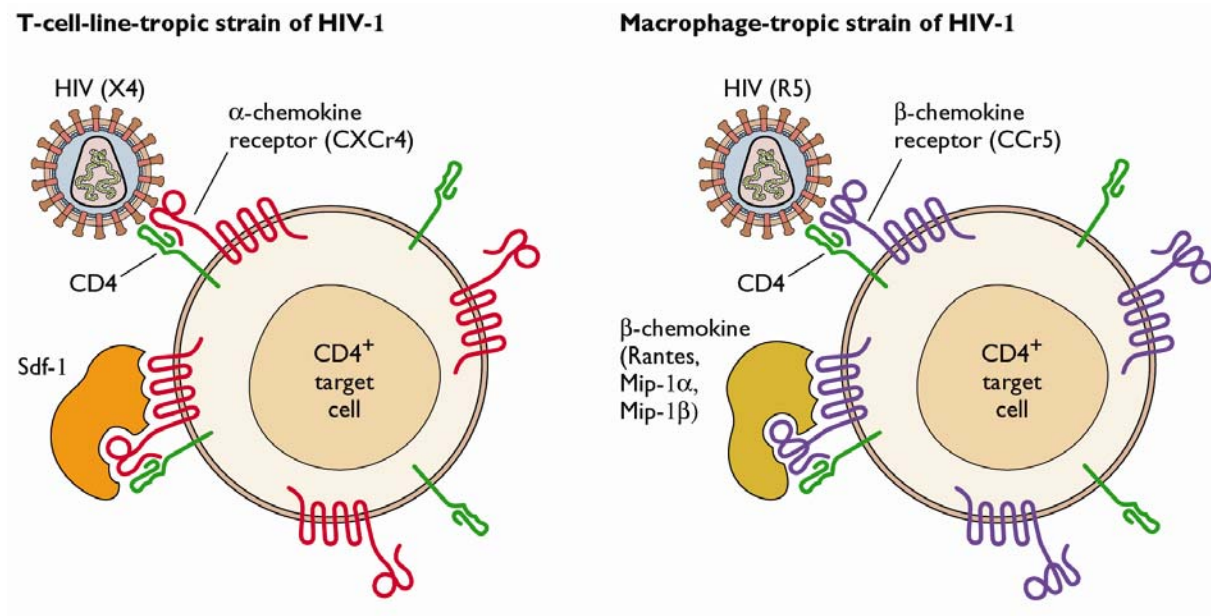
Mutationen in T-Zellepitopen

Verlust der zytotoxischen Zellyse (CD8 T-Zellen)

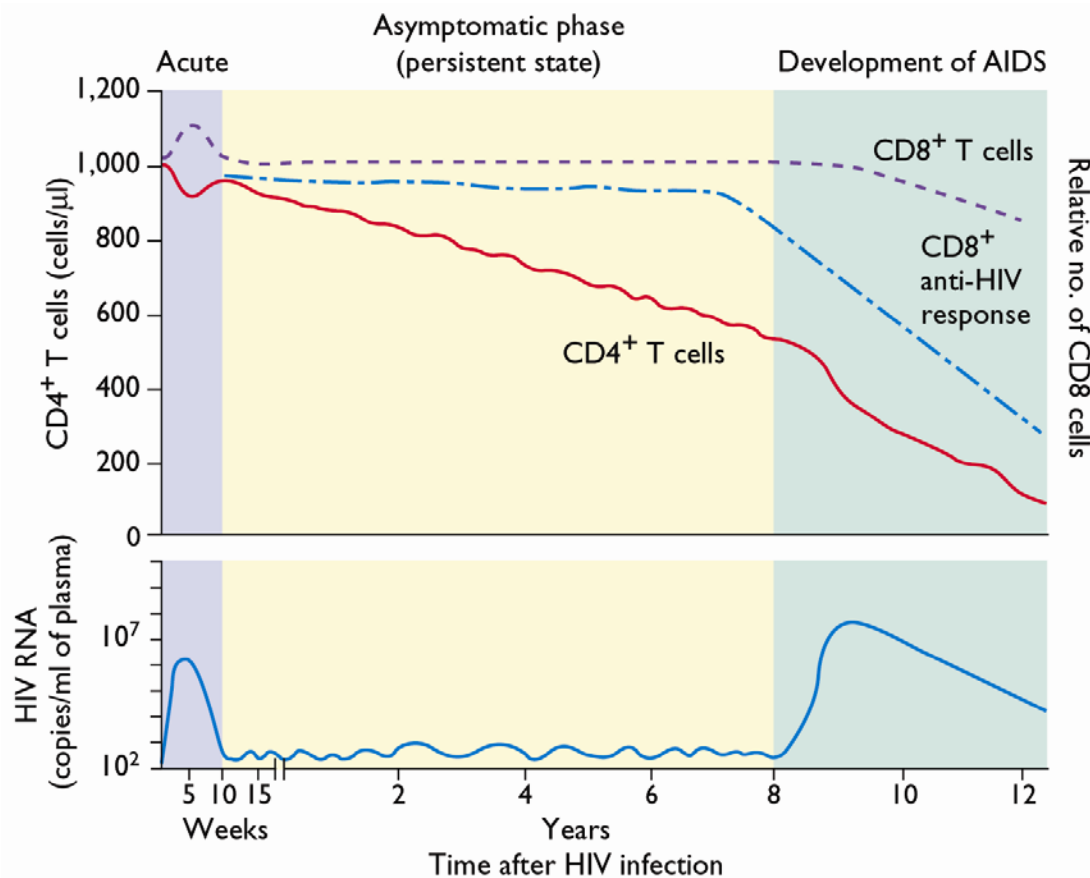
Induktion einer T-Zell Anergie (Erkennung ‚ähnlicher‘ Peptide)

Extrembeispiel einer persistenten Infektion: HIV

Infektion und Zerstörung immunologischer Regulatorzellen

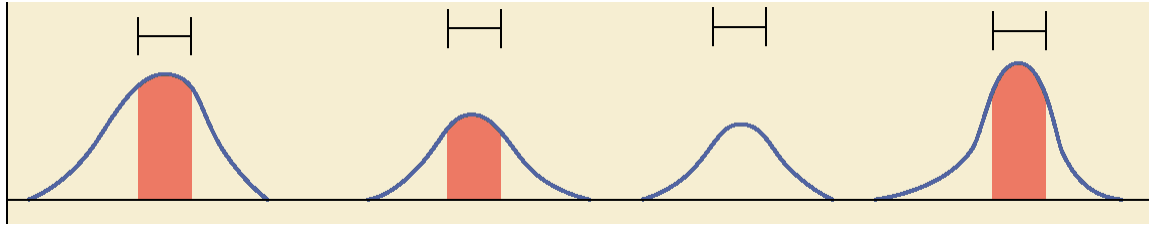


Extrembeispiel einer persistenten Infektion: HIV



Adapted from Fig. 13.1 of J. A. Levy, *HIV and the Pathogenesis of AIDS*, 2nd ed. (ASM Press, Washington, D.C., 1998), with permission.

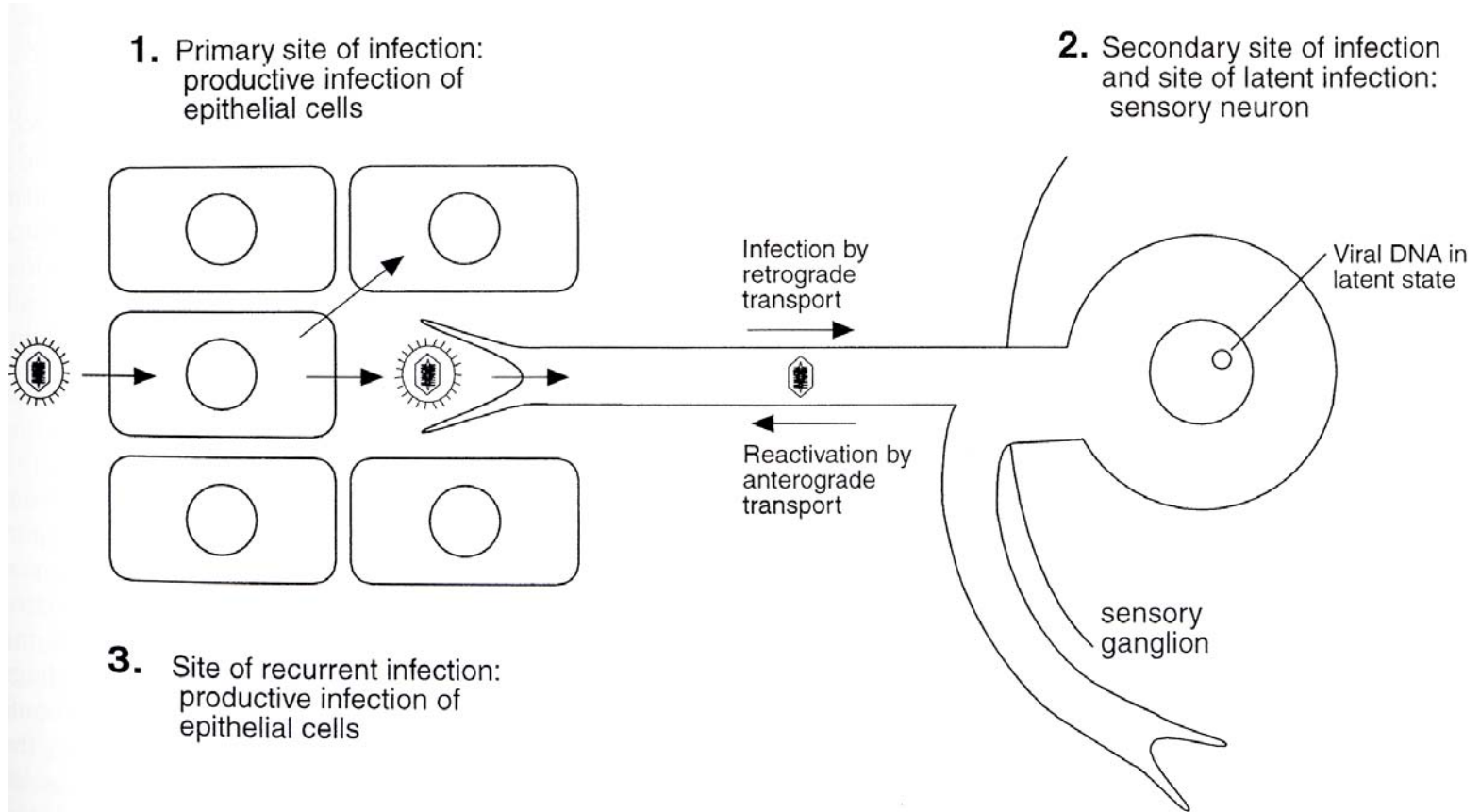
Latente Infektionen als Extrembeispiele der Persistenz



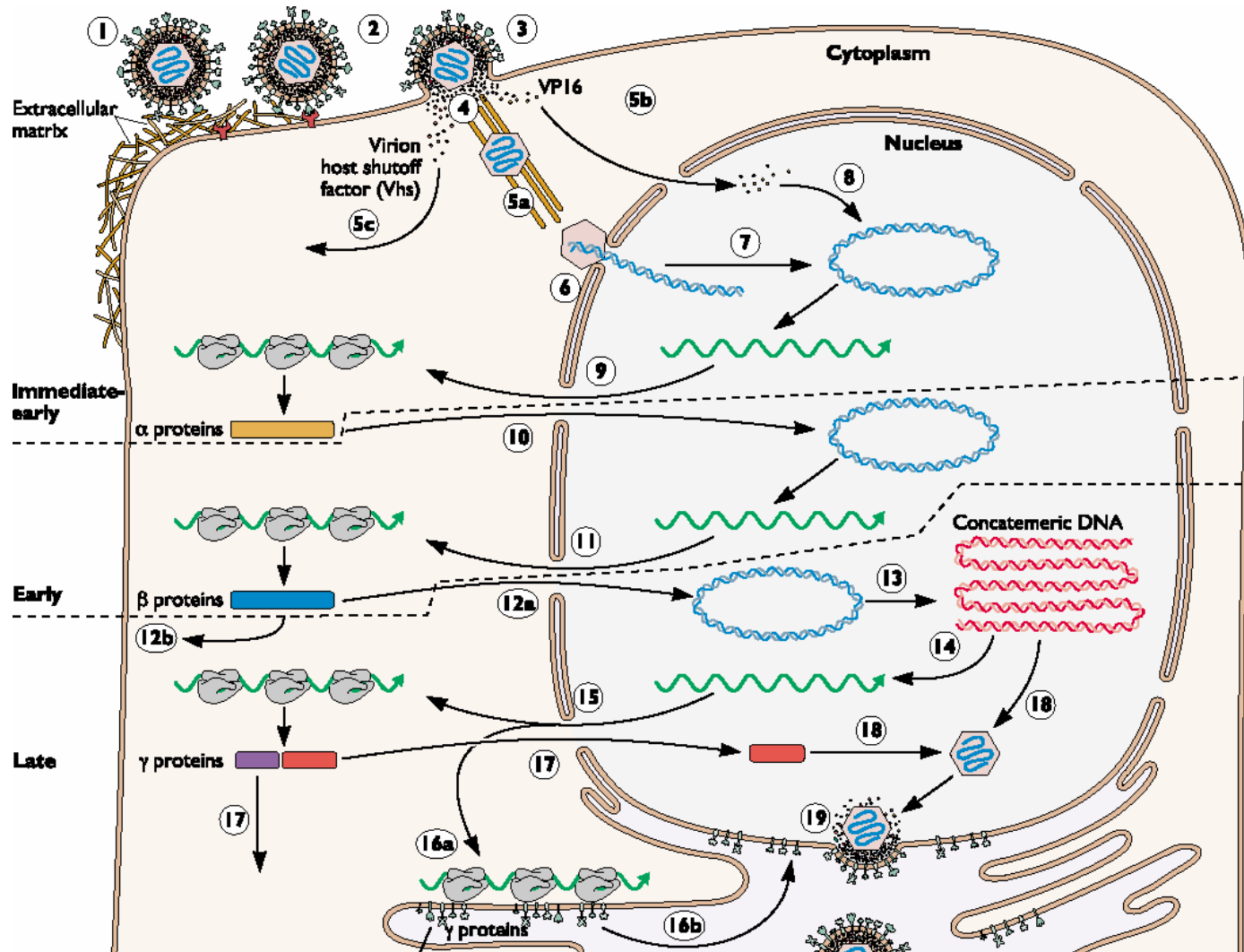
Eigenschaften latenter Infektionen:

- Persistenz des viralen Genoms
 - nicht-replizierendes Minichromosom in ruhenden Zellen (HSV)
 - autonom replizierendes Virusgenom in sich teilenden Zellen (EBV)
 - integriert in Wirtsgenom (AAV)
- Gekoppelte Vermehrung Virus- und Wirtszell-DNA
- Keine/sehr wenige Genprodukte exprimiert
- Keine Viruselimination

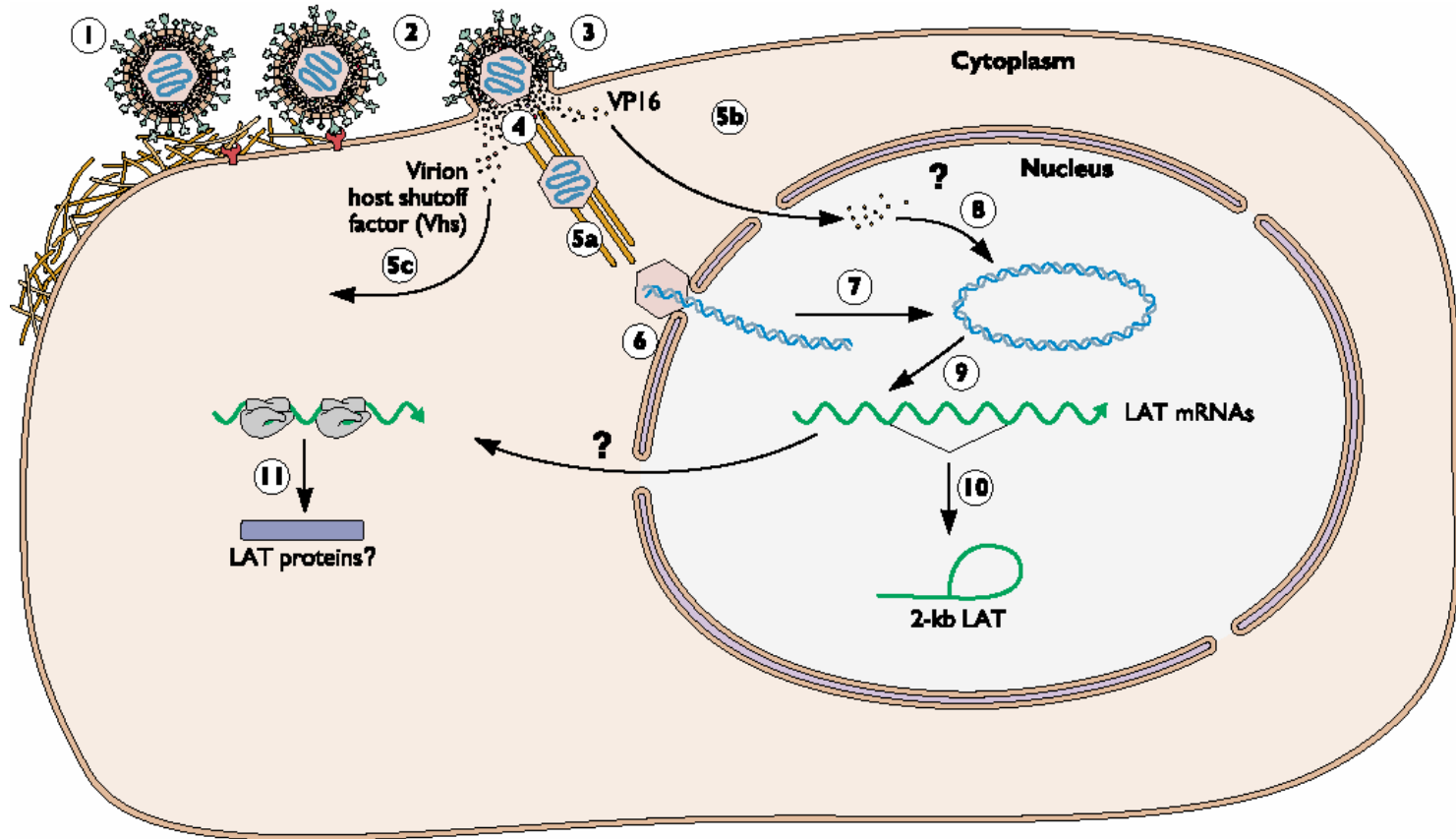
Verlauf der HSV-Infektion



Lytische Replikation des Herpes Simplex Virus



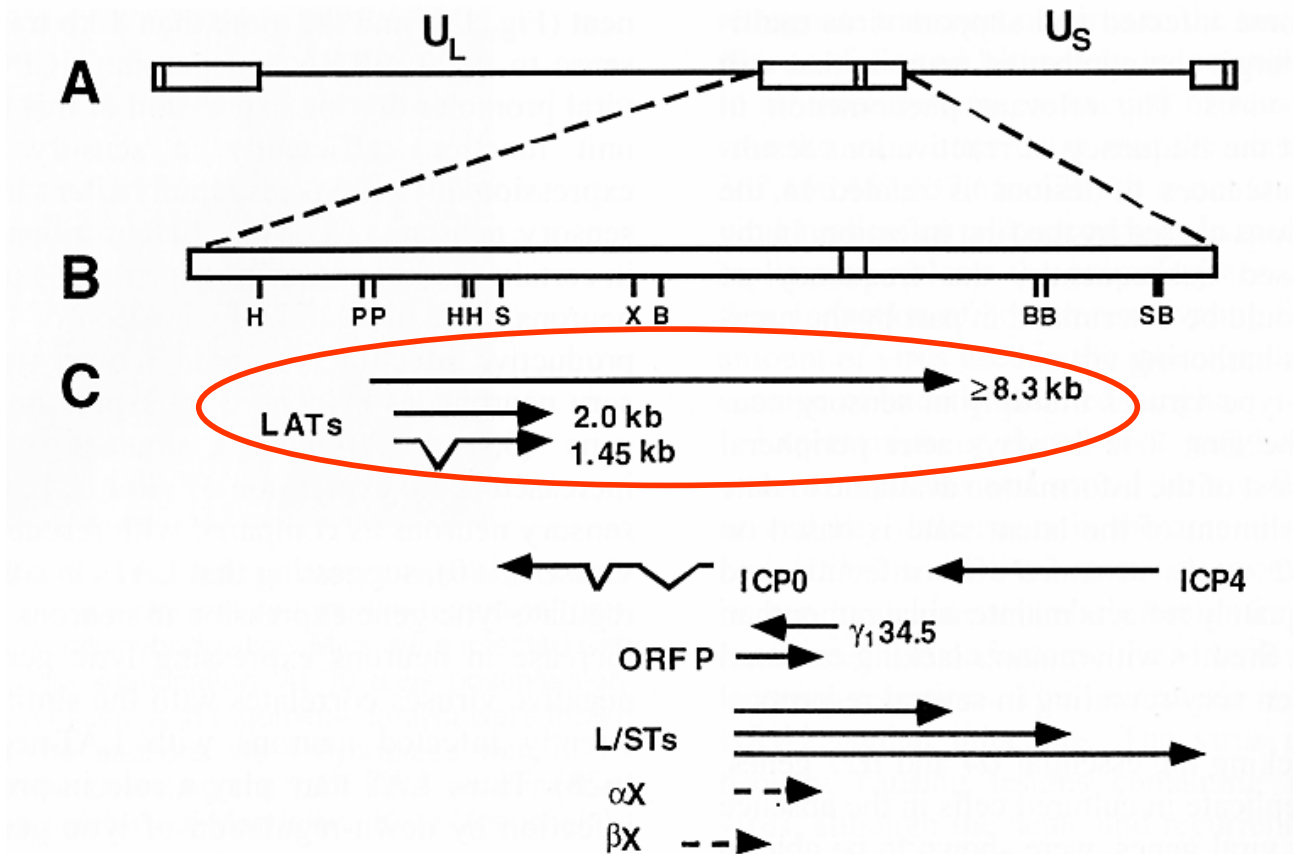
Latente Infektion des Herpes Simplex Virus



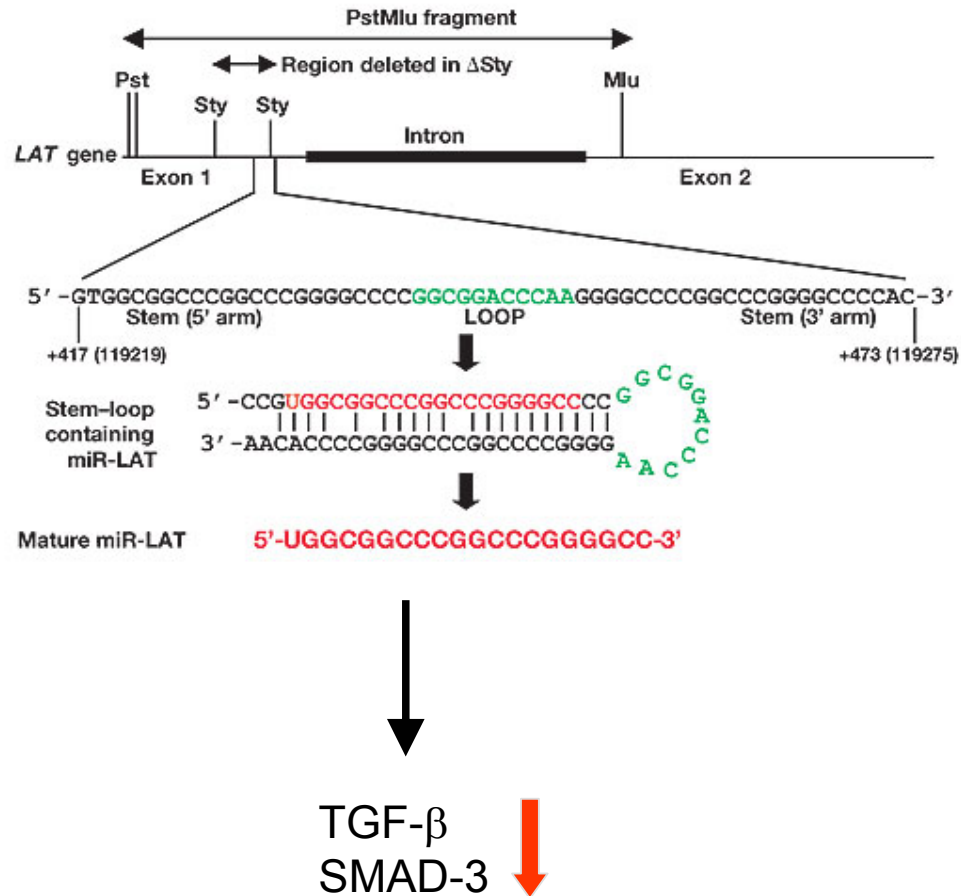
Latente Infektion des Herpes Simplex Virus

- In Latenz nur LAT-RNAs reproduzierbar nachzuweisen
- Deletion des ‚LAT-Lokus‘: Geringere Frequenz der Latenz (seltener)
- Hypothese: Latenzetablierung wenn keine ausreichende Aktivierung der Expression der α -Gene oder Repressor der α -Genexpression vorhanden
- 10 - 1.000 Virusgenome pro latent infiziertes Neuron
weniger als 10% der Neurone eines Ganglions infiziert
- Reaktivierung durch verschiedene Stimuli (Stress, Hormone, UV-Strahlung u.a.)
Kaskade der α -, β -, γ -Gene
je höher die Kopienzahl der Virus-DNA, desto wahrscheinlicher Reaktivierung
unklar, ob Neuron abstirbt

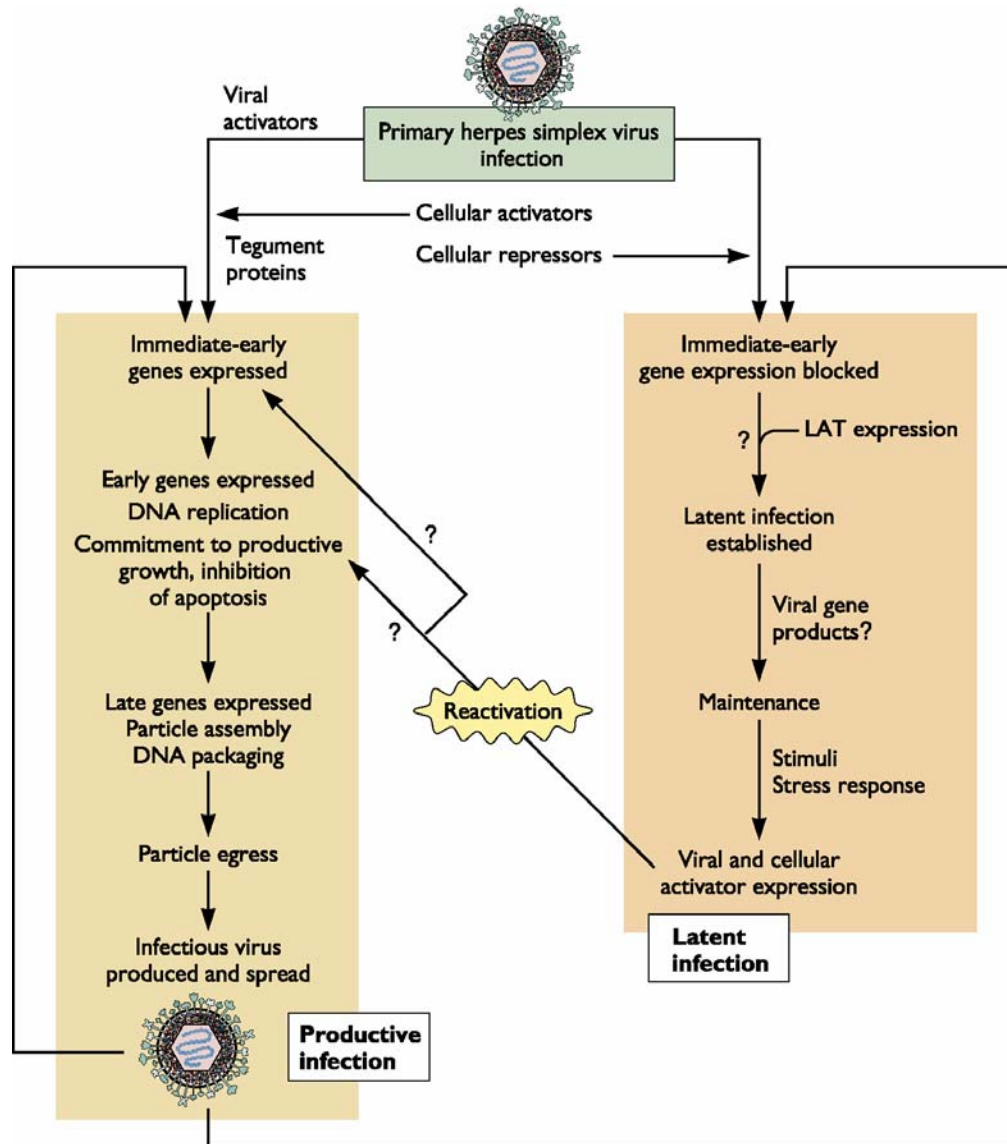
LAT Transkriptionskarte von HSV-1



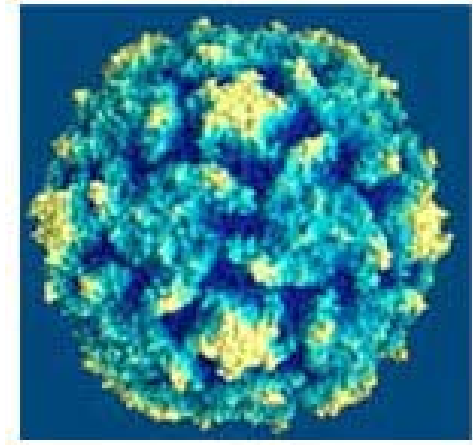
HSV-1 LAT RNA kodiert miRNA mit antiapoptotischer Wirkung



Produktive Infektion, Latenz und Reaktivierung bei HSV



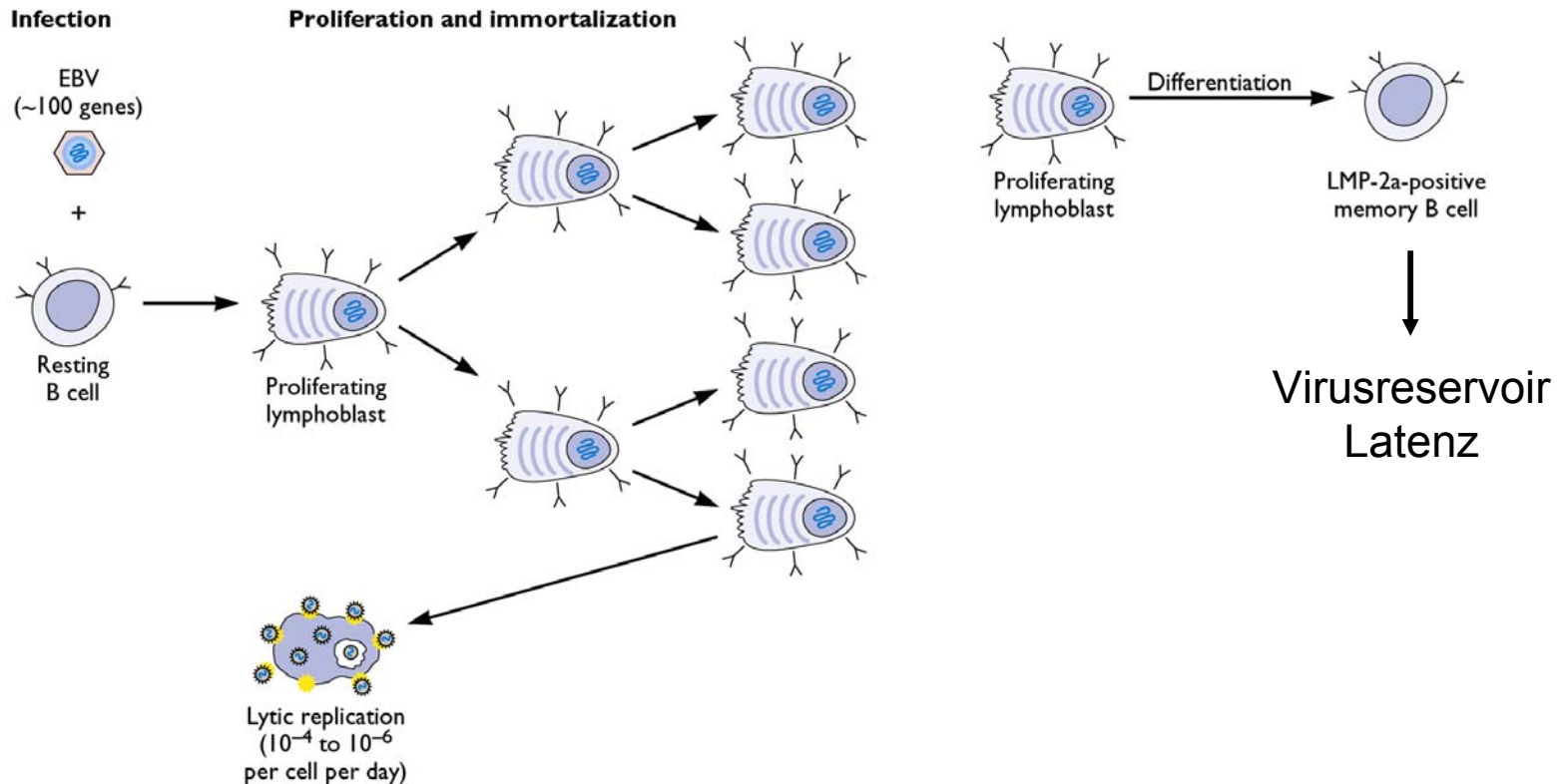
Epstein-Barr Virus



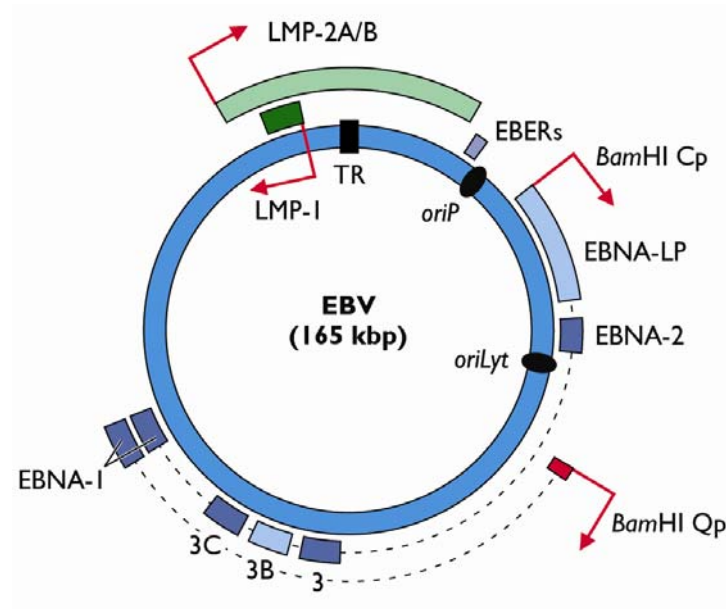
- Herpesvirus mit hoher Prävalenz (90% der Weltbevölkerung)
- konsistent mit best. Krebsformen assoziiert (Nebenprodukt der Latenz)
- zwei unterschiedliche Replikationsprogramme, je nach Wirtszelle

Latente Infektion durch das Epstein-Barr Virus

- produktive (lytische) Replikation in Epithelzellen
- latente Infektion in B-Zellen (geringe Virusproduktion; Immortalisierung)



Epstein-Barr-Virus - Latenz

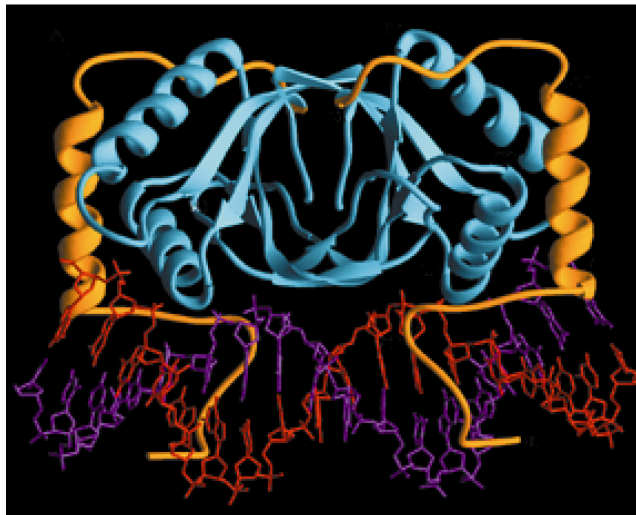
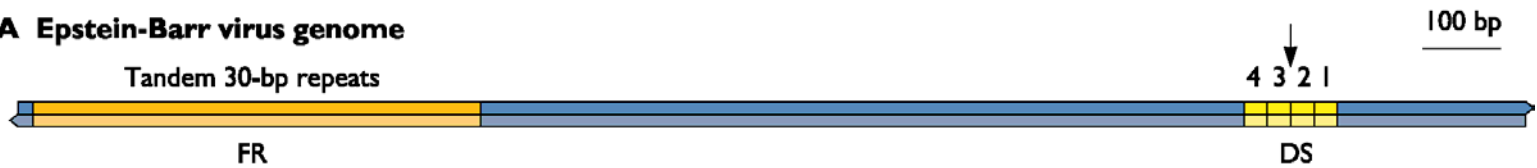


- virales Episom, repliziert von oriP
- mind. 10 Genprodukte für DNA-Replikation, Immunevasion, Immortalisierung
6 davon im Nukleus, 3 in Membran; 1 RNA (EBER)

Genprodukte der EBV-Latenz

EBNA-1: Replikation von oriP

A Epstein-Barr virus genome



EBNA-1 Bindungsstellen in oriP

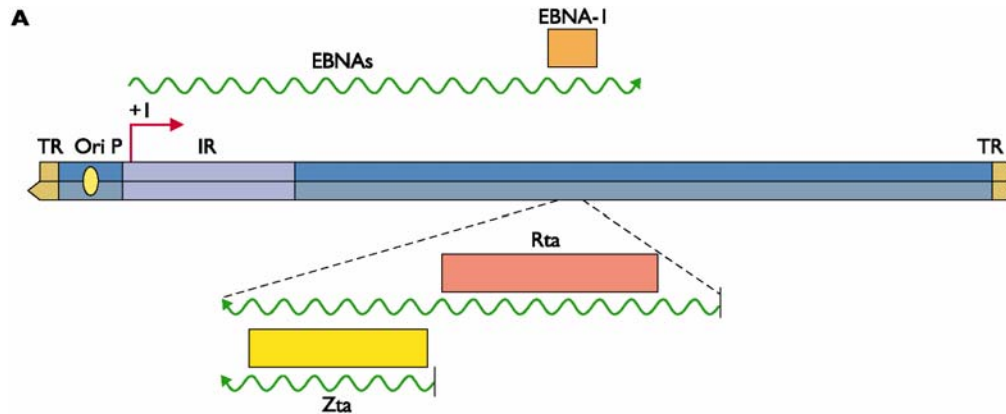
DS, dyad-Symmetrie

FR, family of repeats

Genprodukte der EBV-Latenz

- EBNA-2:** Spezifischer Transaktivator zellulärer und viraler Gene
u.a. ENBAs, LMP-1, CD21 (EBV-Rezeptor), CD23 (IgE-Rezeptor)
- EBNA-LP:** Kooperation mit EBNA-2; Induktion von Cyclin D2
- EBNA-3A, -3C:** ???
- LMP-1:** Änderung von B-Zellwachstum und -physiologie;
Apoptosehemmung (Bcl-2)
- LMP-2:** Hemmung der B-Zellaktivierung; Hemmung Übergang in lyt. Repl.
- EBER-RNAs:** hohe Produktion in latenten B-Zellen; nukleär ohne poly(A);
nicht essentiell; Hemmung von PKR?

Reaktivierung von EBV



Zta ausreichend, um Latenz zu brechen (leitet Eintritt in lytische Repl. ein)

sequenzspez. DNA-Bindungsprotein

Dimerisierung (Leu-Zipper)

- Stimulation der frühen viralen Promotoren
- Eintritt in die lytische (produktive) Phase
- Aktivierung der DNA-Replikation von OriLyt

Zusammenfassung Virale Strategien der Immunevasion und Persistenz

Limitierte/keine Genexpression	HSV; EBV; VZV
Infektion immunologisch wenig kontrollierter Gewebe	HSV und Masern (Neurone); HPV (Epidermis)
Antigene Variation (B- und T-Zellen)	HIV; HCV
Interferenz mit Antigenerkennung	HIV (tat); HSV (ICP47); HCMV (Us3)
Hemmung des Interferonsystems	HCV (NS3/4A; NS5A); Adenovirus (VA-RNA) und viele mehr
Induktion immunologischer Toleranz	HBV