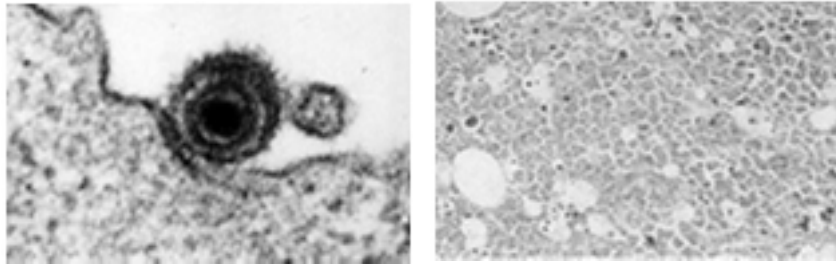


## Virologie und Pathologie des onkogenen Epstein-Barr Virus (EBV)



HJ Delecluse  
German Cancer Research Centre (DKFZ)

## Virologische Aspekte

---

- Zwei Lebensphasen
- Interaktionen mit dem Wirt

## Humane Tumorviren

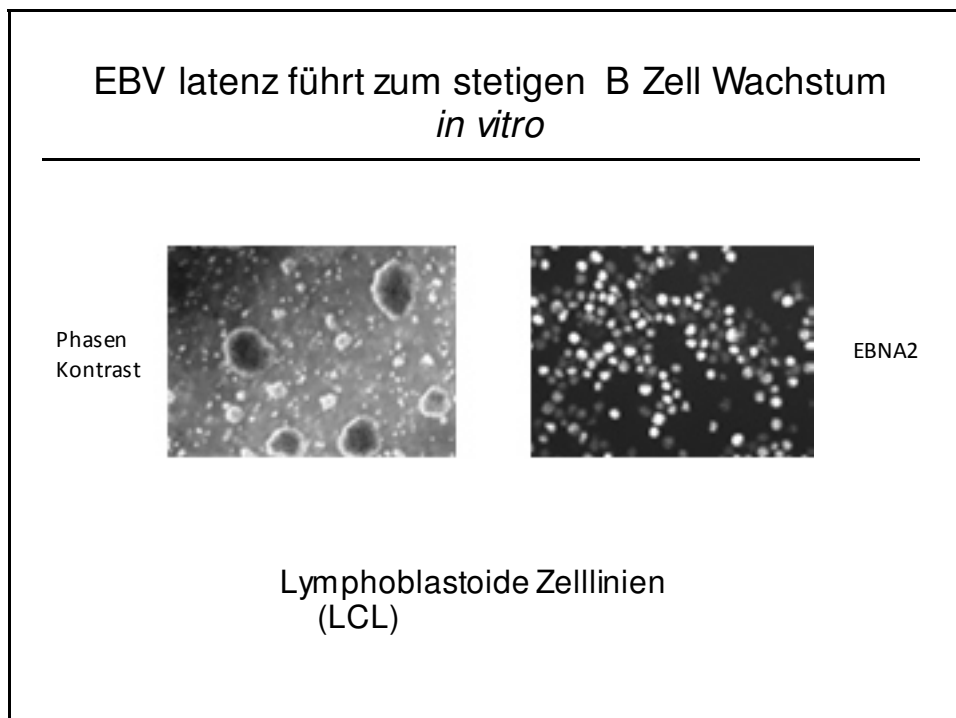
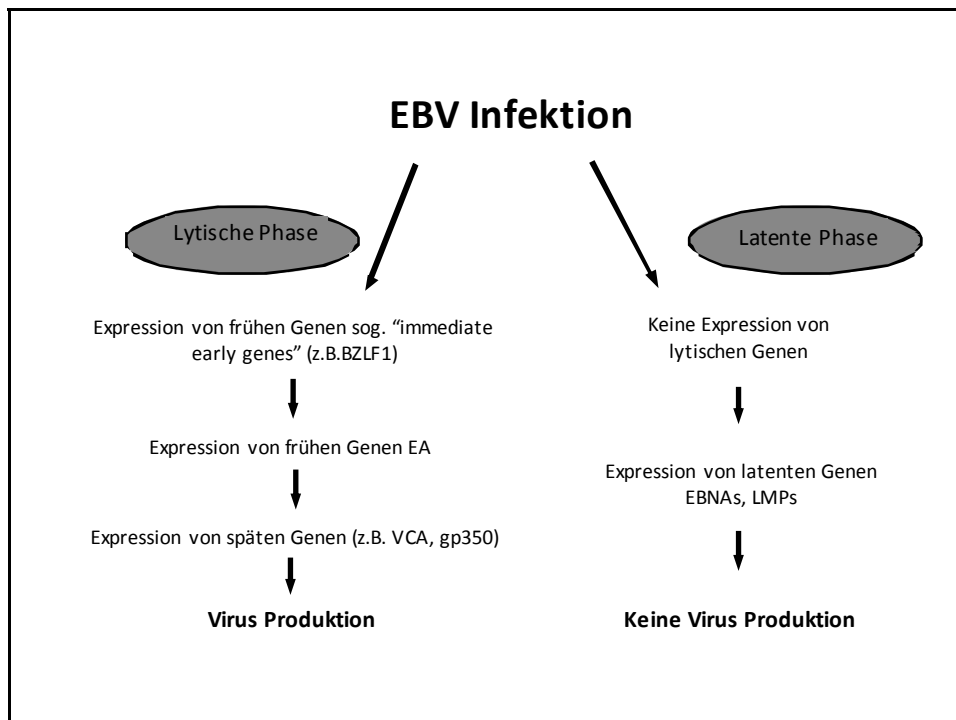
---

- Papovaviren
  - Humane Papilloma-Viren
  - Merkel Polyoma-Virus
  
- Hepatitis B und C Virus
  
- Herpesviren
  - Epstein-Barr Virus
  - Kaposi Sarkom Virus

## Humane Herpesviren

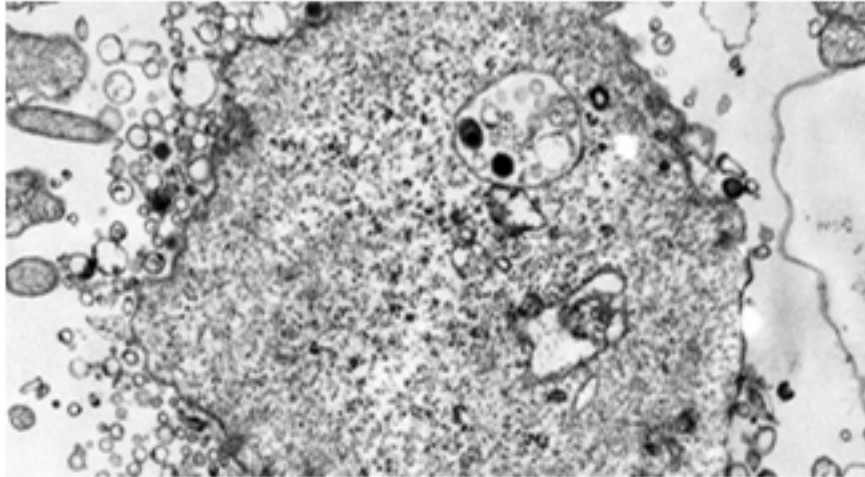
---

- Subfamilie der Gammaherpesviren
  - Epstein-Barr Virus
  - Kaposi Sarkom assoziierte Herpesviren
  
- Weitere Herpesviren: Herpes simplex 1 und 2, Varizella Zoster Virus, Cytomegalievirus, HHV 6 und 7



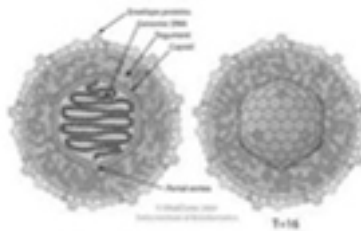
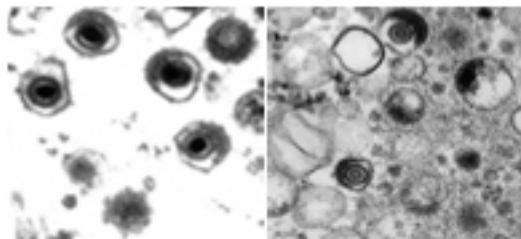
## Lytische Replikation in infizierten Zellen

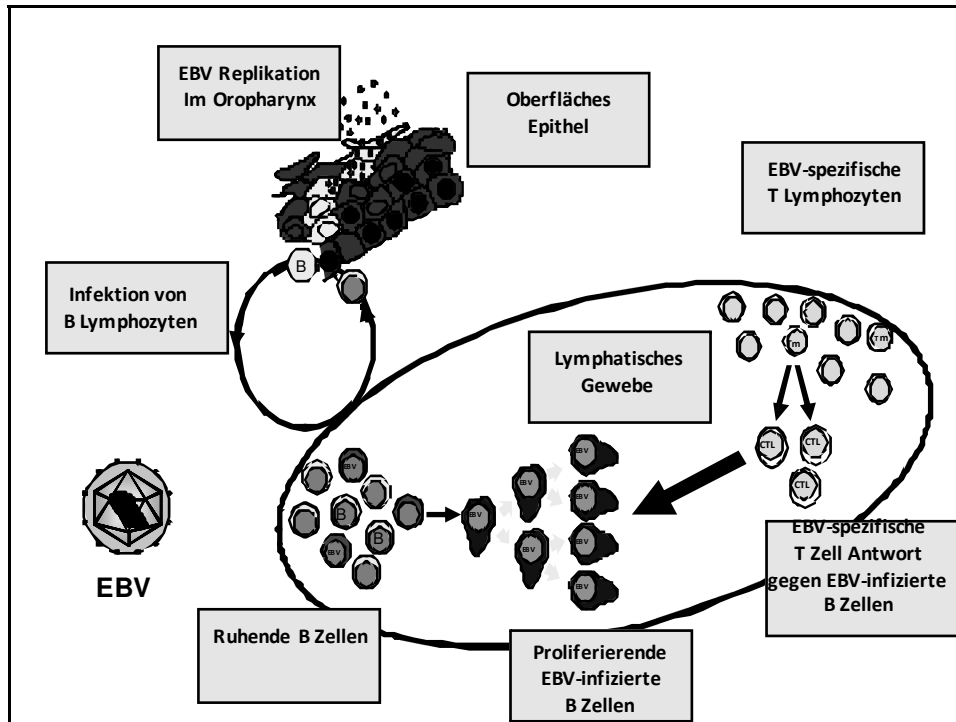
---



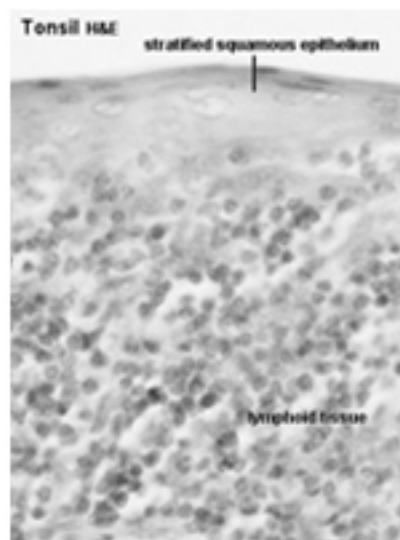
## EBV Struktur

---



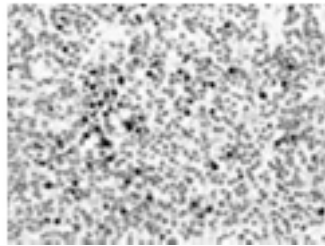


## Histologie der Tonsille

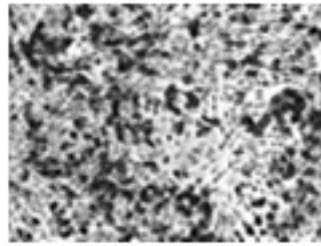


## T Zellantwort nach EBV Infektion

---



EBV-infizierten B-Zellen (BZLF1  
Färbung)



T-Zell Färbung gegen CD3

## Epstein-Barr-Virus

---

- EBV infiziert Menschen äußerst effektiv
- Seroprävalenz: ~ 95 %
  - Im Alter von 5 Jahren in Entwicklungsländern
  - Im Alter von 40 Jahren in Industrieländern

## Pathologie EBV-assoziierter Krankheiten

### Maligne Tumore

---

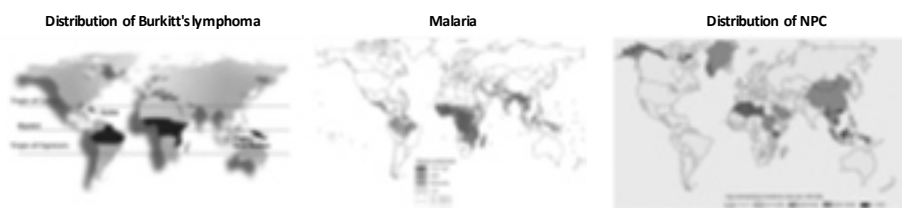
- Lymphome: Entartung von Lymphknotenzellen
  - Hodgkin Lymphome
  - Non-Hodgkin Lymphome
- Karzinome: Entartung von Epithelzellen
- Sarkome oder Weichteiltumoren: Entartung von Bindegewebszellen (Fibroblasten, Fettzellen, Muskelzellen..)

## EBV-assoziierte Erkrankungen: 2% aller Tumoren des Menschen

---

- |                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>BENIGNE</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Infektiöse Mononukleose (IM)</li> <li>– Orale Haarleukoplakie</li> <li>– Vmt1 Autoimmunerkrankungen (MS, SLE, RA)</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>MALIGNE</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Immundefizienz assoziierte Lymphome (PTLD)</li> <li>– Burkitt Lymphome</li> <li>– Hodgkin Lymphome</li> <li>– T-Zell Lymphome</li> <li>– Nasopharyngeale Karzinome</li> <li>– Adenokarzinome des Magens</li> </ul> </li> </ul> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## Weltweite Inzidenz EBV-assoziiierter Tumore



- Umweltfaktoren (z.B. Malaria, Nahrungsmittel, pflanzliche Medizin) induzieren lytische Replikation
- Menschen in geografischen Regionen mit hoher Tumorzinzidenz zeigen hohes Level lytischer Replikation
- Rolle verschiedener und spezieller Virusstränge? (Studien von B95.8 und M81 Strängen)



## EBV-Tropismus *in vivo* und *in vitro*

---

### EBV-infizierte Zelltypen

#### *in vivo:*

B- (+++), T- und NK-Zellen  
Epithelzellen (++)

#### *In vitro:*

B-Zellen (+++)  
Epithelzellen (+)  
T-Zellen (-)

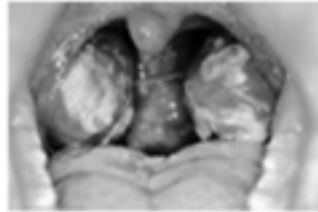
## Drei Paradoxen

---

- Die überwiegende Mehrheit der Menschen ist EBV positiv, jedoch nur eine Minderheit entwickelt EBV-assoziierte Tumore
- EBV-assoziierte Tumore sind geografisch sehr heterogen
- EBV infiziert viele Zelltypen *in vivo*, jedoch nur ganz wenige *in vitro*

## EBV-assoziierte IM

---

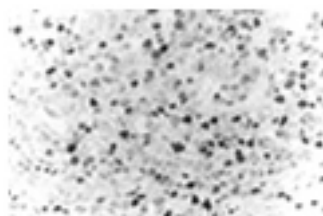


Dr. P. Marazzi. Science Photo Library/Photo Researchers, Inc.

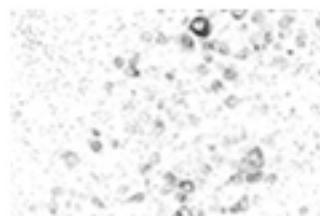
## EBV “immortalisierte” B-Zellen

---

- In IM exprimieren infizierte B-Zellen latente virale Gene



EBER



LMP-1

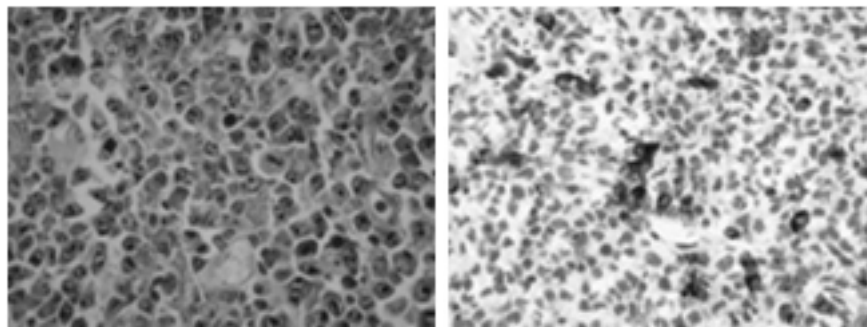
## EBV B-Zellinfektion und Immunsuppression

---

- Immundefizienz ist prädisponierend für die Entstehung von EBV-positiven B-Zell Lymphomen
  - Kongenitale Erkrankungen (z.B. XLP-Syndrome)
  - Iatrogene Immundefizienz (Transplantation und Calcineurininhibitoren, ATG)
  - Virusbedingte Immundefizienz: HIV-Infektion

## PTLD: EBV-transformierte B Zellen

---



Giemsa

LMP1

## T-Zellen können PTLD sowie LCLs abtöten

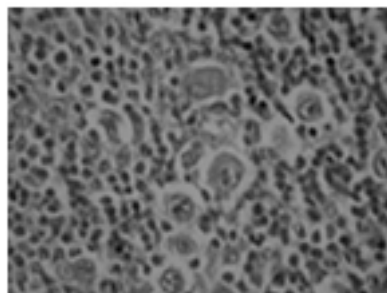
---

- LCLs stellen ein sehr gutes Modell für IM und PTLD dar
- Absetzen/Reduktion der Immunsuppression führt in 30% der Fälle zu einer Regression der PTLD
- T-Zelltherapie hat erstaunliche Erfolge erzielt

## EBV: Hodgkin Lymphome

---

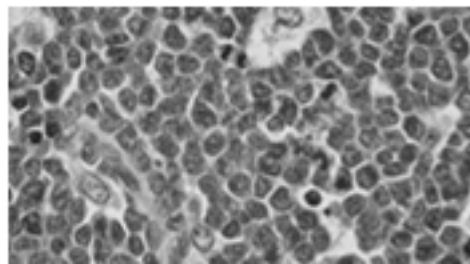
- Präsentiert sich manchmal wie eine entzündliche Krankheit
- bei Kindern sehr häufig EBV-positiv
- Nur die Reed-Sternberg Zellen tragen das Virus
- Treten häufiger auf bei Menschen die IM hatten



## Burkitt's lymphom

---

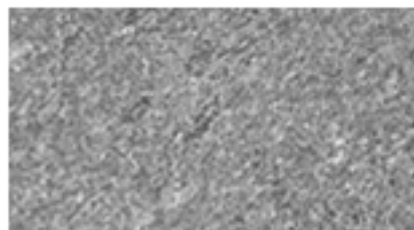
- EBV wurde in diesem Tumor gefunden
- Am schnellsten wachsender Tumor, klinischer Notfall
- Polychemotherapie



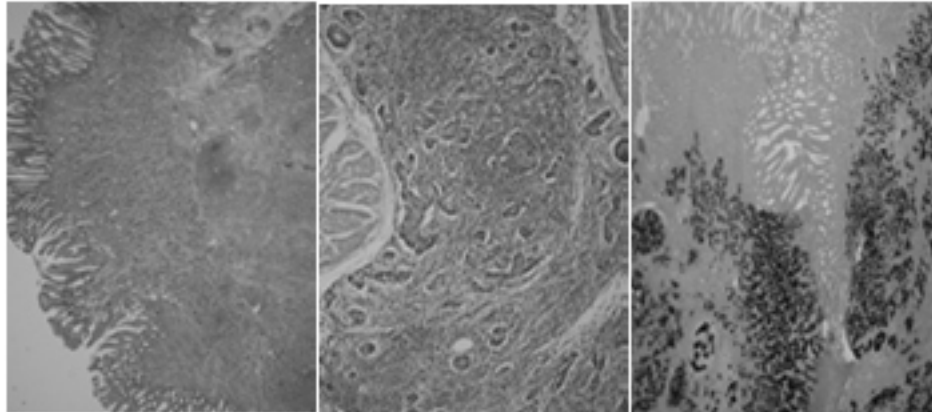
## Nasopharyngeale Karzinome

---

- Häufigster Tumor bei Kindern und jungen Erwachsenen in SO China
- Selten in Deutschland, idR Patienten aus dem Mittelmeerraum
- Patienten weisen sehr hohe IgA Titer gegen lytische Proteine
- Radiotherapie



## EBV-positive Adenokarzinome des Magens

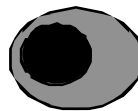


(x20)

(x200)

EBER (x20)

### Latenz I

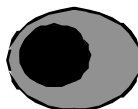


EBNA1  
EBERs  
BART miRNAs

### **Burkitt's Lymphom**



### Latenz II

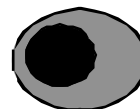


EBNA1  
LMP1  
LMP2  
EBERs  
BART miRNAs

### **NPC**

### **Hodgkin Lymphom**

### Latenz III

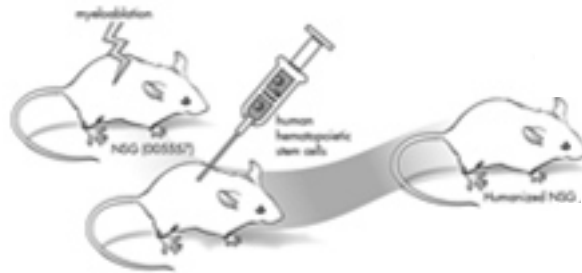


EBNA1  
EBNA2, 3A,B,C  
LMP1,2  
EBERs  
BHRF1 miRNAs  
BART miRNAs

### **PTLD**

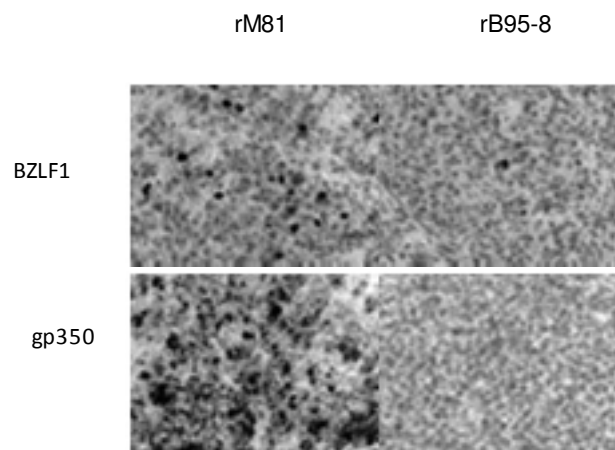
## NSG-A2 Mäuse rekonstituiert mit humanem Immunsystem

---



## rM81 zeigt starke Replikation im Mausmodell

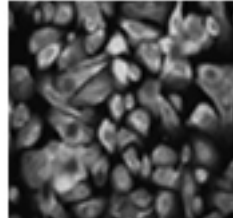
---



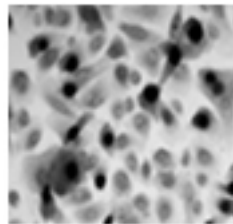
## rM81 infiziert primäre Epithelzellen nach Transferinfektion

---

Anti-keratin



EBER ISH



## Schlussfolgerung

---

- Entgegen gängiger Meinung gibt es unterschiedliche EBV Stämme: spielen Sie eine besondere Rolle bei IM und PTLD?
- Vakzinierungsstrategien müssen diese Virus-Vielfalt berücksichtigen



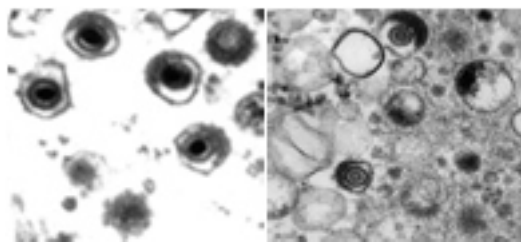
## Vakzinierungsstrategien

---

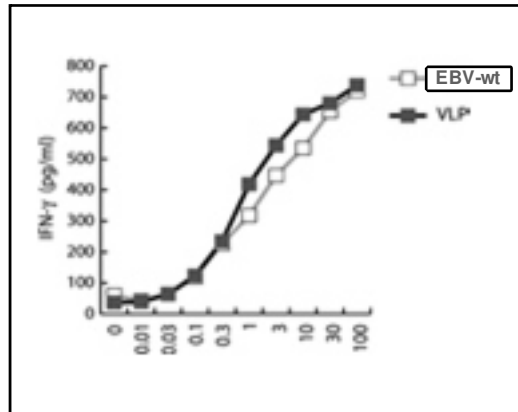
- Protein: EBV gp350 wird derzeit getestet
- Virus-ähnliche Partikel (Virus-like particles *VLP*)

## VLPs als Vakzinekandidaten

---



## EBV VLPs induzieren eine CD4<sup>+</sup> zytotoxische T-Zell Antwort gegen virale Strukturproteine



## Schlussfolgerung

- EBV ist ein wichtiges Pathogen, das zahlreiche Krankheiten auslöst oder begünstigt und verschiedene Stämme aufweist.
- EBV-assoziierte Tumore können manchmal mit T-Zellen therapiert werden.
- VLP sind frei von DNA und können eine effiziente Immunantwort hervorrufen: Kandidat für Vakzine.

## Danksagung

---

- Stamm Heterogenität  
Regina Feederle  
Ming-Hang Tsai  
Christian Münz (University of Zurich)
- VLP Vakzine  
Regina Feederle  
Sophia Pavlova  
Josef Mautner-Uta Behrends (TU Munich)

## Funding bodies

---



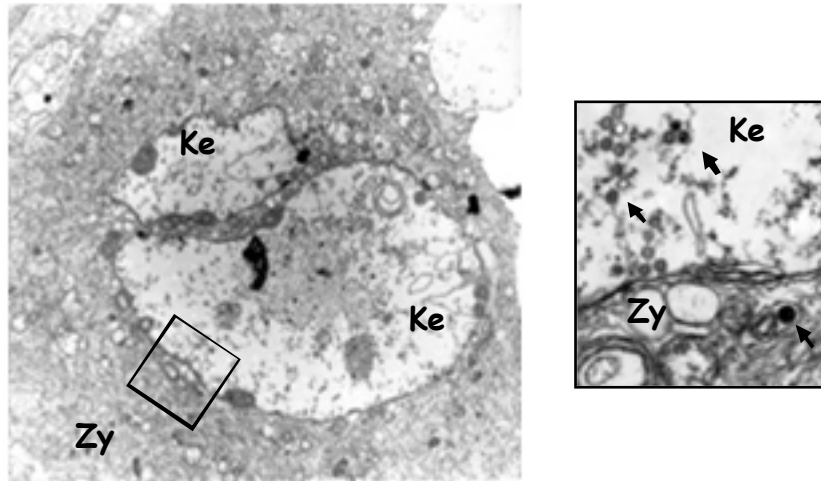
## EBV: Tropism

- Known interactions of the virion with host cells:
  - gp350 <-> CD21, CD35
  - gp42 <-> HLA class II
  - Integrins

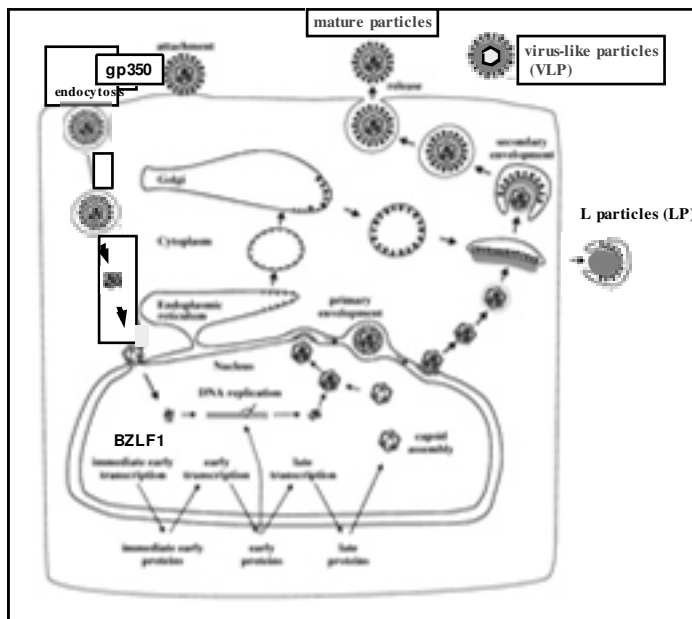
## Genetic analysis of EBV maturation: the hunt for the perfect VLPs

- VLPs are virions devoid of DNA and have been used as antigens for HPV and Hepatitis B vaccines
- EBV VLPs could elicit a protection against infectious mononucleosis and therefore reduce the risk of Hodgkin's lymphoma and of PTLD in sero-negative transplant recipients
- EBV VLPs have been shown to stimulate the growth of EBV-specific CD4+ T cells *in vitro* and could be used for T cell therapy of PTLD
- EBV VLPs should confer protection against latent and lytic proteins
- EBV VLPs cannot be generated with isolated proteins

### Virus Produktion in differenzierten primären Epithelzellen



### Herpesvirus Replikation



Latent and Lytic phase

Adaptiert von TC Mettenleiter, Virus Research, 2004

## Oral hairy leukoplakia

- Encountered in HIV-infected individuals
- Hyperkeratosis of the oral mucosa
- EBV infection, replication



David I. Rosenstein, DMD, MPH

## Lytic replication in OHL



ISH with an EBV DNA specific probe