

Neue Erkenntnisse in Pathogenese, Therapie und Impfstoffentwicklung

# Assoziation von Virusinfektionen mit Tumorerkrankungen

Man schätzt, dass ca. 20% aller weltweit auftretenden Krebsfälle des Menschen im Zusammenhang mit Infektionen stehen, zwei Drittel davon bedingt durch Viren (1). Im folgenden Artikel werden aktuelle Erkenntnisse aus der Grundlagenforschung sowie der Therapie- und Impfstoffentwicklung zu einigen dieser Infektionen präsentiert.

On estime qu'environ 20% de tous les cas de cancer de l'homme dans le monde entier sont en rapport avec des infections; dont deux tiers causées par des virus (1). Dans l'article suivant, les connaissances actuelles de la recherche fondamentale ainsi que du développement des thérapies et des vaccins de quelques-unes de ces infections sont présentées.

Nach aktuellem Wissensstand sind im Zusammenhang mit Krebserkrankungen des Menschen sieben humanpathogene Virusgruppen von Relevanz. Dies sind:

- ▶ Papillomaviren des Menschen (HPV), assoziiert mit Karzinomen des Anogenitaltrakts und des Kopf-Halsbereichs;
- ▶ das Epstein-Barr Virus (EBV), primär assoziiert mit verschiedenen Lymphomen und Karzinomen;
- ▶ das Hepatitis B Virus (HBV), assoziiert mit dem hepatozellulären Karzinom (HCC);
- ▶ das Hepatitis C Virus (HCV), ebenfalls mit dem HCC assoziiert;
- ▶ das humane Herpesvirus Typ 8, auch Kaposi-Sarkom Virus genannt, das mit einem sehr seltenen Gefäßtumor (Kaposi Sarkom) assoziiert ist;
- ▶ das Merkelzell Polyoma Virus, assoziiert mit einem seltenen bösartigen Hauttumor, der von den Merkelzellen ausgeht;
- ▶ das humane T-lymphotrope Virus (früher auch humanes T-Zell-Leukämie Virus genannt), das vor allem in Japan endemisch ist und mit der adulten T-Zell-Leukämie assoziiert ist.

Im Folgenden wollen wir aktuelle Erkenntnisse aus der Grundlagenforschung sowie der Therapie- und Impfstoffentwicklung bei Infektionen mit HPV, EBV und den beiden o.g. Hepatitisviren zusammenfassen.

## Die humanpathogenen Papillomviren

Papillomviren bilden eine sehr heterogene Familie von DNA Viren mit Vertretern beim Menschen und bei zahlreichen Tierspezies. Die Infektion erfolgt über direkten Hautkontakt (z.B. beim Geschlechtsverkehr) und bleibt auf das Epithel beschränkt. Aufgrund der Unterschiede der Aminosäuresequenzen des Hauptstrukturproteins L1 werden die Viren gruppiert (2). So wurden beim Menschen bisher mehr als 200 verschiedene HPV Typen identifiziert. Infektionen führen je nach Virustyp und Lokalisation (Haut oder Schleimhäute) zu gutartigen, exophytisch wachsenden Warzen oder zu

intraepithelialen Läsionen, in denen die Virusvermehrung stattfindet. Häufig bleiben die Infektionen klinisch inapparent.

Infektionen mit bestimmten, sogenannten Hoch-Risiko (HR) HPV Typen (z.B. HPV 16, 18, 31 oder 45) sind kausal an der Entstehung bestimmter Karzinome beteiligt: so sind Tumoren der Zervix uteri zu >99%, der Vagina, der Vulva, des Penis, des Anus oder des Oropharynx zu 30-90% mit HPV Infektionen assoziiert. An diesen mit HPV assoziierten malignen Tumoren erkranken weltweit jedes Jahr ca. 610 000 Personen (3). Die Rolle von Papillomviren bei der Entstehung von Hautkrebs ist noch umstritten.

Wie am Zervixkarzinom, mit über 500 000 Neuerkrankungen der häufigste dieser Tumore, gut untersucht, entsteht Krebs nach 1-2 Jahrzehnten als seltene Folge einer häufigen, durch Geschlechtsverkehr übertragenen, Infektion meist über klinisch gut definierte Vorstufen (4). Tierexperimentelle Studien zeigten, dass die Immunisierung mit gentechnisch hergestellten, DNA-freien virusähnlichen Partikeln (VLPs) die Infektion mit Papillomviren und den dadurch bedingten Erkrankungen verhindert (5). Seit 2006 wurden drei HPV Impfstoffe zugelassen: Cervarix® enthält VLPs der häufigsten HR HPV Typen 16 und 18, Gardasil® zusätzlich VLPs von HPV 6 und 11 (induzieren die gutartigen Genitalwarzen) und Gardasil®9 (wurde gerade erst in den USA zugelassen) darüberhinaus VLPs von 5 weiteren HR HPV Typen. In der klinischen Prüfung erwies sich die Impfung als frei von schweren Nebenwirkungen und als nahezu 100% effizient bei der Verhinderung von Infektionen und den dadurch bedingten prämaligen Läsionen. Die erwartete Verminderung der Krebsinzidenz wird sich erst Jahre nach Einführung in Populationen mit guten Impfraten überprüfen lassen. Es werden aber bereits jetzt aus Australien oder Grossbritannien, wo die Impfrate durch Einführung staatlicher Programme besonders hoch ist, eine Reduktion der Infektionsrate, der Inzidenz von Genitalwarzen (im Falle der Impfung mit Gardasil®) sowie Hinweise auf eine Verminderung von Krebsvorstufen berichtet. In



Dr. med. Susanne Fink  
Heidelberg



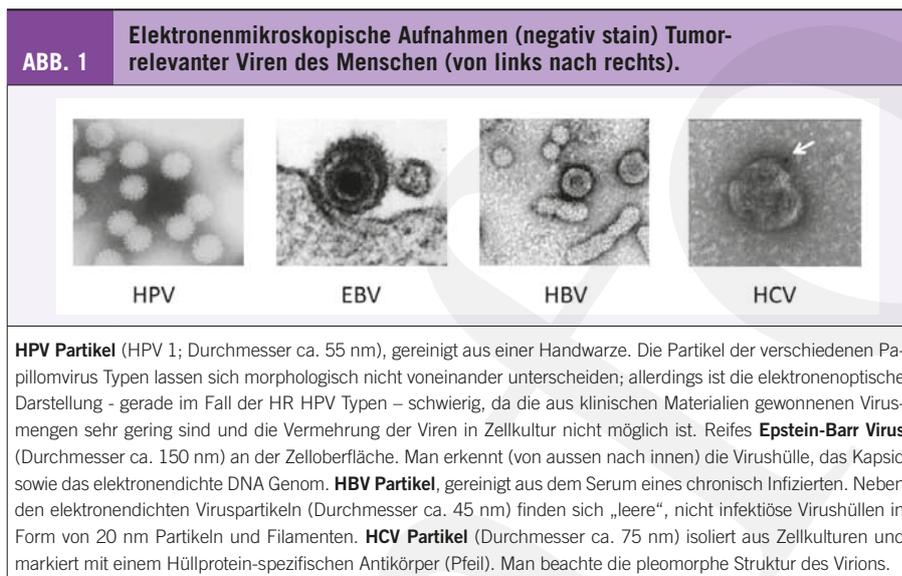
Prof. Dr. rer. nat.  
Ralf Bartenschlager  
Heidelberg

den meisten Ländern werden nur Mädchen geimpft; Experten fordern aber, auch Jungen in die Impfprogramme einzuschließen, um eine ausreichende Herdenimmunität zu gewährleisten und so die Inzidenz der HPV-bedingten (prä)malignen Tumoren bei beiden Geschlechtern zu reduzieren (6).

### Das Epstein-Barr Virus

Das EBV ist ein ubiquitär vorkommendes Gammaherpesvirus, das verschiedene Lymphome und Karzinome hervorruft (7). Die Primärinfektion erfolgt zumeist im frühen Kindesalter durch Speichelübertragung und verläuft überwiegend asymptomatisch (7). In westlichen Industrieländern sind Infektionen im Jugendalter häufig und können das Krankheitsbild der infektiösen Mononukleose (IM) verursachen, welches durch eine unkontrollierte T- und NK-Zell vermittelte Immunantwort ausgelöst wird. An einer IM zu erkranken erhöht das Risiko eines Morbus Hodgkin um das Vierfache (7). Während der Primärinfektion kommt es entweder zu einer produktiven Replikation, wobei diagnostisch relevante Replikations- und Strukturproteine wie VCA und gp350 produziert werden, oder zu einer latenten Infektion, wobei latente Kern- und Membranproteine wie „EBV nukleäre Antigene“ (EBNA) oder „latente Membranproteine“ (LMP) exprimiert werden. LMP1, aber auch virale microRNAs besitzen proliferations- und transformationsfördernde Eigenschaften (7, 8). Während der Primärinfektion werden simultan T-Zellen und Antikörper gegen das Virus gebildet (7). Letztere können als Anti-EBNA und Anti-VCA/EA IgG/M Titer bestimmt werden. Dennoch persistiert das Virus vom Immunsystem unbemerkt und lebenslang in Gedächtnis B-Zellen (7).

Mit dem EBV sind maligne Lymphoproliferationen assoziiert wie das Burkitt-, Hodgkin- und Posttransplantationslymphom, aber auch Karzinome wie das Nasopharynxkarzinom und eine Subgruppe von Magenkarzinomen (9). Deshalb wird intensiv an einer Impfung gegen den akuten EBV-Infekt und damit seiner latenten Infektion und der damit assoziierten Krebsentstehung geforscht. Die Vakzineentwicklung wird durch die Entdeckung unterschiedlicher Virusstämme, die aufgrund genetischer Polymorphismen in den viralen Proteinen unterschiedliche Eigenschaften besitzen, erschwert (10). Ein effizientes Vakzin sollte gegen die verschiedenen EBV Stämme Schutz bieten. Die ersten Impfversuche beruhten auf der Induktion von Antikörpern gegen Virushüllproteine (gp350). Hierdurch konnte nur die IM-Symptomatik gemildert, die eigentliche Infektion jedoch nicht verhindert werden (11). In einem weiteren präventiven und therapeutischen Vakzin wurden EBNA1 und LMP2 mit Hilfe eines Vaccinia Virus exprimiert (12). Die langzeitige Wirkung dieser Strategie wird derzeit geprüft. Virusähnliche Partikel, die die meisten EBV Strukturproteine tragen und damit eine breite Immunantwort generieren können, gleichzeitig jedoch alle Eigenschaften Malignität hervorzurufen verloren haben, stellen eine weitere Impfstrategie dar (13, 14). Diese Partikel werden als DP's bezeichnet (defective virus-like particles) und könnten zur Primärprophylaxe eingesetzt werden.



Abbildungen mit freundlicher Genehmigung von Prof. Lutz Gissmann, Dr. Regina Feederle, Dr. Stefan Seitz und Dr. Andreas Meitz.

### Die chronische Hepatitis B und C

Man kennt fünf unterschiedliche Virusgruppen, die primär die Leber infizieren. Auf Grund ihrer hohen Prävalenz und der Eigenschaft zu chronifizieren, sind HBV und HCV am bedeutsamsten. So schätzt man, dass weltweit ca. 300 Mio. Menschen eine chronische HBV Infektion und ca. 130 Millionen eine chronische HCV Infektion haben. Obwohl die Infektionen mit beiden Viren zumeist asymptomatisch verlaufen, haben persistent Infizierte ein hohes Risiko für eine chronische Hepatitis, die entweder über eine Leberzirrhose oder direkt zu einem hepatozellulären Karzinom (HCC) führen kann. Man nimmt an, dass ca. 50% aller HCC Fälle mit einer chronischen Hepatitis B und ca. 25% mit einer chronischen Hepatitis C assoziiert sind (15, 16). Chronisch HBV oder HCV Infizierte mit einer Leberzirrhose haben eine HCC Inzidenz von ca. 1–6% pro Jahr. Jährlich sind ca. 750 000 neue HCC Fälle zu verzeichnen, womit diese Krebsart die fünfthäufigste beim Mann und die siebthäufigste bei der Frau ist. Obwohl auch heute die Therapieoptionen des HCC, das weltweit die dritthäufigste Krebsbedingte Todesursache ist, begrenzt sind, konnten insbesondere bei der antiviralen Therapie der HBV und HCV Infektion grosse Fortschritte erzielt werden.

Die epidemiologische Korrelation zwischen chronischer HBV oder HCV Infektion und dem HCC ist eindeutig, die molekularen Grundlagen werden aber bisher nicht verstanden. Ein wesentlicher Faktor ist in beiden Fällen die chronische Inflammation, die i. W. auf einer unzureichenden Immunantwort sowie der Induktion eines entzündlichen Zytokinmilieus beruht (17). Unter diesen, die Hepatozytenproliferation induzierenden Bedingungen ist das Risiko für DNA-Schädigungen bzw. die Wahrscheinlichkeit, dass sich DNA-Schäden manifestieren können, stark erhöht. Ausserdem tragen beide Viren auch auf direktem Weg, d.h. über virale Faktoren zur Tumorentstehung bei. Im Falle des HBV, das seine Persistenz in Form eines episomalen und sehr stabilen Minigenoms im Zellkern aufrecht erhält (die sogenannte covalently closed circular (ccc) DNA) kommt es zu gelegentlichen Integrationen von Teilen oder, seltener, vollständigen HBV Genomen in das Wirtszellgenom (18, 19). Tatsächlich findet man in 85-90% der HBV-assoziierten HCC Teile des HBV Genoms integriert (20). Obwohl die Integration von HBV Sequenzen per se ungerichtet und, im Unterschied zu HIV, nicht obligatorisch für produktive Virusvermehrung ist, findet man HBV Sequenzen im Tumor-

gewebe zumeist im Bereich des Telomerasegens (~20% aller HCCs), dem Gen für MLL4 (Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 4; ~10%) oder dem CCNE1 Gen (G1/S-specific cyclin-E1; ~5%) inseriert. Die dadurch bedingte gesteigerte bzw. unkoordinierte Expression dieser und anderer Gene scheint einen wesentlichen Beitrag zur Tumorentstehung zu leisten.

Im Fall von HCV mehren sich ebenfalls die Hinweise, dass virale Faktoren unmittelbar zur Tumorentstehung beitragen. Neben der zum Teil sehr ausgeprägten Störung des Lipidstoffwechsels der Hepatozyten, die sich klinisch als Hepatosteatose äussert, sind hier Beobachtungen aus Experimentalsystemen zu nennen wie etwa die Induktion von Lebertumoren in transgenen Mausmodellen oder die Hemmung von wichtigen Tumorsuppressoren wie das Retinoblastomprotein oder die microRNA-122 (21, 22). Die physiologische Bedeutung dieser Prozesse und die kausalen Zusammenhänge bleiben jedoch unklar, da für HBV und HCV keine immun-kompetenten Tiermodelle für mechanistische Studien zur Verfügung stehen.

Dass die HBV Infektion ein wesentlicher Kofaktor des HCCs ist, wird am besten am drastischen Rückgang dieser Krebserkrankung in Hochendemieländern seit Einführung der prophylaktischen Impfung erkennbar. Ein bekanntes Beispiel ist Taiwan wo die HCC-bedingte Sterblichkeit nach Massenimmunisierung gegen HBV um ~70% zurückging (23). Das Vakzin besteht aus rekombinantem Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und war der erste gentechnisch hergestellte Impfstoff. Auch die Therapie mit Nukleosidanaloga führt zu einer Reduktion der HBV-assoziierten Leberzirrhose und HCC Inzidenz (24, 25). Heilungserfolge im Sinne einer HBV Elimination sind jedoch eher selten, weshalb die antivirale Therapie als dauerhafte Virussuppression über viele Jahre, möglicherweise lebenslang gegeben werden muss.

Demgegenüber ist die Elimination der HCV Infektion unter antiviraler Therapie die Regel geworden. So kommt es bei ca. 90% der Personen, die mit einer 12-wöchigen Interferon-freien Kombinationstherapie behandelt werden zum Verlust des Virus. Hauptgrund für diesen hohen Therapieerfolg ist die Replikationsstrategie dieses Virus, das im Gegensatz zu HBV kein stabiles Virusreservoir etab-

liert und stattdessen die Persistenz durch konstante und hohe Virusreplikation aufrechterhält. Allerdings ist der Therapieerfolg abhängig vom Schweregrad der Leberschädigung, denn Patienten mit fortgeschrittener Zirrhose zeigen niedrigere Viruseliminierungsraten als Patienten mit keiner oder milder Fibrose. Therapieresistenzen scheinen keine prominente Rolle zu spielen. Allerdings wurden diese Interferon-freien Kombinationspräparate erst vor ca. einem Jahr bzw. vor wenigen Monaten zugelassen, so dass noch keine Langzeiterfahrungen aus dem klinischen Alltag vorliegen. Angesichts der hohen Fallzahlen (ca. 400 000 chronisch HCV-Infizierte in Deutschland, ca. 3-5 Mio. in Europa) bedeutet selbst eine Therapieresistenz von nur wenigen Prozent immer noch eine hohe Zahl an betroffenen Patienten. Es zeichnet sich ab, dass die HCV Elimination mit einem deutlichen Überlebensvorteil für die Betroffenen einhergeht (26).

Ein prophylaktisches Vakzin zur Vermeidung der HCV Infektion gibt es bisher nicht. Dessen Entwicklung ist schwierig weil (i) das Virus hoch-variabel ist, (ii) die Epitope für neutralisierende Antikörper im Viruspartikel nicht oder nur schlecht zugänglich sind, (iii) es keine adäquaten Tiermodelle zur Bestimmung des Impferfolges gibt, (iv) das ökonomische Interesse zur Vakzinentwicklung auf Grund des hohen Therapieerfolgs gering ist und (v) die klinischen Studien zur Bestimmung des Impferfolgs schwierig, langwierig und teuer sind.

**Dr. med. Susanne Fink<sup>1</sup>, Prof. Dr. med. Lutz Gissmann<sup>2</sup>, Prof. Dr. med. Henri-Jacques Delecluse<sup>1</sup>, Prof. Dr. rer. nat. Ralf Bartenschlager<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Abteilung Pathogenese infektionsbedingter Tumore (F100)

<sup>2</sup>Abteilung Molekulare Diagnostik Onkogener Infektionen (F020)

<sup>3</sup>Abteilung Virus-assoziierte Karzinogenese (F170)

Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), 69120 Heidelberg  
r.bartenschlager@dkfz-heidelberg.de

**Interessenkonflikt:** Die Autoren haben keinen Interessenkonflikt im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert.

### Take-Home Message

- ◆ Chronische Virusinfektionen spielen bei zahlreichen Tumorentitäten eine wichtige Rolle und stellen wesentliche Kofaktoren dar, die die Tumorentstehung begünstigen
- ◆ Die Prävention der Infektion sowie die Elimination des persistierenden Virus können deshalb die Entstehung des Tumors verhindern. Im Fall von HBV steht ein effektives Vakzin zur Verfügung, dessen konsequente Nutzung die HCC Inzidenz dramatisch reduziert hat. Analoges darf man für die HPV Impfung erwarten
- ◆ Im Fall des EBV gibt es grosse Anstrengungen ein effektives Vakzin zu entwickeln. Hier gibt es unterschiedliche präventive und therapeutische Ansätze, die sich in Entwicklung befinden
- ◆ Für die chronische Hepatitis B stehen effektive Chemotherapeutika zur Verfügung, die zu einer dauerhaften Virussuppression führen und damit die Inzidenz schwerer Leberschäden, einschliesslich HCC reduzieren; allerdings kommt es eher selten zu einer Viruselimination
- ◆ Im Gegensatz dazu ist die Elimination des HCV unter antiviraler Therapie die Regel geworden. Ob dies zu einer Reduktion des HCCs führt hängt wesentlich vom gleichzeitigen Wegfall Tumor-promovierender Kofaktoren wie etwa dem Alkoholkonsum ab. Man darf jedoch davon ausgehen, dass diese neuen Interferon-freien Therapieformen die HCV-assoziierte HCC Inzidenz in den Ländern reduzieren werden, in denen diese Medikamente zur Verfügung stehen

### Messages à retenir

- ◆ Les infections virales chroniques jouent un rôle important dans de nombreuses entités tumorales et représentent des co-paramètres essentiels qui favorisent la formation des tumeurs
- ◆ Pour cette raison, la prévention de l'infection ainsi que l'élimination du virus persistant peuvent empêcher la formation des tumeurs. En cas de VHB un vaccin efficace est à la disposition dont l'utilisation conséquente a réduit dramatiquement l'incidence CHC. Une évolution analogue peut être attendue pour la vaccination HPV
- ◆ En cas d'EBV, il y a de grands efforts de développer un vaccin efficace. Il y a des approches différentes préventives et thérapeutiques qui se trouvent en développement
- ◆ Pour l'hépatite chronique B, des chimiothérapeutiques efficaces sont à disposition qui mènent vers une suppression virale durable et réduisent l'incidence des lésions hépatiques graves, inclusivement le CHC. Par contre, une élimination de virus reste plutôt un événement rare
- ◆ Contrairement, l'élimination de VHC sous thérapie antivirale est devenue la règle. Si cela cause également une réduction de CHC dépend essentiellement de la suppression des facteurs confondants stimulant des tumeurs comme par exemple la consommation d'alcool. Donc, on peut attendre une réduction de l'incidence des cas de CHC associés à VHC dans des pays où ces nouvelles formes de thérapie libres d'interféron sont à la disposition

**Literatur:**

1. Ferlay J et al. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer* 2010;46(4):765-81
2. de Villiers EM et al. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004;324(1):17-27
3. Bosch FX et al. Reframing cervical cancer prevention. Expanding the field towards prevention of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine* 2012;30 Suppl 5F1-11
4. Schiffman M et al. Human papillomavirus infection and the multistage carcinogenesis of cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(4):553-60
5. Breitbart F et al. Immunization with viruslike particles from cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) can protect against experimental CRPV infection. *J Virol* 1995;69(6):3959-63
6. Stanley M. HPV vaccination in boys and men. *Hum Vaccin Immunother* 2014;10(7):2109-11
7. Rickinson AB, Kieff E. *Epstein-Barr Virus*. 5, 2655-2700. 2007. Lippincott Williams & Wilkins
8. Klinke O et al. Genetics of Epstein-Barr virus microRNAs. *Semin Cancer Biol* 2014;2652-9
9. Delecluse HJ et al. Epstein Barr virus-associated tumours: an update for the attention of the working pathologist. *J Clin Pathol* 2007;60(12):1358-64
10. Tsai MH et al. Spontaneous lytic replication and epitheliotropism define an Epstein-Barr virus strain found in carcinomas. *Cell Rep* 2013;5(2):458-70
11. Sokal EM et al. Recombinant gp350 vaccine for infectious mononucleosis: a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the safety, immunogenicity, and efficacy of an Epstein-Barr virus vaccine in healthy young adults. *J Infect Dis* 2007;196(12):1749-53
12. Taylor GS et al. A recombinant modified vaccinia ankara vaccine encoding Epstein-Barr Virus (EBV) target antigens: a phase I trial in UK patients with EBV-positive cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(19):5009-22
13. Pavlova S et al. An Epstein-Barr virus mutant produces immunogenic defective particles devoid of viral DNA. *J Virol* 2013;87(4):2011-22
14. Adhikary D et al. Standardized and highly efficient expansion of Epstein-Barr virus-specific CD4+ T cells by using virus-like particles. *J Virol* 2008;82(8):3903-11
15. El-Serag HB Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011;365(12):1118-27
16. Arzumanyan A et al. Pathogenic mechanisms in HBV- and HCV-associated hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Cancer* 2013;13(2):123-35
17. Shlomai A et al. Virus associated malignancies: the role of viral hepatitis in hepatocellular carcinoma. *Semin Cancer Biol* 2014;2678-88
18. Brechot C et al. Presence of integrated hepatitis B virus DNA sequences in cellular DNA of human hepatocellular carcinoma. *Nature* 1980;286(5772):533-5
19. Shafritz DA et al. Integration of hepatitis B virus DNA into the genome of liver cells in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. Studies in percutaneous liver biopsies and post-mortem tissue specimens. *N Engl J Med* 1981;305(18):1067-73
20. Buendia MA et al. Hepatocellular carcinoma. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015;5(2):a021444
21. Buhler S et al. Promotion of hepatocellular carcinoma by hepatitis C virus. *Dig Dis* 2012;30(5):445-52
22. Luna JM et al. Hepatitis C virus RNA functionally sequesters miR-122. *Cell* 2015;160(6):1099-110
23. Chang MH et al. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B vaccinees: a 20-year follow-up study. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(19):1348-55
24. Liaw YF et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004;351(15):1521-31
25. Liaw YF Impact of hepatitis B therapy on the long-term outcome of liver disease. *Liver Int* 2011;31 Suppl 1117-21
26. Simmons B et al. Long-term treatment outcomes of patients infected with Hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a Sustained Virological Response. *Clin Infect Dis* 2015