

# Viry a nádory

JAN ŠMARDA sen.

Zhoubné nádory jsou velmi častou příčinou úmrtnosti lidí – a přitom příčinou 15% - 20% všech zhoubných nádorů člověka jsou perzistující virové infekce. Nádor sám ovšem není onemocněním infekčním. Proto také podezření, že alespoň některé nádory by mohly být působeny virem, se jen těžce prodíralo k vědeckému potvrzení přesto, že kličilo už na konci 19. století; už tehdy totiž lidstvo poznalo, že viry existují.

Přesně řečeno, už tehdy lidstvo poznalo, že mozaikovou chorobu rostlin tabáku způsobuje virus; ale nevědělo ještě, co si má pod tímto pojmem představit. Teprve objev virových (konkrétně: bakteriofágových) plaků v kultuře citlivých (v tomto případě konkrétně bakteriálních) buněk F. d'Hérellem roku 1917 ukázal, že virus je tělísko, částice – nikoliv roztok ani enzym. Virovou částici (dnes nazývanou virion) pak mohl člověk spatřit až poté, co byl vynalezen elektronový mikroskop; a tímto prvním člověkem byl H. Ruska, který r. 1939 v takovém mikroskopu zpozoroval právě částici viru mozaikové choroby tabáku. A výzkum patogenezy této choroby se pak stal vlajkovou lodí poznávání patogenetického účinku virů obecně.

Dnes víme, že viry, infikující vhodné hostitelské buňky kterýchkoliv organismů, do nich pronikají proto, aby za využití biochemických – a obecně molekulárních – možností, které jim jejich živý obsah (tj. protoplazma se všemi potřebnými molekulami včetně enzymů) umožňuje, aby naplnily svůj vlastní životní cyklus, tj. aby se v naprosté většině případů pomnožily. A to samozřejmě nemůže zůstat bez odezvy na zdravotním stavu hostitelských buněk; a někdy tyto patogenetické interakce vedou i k jejich nádorové transformaci. Onkogenní efekt je tedy jen přídatným, vedlejším účinkem virové infekce – a tak je tomu i u člověka.

Viry, které dovedou vyvolat nádorové bujení, se označují jako nádorotvorné – tumorigenní, onkogenní. Známých onkogenních virů je naštěstí málo – ale dlužno říci hned, že jich pomalu, ale neustále přibývá. Nacházíme je mezi DNA- i RNA-viry. Tumorigenní RNA-viry shromažďuje jejich čeleď Retroviridae. (Ovšem pozor! Do této čeledi náleží i rod *Lentivirus*, k němuž patří i viry nenádorové, ale neméně fatální – viry lidské imunitní nedostatečnosti, tedy choroby AIDS: viry HIV-1 a HIV-2.) Tumorigenní DNA-viry jsou pak rozptýleny do pěti čeledí; konkrétně si je představíme níže.

A ještě je vhodné hned úvodem zdůraznit, že výzkum onkogenního efektu virů dnes patří k nejcennějším metodickým přístupům jejich molekulární biologie obecně.

Jako konkrétní historický mezník, označující vznik onkovirologie – poznávání kancerogenních efektů virů – lze uvést rok 1907. Tehdy G. Ciuffi uveřejnil sdělení, že se mu podařilo vyvolat bradavice na své vlastní kůži bezbuněč-

ným, tedy bakteriologicky sterilním filtrátem extraktu z lidských bradavic. Až v r. 1949, tedy až v éře elektronové mikroskopie, byl tento nález potvrzen a upřesněn M. J. Straussem, který našel virus v papillomech kůže člověka – a vytvořil tak systémovou čeleď Papillomaviridae pro viry, tvořící na lidské kůži bradavice; papillomaviry jsou DNA-viry a ještě o nich uslyšíme.

Už v r. 1908 byla ovšem popsána experimentální leukemie kuřat, rovněž přenosná sterilním filtrátem krve (V. Ellermann). Příčinným agens této ptačí choroby je virus ptačí leukózy ALV (avian leucosis virus); v dnešní terminologii jde o leukemii, o níž se tehdy ještě nevědělo, že je zhoubným nádorem leukocytů. A nemohlo se ještě vědět ani to, že ALV je RNA-virus. Ale nedlouho nato, r. 1911, popsal F. P. Rous rovněž u kuřat přenos zhoubného nádoru souvislé, tedy pevně tkáně: spinocelulárního (adjektivum podle tvaru buněk) sarkomu bezbuněčným filtrátem z tohoto pojivového nádoru. Zde je příčinným agens RSV (Rous sarcoma virus) – opět RNA-virus, který má přesně stejnou strukturu genomu jako ALV, ale obsahuje v ní navíc gen *src*, což je klasický onkogen; ALV jej nemá. Nicméně v této epoše zněl vědeckým světem velmi intenzivní názor, že tyto drůbeží viry jsou bezvýznamné jako modely pro onkologii člověka, tedy savce.

Všechny retroviry mají obecnou primární strukturu genomu. (Ten je, jak už víme, tvořen RNA – a retroviry jsou jedinou kategorií živých jedinců, jejichž genové informace jsou zakódovány v RNA a nikoliv v DNA.) Vždy nese čtyři charakteristické geny; jejich genom lze schematicky vyjádřit takto:

$$5' \text{ LTR} - \text{gag} - \text{pro} - \text{pol} - \text{env} - \text{LTR} 3'$$

**5'→3'** symbolizuje směr „čtení“ sledu nukleotidů v řetězci RNA pro biologické využití

**LTR** (long terminal repeat) je sekvence nezbytná pro integraci virového genomu – po transkripci do DNA – do genomu hostitelské buňky; má regulační funkci

**gag** je gen pro nukleoprotein viru

**pro** je gen pro virový enzym: proteázu, štěpící původně syntetizovaný polyprotein na jednotlivé proteiny viru

**pol** je gen pro virový enzym: RNA-řízenou DNA polymerázu, tzv. reverzní transkriptázu

**env** je gen pro obalový protein viru

Některé onkogenní viry zřejmě nemají žádný onkogen. Jak tedy mohou být onkogenní?

Cesta k vysvětlení vedla námáhavou prací badatelů celého světa ve 40.-70. letech 20. století. Zmíňme se alespoň o L. A. Zilberovi, který už r. 1946 zjistil, že přenos leukemie bezbuněčnými extrakty leukemických krvinek je usnadněn, je-li tento krevní nádor ke svému experimentálnímu vzniku určitým způsobem chemicky indukován, tj. vyvolán. L. Gross r. 1951 úspěšně přenesl

filtrabilní agens – virus myši leukemie – myším novorozencům, jimž vyvolal zhubné bujení slinné žlázy, a ukázal, že pronikavé záření či onkogenní chemikálie tyto viry aktivují z latentní (provirové), perzistující fáze jejich infekce ve zdravé tkáni. L. Gross tak jako první přinesl spojovací článek mezi molekulární genetikou nádorů a jejich virovou patogenezi. V letech 1958-1964 pak H. M. Temin dokázal, že i zcela zdravá tkáň může obsahovat neaktivní provirus viru onkogenního, např. retroviru Rousova sarkomu kuřat. V dalších letech byla pak nalezena řada retrovirů, působících nádory různých savců – včetně člověka, až r. 1970 bylo D. Baltimorem a H. M. Teminem nalezeno vysvětlení: objev už zmíněné reverzní transkriptázy – enzymu, jímž jsou zcela výjimečně vyzbrojeny retroviry, z nichž naprostou většinu tvoří viry onkogenní; enzym, jenž jim umožňuje, aby v infikované buňce svou RNA transkribovaly do DNA – a tedy své genové informace přepisovaly opačným směrem, než určuje základní dogma molekulární genetiky a než je ve veškeré ostatní přírodě obvyklé: z RNA do DNA. Tuto DNA (tj. i všechny své geny) pak tyto viry dovedou integrovat (opět enzymaticky) do chromosomální DNA své hostitelské buňky. Tak se přišlo na to, že DNA každé buňky každého člověka tyto geny nese a při každém buněčném dělení do každé své dceřinné buňky – a dále všem potomkům příštích generací – předává. A že tedy tyto virové geny musí ve zdravé tkáni normálně fungovat, ač jsou to vlastně onkogeny, jež se mohou jen nepatrnými molekulárními mutacemi odlišovat od těchž genů onkogenních virů. A tyto geny byly už značnou měrou poznány.

Dnes je jich u různých savců – myši, potkana, kočky, opice a skotu – a u ptáků – kura (kuřata) a krocana – známa celá řada; jejich příklady uvedeme níže. Před jejich třípísmenná genetická označení se k rozlišení jejich lokalizace – ve viru či ve tkáňové buňce – před ně přidává buď symbol v (virový) nebo c (celulární, buněčný onkogen). Tak F. P. Rousem objevený virový onkogen kuřecího sarkomu *src* dnes známe jako *v-src* nebo jako *c-src*. Buněčné formě onkogenu se říká proto-onkogen. Buněčný protoonkogen je ovšem vždy výrazně delší než onkogen virový, protože jako v genu eukaryontního organismu jsou i v něm kódující nukleotidové sekvence – exony vzájemně odděleny vloženými sekvencemi nekódujícími – introny.

Valnou část lidského genomu tvoří přenosné genetické elementy časově pradávne a nejméně 8 % z nich obsahuje endogenní retrovirové sekvence nukleotidů; právě takové elementy byly pravděpodobně hlavními „hýbateli“ jeho evoluce. Vždyt většina genomové DNA je při expresi genomu transkribována, ale téměř 97 % z ní (tzv. repetitivní či mezerníkové sekvence, už zmíněné introny aj.) není translatováno – nekóduje proteiny a tudíž podle dosavadních vědomostí nemá smysl genových informací!

Dnes už byla přijata hypotéza, že onkogeny jsou buněčného (tedy organismového) původu (J. M. Bishop 1987). A je-li tomu opravdu tak, pak se za tímto označením skrývají opravdu geny se zcela normální, fyziologickou funkcí v buněčném metabolismu, nicméně geny, které – jsou-li nadměrně exprimovány či mutovány – mohou způsobit vznik nádoru. Ukázalo se, že jde vesměs

o buněčné geny, uplatňující se (svými produkty) v různých úrovních buněčných regulací, jako jsou geny pro membránové receptory tyrozin-kinázy, kinázy jiných aminokyselin, pro ligázy, signální molekuly transdukci, faktory transkripce či pro růstové faktory.

Nádor vyrůstá vždy z jedné buňky, jež byla nádorově transformována produktem, který si sama vyrobila: proteinem určitého onkogenu – onkoproteinem. Nádorový charakter buňky je vždy charakterizován určitým souborem vlastností resp. funkčních schopností, jichž postrádají buňky zdravé. (Obvykle se vypočítávají takto: imortalizace – buňka se neomezeně dělí; snížená závislost na přítomnosti či nepřítomnosti růstových faktorů; snížená odpověď na podněty inhibiční; odolnost vůči apoptóze – tj. vůči programované smrti buňky po patogenním podnětu; exprese neobvyklých antigenů; molekulárně genetická nestabilita; únik imunitní kontrole organismu; vlastní angiogeneze, tj. tvorba vlastních krevních vlásečnic nádoru; sklon k invazivnímu, neohraničenému růstu a ke tvorbě metastáz.

Z onkogenních retrovirů jsou známy u člověka jen lyfotropní viry HTLV-1 a HTLV-2 (human T-lymphotropic virus), jež – s dlouhou dobou latence – vyvolávají onkogenní transformaci T-lymfocytů, T-lymfocytární leukemii. Během doby latence přetrvává ve chromosomu infikovaných T-lymfocytů integrovaný provirus. Ten je posléze aktivován regulačním proteinem *Tax*, který je virem kódován. Reverzní transkripce je zde do určité míry podobná i v případech infekce neonkogenním retrovirem HIV (působícím AIDS). (Tento retrovirus je neonkogenní jen proto, že jeho transaktivátor *Tat* nemá na infikovanou buňku transformační efekt.) Jemu podobný protein virů HTLV, *Tax*, je onkogenní proto, že se asociuje s onkoproteinem Ras a tím nadměrně zvyšuje svou aktivitu; tak je navozena „imortalizace“ hostitelské buňky a s ní všechny zmíněné charakteristiky buňky nádorové.

Virus HTLV-1 nemá žádný klasický onkogen. Pomalá transformace hostitelské buňky tímto onkovirem je dána tehdy, když jako retrovirus náhodně integruje svou cDNA (reverzní transkript jeho RNA) do regulační sekvence některého onkogenu buněčného nebo alespoň do její těsné blízkosti – a svými vlastními regulačními sekvencemi ji stimuluje k jeho expresi.

Retroviry mají – vzhledem ke složitosti svého životního cyklu – tento cyklus vždy značně dlouhotrvající: dosahuje řádově měsíců až let. Výrazně kratší je cyklus DNA-virů a mezi nimi i těch, u kterých v infikované buňce zasahuje i do regulace syntézy její DNA; a tím mají také potenciál onkogenní. Takových DNA-virů je i u člověka celá řada. Jmenovitě jde o určité viry čeledi: Herpesviridae, Papillomaviridae a Hepadnaviridae. (K nim – leč jen u potkanů a křečků – přistupují ještě čeledi Adenoviridae a Polyomaviridae.) Proberme si v krátkém přehledu lidské onkogenní viry těchto uvedených tří čeledí!

**Herpesviridae.** Jejich genom tvoří dvouřetězcová DNA (značí se dsDNA – double stranded DNA) o délce  $130\text{--}248 \times 10^3$  párů bazí. Onkogenní viry jsou v této čeledi soustředěny do podčeledi Gammaherpesviridae a jsou to: virus Epstein-Barrová (působí širokou paletu patologických efektů: infekční mono-

nukleózu, tonzilitidu – zánět krční mandle, hepatitidu (zánět jater), ale také Burkittův lymfom, nosohltanový karcinom i lymfomy po homotransplantaci kostní dřeně a ledvin) a virus Kaposiho syndromu (což je časté fatální vyústění AIDS).

**Papillomaviridae.** Kapsida těchto menších virů (membránou neobalených) obsahuje rovněž genomovou dsDNA, tentokrát jen o cca  $8 \times 10^3$  bází. Tyto viry napadají řadu savců včetně člověka. Stálé sekvenční rozdíly v genomu lidského papillomaviru umožňují rozlišovat značný počet jeho typů (dnes už více než 95 typů); tyto varianty strukturních genů se odrážejí mj. v rozdílech proteinů L a E – a ty zase rozhodují o patogenitě typu papillomaviru pro savčí systémové rody i pro jednotlivce; z nich proteiny E5, E6 a E7 jsou onkoproteiny. Tyto proteiny napadají dělicí se buňky v bazální vrstvě pokožky, pomnožují se v nich a následně i v buňkách vrstvy nad ní, ve stratum spinosum epidermidis. Produktivní infekce pokračuje do ještě vyšších vrstev pokožky, přičemž namnožené viry dlouho setrvávají v jádrech hostitelských epidermálních buněk. Na kůži vznikají bradavice a na nerohovatějících sliznicích papilomy, což jsou nádory benigní, nezhoubné, anebo kondylomata, což už jsou nádory prekancerózní. Na kůži se bradavice mohou zvrhnout a proliferovat až ke karcinomu kůže. Některé typy papillomavirů infikují vrstevnatý dlaždicovitý epitel vagíny a děložního krčku; i tento proces často přechází do chronického dráždění, do proliferace buněk až do vzniku slizničního karcinomu. Dnešní lékařství zavádí do širokých populačních vrstev očkování mladých dívek příslušným papillomavirem jako zdravotnické preventivní opatření proti karcinomu děložního čípku.

**Hepadnaviridae** je čeleď, sdružující viry hepatitidy (virového zánětu jater) různých živočichů: čínských kachen, pozemních veverek, bobrů, vlnitých opic a virus hepatitidy B (nikoliv jiných typů hepatitidy!) člověka. HB (hepatitis B) virus má v kapsidě dsDNA o  $3,2 \times 10^3$  párů bází; tento jeho genom kóduje tři glykoproteiny pro jeho obal, a ty v něm vytvářejí specifický povrchový antigen. Virus HB se šíří krví a pomnožuje se v jaterních buňkách, které tímto stresem degenerují. Akutní hepatitida B za určitých podmínek (např. koinfekce virem hepatitidy A, nežádoucí vlivy alimentární – jako alkohol, faktory imunitní) přechází v hepatitidu chronickou – progresivní, až v hepatocelulární karcinom. Virus HB přitom aktivuje buněčné protoonkogeny *c-ras* a *c-src*.

A tak se nakonec dostáváme k bodu, z něhož jsme vyšli. Už v historickém úvodu jsme se setkali s onkogenem *ras* a jeho produktem, onkoproteinem Ras, a to v souvislosti s biologii Rousova sarkomu kuřat (který vychází z příslušného etiologického činitele, retroviru). Takových onkogenů je už známa celá řada (jak jsme se rovněž už zmínili): *abl* (typický pro virus leukemie myši), *ras* (virus sarkomu myši), *sis* (virus sarkomu opice), *erb* (virus erytroblastózy ptáků), *myb* (virus myeloblastózy), *fes* (virus křeččího sarkomu), *ets* (virus myeloblastózy ptáků), *fos* (virus osteosarkomu) a j. Vesměš jde o geny, kódující různé enzymové signální faktory, účastníci se řízení proliferace (pomnožování) buněk na různých metabolických úrovních. Víme přitom, že jde pri-

márně o geny, pečující o standardní, fyziologický průběh těchto procesů ve zdravém organismu. Jimi kódované proteiny svými určitými aminokyselinovými sekvencemi vážou a tím inaktivují protein p53, což je stěžejní antioonkoprotein; je-li hladina proteinu p53 v buňce dosti vysoká, pak tato nemůže vstoupit do mitózy (buněčného dělení). Onkogenní viry jej ovšem dovedou produkty svých uvedených onkogenů degradovat – a současně aktivovat cykliny, které mitózu naopak stimulují anebo stimulují jiné, obdobně působící regulační faktory.

Stačí pak jakákoliv – nejen kvalitativní, ale i pouze kvantitativní – alterace těchto základních molekulárních řídicích procesů života (procesů nesmírně složitých), aby se fyziologickému řízení v buňce vymkly a transformovaly ji v nádorovou.

A to mohou viry dokázat: jak některé RNA-viry (retroviry), tak i některé DNA-viry. Obojí se vyvinuly tak, že mohou využívat těch nejkritičtějších kontrolních, tedy molekulárních mechanismů, regulujících růst a pomnožování hostitelských buněk lidského organismu (i organismů jiných) a alterovat je v mechanismy nádorové. Ty nejmenší a nejprimitivnější živé bytosti tak mohou krutě zvrátit základní funkce zdraví i těch největších a nejsložitějších organismů.



Arman: Poubelle (odpadky v plexiskle), 1968