

## Artykuły przeglądowe • Review articles

## Retrowirusowa onkogeneza

Urszula Gąsowska<sup>1</sup>, Tomasz Kubiawski<sup>1</sup>, Roman Paduch<sup>2\*</sup>, Jacek Wojciewowski<sup>1</sup>

*Niektóre ludzkie oraz zwierzęce nowotwory, takie jak białaczki, nowotwory skóry lub piersi wywołane są m. in. przez retrowirusy. Mechanizm inicjacji onkogenezy jest jednak różny, w zależności od rodzaju wirusa, zakażającego komórki gospodarza. Ponadto w zależności od okresu, jaki mija między infekcją, a pojawieniem się pierwszych objawów choroby, wyróżniono retrowirusy szybko transformujące (ang. acute retroviruses) oraz wolno transformujące (ang. non-acute retroviruses). Najczęściej spotykanym mechanizmem inicjującym nowotworzenie jest insercyjna mutogeneza, w trakcie której materiał genetyczny retrowirusa integruje do genomu komórki jako prowirus, zaburzając głównie procesy transkrypcji DNA. Większość onkogennych retrowirusów zawiera w swoim genomie obok typowych genów wirusowych (gag, pol, env) dodatkowe, pochodzące z zakażonej komórki, sekwencje kodujące, określane mianem wirusowych onkogenów (v-onc). Nadają one retrowirusom zdolność do transformacji prawidłowych komórek in vitro oraz wzrostu nowotworów in vivo.*

*Istnieją co najmniej trzy zasadnicze procesy związane z retrowirusową onkogenezą. Są to: transdukcja komórkowych onkogenów (v-onc) przenoszonych przez retrowirusy, aktywacja komórkowych protoonkogenów (c-onc) oraz insercyjna mutogeneza lub aktywacja przez wirusowe czynniki transkrypcyjne genów komórkowych.*

*Obecnie trwają intensywne badania nad molekularnym mechanizmem tych procesów, które w pewnym stopniu mogą przyczynić się do ograniczenia retrowirusowej onkogenezy.*

## Retroviral oncogenesis

*Some human and animal malignancies, such as leukaemias, skin cancer and breast cancer, may be brought on by retroviruses. The mechanism of tumour induction varies and depends, in general, on the type of virus infecting the host cell. What is more, retroviruses may be classified basing on the time lapse between the infection and the first manifestations of the disease as acute and non-acute.*

*The most common mechanism of tumour formation is insertional mutagenesis, in the course of which the retrovirus integrates into the host genome and affects the process of DNA transcription. Some tumour-inducing retroviruses contain not only normal viral genes (gag, pol, env), but also additional sequences – proto-oncogenes, named viral oncogenes (v-onc). These sequences enable retroviruses to transform normal cells in vitro and to cause tumour induction in vivo.*

*There are at least three fundamental processes which may lead to viral oncogenesis. The first is retroviral cell-derived oncogene (c-onc) transduction, the second – cellular proto-oncogene (c-onc) activation and the third – insertional mutation and activation of cellular genes by virus-encoded transcription factors.*

*Intense studies are being conducted to explore molecular mechanisms of this process in order to increase our knowledge and, consequently, limit retroviral oncogenesis.*

**Słowa kluczowe:** retrowirus, onkogeneza, nowotwór

**Key words:** retrovirus, oncogenesis, tumour

<sup>1</sup> Zakład Genetyki Medycznej Akademii Medycznej w Lublinie

<sup>2</sup> Zakład Wirusologii i Immunologii, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

\*Stypendysta Fundacji na rzecz Nauki Polskiej

Nowotwory u zwierząt oraz transformację nowotworową w hodowlach komórek *in vitro* można eksperymentalnie zainicjować, stosując znane i scharakteryzowane biologiczne, chemiczne oraz fizyczne mutageny (kancerogeny). Część z nich jest również naturalną przyczyną rozwoju guzów u ludzi i zwierząt. Jednym z szeroko rozpowszechnionych naturalnych czynników, wywołujących nowotwory u ludzi oraz wielu gromad zwierząt (ssaki, ptaki i inne kręgowce), są onkogenne retrowirusy [1]. Pierwszy wyizolowany i scharakteryzowany ludzki retrowirus (HTLV-1) jest etiologicznie związany z rozwojem ludzkiej białaczki z dojrzewających komórek T typu I (ATL –

ang. *adult T-cell leukemia/lymphoma*), będącej nowotworowym rozrostem, obejmującym limfocyty T pomocnicze CD4<sup>+</sup> [1, 2].

Onkogenne retrowirusy zawierają dwie identyczne, jednoniciowe cząsteczki RNA, które upakowane są z dwoma enzymami, istotnymi dla replikacji wirusa. Są to: odwrotna transkryptaza (RT – ang. *reverse transcriptase*) oraz wirusowa integraza (IN – ang. *integrase*) [3, 4]. Po infekcji komórki następuje aktywacja RT i przepisanie wirusowego RNA na dwuniciową, liniową cząsteczkę DNA. Cząsteczka ta posiada identyczne terminalne sekwencje 3' oraz 5', określane jako LTRs (ang. *long terminal repeats*). W wyniku rekombinacji, liniowa cząsteczka DNA zostaje przy udziale IN wbudowana w genom komórki gospodarza, tworząc stabilną strukturę, określaną jako prowirus [2, 3, 5, 6]. Miejsce insercji w genomie jest przypadkowe, chociaż wiele obserwacji wskazuje na aktywną euchromatynę jako punkt docelowy dla wirusowego genomu [7]. Wbudowanie prowirusa w strukturę genów gospodarza może wywołać całkowite zahamowanie lub znaczne ograniczenie ich funkcji [7, 8]. Jeśli natomiast integracja nastąpi w sąsiedztwie określonego genu, wówczas promotor lub enhanser obecny w strukturze LTR wirusa wywołuje nadekspresję tego genu [7]. Nadekspresja komórkowych onkogenów, wynikająca z opisanej insercji, jest podstawowym mechanizmem retrowirusowej onkogenezy.

Od ponad 20 lat wiadomo jednak, że ludzki genom zawiera wiele sekwencji DNA, odpowiadających infekcyjnym retrowirusom, które określono jako HERVs (ang. *human endogenous retroviruses*). Większość z nich została wbudowana w genom wiele milionów lat temu, obecnie stanowiąc integralną, wynoszącą od około 0,1% do 1% ludzkiego DNA [7, 9-11]. W ludzkim genomie stwierdzono obecność kilku rodzajów elementów HERV, występujących w jednej lub kilkuset kopiach. Większość z nich jest translacyjnie defektywna ze względu na przypadkowe mutacje. Istnieją jednak nieliczne otwarte ramki odczytu ORFs (ang. *open reading frames*), których ekspresja może potencjalnie prowadzić do powstania szeregu białek lub całych cząstek wirusa [7, 12]. Dotychczas nie wykazano jednak infekcyjnych fragmentów HERV. Wiele dowodów wskazuje natomiast na możliwość reintegracji endogennych retrowirusów (HERV) w okolicy protoonkogenów w genomie człowieka i ich aktywacji. Przykładem może być aktywacja ludzkiego protoonkogenu MYC przez retropozon typu LINE-1, mogąca prowadzić do rozwoju raka piersi [7].

W komórce gospodarza nowe genomy wirusowe powstają w wyniku aktywności komórkowej polimerazy RNA, przepisującej informację wirusowego DNA na wirusowy RNA. Proces ten odbywa się wspólnie z ekspresją innych genów występujących na chromosomie komórki [3, 5, 13]. Wirusowy RNA powstający w komórce gospodarza zawiera pełną informację wirusa. W skład wirusowego genomu wchodzi flankujące sekwencje LTR oraz geny *gag*, *pol*, *env* (Ryc. 1). Sekwencje LTR zawierają promotor, enhanser oraz sygnał poliadenylacji, umożliwiającą wydajną ekspresję wirusowego RNA. Natomiast, specyficzność tkankowa sekwencji enhansera determinuje

możliwość namnażania retrowirusa w określonym typie komórek. Wśród genów struktury wirusa gen *gag* koduje białka rdzenia, *pol* jest genem wirusowych enzymów (odwrotna transkryptaza i integraza), w genie *env* natomiast zapisana jest informacja o białkach otoczki [1-3]. Powstające białka płaszczka, enzymy oraz wirusowy RNA są następnie składane w kompletne cząstki wirusowe. Cząstki te opuszczają komórkę, nie niszcząc jej. Proces ten odbywa się na drodze pączkowania, w trakcie którego wirus zabiera ze sobą fragmenty błony komórkowej i wbudowuje w nią własne białka osłonki. Po opuszczeniu komórki, cząsteczki wirusa ulegają zasadniczym strukturalnym zmianom, określanym mianem dojrzewania [4]. W trakcie tego procesu glikoproteina Gag zostaje podzielona przez wirusową proteazę na co najmniej trzy białka określane, licząc od końca N-, jako białka macierzy (MA – ang. *matrix*), kapsydu (CA – ang. *capsid*) oraz nukleokapsydu (NC – ang. *nucleocapsid*) [14]. NC jest niskocząsteczkowym, zasadowym białkiem, zawierającym dwa regiony palców cynkowych. Nukleokapsyd posiada wyjątkową aktywność biochemiczną, polegającą na katalizowaniu przekształceń wirusowych cząsteczek kwasu nukleinowego w konformacje, mające maksymalny zestaw wytworzonych par zasad. Prowadzi to do ograniczenia powstających suboptymalnych konformacji materiału genetycznego wirusa, będących dla niego „kinetycznymi pułapkami” [4, 15-17]. Ponadto NC odgrywa istotną rolę w procesie dimeryzacji RNA, następnie upakowaniu genomu w białkowej otoczce oraz inicjacji odwrotnej transkrypcji. Ze względu na zdolność białka NC do asocjacji z wirusowym RNA w cząsteczce dojrzewającego retrowirusa, stwierdzono że białko nukleokapsydu jest niezbędną strukturą, umożliwiającą dojrzewanie dimerycznej formy RNA [4, 18]. Stwierdzenie to dało podstawę do przedstawienia białka NC jako potencjalnego celu antywirusowej terapii, która równocześnie byłaby jedną z terapii przeciwnowotworowych.

W oparciu o czas utajenia po zakażeniu komórki wyróżniono wirusy o niskiej (ang. *non-acute*) oraz wysokiej (ang. *acute*) zdolności do transformacji [2, 3]. Retrowirusy o niskiej zdolności do transformacji występują powszechnie w przyrodzie, zakażając wiele gatunków zwierząt oraz człowieka. Są to wirusy kompletne, mające pełny zestaw genów, kodujących zarówno zdolność do replikacji, jak i budowy dojrzalej cząsteczki. Wbudowując

5'LTR							3'LTR		
R	U5	PBS	gag	pol	env	PPT	U3	R	

Ryc. 1. Struktura genomu retrowirusa

R – krótka sekwencja, mająca około 18-250 nukleotydów

U5 – unikalna sekwencja, mająca około 75-250 nukleotydów, zawierająca promotory niezbędne do syntezy białek

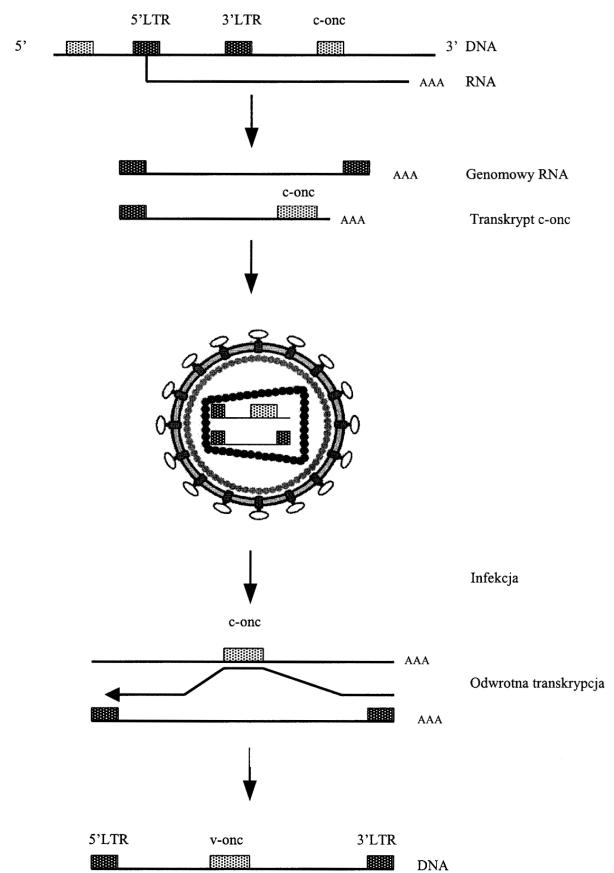
PBS (ang. Primer Binding Site) – sekwencja mająca 18 nukleotydów, komplementarna do końca 3' tRNA, przyłączanego w procesie odwrotnej transkrypcji

gag, pol, env – geny struktury wirusa

PPT (ang. Polypurine Tract) – krótka, około 10 nukleotydowa sekwencja, odpowiedzialna za inicjację powstawania nici „+” w procesie odwrotnej transkrypcji

U3 – unikalna sekwencja, mająca około 200-1200 nukleotydów, zawierająca informację o zakończeniu transkrypcji

wirusowy DNA w pobliżu lub w struktury komórkowych protoonkogenów lub genów regulatorowych wywołują insercyjne zmiany mutacyjne genomu gospodarza (insercyjna mutagenaza), a w konsekwencji rozwój nowotworu [19]. Tabela I przedstawia zestawienie najczęstszych miejsc insercji w genom komórki wybranych wirusów o niskiej zdolności do transformacji. Wirusy łagodnie transformujące są przyczyną różnych typów nowotworów, wśród których najczęściej pojawiającymi się są białaczki i chłoniaki. Niektóre rodzaje łagodnie transformujących retrowirusów posiadają również dodatkowe białka oraz otwarte ramki odczytu (ORF). Nie stwierdzono natomiast, aby w ich genom wbudowane były sekwencje w całości pochodzące z komórki. Wiele genomów retrowirusów, wywołujących zmiany nowotworowe, zawiera jednak obok genów charakterystycznych dla wirusa, dodatkowe sekwencje kodujące. Sekwencje te pochodzą z genów komórkowych, a wbudowane w genom wirusa określane są jako wirusowe onkogeny (v-*onc*). Nadają one retrowirusom zdolność do szybkiej transformacji prawidłowych komórek *in vitro* oraz indukcji nowotworów *in vivo*, przewyższającą nierzadko powszechnie znane kancerogeny [2]. Genom retrowirusa nabywa sekwencje komórkowych protoonkogenów w wyniku rekombinacji, zachodzącej podczas wcześniejszych infekcji komórek. Przejęty przez wirusa komórkowy protoonkogen jest następnie przekazywany do kolejnej zakażanej komórki w procesie określanym jako transdukcja onkogeny (Ryc. 2) [20]. Obecność wirusowego onkogeny jest typową cechą odróżniającą łagodnie transformujące retrowirusy od retrowirusów szyb-



Ryc. 2. Transdukcja onkogeny

W procesie transdukcji onkogeny integracja wirusowego DNA w okolicy protoonkogeny (*c-onc*) genomu gospodarza, a następnie inicjacja transkrypcji przy udziale 5'LTR, prowadzi do syntezy RNA, zawierającego zarówno sekwencje wirusowe oraz protoonkogeny. Terminacja transkrypcji w miejscu 3'LTR poli(A) prowadzi do powstania tzw. genomowego RNA, w miejscu poli(A) protoonkogeny do transkryptu *c-onc*. Następnie, oba transkrypty zostają upakowane w strukturę białkową wirionu. W trakcie kolejnego cyklu replikacyjnego, w procesie odwrotnej transkrypcji, utworzony zostaje łańcuch DNA genomu retrowirusa z wbudowanym protoonkogenem.

ko transformujących. Podczas kolejnych cykli rekombinacji wirusowe onkogeny ulegają dalszym mutacjom, które mogą potęgować ich onkogenność [2]. Onkogeny wirusowe opisywane są jako *v-onc*, w odróżnieniu od prawidłowej formy komórkowego protoonkogeny oznaczanego jako *c-onc*. Dotychczas nie wyjaśniono jednak, czy retrowirusy stają się onkogenne w wyniku nabywania i nieprawidłowej rekombinacji komórkowego *c-onc*, czy też *c-onc* powstał na drodze ewolucji z *v-onc*. Problem ten częściowo wyjaśniają badania nad strukturą genów komórkowych oraz wirusowych onkogenów. Stwierdzono mianowicie, że retrowirusowy homolog protoonkogeny, wbudowany w komórkowy DNA, posiada strukturę typową dla genów komórkowych, tzn. zawiera eksony i introny, podczas gdy onkogeny retrowirusowe pozbawione są sekwencji intronowych. Odnajdywane w komórkowym genomie analogi onkogenów reprezentują więc natywne, nie będące pochodzenia wirusowego komórkowe DNA. Onkogeny retrowirusów są więc z kolei kopiami prawidłowych protoonkogenów komórki, które zostały z niej „porwane” i wbudowane w genom wirusa [2]. Wirusowy on-

Tab. I. Zestawienie najczęstszych miejsc insercji przykładowych wirusów o niskiej zdolności do transformacji [2, 3]

Rodzaj retrowirusa	Miejsce insercji	Rodzaj wywołwanego nowotworu
MMTV	<i>k-FGF/hst-1</i> <i>wnt-1/int-1</i> <i>FGF-3/int-2</i> <i>int-3</i> <i>wnt-3/int-4</i> <i>wnt-4/int-5</i> <i>int-6</i>	Mysi nowotwór gruczołu piersiowego
M-MuLV	<i>c-lck/fps</i> <i>c-eks-1/tpl-1</i> <i>c-myc</i> <i>gfi-1</i> <i>dsi-1</i> <i>mlvi-2</i> <i>mlvi-3</i> <i>tpl-2</i> <i>N-myc</i>	Szczurzy chłoniak komórek T  Mysi chłoniak komórek T
F-MuLV	<i>tpl-2</i>  <i>pim-1</i> <i>c-myc</i> <i>fre-1</i> <i>fre-2</i> <i>fre-3</i>  <i>fim-3/CB-1/eri-1</i>	Mysia białaczka komórek T  Mysia erytroleukemia  Mysia białaczka mieloblastyczna

kogen w znaczący sposób różni się od swojego komórkowego odpowiednika, głównie znacznie wyższą aktywnością oraz brakiem nadrzędnej kontroli. Po zakażeniu komórki gospodarza, ekspresję wirusowego onkogeny (nabytego genu komórkowego) regulują sekwencje związane z ekspresją genów wirusa, inne aniżeli kontrolujące analogiczną, prawidłową formę genu komórkowego. Nieprawidłowa regulacja ekspresji wirusowego onkogeny oraz nieprawidłowy produkt jego aktywacji prowadzi do rozwoju zmian nowotworowych. Większość szybko transformujących retrowirusów indukuje głównie powstawanie mięsaków, chłoniaków oraz białaczek [21]. Retrowirusy szybko transformujące zawierają zwykle jeden, rzadko dwa onkogeny. Tabela II przedstawia częściowy wykaz znanych retrowirusowych onkogenów.

Tab. II. Częściowa lista retrowirusowych onkogenów [1]

Nazwa onkogeny (v-onc)	Rodzaj retrowirusa
<i>src</i>	wirus mięsaka Rous
<i>myc</i>	wirus mielocytozy ptaków
<i>erbA, erb B</i>	wirus erythroblastozy ptaków
<i>Myb</i>	wirus mieloblastozy ptaków
<i>H-ras</i>	wirus mięsaka Harveya szczurów
<i>K-ras</i>	wirus mięsaka Kirstena myszy
<i>abl</i>	wirus białaczki Abelsona myszy
<i>fes</i>	wirus mięsaka kotów
<i>sis</i>	wirus mięsaka małp

Komórkowe protoonkogeny kodują białka, takie jak: kinazy, czynniki wzrostu, receptory dla czynników wzrostu, które zaangażowane są w przekazywanie sygnałów z otoczenia do wnętrza komórki. Odpowiedzią komórki na bodźce stymulujące jej proliferację jest transkrypcja odpowiednich genów, synteza DNA, a następnie produkcja białek. Zwiększona lub nieprawidłowa ekspresja protoonkogenów, pojawiająca się spontanicznie lub indukowana np. wbudowaniem w DNA komórki genomu wirusa prowadzi w procesie onkogenezy do rozwoju zmian nowotworowych [22].

W przypadku wirusa wywołującego mysią białaczkę (MuLV – ang. *murine leukemia virus*) stwierdzono stosunkowo długi okres utajenia, wynikający zapewne z wielostopniowości zmian związanych z rozwojem choroby [23]. Zgodnie z klasyfikacją opartą na etiologii wyróżniono dwie klasy MuLV. Są to Moloney MuLV (M-MuLV), wywołujący chłoniaki oraz Friend MuLV (F-MuLV), wywołujący erytroleukemię. Mimo różnic w typie białaczek, przebieg procesu jest bardzo podobny. Składa się on z dwóch etapów. W pierwszym stadium następuje rekombinacja między infekcyjnym genomem wirusa, zakażającym komórki hemopoetyczne, a endogennym prowirusem. W procesie tym powstaje rekombinowany wirus mający zmieniony gen *env*. Produkt tego genu wykazuje działanie mitogenne na komórki docelowe, wywołując ich poliklonalny rozrost (etap przedbiałczkowy). W drugim stadium rozwoju białaczki następuje aktywacja protoonkogenów wskutek insercji do materiału genetycznego

komórki genomu wirusa MuLV lub rekombinowanego wirusa, określanego jako MCF (ang. *mink cell focus*) (24, 25). Zmiany dotyczą zwykle protoonkogenów wymienionych w Tabeli I.

W przypadku wirusa F-MuLV, powstający w pierwszym stadium zakażenia, rekombinowany wirus, określanym jest jako SFFV (ang. *spleen focus-forming virus*). Jest on replikacyjnie defektywnym retrowirusem typu C (26). Stwierdzono ponadto, że wirusowym czynnikiem transformującym jest kodowana przez gen *env* zmutowana forma glikoproteiny otoczkowej gp55. Wywołuje ona we wczesnym stadium choroby aktywację prawidłowego receptora dla erytropoetyny (EPO-R), a w konsekwencji inicjuje rozwój białaczki. Późne stadium choroby charakteryzuje się rozrostem jednego lub kilku niezależnych klonów komórek nowotworowych, posiadających w różnych miejscach chromosomów retrowirusowe wstawki [27-29].

U wielu gatunków zwierząt retrowirusowa aktywacja genu *c-myc* jest ściśle związana z rozwojem zmian białczkowych. Z kolei gen *pim-1*, będący białkową kinazą serynowo-treoninową, jest celem insercji wirusów M-MuLV lub AKR-MCF 247, które są przyczyną ponad 50% przypadków mysich chłoniaków T komórkowych [30]. Ponadto, integracja prowirusa w strukturę genu *fis-1* może bezpośrednio wzmacniać transkrypcję cykliny D1. Cyklina ta jest z kolei ściśle związana z genami *hst-1* i *int-1*, które ulegają nadekspresji w mysich nowotworach sutka, indukowanych wirusem MMTV (ang. *mouse mammary tumor virus*) [31]. MMTV jest retrowirusem typu B, wywołującym zmiany typu raka gruczołowego sutka u myszy. W procesie onkogenezy indukowanej tym wirusem nie stwierdzono jednak stadium, w którym powstają rekombinowane wirusy. Indukcja nowotworzenia zależna jest natomiast od insercyjnej aktywacji protoonkogenów. U myszy zainfekowanych tym wirusem w początkowej, przednowotworowej fazie choroby rozwijają się tzw. rozrostowe pęcherzykowe guzki (HAN – ang. *hyperplastic alveolar nodule*). Guzki te, jak również powstające ze zmian rozrostowych guzy pierwotne są hormonozależne [32]. Badania molekularne tkanki tych nowotworów wykazały, że insercja prowirusa MMTV aktywuje szereg komórkowych onkogenów. Większość z nich należy do rodziny genów *Wnt* oraz *Fgf* kodujących czynniki wzrostowe. Białka będące produktem tych genów zaangażowane są w cykl komórkowy, funkcjonując jako wewnątrzkomórkowe cząsteczki sygnałne. Nadekspresja genu *wnt-1* w komórkach gruczołu sutkowego myszy, zainfekowanej wirusem MMTV, prowadzi więc do niekontrolowanej proliferacji komórek, a w konsekwencji powstania tzw. gruczołu hiperplastycznego [33]. Podobnie mutacje w genach *fgf-3/int-2*, *fgf-4/hst* oraz *fgf-8*, wywołane infekcją tym wirusem, związane są z indukcją procesu nowotworowego [3]. Genom wirusa MMTV jest w dużym stopniu homologiczny z materiałem genetycznym retrowirusa TBLV (ang. *type B leukemogenic retrovirus*). Różnica występuje jedynie w regionie U3 LTR, która jednak wpływa na odmienny u obu wirusów rodzaj zakażanych komórek oraz przebieg choroby. MMTV wywołuje głównie nowotwory gruczołu

sutkowego, natomiast TBLV indukuje rozwój chłoniaków komórek T. Ponadto prowirus TBLV wbudowuje się głównie w strukturę genu *tblv1-1*, natomiast nie aktywuje *c-myc*, *N-myc* oraz *pim-1* [34].

Wśród wirusów zaangażowanych w proces onkogenezy należy również wymienić wirusa HIV (ang. *human immunodeficiency virus*). Jest on uważany za czynnik wywołujący efekt cytotatyczny głównie limfocytów T CD4+. W większości nowotworów związanych z HIV, np. chłoniakach niezrębnych – NHL (ang. *agressive B-cell non-Hodkin's lymphoma*), czy mięsaku Kaposiego – KS (ang. *Kaposi sarcoma*) zakażenie tym wirusem nie jest bezpośrednią przyczyną rozwoju nowotworu. Zasadniczym czynnikiem odpowiedzialnym za nowotworzenie jest immunosupresja, wywołana zakażeniem HIV, która niewątpliwie ułatwia rozwój innych wirusów onkogennych, inicjujących nowotworzenie [2].

Chemiczne oraz fizyczne metody wprowadzania genów do komórek (transfekcja) zostały ostatnio wzbogacone o wirusową transdukcję, będącą bardziej efektywnym sposobem trwałej integracji DNA w genom gospodarza. Tolerancja komórek na ekspresję białek retrowirusowych umożliwiła konstrukcję nowych wektorów, opartych na tym patogenie. Wektory retrowirusowe zawierają promotor (zwykle pochodzący z wirusa SV40), gen, który ma być wprowadzony do komórki oraz sekwencje LTR. Wektor o takiej budowie posiada zdolność do infekcji komórek, natomiast nie może się w nich replikować i wytwarzać nowych cząstek wirusowych. Ograniczeniem stosowania wektorów retrowirusowych jest ich wrażliwość na wirowanie, co utrudnia uzyskanie wysokiego miana w małej objętości. Ponadto, infekują one jedynie szybko dzielące się komórki. Właściwość tą planowano wykorzystać w terapii nowotworów, gdyż wektor powinien specyficznie wbudowywać się jedynie w genom szybko proliferujących komórek guza, nie wpływając na otaczającą go prawidłową tkankę. Wykazano jednak, że wektory retrowirusowe nie umożliwiają wytwarzania „terapeutycznych białek” w większości komórek guzów litych. Ponadto trudności z uzyskaniem wysokiego miana wirusa zmuszają do przeszczepiania komórek, uwalniających wektor bezpośrednio do tkanki guza. Procedura ta z kolei stwarza zagrożenie odrzucenia przeszczepionych komórek przez układ immunologiczny biorcy, a tym samym jest nieskuteczna [1, 35, 36].

Trwają badania nad terapią przeciwnowotworową, wykorzystującą wektory retrowirusowe. Badania te wskazują, że onkogenne retrowirusy, będące przyczyną wielu rodzajów nowotworów, mogą być również wykorzystane w nowoczesnej terapii, mającej na celu zwalczenie tej choroby.

**Dr Urszula Gąsowska**  
Zakład Genetyki Medycznej Akademii Medycznej  
ul. Radziwiłłowska 11  
20-950 Lublin

## Piśmiennictwo

- Mellors CR. Neoplasia. *Etiology of cancer: Carcinogenesis*. Ithaca, USA: Cornell University Medical College; 1999.
- Kung H-J, Liu J-L. *Viral Pathogenesis*. Ed. Neal Nathanson et. al. Retroviral oncogenesis. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997, 235-266.
- Jonkers J, Berns A. Retroviral insertional mutagenesis as a strategy to identify cancer genes. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1287: 29-57.
- Rein A, Henderson LE, Levin JG. Nucleic-acid-chaperone activity of retroviral nucleocapsid proteins: significance for viral replication. *Trends Biochem Sci* 1998; 23: 297-301.
- Asante-Appiah E, Salka AM. Molecular mechanisms in retrovirus DNA integration. *Antiviral Res* 1997; 36: 139-156.
- Singh SB, Felock P, Hazuda DJ. Chemical enzymatic modifications of integrase and HIV-1 integrase inhibitory activity. *Bioorg Med Chem Letters* 2000; 10: 235-238.
- Patience C, Wilkinson DA, Weiss RA. Our retroviral heritage. *TIG* 1997; 13: 116-120.
- Sourvinos G, Tsatsanis C, Spandidos DA. Mechanisms of retrovirus-induced oncogenesis. *Folia Biol* (Kraków) 2000; 46: 226-232.
- Pavlicek A, Paces J, Elleder D et al. Processed pseudogenes of human endogenous retroviruses generated by LINE's: their integration, stability and distribution. *Genome Res* 2002; 12: 391-399.
- Parseval N, Casella J-F, Gressin L et al. Characterization of the three HERV-H proviruses with an open envelope reading frame encompassing the immunosuppressive domain and evolutionary history in primates. *Virology* 2001; 279: 558-569.
- Kjellman Ch, Sjögren H-O, Widegren B. HERV-F, a new group of human endogenous retrovirus sequences. *J Gen Virol* 1999; 80: 2383-2392.
- Löwer R, Lässer J, Kurth R. The viruses in all of us: characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5177-5184.
- Varmus H. Retroviruses. *Science* 1988; 240: 1427-1435.
- Zuber G, McDermott J, Karanjia S et al. Assembly of retrovirus capsid-nucleocapsid proteins in the presence of membranes or RNA. *J Virol* 2000; 74: 7431-7441.
- Morcock DR, Sowder II RC, Casas-Finet JR. Role of the histidine residues of visna virus nucleocapsid protein in metal ion and DNA binding. *FEBS Letters* 2000; 476: 190-193.
- Gonsky J, Bacharach E, Goff SP. Identification of residues of the Maloney murine leukemia virus nucleocapsid critical for viral DNA synthesis in vivo. *J Virol* 2001; 75: 2616-2626.
- Mansky LM. Accessory replication proteins and the accuracy of reverse transcription: implications for retroviral genetic diversity. *Trends in Genetics* 1997; 13: 134-136.
- Lee E-G, Yeo A, Kraemer B et al. The Gag domains required for avian retroviral RNA encapsidation determined by using two independent assays. *J Virol* 1999; 73: 6282-6292.
- van Lohuizen M, Bern A. Tumorigenesis by slow-transforming retroviruses – an update. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1032: 213-235.
- Felder MP, Eychene A, Laugier D et al. Steps and mechanisms of oncogene transduction by retroviruses. *Folia Biol* (Praha) 1994; 40: 225-235.
- Berg P, Singer M. *Język genów*. Warszawa: Wyd. Prószyński i S-ka; 1997
- Hook LM, Agafonova Y, Ross SR et al. Genetics of mouse mammary tumor virus-induced mammary tumors: linkage of tumor induction to the gag gene. *J Virol* 2000; 74: 8876-8883.
- Sola B, Fichelson S, Bordereaux D et al. Fim-1 and fim-2: two new integration regions of Friend murine leukaemia virus in myeloblastic leukemias. *J Virol* 1986; 60: 718-725.
- Tsichlis PN, Lazo PA. Virus-host interactions and the pathogenesis of murine and human oncogenic retroviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1991; 171: 95-171.
- Hung F. Leukemogenesis by Maloney murine leukaemia virus: a multistep process. *Trends Microbiol* 1997; 5: 74-82.
- Chung SW, Wolff L, Ruscetti SK. Transmembrane domain of the envelope gene of a polycythemia-inducing retrovirus determines erythropoietin-independent growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7957-7960.
- Aizawa S, Suda Y, Furuta Y et al. Env-derived gp55 gene of Friend spleen focus-forming virus specifically induces neoplastic proliferation of erythroid progenitor cells. *EMBO Journal* 1990; 9: 2107-2116.
- Ruscetti SK. Deregulation of erythropoiesis by the Friend spleen focus-forming virus. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 1089-1109.
- Afrikanova I, Yeh E, Bartos D et al. Oncogene cooperativity in Friend erythrocytosis: erythropoietin receptor activation by the env gene of SFVV leads to transcriptional upregulation of PU.1, independent of SFVV proviral insertion. *Oncogene* 2002; 14: 1272-1284.

30. Cuypers HT, Selten G, Quint W et al. Murine leukaemia virus-induced T-cell lymphomagenesis: integration of proviruses in a distinct chromosomal region. *Cell* 1984; 37: 141-150.
31. Silver J, Kozak C. Common proviral integration region on mouse chromosome 7 in lymphomas and myelogenous leukemias induced by Friend murine leukaemia virus. *J Virol* 1986; 57: 526-533.
32. Slagle BL, Wheeler DA, Hager GL et al. Molecular basis of altered mouse mammary tumor virus expression in the D-2 hyperplastic alveolar nodule. *Virology* 1985; 143: 1-15.
33. Tsukamoto AS, Grosschedl R, Guzman RC et al. Expression of the int-1 gene in transgenic mice is associated with mammary gland hyperplasia and adenocarcinomas in male and female mice. *Cell* 1988; 55: 619-625.
34. Ball JK, Diggelmann H, Dekaban GA et al. Alterations in the U3 region of the long terminal repeat of an infectious thymotropic type B retrovirus. *J Virol* 1988; 62: 2985-2993.
35. Hodgson CP, Xu G, Solaiman F. Biosynthetic retrovectoring systems for gene therapy. *J Mol Med* 1997; 75: 249-258.
36. Weber E, Anderson WF, Kasahara N. Recent advances in retrovirus vector-mediated gene therapy: teaching an old vector new tricks. *Curr Opin Mol Ther* 2001; 3: 439-453.

*Paper received: 22 February 2002*

*Accepted: 28 March 2002*