

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von Polyomaviren als Spender- oder Empfängerorganismen gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Die Familie *Polyomaviridae* umfasst unbehüllte, 40 – 45 nm kleine Viren, die ein zirkuläres, doppelsträngiges DNA-Genom von ungefähr 5 kbp besitzen. Sie führen beim Menschen sowie bei verschiedenen Wirbeltieren (Säugetiere und Vögel) zu persistierenden Infektionen, die subklinisch oder klinisch verlaufen können. Die Bindung des Virus an die Wirtszelle erfolgt über Ganglioside. Nach dem Zelleintritt über Endozytose findet die virale Replikation und die Assemblierung neuer Viren im Zellkern statt [1].

Die Polyomaviren werden anhand der Struktur des großen Tumor (T)-Antigens (*large tumor-antigen*, LTA_g) in vier verschiedene Gattungen unterteilt, die Alpha-, Beta-, Gamma- und Deltapolyomaviren. Einige Vertreter sind noch keiner der vier Gattungen zugeordnet und werden aktuell als nicht-klassifizierte Polyomaviren geführt. Insgesamt umfasst die Familie derzeit 102 verschiedene Spezies (laut ICTV, Stand Januar 2021). Die Alpha- und Betapolyomaviren, mit insgesamt 44 bzw. 36 Spezies, infizieren den Menschen und weitere Säugetiere, wie zum Beispiel nicht-humane Primaten, Nagetiere und Fledermäuse. Die Gammapolyomaviren umfassen neun Spezies und infizieren nur Vogelarten. Zu den Deltapolyomaviren gehören derzeit vier Spezies, die humanen Polyomaviren *Human polyomavirus 6, 7, 10 und 11* (HPyV6, 7, 10 und 11) [2]. Allgemein ist der Wirtsbereich einzelner Vertreter der Polyomaviren stets sehr eng auf eine Spezies begrenzt [3]. Polyomaviren wurden auch in einigen Fischen nachgewiesen. In Reptilien, Amphibien und Invertebraten wurden virale Genomfragmente identifiziert, aber bisher keine kompletten Genome. Es gilt noch nachzuweisen, ob es sich bei diesen Tieren um echte Wirte der Polyomaviren handelt [4].

Das Genom der Polyomaviren ist in drei funktionelle Regionen unterteilt, die frühe kodierende Region, die späte kodierende Region und die nicht-kodierende Kontrollregion (*non-coding control region*, NCCR). Die frühe kodierende Region wird zu Beginn der Infektion noch vor der Virus-Replikation exprimiert. Sie kodiert für das kleine T-Antigen (*small tumor-antigen*, STA_g) das LTA_g und ggf. für das mittlere T-Antigen (*middle tumor-antigen*, MTA_g). Die späte kodierende Region wird nach der DNA-Replikation exprimiert und kodiert für die Kapsidproteine VP1, VP2 und ggf. VP3 und VP4. Die NCCR enthält regulatorische Sequenzen [1]. Das LTA_g ist ein multifunktionelles, regulatorisches Protein. Es bindet innerhalb der NCCR und reguliert den Übergang von der frühen Transkription zur Replikation und zur späten Transkription. Zusätzlich hat LTA_g onkogenes Potenzial. Es bindet und inaktiviert die zellulären Tumorsuppressorproteine p53 und Rb. Dadurch gelangen die Zellen aus der G1- in

¹ Redaktionelle Änderung: Hinweis auf Stellungnahme 6790-10-34 (seit Dezember 2022 außer Kraft) durch 45242.0207 ersetzt

die S-Phase des Zellzyklus. Das LTA_g von *Macaca mulatta polyomavirus 1* (Synonym: Simian Virus 40, SV40) wird in der Zellbiologie häufig zur Immortalisierung von Säugerzellen verwendet [5]. Nach Injektion von SV40 in neugeborene Hamster kann es Tumore verursachen. SV40 ist durch die ZKBS der **Risikogruppe 2** zugeordnet (Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von Betapolyomavirus macacae als Spender- oder Empfängerorganismus, Az. 45242.0207). Das STA_g übernimmt ebenfalls regulatorische Funktionen in der viralen DNA-Replikation und beim Übergang von früher zu später Transkription. STA_g kann mit zellulären Proteinen interagieren und in Tiermodellen Tumore induzieren [6]. Einige Vertreter der Polyomaviren produzieren zusätzlich neben den Strukturproteinen in der späten Region das Agnoprotein und/oder microRNAs (miRNAs). Die miRNAs sind an der Regulation der Genexpression beteiligt und modulieren die Immunantwort, indem sie die Produktion von Zytokinen reduzieren [1]. Das Agnoprotein ist beteiligt an der viralen Transkription, DNA-Replikation, Virion-Biogenese sowie dem Zellaustritt. Zusätzlich zeigen Studien in Zellkulturen, dass das Agnoprotein zur Tumorgenese beitragen kann [7].

Einige der aviären Polyomaviren können schwere Symptome wie Lethargie und Hämorrhagien verursachen und letztlich auch zum Tod führen. Dabei ist die Sterblichkeit in jungen, immunologisch naiven Vögeln am höchsten. Ältere Vögel entwickeln chronische Krankheitsverläufe oder zeigen subklinische Infektionen. Ein Beispiel ist die sogenannte Nestlingskrankheit der Wellensittiche, verursacht durch das Budgerigar fledgling disease polyomavirus (BFPyV, Spezies *Aves polyomavirus 1*). Die Krankheit tritt vor allen in Jungvögeln auf und ruft Symptome wie Hepatitis und Flüssigkeitsansammlungen in Bauchhöhle und im Herzen hervor. Ältere Vögel zeigen oftmals Störungen des Federkleides. Das Goose hemorrhagic polyomavirus (GHPyV, Spezies *Anser anser polyomavirus 1*) ist der Verursacher von hämorrhagischen Niereninfarkten und Enteritis in Gänsen. Im Allgemeinen werden aviäre Polyomaviren in vielen Organen gefunden, in welchen das Virus massive Zellschäden verursacht [8]. Bisher wird keines der aviären Polyomaviren mit der Bildung von Tumoren in ihren natürlichen Wirten in Verbindung gebracht.

Anders sieht es bei Säugetieren aus. Dort verursacht das Raccoon polyomavirus (RacPyV, Spezies *Procyon lotor polyomavirus 1*) Gehirntumore in Waschbären. Das Hamster-Polyomavirus (HaPyV, Spezies *Mesocricetus auratus polyomavirus*) induziert Lymphome und Leukämie. Nacktmäuse, die mit dem murines Polyomavirus (MPyV, Spezies *Mus musculus polyomavirus 1*) infiziert wurden, zeigten Lähmungserscheinungen und Schädigungen der Myelinscheiden. Während in Fledermäusen eine Vielzahl an Polyomaviren identifiziert wurde, sind bisher noch keine assoziierten Erkrankungen bekannt. Polyomaviren der nicht-humanen Primaten verursachen in den jeweiligen gesunden Wirtstieren unauffällige primäre Infektionen. In immunkompromittierten Individuen können sie jedoch schwere Erkrankungen/Symptome auslösen. In Rhesusaffen, die mit dem *Simian immunodeficiency virus* infiziert sind, führt die Ko-Infektion mit SV40 zur progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML), Enzephalitis sowie Lungen- und Nierenentzündungen [1].

Derzeit sind 14 humane Polyomaviren bekannt. In einem Großteil der Bevölkerung verursachen sie lebenslange persistente Infektionen ohne klinische Symptome. Die Reaktivierung der Viren kann aber in seltenen Fällen in immunkompromittierten Personen zu ernsthaften Erkrankungen führen. Bisher sind vier der humanen Polyomaviren eindeutig mit einer Pathogenität assoziiert: *Human polyomavirus 1* (Synonym: BK-Polyomavirus, BKPyV), *Human polyomavirus 2* (Synonym: JC-Polyomavirus, JCPyV), *Human polyomavirus 8* (Synonym: Trichodysplasia spinulosa polyomavirus, TSPyV) und *Human polyomavirus 5* (Synonym: Merkelzell-Polyomavirus, MCPyV, **Risikogruppe 2**). BKPyV kann bei Nierentransplantations-Patienten zu Nierenversagen (polyomavirusassoziierte Nephropathie) und Blasenentzündungen (hämorrhagische Zystitis) führen. JCPyV kann in AIDS-Patienten

und Individuen mit Autoimmun- oder hämatologischen Erkrankungen PML auslösen. TSPyV ist assoziiert mit Trichodysplasia spinulosa, einer seltenen Hauterkrankung in immunkompromittierten Patienten. MCPyV wird als Hauptverursacher des Merkelzellkarzinoms, einem hochaggressiven neuroendokrinen Hautkrebs in älteren Personen und Patienten mit Vorerkrankungen, angesehen (siehe dazu auch die Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zum Merkel cell polyomavirus, Az. 6790-05-02-43) [9]. Auch für BKPyV und JCPyV existieren erste Hinweise für eine Beteiligung an der Entstehung von Prostata- bzw. Darmkrebs [10, 11]. Darüber hinaus werden das *Human polyomavirus 3* und *4* (Synonyme: Karolinska institute polyomavirus, KIPyV und Washington university polyomavirus, WUPyV) als Auslöser von Atemwegserkrankungen diskutiert. So wurde KIPyV in einem Nasenrachenabstrich von einem immunkompetenten 13 Monate alten Jungen identifiziert. Dieser wurde mit Atemnot ins Krankenhaus eingeliefert und zeigte in den folgenden Tagen keuchenden Husten, Rhinorrhoe, Anorexie und Reizbarkeit [12]. In einem Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie, der eine Bronchitis entwickelte, konnte in den respiratorischen Epithelzellen WUPyV nachgewiesen werden [13]. Zudem wurden HPyV6 und HPyV7 in Zusammenhang mit einem juckenden Hautauschlag identifiziert, der mit distinkten histologischen Veränderungen einherging. Die Krankheit wurde als „*HPyV6- and HPyV7-associated pruritic and dyskeratotic dermatosis*“ bezeichnet [14].

Humane Polyomaviren sind in der Bevölkerung weit verbreitet. Die primäre Infektion erfolgt meist in der frühen Kindheit. Die Seroprävalenz gegen Antikörper der humanen Polyomaviren steigt allmählich mit dem Alter an und liegt im Schnitt zwischen 40 % und 90 % [15, 16]. Das Vorkommen einzelner Polyomaviren kann dabei abhängig von der Geographie stark variieren. So wurde für das *Human polyomavirus 13* (New Jersey polyomavirus, NJPyV) eine Prävalenz von 50 % in Italien, 5 % in den Niederlanden und 1,8 % in Japan ermittelt [17].

Die Häufigkeit der nicht-humanen Polyomaviren wurde bisher nur in wenigen Tieren untersucht. In Waschbären sind 36 % bis 62 % seropositiv für VP1 Antikörper des RacPyV, wobei sich die Werte mit dem Alter der Tiere erhöhen [1]. Verschiedene Affenspezies zeigen ein hohes Vorkommen an Polyomaviren. So liegt die Seroprävalenz gegen das Chimpanzee polyomavirus (ChPyV, Spezies *Pan troglodytes polyomavirus 1*) in Schimpansen bei bis zu über 90 % [18], gegen SV40 in Rhesusaffen zwischen 75 % und 100 % [19] und gegen das *Baboon polyomavirus 1* (Simian agent 12, SA12) in Pavianen bei bis zu 66 % [20]. Untersuchungen von Nagetieren zeigten, dass Infektionen mit Polyomaviren häufig vorkommen [1].

Wie genau Polyomaviren übertragen werden, ist noch nicht vollständig geklärt. Für humane Polyomaviren wird vermutet, dass sie über direkten Personenkontakt und durch kontaminierte Oberflächen, Nahrungsmittel und Wasser übertragen werden. Einige Polyomaviren wurden im Gastrointestinaltrakt ihres Wirtes detektiert, was eine Übertragung durch Schmierinfektionen wahrscheinlich macht. Auch eine Ansteckung über Tröpfcheninfektion ist nicht auszuschließen, da Polyomaviren bereits in Rachenabstrichen und in Atemproben nachgewiesen wurden. Zudem wurden Polyomaviren im lymphatischem System einschließlich Knochenmark und Milz identifiziert sowie in Lunge, Speicheldrüsen, Plasma und Urin. Insgesamt scheinen die Polyomaviren verschiedene Gewebe infizieren und Übertragungswege nutzen zu können [21, 22].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden Polyomaviren als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Polyomaviren persistieren nach einer Infektion lebenslang in ihrem Wirt. Für mehrere Vertreter, die den Menschen, andere Säugetiere oder Vögel infizieren, ist eine Pathogenität beschrieben. Im Menschen und anderen Säugetieren betrifft dies zumeist immunkompromittierte Individuen. Bei Vögeln sind jedoch auch gesunde Tiere betroffen.

Die T-Antigene besitzen *per se* ein immortalisierendes Potenzial und für verschiedene Polyomavirus-Spezies wurde ein Zusammenhang mit der Entstehung von Tumoren gezeigt. Basierend auf der aktuellen Datenlage lassen sich keine zuverlässigen Aussagen über eine mögliche Apathogenität einzelner Spezies der Polyomaviren treffen.

Literatur

1. **Moens U, Krumbholz A, Ehlers B, Zell R, Johne R, Calvignac-Spencer S, Lauber C** (2017). Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: An update. *Infect Genet Evol* **54**:18–38.
2. **Moens U, Calvignac-Spencer S, Lauber C, Ramqvist T, Feltkamp MCW, Daugherty MD, Verschoor EJ, Ehlers B, Ictv RC** (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: Polyomaviridae. *J Gen Virol* **98**(6):1159–60.
3. **Calvignac-Spencer S, Feltkamp MCW, Daugherty MD, Moens U, Ramqvist T, Johne R, Ehlers B** (2016). A taxonomy update for the family Polyomaviridae. *Arch Virol* **161**(6):1739–50.
4. **Buck CB, van Doorslaer K, Peretti A, Geoghegan EM, Tisza MJ, An P, Katz JP, Pipas JM, McBride AA, Camus AC, McDermott AJ, Dill JA, Delwart E, Ng TFF, Farkas K, Austin C, Kraberger S, Davison W, Pastrana DV, Varsani A** (2016). The Ancient Evolutionary History of Polyomaviruses. *PLoS Pathog* **12**(4):e1005574.
5. **Ahuja D, Sáenz-Robles MT, Pipas JM** (2005). SV40 large T antigen targets multiple cellular pathways to elicit cellular transformation. *Oncogene* **24**(52):7729–45.
6. **Verhaegen ME, Mangelberger D, Harms PW, Vozheiko TD, Weick JW, Wilbert DM, Saunders TL, Ermilov AN, Bichakjian CK, Johnson TM, Imperiale MJ, Dlugosz AA** (2015). Merkel cell polyomavirus small T antigen is oncogenic in transgenic mice. *J Invest Dermatol* **135**(5):1415–24.
7. **Moens U, van Ghelue M, Johannessen M** (2007). Oncogenic potentials of the human polyomavirus regulatory proteins. *Cell Mol Life Sci* **64**(13):1656–78.
8. **Johne R, Müller H** (2007). Polyomaviruses of birds: etiologic agents of inflammatory diseases in a tumor virus family. *J Virol* **81**(21):11554–9.
9. **Maginnis MS**. Human Polyomaviruses. *In Reference Module in Life Sciences*, vol. 30, S. 503
10. **Ramamoorthy S, Devaraj B, Miyai K, Luo L, Liu Y-T, Boland CR, Goel A, Carethers JM** (2011). John Cunningham virus T-antigen expression in anal carcinoma. *Cancer* **117**(11):2379–85.
11. **Keller EX, Delbue S, Tognon M, Provenzano M** (2015). Polyomavirus BK and prostate cancer: a complex interaction of potential clinical relevance. *Rev Med Virol* **25**(6):366–78.
12. **Dehority WN, Eickman MM, Schwalm KC, Gross SM, Schroth GP, Young SA, Dinwiddie DL** (2017). Complete genome sequence of a KI polyomavirus isolated from an otherwise healthy child with severe lower respiratory tract infection. *J Med Virol* **89**(5):926–30.
13. **Toptan T, Yousem SA, Ho J, Matsushima Y, Stabile LP, Fernández-Figueras M-T, Bhargava R, Ryo A, Moore PS, Chang Y** (2016). Survey for human polyomaviruses in cancer. *JCI Insight* **1**(2).
14. **Nguyen KD, Lee EE, Yue Y, Stork J, Pock L, North JP, Vandergriff T, Cockerell C, Hosler GA, Pastrana DV, Buck CB, Wang RC** (2017). Human polyomavirus 6 and 7 are associated with pruritic and dyskeratotic dermatoses. *J Am Acad Dermatol* **76**(5):932-940.e3.
15. **Gascun CF de, Carr MJ** (2013). Human polyomavirus reactivation: disease pathogenesis and treatment approaches. *Clin Dev Immunol* **2013**:373579.

16. **Ehlers B, Wieland U** (2013). The novel human polyomaviruses HPyV6, 7, 9 and beyond. *APMIS* **121**(8):783–95.
17. **Zhou X, Bai H, Kataoka M, Ito M, Muramatsu M, Suzuki T, Li T-C** (2019). Characterization of the self-assembly of New Jersey polyomavirus VP1 into virus-like particles and the virus seroprevalence in Japan. *Sci Rep* **9**(1):13085.
18. **Scuda N, Madinda NF, Akoua-Koffi C, Adjogoua EV, Wevers D, Hofmann J, Cameron KN, Leendertz SAJ, Couacy-Hymann E, Robbins M, Boesch C, Jarvis MA, Moens U, Mugisha L, Calvignac-Spencer S, Leendertz FH, Ehlers B** (2013). Novel polyomaviruses of nonhuman primates: genetic and serological predictors for the existence of multiple unknown polyomaviruses within the human population. *PLoS Pathog* **9**(6):e1003429.
19. **Simon MA** (20). Polyomaviruses of Nonhuman Primates: Implications for Research. *Comp Med* **58**(1):51–6.
20. **Braun L, Kalter SS, Yakovleva LA, Kaschula VR, Shah KV** (1980). Neutralizing antibodies to simian papovavirus SA12 in Old World primates in laboratory colonies: high prevalence in baboons. *J Med Primatol* **9**(4):240–6.
21. **Liu P, Qiu Y, Xing C, Zhou J-H, Yang W-H, Wang Q, Li J-Y, Han X, Zhang Y-Z, Ge X-Y** (2019). Detection and genome characterization of two novel papillomaviruses and a novel polyomavirus in tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) in China. *Virology* **16**(1):35.
22. **Hirsch HH, Babel N, Comoli P, Friman V, Ginevri F, Jardine A, Lautenschlager I, Legendre C, Midtvedt K, Muñoz P, Randhawa P, Rinaldo CH, Wieszek A** (2014). European perspective on human polyomavirus infection, replication and disease in solid organ transplantation. *Clin Microbiol Infect* **20** Suppl 7:74–88.