

„A humán immundeficiencia vírus látens humán herpeszvírus 6-ot aktiváló és NK sejteket fertőző képességének vizsgálata” című 43094 számú kutatásának beszámolója

A kutatási pályázat kezdő évében a témavezető sajnálatos betegsége, majd 2004-ben bekövetkezett halála miatt a pályázatban résztvevők által alkotott munkacsoport felbomlott. A téma vezetését Dr. Gergely Lajos 2004-ben vette át. A pályázat résztvevői közül Dr. Szabó Judit a Bakteriológiai Laboratórium vezetője lett, Dr. Borbély Ágnes szintén a Bakteriológiai Laboratórium munkatársaként dolgozott tovább. Dr. Bácsi Attila és Nagy Etelka eltávozott az intézetből. Dr. Beck Zoltán pedig jelenleg is külföldön dolgozik. A projekt eredeti résztvevői közül Csoma Eszter PhD hallgató Dr. Gergely Lajos témavezetésével igyekezett a munkatervben szereplő kísérleteket elvégezni, nemzetközi, referált folyóiratban szakcikket megjelentetni és azokból PhD disszertációt írni. A pályázatból a humán immundeficiencia vírus (HIV) és a humán herpeszvírus 6 (HHV-6) macrophag sejtekben vizsgált kölcsönhatásának tanulmányozását finanszíroztuk. A munkából egy nemzetközi folyóiratban megjelent cikk (Eszter Csoma, Tamás Deli, József Kónya, László Csernoch, Zoltán Beck and Lajos Gergely: Human Herpesvirus 6A Decreases the Susceptibility of Macrophages to R5 Variants of Human Immunodeficiency Virus 1: Possible Role of RANTES and IL-8. *Virus Research*. (2006) 121 (2): 161-168. Impakt faktor: 2,562.), egy PhD értekezés és sikeres PhD védés (Csoma Eszter, 2006. október), valamint két molekuláris biológus diplomamunka született.

A téma rövid összefoglalója:

A macrophagok mind a humán herpeszvírus 6 A (HHV-6A), mind a humán immundeficiencia vírus 1 (HIV-1) fontos célsejtjei, így jelentős szerepet játszanak e két vírus disszeminációjában és patogenezisében. Ám a két vírus kölcsönhatását ezekben a sejtekben még nem tanulmányozták részletesen. Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy macrophagokban van-e a HHV-6A-nak hatása a HIV-1 CCR5 koreceptort használó R5 variánsának replikációjára. Eredményeink alapján a HHV-6A szignifikánsan szuppresszálja a HIV-1 ezen variánsainak replikációját a kettősen fertőzött macrophagokban. Minthogy kísérleteink során – egy korábbi tanulmánnyal összhangban – nem tapasztaltunk infektív HHV-6A termelést, ez a gátló hatás nem függ a produktív HHV-6A fertőzéstől.

HHV-6A hatására jelentős mennyiségű RANTES szekréciót mértünk. A RANTES, a CCR5 természetes ligandjaként, receptorához kötődve a HIV-1 R5 variánsának kompetitora, tehát a macrophagok HIV-1-gyel történő fertőződésekor gátolhatja a vírus replikációját. Ráadásul a RANTES kötődése a CCR5-höz a receptor foszforilációjához, homológ

deszenzitizációjához és internalizációjához vezet Kísérleteink során a kettősen fertőzött monocyta-eredetű macrophagok esetében mért RANTES-szel megegyező mennyiségű exogén kemokin gátolta a HIV-1 replikációját a vírussal egyszeresen fertőzött sejtekben. A kemokin receptorok homológ deszenzitizációja és down-regulációja mellett ezen receptorok kereszt szabályozás útján is hatnak egymásra. Ez ösztönzött minket arra, hogy más mechanizmusokat is keressünk arra vonatkozóan, hogyan képes a HHV-6A gátolni a HIV-1 replikációját macrophagokban. A CXCR1 kemokin receptor aktivációjának – ligandja, az IL-8 kötődésének – hatására a CCR5 kereszt-deszenzitizálódik.

Kísérleteink alapján a csak HHV-6A-val, illetve a HIV-1-gyel és HHV-6A-val szimultán fertőzött macrophag kultúrák fokozott mennyiségű IL-8-at ürítenek a fertőzetlen tenyészetekhez képest. Ugyanakkor a HIV-1 fertőzés számottevően nem befolyásolja az IL-8 szekréciót. A kettősen fertőzött kultúrák esetében mért IL-8-cal megegyező mennyiségű, exogén IL-8 képes szignifikánsan gátolni a HIV-1 replikációját a vírussal egyszeresen fertőzött macrophag tenyészetek esetében.

Mint hogy a macrophagok felszínén a CXCR1 jelen van, feltételeztük, hogy a HHV-6A által indukált IL-8 receptorához kötődve megváltoztatja a CCR5 receptor HIV-1-fogékonyságát. Mindemellett a nagymennyiségű RANTES szintén jelentősen befolyásolhatja a CCR5 érzékenységét és sejtfelszíni expresszióját.

A RANTES által kiváltott sejten belüli kalciumkoncentráció növekedését egyedi, HHV-6A-val fertőzött macrophagokban mérve a CCR5 érzékenységének csökkenését figyeltük meg a kontroll, fertőzetlen sejtekhez viszonyítva. Fertőzetlen populációkkal összevetve a fertőzött macrophagpopulációkon ugyancsak csökkent receptorérzékenységet tapasztaltunk.

Azonban a kisebb receptorérzékenység abból is adódhat, hogy a deszenzitizáció mellett a sejtfelszíni receptorok száma is kevesebb lehet. Irodalmi adatok szerint a HIV-1-fertőzés gátlásához a receptor deszenzitizációja nem is elegendő, a receptor internalizációja is szükséges. A sejtfelszíni receptorok száma fluorocytometriás vizsgálataink alapján a HHV-6A-val fertőzött macrophagokon jelentősen kevesebb, mint a fertőzetlen sejteken.

Eredményeink alapján tehát a HHV-6A képes szignifikáns módon csökkenteni a HIV-1 szaporodását a kettősen fertőzött macrophagokban. Feltételezésünk szerint a HHV-6A fertőzés hatására ürülő nagymennyiségű IL-8-nak és RANTES-nek kulcsszerepe lehet ebben azáltal, hogy megváltoztatják a CCR5 kemokin koreceptor érzékenységét és sejtfelszíni expresszióját, így a HIV-1-gyel szembeni fogékonyságot.

Bár *in vitro* kísérleteink szerint a HHV-6A jelentősen csökkenti a HIV-1 szaporodását a HIV-1 patogenezisében és disszeminációjában igen fontos szerepet betöltő macrophagokban, a vizsgálat tárgyát az R5 variánsok képezték. A HIV-1 fertőzés rendszerint ezen variánsokkal történik, ezek dominálnak a kezdeti, aszimptomatikus fázisban, és általában a betegség teljes ideje alatt jelen vannak a szervezetben. Klinikai tapasztalatok alapján az X4 variánsok megjelenése rossz prognózist jelent. Ugyanakkor a CCR5 koreceptorok csökkent érzékenysége, száma jelentős mértékű szelekciós nyomás lehet a CXCR4 kemokin koreceptort használó X4 variánsok felé. Így tehát a HIV-fertőzésben igen gyakran reaktiválódó HHV-6 nemcsak a lymphocyták számának csökkentésével, de a HIV-1 R5 variánsaival szembeni fogékonyság csökkentésével az AIDS progresszió igen fontos kofaktora lehet.

Ezen OTKA támogatást még két további cikk kísérleteihez is felhasználtuk, ám a megjelent cikkekben a témavezető (Dr. D. Tóth Ferenc) halála miatt az OTKA mint támogató nem került feltüntetésre:

Etelka Nagy, Zoltán Beck, Attila Kiss, Eszter Csoma, Béla Telek, József Kónya, Éva Oláh, Kálmán Rák, Ferenc D. Tóth:

Frequent methylation of $p16^{INK4A}$ and $p14^{ARF}$ genes implicated in evolution of chronic myeloid leukemia from its chronic phase to acceleration.

European Journal of Cancer 39: 2298-305 (2003). Impakt faktor: 3,694; citáció: 5

Etelka Nagy, György Veress, Krisztina Szarka, Eszter Csoma, Zoltán Beck: Frequent methylation of p16INK4A/p14ARF promoters in tumorigenesis of Epstein-Barr virus transformed lymphoblastoid cell lines.

Anticancer Research 25: 2153-60 (2005). Impakt faktor: 1,395.

Debrecen, 2007. február 27.

Dr. Gergely Lajos