

Ulrike Heike Linz  
Dr. med.

**Immunevasion des Humanen Zytomegalievirus  
Expression von Todesliganden auf infizierten Endothelzellen und funktionelle  
Auswirkungen auf die Apoptose von T-Zellen**

Geboren am 03.02.1975 in Bühl  
Reifeprüfung am 14.06.1994 in Bühl  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1996 bis SS 2002  
Physikum am 23.03.1998 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg und Freiburg  
Praktisches Jahr in Karlsruhe  
Staatsexamen am 05.11.2002 an der Universität Freiburg

Promotionsfach: Hygiene  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. G. Schönrich

Endothelzellen gehören zu den Hauptzielzellen einer HCMV-Infektion und sind Ausgangsorte für die hämatogene Dissemination des Virus. Als Grenzschicht zwischen Blut und Gewebe treten sie ständig in Wechselwirkung mit immunkompetenten Leukozyten wie beispielsweise  $CD4^+$ -T-Zellen. Die vorliegende Arbeit hat sich mit den Veränderungen der Expression von Todesliganden nach HCMV-Infektion beschäftigt und deren Auswirkungen auf die Interaktion zwischen HUVEC und T-Zellen (Jurkat-Zellen) untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass unbehandelte HUVEC eine konstante mTNF- $\alpha$ -Expression aufweisen. Im Gegensatz dazu konnte keine Expression von FasL und TRAIL nachgewiesen werden.

Die Expression vom membrangebundenem TNF- $\alpha$  konnte, je nach bereits vorhandener mTNF- $\alpha$ -Expression, durch Zugabe von löslichem TNF- $\alpha$  beeinflusst werden. Es scheint demnach eine Anpassung des Gleichgewichts zwischen TNF- $\alpha$  in seiner löslichen und in seiner membrangebundenen Form stattzufinden.

Weiterhin konnte durch Nachweis der viralen Proteine IE-1, pp65 und pp150 gezeigt werden, dass sowohl HUVEC als auch Zellen der Endothelzell-Linie ECV-304 produktiv mit klinischen HCMV-Stämmen infizierbar sind. Die HCMV-Infektion führt in HUVEC, nicht aber in ECV-304-Zellen, zu einer gesteigerten Expression von mTNF- $\alpha$ , welche durch Hemmung der viralen Replikation nicht zu unterbinden ist. Dies spricht für eine Regulation von mTNF- $\alpha$  durch HCMV-IE- bzw. -E-Gene. FasL- und TRAIL-Expression wurden durch eine HCMV-Infektion dagegen nicht messbar beeinflusst.

Es konnte in dieser Arbeit nachgewiesen werden, dass eine Inkubation von HUVEC, nicht aber von ECV-304, und Jurkat-Zellen zur Apoptose von Jurkat-Zellen führt. Diese wird nicht durch lösliche Moleküle induziert, sondern erfordert den Kontakt beider Zellarten durch Interaktion über einen oder mehrere membranständige Liganden/Rezeptoren. Durch Zugabe von TNF- $\alpha$  erfolgt eine Steigerung der EC-induzierten Apoptoserate von Jurkat, während TNF- $\alpha$  ohne Anwesenheit von HUVEC keine Apoptose auslösende Wirkung auf Jurkat-Zellen zeigt. Die Apoptose von Jurkat-Zellen lässt sich durch Blockade der DNA-abhängigen RNA-Synthese mit Actinomycin D inhibieren, ein Hinweis dafür, dass für die Apoptoseinduktion eine De-novo-Proteinbiosynthese in HUVEC erforderlich ist. Allerdings gelang es noch nicht, den hierfür verantwortlichen Liganden zu identifizieren. Die Blockade von TNF- $\alpha$ , FasL und TRAIL erbrachten keinen wesentlichen Rückgang der Apoptoserate, sodass sie zumindest primär nicht Auslöser der EC-induzierten Apoptose von Jurkat-Zellen

sein können. Der Apoptosesignalweg in den Targetzellen scheint hingegen dennoch über die bekannte Aktivierung von Caspasen zu erfolgen, da eine Blockierung von Caspasen durch z-VAD-fmk zu einem vollständigen Rückgang der Apoptoserate führt.

Im Gegensatz zu sTNF- $\alpha$ , welches zu einer Steigerung der Apoptoserate führt, konnten wir in dieser Arbeit zeigen, dass eine vermehrte Expression von mTNF- $\alpha$  auf HUVEC mit einem Rückgang der EC-induzierten Apoptose korreliert. Inwieweit mTNF- $\alpha$  diese Senkung der Apoptoserate mit beeinflusst oder ob es sich hierbei um ein zufällig gleichzeitig auftretendes Phänomen handelt, ist bislang noch nicht geklärt. Es konnte allerdings nachgewiesen werden, dass die HCMV-Infektion von HUVEC, welche eine erhöhte Expression von mTNF- $\alpha$  zur Folge hat, ebenfalls zu einem Rückgang der EC-induzierten Apoptose von Jurkat-Zellen führt. Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass HCMV, wie bereits von anderen Viren bekannt, in die Expression von Todesliganden und damit in den Apoptosesignalweg von Zellen eingreifen kann und dass diese Veränderungen funktionelle Bedeutung für die Interaktion von infizierten Zellen und immunkompetenten Zellen haben können. Den molekularen Mechanismus dieser Beobachtungen genauer zu beleuchten, um damit die Auseinandersetzung von Herpesviren mit dem menschlichen Immunsystem besser verstehen zu können, sollte Ziel weiterführender Arbeiten sein.