



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Genexpressionsanalyse bei Trägern der CC-Chemokinrezeptor-Typ
5-Delta32-Mutation**

Autor: Christian Blüthgen
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. G. Hütter

Das Humane Immundefizienzvirus (HIV) ist während seines Zyklus auf eine Vielzahl Wirtsfaktoren (sog. *HIV-dependency factors*, HDFs) angewiesen. Ein bekannter HDF ist der CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5 (CCR5), der neben dem CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4 (CXCR4) als Korezeptor für den HI-viralen Zelleintritt mittels des membranständigen Glykoproteins CD4 fungiert. Eine 32 Basenpaare umfassende Deletion (CCR5 Δ 32) im CCR5-Gen resultiert in einem dysfunktionalen CCR5-Protein. In der Folge wird CCR5 bei heterozygoten CCR5 Δ 32-Trägern in reduzierter Dichte, und bei homozygoten Trägern nicht auf der Zelloberfläche exprimiert. Heterozygote besitzen eine erhöhte, homozygote CCR5 Δ 32-Träger eine nahezu vollständige Immunität gegenüber der Infektion durch CCR5-trope HIV-Stämme. Zudem besitzen CCR5 Δ 32-Träger deutlich erhöhte Resistenzen gegenüber einer Infektion durch CXCR4-trope Virusstämme und tendieren zu einem verzögerten Krankheitsverlauf. Diese Funde lassen vermuten, dass bei Trägern des CCR5 Δ 32-Allels weitere, möglicherweise koregulierte HDFs existieren, die Einfluss auf die HIV-Pathogenese haben.

Mittels Microarray-Genexpressionsanalyse wurden in einer Vorstudie in Abhängigkeit des CCR5-Genotyps differenziell regulierte Gene identifiziert und Kandidatengene mit möglicher Verbindung zur HIV-Pathogenese selektiert. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Expression der Kandidatengene mittels quantitativer real-time PCR (qPCR) zu quantifizieren und die Analyse auf homozygote CCR5 Δ 32-Merkmalsträger auszuweiten. Hierfür wurden Buffy Coats von Spendern des Blutspendedienstes Mannheim genotypisiert und eine Genexpressionsanalyse der Kandidatengene CXCR2, TOP1, SREBP2, TAP1, PRKACB, U2AF65 und CD30L durchgeführt.

Die Genexpressionsanalyse ergab keinen signifikanten Unterschied im Expressionsprofil CCR5-wildtypischer und heterozygoter CCR5 Δ 32-Merkmalsträger. TOP1 und PRKACB waren bei homozygoten CCR5 Δ 32-Merkmalsträgern gegenüber CCR5-wildtypischen Individuen überexprimiert. Da beide Genprodukte gemäß Literatur förderlich für die HIV-Replikation sind, sind weitere Studien erforderlich, um diesen Effekt näher zu beleuchten. CD30L war bei CCR5 Δ 32-homozygoten gegenüber heterozygoten Merkmalsträgern überexprimiert, was auf Proteinebene mittels ELISA bestätigt werden konnte. Da der TNF-Rezeptor CD30 kontextabhängig entweder die Apoptose oder die Proliferation der exprimierenden Zelle fördert, müssten zukünftige Studien zusätzliche experimentelle Parameter wie z.B. Zelltyp und Entzündungszustand berücksichtigen sowie weitere, an der CD30/CD30L-Signaltransduktion beteiligte Proteine analysieren. Die Gene CXCR2, TAP1, SREBP2 und U2AF65 waren bei homozygoten CCR5 Δ 32-Merkmalsträgern im Vergleich zu sowohl CCR5-wildtypischen als auch zu CCR5 Δ 32-heterozygoten Individuen signifikant überexprimiert. Mittels Literaturrecherche wurden diese Funde mit der HIV-Pathogenese in Verbindung gebracht und neue Hypothesen formuliert: (1) Eine Überexpression des Chemokinrezeptors CXCR2 könnte bei homozygoten CCR5 Δ 32-Merkmalsträgern über intrazellulären Crosstalk mit CXCR1 und Kreuzphosphorylierung von CXCR4 und CCR5 zu einer gesteigerten Resistenz gegenüber HIV-Infektionen führen. (2) Eine Überexpression des Antigentransporters TAP1 könnte bei CCR5 Δ 32-Merkmalsträgern die HIV-induzierte Inhibition der MHC-I-vermittelten Antigenpräsentation partiell kompensieren und damit der viralen Immuno-evasion entgegenwirken. (3) HIV profitiert von einer erhöhten intrazellulären Cholesterinkonzentration, und die Überexpression des an der Cholesterin-Homöostase beteiligten Transkriptionsfaktors SREBP2 könnte auf einen veränderten Cholesterinstoffwechsel bei homozygoten Trägern der CCR5 Δ 32-Variante hinweisen. (4) Der bei CCR5 Δ 32-Homozygoten gegenüber heterozygoten Merkmalsträgern überexprimierte Spleiß-Kofaktor U2AF65 könnte über Interaktionen mit dem regulatorischen HIV-Protein Rev Auswirkungen auf die virale Proteinexpression haben. Die Arbeit kann damit als Grundlage für weitere Untersuchungen auf Proteinebene dienen.