

# HERPESVIRUSI I IZBJEGAVANJE IMUNOLOŠKOG ODGOVORA DOMAĆINA

---

Grozaj-Hranić, Romina

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:436494>

Rights / Prava: [In copyright](#)/Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



MEDICINSKI FAKULTET  
INTEGRIRANI PREDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Romina Grozaj-Hranić

**HERPEŠVIRUSI I IZBJEGAVANJE IMUNOLOŠKOG ODGOVORA DOMAĆINA**

Diplomski rad

Rijeka, 2020.

MEDICINSKI FAKULTET  
INTEGRIRANI PREDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Romina Grozaj-Hranić

**HERPEŠVIRUSI I IZBJEGAVANJE IMUNOLOŠKOG ODGOVORA DOMAĆINA**

Diplomski rad

Rijeka, 2020.

Mentor rada: Prof. dr. sc. Hana Mahmutefendić Lučin

Komentor rada: Izv. prof. dr. sc. Gordana Blagojević Zagorac

Diplomski rad ocjenjen je dana \_\_\_\_\_ na Medicinskom fakultetu u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Doc. dr. sc. Tamara Gulić
2. Prof. dr. sc. Marina Šantić
3. Prof. dr. sc. Tihana Lenac Roviš

Rad sadrži **66** stranica, **3** slike, **4** tablice i **184** literaturnih navoda.

## ZAHVALA

Prije svega bih htjela zahvaliti svojoj mentorici prof. dr. sc. Hani Mahmutefendić Lučin na trudu, razumijevanju i pomoći pri izradi ovog diplomskog rada.

Najveće hvala majci Snježani na pružanju bezuvjetne potpore kroz studij.

Veliko hvala mojim prijateljima, koji su mi, svaki na svoj način, ovaj životni period činili ugodnijim i ljepšim.

Mojim dragim osobama koje su bile uz mene i vjerovale u mene u trenucima kada sam izgubila vjeru u sebe – hvala Vam od srca.

## POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

**MHC** (engl. major histocompatibility complex) - glavni kompleks tkivne podudarnosti

**HLA** (engl. human leukocyte antigen) – ljudski leukocitni antigen

**TAP** (engl. transporter associated with antigen processing) - transporter povezan s preradom antigena

**APM** (engl. antigen-processing machinery) - aparat za preradu antigena

**APC** (engl. antigen-presenting cell) - antigen-predočne stanice

**PLC** (engl. peptide loading complex) - kompleks za punjenje peptida

**PRR** (engl. pattern recognition receptor) – receptori za prepoznavanje uzoraka

**NCR** (engl. natural cytotoxicity receptors) – receptori prirodne citotoksičnosti

**HCMV** – humani citomegalovirus

**MCMV** – mišji citomegalovirus

**EBV** – Epstein-Barrov virus

**VZV**- varicella-zoster virus

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	7
2. SVRHA RADA .....	9
3. OSNOVNE ZNAČAJKE HERPESVIRUSA .....	10
4. ULOGA VIRUSNIH PROTEINA U IMUNONADZORU .....	14
5. ULOGA VIRUSNIH MIKORNA.....	16
6. VAŽNOST CITOKINA I KEMOKINA.....	18
7. STANICE NK .....	20
8. ULOGA STANICA NK U KONTROLI HERPESVIRUSNIH INFEKCIJA .....	24
9. IZBJEGAVANJE ODGOVORA OD STRANE STANICA NK .....	24
9.1. SUPRESIJA SIGNALA KOJI AKTIVIRAJU STANICE NK.....	25
9.1.1. NKG2D.....	26
9.1.2. DNAM-1.....	30
9.1.3. NCR.....	31
9.1.4. CD16 (FcγIII receptor) .....	32
9.1.5. 2B4 .....	32
9.2. MODULACIJA INHIBICIJSKIH SIGNALA NK STANICA .....	33
9.2.1. Virusne MHC-I molekule mamci (engl. decoy).....	34
9.2.2. Izražaj MHC-I varijanti .....	36
9.2.3. Pokretanje inhibicijskih receptora stanica NK neovisnih o MHC-I.....	38
9.3. Ostale herpesvirusne strategije izbjegavanja stanica NK .....	38
10. ULOGA CD4 <sup>+</sup> LIMFOCITA U KONTROLI LATENTNE INFEKCIJE.....	39
10.1. IFN-γ .....	41
10.2. TNF .....	42
10.3. Citotoksičnost .....	43
11. IZBJEGAVANJE CD4 <sup>+</sup> STANIČNOG ODGOVORA .....	44
12. RASPRAVA .....	47
13. ZAKLJUČCI .....	50
14. SAŽETAK .....	51
15. SUMMARY.....	52
16. LITERATURA .....	53
17. ŽIVOTOPIS .....	66

## 1. UVOD

Obitelj herpesvirusa sastoji se od  $\alpha$ -potporodice (HSV-1, HSV-2, VZV),  $\beta$ -potporodice (HHV6A, HHV6B, HHV7), te  $\gamma$ -potporodice (EBV, KSHV) koja ima onkogeni potencijal. Ova podjela se temelji na njihovom rasponu domaćina, organizaciji genoma i načinima replikacije. Istaknuti članovi obitelji *Herpesviridae* dijele zajedničku virusnu morfologiju i približno 40 očuvanih gena važnih za virusnu replikaciju. Ipak, ovi se virusi razlikuju u svojoj patogenosti. Iako su članovi  $\alpha$ -potporodice identificirani kao oni koji djeluju kao kofaktori nekih malignih novotvorina, članovi  $\gamma$ -potporodice su čvrsto povezani s nastankom solidnih i hematopoetskih tumora. Citomegalovirus (CMV) je član  $\beta$ -potporodice, a može zaraziti kritične organe, uključujući živčani sustav, hematološki i krvožilni sustav, te gastrointestinalni sustav. Stoga može biti popraćen ozbiljnijom kliničkom slikom i kod naizgled zdravih osoba.

Nakon primarne infekcije, karakteristično je da herpesvirusi latentno perzistiraju u domaćinu, a njihova sposobnost da mogu djelovati u dva različita načina životnog ciklusa: latentnom i litičkom, čini ih vrlo uspješnim patogenima. Nakon primarne produktivne infekcije, slijedi latencija – stanje potisnute transkripcije i translacije. Faze latencije često mogu biti prekinute litičkim epizodama. Tijekom latentne faze identificirani su transkripti povezani s latencijom, uključujući kodirajuće transkripte koji rezultiraju virusnim peptidima i proteinima, kao i nekodirajući transkripti poput mikroRNA (miRNA) koji doprinose izbjegavanju imunološkog odgovora domaćina.

Herpesvirusne čestice, koje se nazivaju i virioni, sadrže genetski materijal (dvolančanu DNA), proteinski omotač (kapsidu) i lipidnu ovojnici. Prostor između lipidne ovojnice, nastale od membrana stanica domaćina i kapside, naziva se tegument. Tegument sadrži različite molekule iz virusom zaražene stanice. One mogu potjecati iz stanice domaćina, ali su prvenstveno virusnog porijekla (virusni proteini i nekodirajuće vrste RNA), te reguliraju sintezu makromolekula potrebnih za sljedeći infektivni ciklus.



Herpesvirusni proteini često mogu djelovati u endoplazmatkoj mrežici (ER) i Golgijevom aparatu (GA), gdje nishodno reguliraju izražaj molekula koje reguliraju imunološki odgovor, prvenstveno MHC molekula. U ER-u se odvija sklapanje MHC molekula razreda Ia i neklasičnih MHC molekula razreda Ib. MHC molekule se sastoje od teškog lanca (Ia/b),  $\beta$ 2-mikroglobulina ( $\beta$ 2-m) i peptida nastalog degradacijom proteina sintetiziranih u staničnom citosolu. Ti peptidi su najčešće domaćinskog, ali mogu biti i virusnog, odnosno tumorskog porijekla. Peptidi se generiraju i obrađuju različitim komponentama sustava za obradu i prezentaciju antigena (APM) te predočavaju CD8<sup>+</sup> citotoksičnim limfocitima T (CTL) na staničnoj površini. MHC molekule razreda Ia su izražene u svim stanicama s jezgrom (osim u imunološki privilegiranim tkivima poput rožnice, mozga, testisa i koriona). Nasuprot tome, MHC molekule razreda Ib, pretežno HLA-G i HLA-E, pokazuju strogo reguliranu ekspresiju isključivo u imunološki „privilegiranim“ tkivima. Budući da MHC molekule razreda Ib predstavljaju snažne ligande za receptore stanica prirodnih ubojica (NK), modulacija tih molekula ima velik značaja u imunološkom odgovoru domaćina. Stanice prirodne ubojice (NK) su od posebne važnosti kod herpesvirusnih infekcija, što pokazuju sistemski i po život opasni simptomi herpesvirusnih infekcija u pacijenata s nedostatkom aktivnosti stanica NK (1,2).

Mehanizmi izbjegavanja imunološkog odgovora domaćina mogu se ugrubo podijeliti u tri kategorije:

- izbjegavanje humoralnog odgovora, (npr., promjenom imunodominantnih epitopa).
- interferencija sa staničnim komponentama imunološkog sustava (npr. smanjene funkcije limfocita T i stanica NK).
- modulacija „imunoefektorskih“ funkcija (npr., izražaj citokina ili blokada apoptoze).

## 2. SVRHA RADA

Svrha ovog preglednog rada je objasniti načine na koje herpesvirusi izbjegavaju imunološki odgovor domaćina. Fokusirajući se na MHC molekule razreda Ib, APM komponente, stanice NK, citokine i kemokine koji signaliziraju virusnu infekciju, ovaj će pregledni rad istaknuti i poznate molekularne mehanizme herpesvirusnih mikroRNA, peptida i proteina. Stoga će se uz izravne interakcije između molekula herpesvirusa s molekulama stanica domaćina raspravljati i o neizravnim mehanizmima koji dovode do indukcije ili smanjenja relevantnih čimbenika imunološkog odgovora stanice domaćina.

### 3. OSNOVNE ZNAČAJKE HERPESVIRUSA

Predstavnici obitelji *Herpesviridae* su velikih, dvolančani DNA virusi. Među njima su poznati ljudski herpesvirusi (HHV), ali i velik broj životinjskih herpesvirusa. **Među herpesvirusima su najznačajniji:** *herpes simplex virus-1 (HSV-1)* i *HSV-2*, koji uzrokuju lezije lica i genitalija; *varicella-zoster virus (VZV)*, uzročnik vodenih kozica koji kasnije se u životu može ponovno aktivirati i izazvati šindru herpes zoster; *Epstein-Barrov virus (EBV)* koji uzrokuje infektivnu mononukleozu te je povezan s nastankom nazofaringealnog karcinoma, Burkittovog limfoma i drugih B-staničnih limfoma; *citomegalovirus (CMV)* koji također uzrokuje simptome mononukleoze u odraslih i vodeći je uzrok prirodene sljepoće; *HHV tipa 6 i 7 (HHV-6 i HHV-7)*, koji uzrokuju roseolu u dojenčadi; te herpesvirus povezan s Kaposijevim sarkomom (KSHV), poznat i kao *HHV-8*. Herpesvirusi koji uzrokuju bolesti u ljudi navedeni su u [tablici 1](#).

**Tablica 1. Podjela herpesvirusa prema ICTV klasifikaciji (3).**

Potporodica	Rod	Vrsta	Uobičajen naziv
<i>Alphaherpesvirinae</i>	Simpleksvirus	<i>Humani alfa herpesvirus 1</i>	Herpes simpleks 1 (HSV1)
	Simpleksvirus	<i>Humani alfa herpesvirus 2</i>	Herpes simpleks 2 (HSV2)
	Varicellovirus	<i>Humani alfa herpesvirus 3</i>	Varicella-Zoster virus (VZV)
<i>Betaherpesvirinae</i>	Citomegalovirus	<i>Humani beta herpesvirus 5</i>	Humani citomegalovirus (HCMV)
	Roseolovirus	<i>Humani beta herpesvirus 6A</i>	Humani herpesvirus 6A (HHV-6A)
	Roseolovirus	<i>Humani beta herpesvirus 6B</i>	Humani herpesvirus 6B (HHV-6B)
	Roseolovirus	<i>Humani beta herpesvirus 7</i>	Humani herpesvirus 7 (HHV-7)
<i>Gamma-herpesvirinae</i>	Limfokriptovirus	<i>Humani gamma herpesvirus 4</i>	Epstein-Barr Virus (EBV)
	Rhadinovirus	<i>Human gamma herpesvirus 8</i>	Herpesvirus povezan s Kaposijevim sarkomom (KSHV); Humani herpesvirus 8 (HHV-8)

Morfološki, svi herpesvirusi pokazuju sličnost. Veličine im se kreću od 180 do 200 nm. Građeni su od linearnog, dvolančanog DNA genoma i proteina jezgre, obavijenog ikosaedričnom kapsidom koja je građena od više virusnih glikoproteina. Kapsidu okružuje tegument ispunjen proteinima, što je jedinstveno za herpesviruse. Tegument se sastoji od virusnih proteina i enzima koji imaju strukturnu ulogu, a neki služe replikaciji virusa nakon početne infekcije. Oko tegumenta se nalazi lipoproteinski omotač koji sadrži staničnu membranu napadnute stanice domaćina.

Genomi herpesvirusa sežu od 125 kbp (VZV) do 240 kbp (CMV) DNA. Mogu kodirati za od 75 virusnih proteina do preko 200. Međutim, kodirajući kapacitet mnogo je složeniji nego se prvotno mislilo i u zaraženoj stanici virus može izražavati više gena, primjerice, pokazano je kako se s određenih virusnih gena vrši transkripcija više od jednog produkata različite veličine te kako postoje brojni početci translacije koji u početku nisu bili prepoznati.

Na temelju određenih viroloških sličnosti i različitosti, herpesviruse možemo podijeliti u tri podskupine  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  herpesviruse.  $\alpha$  podskupinu čine HSV-1 i HSV-2, kao i VZV, a karakterizirana je brzom replikacijom i latencijom u neuronima. Nadalje, CMV, HHV-6 i HHV-7 čine  $\beta$  podskupinu koja je karakterizirana sporim stopama replikacije i izuzetno ograničenim izborom domaćina.  $\gamma$  podskupinu čine EBV i KSHV (HHV-8). Njih karakterizira brza replikacija, replikacija u limfocitima kao i ograničen izbor domaćina. Iako su podjele napravljene na temelju genomskih sekvenci, one svoj korijen vuku u pre-genomskoj eri. Stanični tropizam značajno varira za neke viruse. HSV ima najširi raspon, što znači da može zaraziti mnogo različitih domaćina i replicirati se u brojnim stanicama kako u životinjskom, tako i u ljudskom domaćinu (iako ga u prirodi nalazimo samo kod ljudi). VZV pak ima sposobnost zaraziti isključivo čovjeka. Ljudski se CMV dobro replicira isključivo u ograničenim ljudskim staničnim linijama, kao što su humani fibroblasti i epitelne stanice. HHV-6 i HHV-7 rastu u kulturama stanica T-limfocita. EBV se ne može replicirati u najčešće korištenim

sustavima staničnih kultura, ali može biti uzgajan u kontinuiranim kulturama limfoblastoidnih stanica u čovjeka ili primata gdje ga susrećemo u latentnom stanju. KSHV može zaraziti različite tipove stanica, ali općenito je dokazano da uspostavlja latenciju u kultiviranim stanicama od kojih samo mali postotak podržava aktivnu replikaciju.

Replikacija HSV-a općenito se koristi kao reprezentativni primjer **životnog ciklusa herpesvirusa**. HSV započinje svoj ciklus litičkom infekcijom u epitelnim stanicama, te nakon toga može uspostaviti latenciju u neuronskim stanicama. Glikoproteini kapside HSV-a vezuju se za stanične receptore, početno za heparan sulfat. Nakon toga mogu ući u interakciju s receptorima višeg afiniteta, što će u konačnici dovesti do spajanja sa staničnom membranom. Fuzija virusa sa staničnom membranom predstavlja ulazni korak u stanicu kod većine herpesvirusa. No ipak, kod nekih od njih, ili u određenim tipovima stanica, virus se mora prvo endocitirati, nakon čega slijedi fuzija virusnog omotača sa endosomalnom membranom. Nakon fuzije dolazi do oslobađanja tegumenta i kapside s virusnom DNA u citoplazmu. Kapsida migrira do jezgre te se zajedno s genomom istiskuje u nju. Virusni genom cirkulira jezgrom te pokreće ekspresiju najranijih gena. Tri različite klase gena reguliraju transkripciju velikog, složenog genoma:

(1) geni *neposredno-rane (IE) faze*, poznate i kao  $\alpha$  geni, koji se sintetiziraju 1 do 4 sata nakon infekcije. Oni ne zahtijevaju *de novo* sintezu virusnih proteina i općenito kodiraju proteine koji sudjeluju u regulaciji ekspresije virusnih gena rane faze;

(2) geni *rane (E) faze* ili  $\beta$  geni - zahtijevaju prethodnu sintezu proteina IE faze i općenito kodiraju proteine koji sudjeluju u virusnoj replikaciji (DNA vežući proteini, DNA polimeraza, timidin kinaza, itd.)

(3) geni *kasne (L) faze* ili  $\gamma$  geni – za sintezu zahtijevaju prethodnu potpunu replikaciju virusnog genoma, a kodiraju glavne strukturne proteine: kapsidne podjedinice, proteine tegumenta i glikoproteine ovojnice.

Sinteza IE gena potrebna je za stvaranje E gena, a E geni isključuju IE gene. E geni su potrebni za replikaciju virusnog genoma koja je kasnije neophodna za optimalnu sintezu većine L gena. Međutim, neki od kasnih strukturnih proteina proizvode se i na nižim razinama neovisno o replikaciji genoma. Replikacija virusne DNA događa se na cirkularni način pritom stvarajući DNA konkatemere visoke molekularne težine. Genomski konkatemeri se cijepaju i pakiraju u unaprijed sastavljene kapside u jezgri. Herpesvirusna kapsida s virusnom DNA se sklapa u staničnoj jezgri. Proteolitičko cijepanje nužan je proces koji se događa tijekom sazrijevanja proteinskog omotača, a u tom procesu važnu ulogu ima virusna proteaza. Pupanje se događa na nuklearnoj membrani, a, u slučaju  $\alpha$ -herpesvirusa, virioni se zatim transportiraju kroz ER i Golgi. Tijekom tog procesa, za  $\alpha$ - i  $\gamma$ -herpesviruse se zna da svojim proteinskim kompleksima cijepaju mRNA i na taj način zaustavlja sintezu proteina u stanice domaćina. U konačnici, virusna replikacija i isključivanje mehanizama stanice domaćina dovode do smrti virusom inficirane stanice. Zbog svojeg duljeg replikacijskog ciklusa,  $\beta$ -herpesvirusi ne pokazuju jednaku sposobnost isključivanja („shut off“) stanica domaćina.

*In vivo*, herpesvirusi općenito stvaraju inicijalnu litičku infekciju koja na kraju izaziva imunološki odgovor domaćina. Međutim, po samom ulasku virusa u organizam domaćina, također se uspostavlja i latentna infekcija. Ona omogućuje doživotno zadržavanje herpesvirusa u domaćinu. Tijekom latencije genom virusa prisutan je u stanicama, ali se sam virus ne može izolirati. Virusna DNA se održava kao episom u jezgri, a integracija je izuzetno rijetka. Bitno je naglasiti da se latentna infekcija razlikuje od kronične infekcije po tome što se virusni genom ne replicira brzo i ne stvaraju se virioni. Izražaj virusnih gena je minimalan, te postoji samo 1 do 10 latentnih gena koji se redovito eksprimiraju, ovisno o virusu. Latentni geni kodiraju

funkcije za održavanje virusnog episoma i time efektivno sprječavaju smrt stanice domaćina uz istovremeno inhibiranje imunološkog odgovora domaćina. Mnogi herpesvirusi tijekom latencije također eksprimiraju mikroRNA. MikroRNA su male regulatorne RNA koje upravljaju genskom ekspresijom bez stvaranja peptidnih produkata. To omogućuje virusu da regulira vlastitu gensku ekspresiju kao i ekspresiju gena stanica domaćina, bez stvaranja antigena koje bi imunološki sustav domaćina mogao prepoznati. HSV-1 izražava samo miRNA tijekom latentne infekcije, ali ne i proteine, čime minimizira sposobnost imunološkog sustava da prepozna latentno inficirane stanice. Povremena reaktivacija osigurava stalni izvor novih infekcija u populaciji. Postoji raspon u brzini reaktivacije ovisan o virusu i domaćinu. Kod imunokompromitiranih pacijenata, reaktivacija je češća i ozbiljnija, što ukazuje na važnu ulogu imunološkog sustava u suzbijanju reaktivacije (4,5).

#### 4.ULOGA VIRUSNIH PROTEINA U IMUNONADZORU

U fiziološkim uvjetima, trimerne MHC molekule razreda I, koje se sastoje od teškog lanca (HC), nekovalentno vezanog  $\beta$ 2-m i obrađenih peptida duljine 8–12 aminokiselina transportiraju se preko ER-Golgi mreže na staničnu površinu stanica s jezgrom i predočavaju antigene CD8<sup>+</sup> citotoksičnim limfocitima T (6).

Nakon ubikvitinacije, stanični se proteini razgrađuju u peptide na staničnim proteasomima, gdje se mogu dodatno obraditi citosolnim aminopeptidazama (7). Citokin interferon- $\gamma$  potiče stvaranje takozvanog imunoproteasoma, koji sadrži nove aktivne podjedinice proteasomskog aktivatora (PA) i proteasomske  $\beta$ -podjedinice inducirane pomoću IFN- $\gamma$ , proteina niske molekularne težine (LMP)2, MECL1 i LMP7, zamjenjujući njihove konstitutivne proteasomske homologe  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 i  $\beta$ 5 (8). Tijekom početne virusne infekcije, brza indukcija nastanka imunoproteasoma je ključna (9). Peptidi nastali razgradnjom endogenih proteina u proteasomu se prenose putem heterodimernog transportera povezanog s preradom antigena (TAP1/TAP2) u ER. Tamo se nalazi kompleks za peptidno punjenje (PLC) sastavljen od

*chaperonskog* proteina kalretikulina (CALR), tapasina (TPN) i proteina ERp57. Njihova zadaća je olakšavanje vezivanja peptida na MHC molekule razreda I nekovalentno vezanih s  $\beta$ 2-m. Smanjena ili oslabljena ekspresija bilo koje od ovih molekula može biti limitirajući faktor za pravilnu površinsku ekspresiju MHC molekula razreda I. Na primjer, mutacije ili delecije  $\beta$ 2-m ili TAP podjedinica rezultiraju potpunim odsustvom MHC molekula razreda I na staničnoj površini (10,11). Nadalje, nishodna regulacija MHC molekula razreda Ia na površini stanice i smanjena ekspresija jedne ili više komponenata APM-a predstavlja važan mehanizam imunološkog bijega virusom zaraženih stanica.

Utvrđeno je da mnogi virusni proteini ometaju ekspresiju APM komponenata. Sažetak takvih 'imunoloških evazija' naveden je u [tablici 2](#). **HSV-1** stvara protein **ICP47** koji koči vezanje peptida na MHC molekule razreda I time što se izravno vezuje na heterodimer TAP 1/2 (12). U stanicama zaraženim **VZV-om**, kompleksima MHC molekula razreda I onemogućen je prolazak kroz *trans*-Golgi na površinu stanice, posredovan VZV proteinom **ORF66** (13) dok **EBV** kodira za protein **BNLF2a** koji blokira TAP 1/2 heterodimer učinkovitije od ICP47 ili US6 (14). Nadalje, EBV kodira za protein **vIL-10**, koji smanjuje ekspresiju TAP1 i LMP2. EBV protein **BILF1** smanjuje površinsku ekspresiju MHC molekula razreda Ia, (15), dok EBV proteini **BGLF5** i **EBNA-1** ometaju cjelokupno stvaranje peptida (16). Zanimljivo je da kasni litički proizvod **BDLF3** gena smanjuje izražaj MHC molekula razreda I i razreda II (17). **Humani citomegalovirus** kodira za peptid **US6**, koji je također sposoban ometati transport peptida blokirajući heterodimer TAP 1/2 (18). Pored toga, HCMV kodira za protein **US3** koji inhibira TPN-om posredovan dotok peptida, te stoga zadržava molekule HLA razreda I unutar ER-a (19), dok se protein **US10** izravno veže za MHC molekule razreda I i zadržava ih u ER-u (20). **US11** i **US2** proteini usmjeravaju MHC molekule razreda I prema proteasomskoj razgradnji (21). Nadalje, pokazano je da kombinacija citosolnih i ER rezidentnih aminopeptidaza oblikuju „bazen antigenih peptida“ kao što je prikazano u slučaju



imunodominantnog CMV pp65495-503 CT L epitopa (22). Značajno je da CMV virioni mogu čak vezati  $\beta$ 2-m na površini stanice, te ga koristiti kao receptor za ulazak virusa u stanicu (23). **HHV-7** izbjegava imunološki odgovor na način da inhibira predočavanje virusnog proteina U21 MHC molekulama razreda I (24). Nadalje, **HHV-8 (KSHV)** izražava proteine **K3** i **K5** što dovodi do smanjenja regulacije MHC molekula razreda I (25).

**Tablica 2. Herpesvirusni peptidi/proteini i miRNA kao mehanizmi usmjereni na nishodnu regulaciju MHC molekula razreda I** (detaljniji opis nalazi se u tekstu).

<b>Mehanizmi usmjereni na nishodnu regulaciju MHC molekula razreda I</b>				
	Stvaranje peptida	Transport peptida	Punjenje peptida	Zadržavanje MHC razreda I
Virusni protein/peptid	vIL-10(EBV) BGLF5 (EBV) EBNA-1 (EBV)	ICP47(HSV-1) BNLF2a (EBV) vIL-10 (EBV) US6 (CMV)	US3 (CMV)	ORF66 (VZV) BILF1 (EBV) BDLF3 (EBV) US10 (CMV) US11 (CMV) US2 (CMV) U21 (HHV-7) K3 (KSHV) K5 (KSHV) LANA1 (KSHV)
Virusne mikroRNA	miR-US4-1 (CMV)	miR-BART17 (EBV) miR-BHRF1-3 (EBV)	/	/

## 5. ULOGA VIRUSNIH MIKRORNA

Ne samo da se proteini kodirani virusom mogu suprotstaviti imunološkom nadzoru ometajući peptidnu obradu i predočavanje MHC molekula razreda I, već se također i navodi da virusno kodirane miRNA ometaju imunološki nadzor posredovan MHC-I molekulama. miRNA su male jednolančane nekodirajuće RNA od približne duljine 19-25 nukleotida (nt) (26), čije se sekvence specifično vezuju za 3'-neprevedeno područje (UTR), ali rjeđe na 5'-UTR i kodirajuće sekvence (CDS) ciljanih mRNA (27). Vezanje miRNA na ciljani mRNA rezultira inhibicijom translacije što dovodi do skladištenja mRNA ili u većini slučajeva do njezinog raspada (28). Samo područja miRNA između drugog do sedmog nukleotida pokazuju

savršenu homolognu sekvencu komplementarnu s ciljnom mRNA sekvencom, ali utjecaj njihove duljine i rezultirajuća represija ciljne molekule trenutno je predmet kontroverznih rasprava (29). Nadalje, jedan jedini miRNA može kontrolirati sudbinu mnogih različitih ciljnih mRNA (30). Neki od miRNA utječu na biološke važne stanične funkcije tumora, poput proliferacije stanica, migracije stanica, invazije, angiogeneze, inducibilnosti apoptoze, prepoznavanja imunih stanica i drugih. Stoga se, na temelju njihovih ciljnih gena, neki miRNA mogu grupirati u onkogene, tumor supresorske ili imunomodulacijske miRNA (31). Do sada je identificirano više od 250 virusnih miRNA, pretežno kodiranih herpesvirusima. Herpesvirusi kodiraju i eksprimiraju ne samo vlastite miRNA koje se vežu za određene mRNA domaćina, nego nadalje mijenjaju kompletan miRNA transkriptom stanice-domaćina u tijeku infekcije (32). U slučaju **EBV-a**, virusom posredovana indukcija onkogenog *miR-155* u limfocitima B domaćina jedan je od glavnih molekularnih mehanizama za imortalizaciju i malignu transformaciju (33). S druge strane, *miR-BART-1* kodiran EBV-om djeluje na tumor supresorski gen PTEN, što je povezano s metastaziranjem tumora (34). Virusni *miR-BART16* djeluje na transkripcijski koaktivator CREBBP mRNA i na taj način inhibira IFN signalizaciju tipa I i kao i neke druge ciljne gene što za posljedicu ima prethodno u tekstu spomenutu imortalizaciju i zloćudnu transformaciju stanica. Ukoliko virusna infekcija ima utjecaj na izlučivanje određenih faktora poput hormona, citokina i kemokina, postoji mogućnost zahvaćanja i virusom neinficiranih tkiva, stanica i organa, uključujući i stanice imunološkog sustava. U stvari, KSHV nishodno regulira tumorsupresorske miR-221, miR-222 i članove obitelji let7 zaražene stanice domaćina (35). Herpesvirusi izražavaju miRNA tijekom litičke faze i tijekom faze latencije (36). Iako su identificirani biološki i imunološki ciljevi virusnih miRNA, za sada nema konkluzivnih dokaza da virusi kodiraju dodatne miRNA-procesuirajuće enzime ili neke od dodatnih RISC (RNA-induced silencing complex) komponenata obzirom da se virusne miRNA koriste mehanizmima inficirane stanice domaćina (35). Nadalje, EBV

cilja mRNA TAP2 pomoću miR-BART17 i miR-BHRF1-3 (37). CMV kodira za miR-US4-1 negativno regulirajući ER-rezidentnu aminopeptidazu ERAP1 koja je uključena u oblikovanje/obrezivanje peptida za kasnije predstavljanje MHC molekulama razreda I (38). Pretpostavlja se da u budućnosti će se identificirati više miR-ova kodiranih virusom herpesa koji umanjuju funkciju MHC molekula razreda I APM. Svi do sada zabilježeni virusno kodirani proteini i regulatorne miRNA koji utječu na prezentaciju antigena posredstvom MHC molekula razreda I sažeti su u [tablici 3](#).

## 6. VAŽNOST CITOKINA I KEMOKINA

Imunološki sustav sisavaca osjeća prisutnost čestica herpesvirusa pomoću niza receptora za prepoznavanje uzorka (PRR), koji prepoznaju ligande, odnosno proteine i nukleinske kiseline specifične za viruse. Otkrivanje ovih molekularnih uzoraka povezanih s patogenima (PAMP) tada pokreće unutarstanične, prirodene imunološke signalne putove koji mogu oblikovati naknadni specifični imunološki odgovor proizvodnjom citokina, kemokina i poticanjem izražaja kostimulacijskih molekula limfocita T (39). Primarni cilj odgovora domaćina je uništavanje zaražene stanice pokretanjem djelotvornog staničnog imunološkog odgovora. Kemokini i citokini služe za regrutiranje i aktiviranje imunoloških stanica, uključujući citotoksične limfocite T. Herpesvirusi su tijekom evolucije stekli nekoliko načina kako bi umanjili djelovanje ovih efektorskih molekula. Poznato je da je za rani antivirusni odgovor potrebno lučenje određenih proupalnih citokina, uključujući, između ostalih, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-12, IL-18 i IL-23 (40), što dovodi do aktivacije fagocitnih stanica poput makrofaga, ali i do aktivacije CTL-a i stanica NK. Kao posljedica djelovanja ovih proupalnih citokina, oslobađaju se proupalni kemokini, poput CXCL-8, CCL2 (MCP-1), CCL3, CCL4, CCL5 (Rantes), CCL11, CXCL10 koji regrutiraju druge izvršne stanice imunskog odgovora (41). Cilj djelovanja virusa je *sprječavanje interakcija između MHC- I molekula, koje predočavaju njihove antigene, i CTL-a, koji ubijaju prepoznatu stanicu.*

Jednako tako, žele *spriječiti i interakciju stanica NK sa zaraženom stanicom putem NKG2D-L i/ili drugih aktivirajućih molekula*. Neke od virusnih strategija uključuju i *supresiju izlučivanja proupalnih citokina/kemokina i/ili povećano lučenje protuupalnih citokina/kemokina*. Odgovarajući sažetak ciljnih citokina i kemokina naveden je u [tablici 3](#), gdje se vidi da mehanizam supresije nerijetko uključuje djelovanje odgovarajućih miRNA. **HHV-1** potiskuje nekoliko proupalnih citokina, uključujući IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha/\beta$ , CCL5 (Rantes) i IL-12, IL-23 od strane proteina lokaliziranih u tegumentu - **VP16, ICP4 i ICP27**, čime se naglašava važnost ovih molekula za rano izbjegavanje imunološkog odgovora (42). **EBV** inhibira signalni put IFN- $\gamma$  nizvodno svojim neposrednim ranim proteinom **BZLF1** (43). Nadalje, EBV litički transaktivator **Zta** okarakteriziran je kao snažni supresor stvaranja IFN- $\beta$ , dok EBV protein **LMP1** inhibira TNF- $\alpha$  (44,45). Protein LMP1 inducira izlučivanje protuupalnog citokina IL-10, dok EBV **miR-BHRF1-2-5p** blokira proupalni signal IL-1 (45,46). **Humani citomegalovirus** interferira s IFN- $\alpha$  signalnim putem na više razina te također svojim **US9** proteinom inhibira IFN- $\beta$  odgovor (47,48). Također je usmjeren na TNF- $\alpha$ 115, kao i na IFN- $\gamma$  induciranu ekspresiju gena pomoću kodiranog proteina UL23 (49).  $\beta$ -potporodica i  $\gamma$ -potporodica herpesvirusa kodiraju za vlastite virusne kemokine, pa čak i za virusne kemokinske receptore za koje se zna da vežu i ometaju funkcije kemokina stanica domaćina (50). CMV **UL21.5 mRNA** je također zapakirana u virionu, a njezin protein veže i blokira funkciju CCL5 (Rantes), dok protein **US28** blokira CCL5 funkciju (51,52). **KSHV** izražava virusni kemokin vCCL2 koji je antagonist širokog spektra kemokinskih receptora, što može usporiti regrutiranje antivirusnih imunoloških stanica na mjesto infekcije (50). KSHV infekcija nadalje je popraćena smanjenim lučenjem TNF- $\alpha$  i IL-1 (53).

**Tablica 3. Modulacija staničnih citokina/kemokina posredovana herpesvirusnim proteinima i miRNA**  
(detaljniji opis nalazi se u tekstu)

	$\alpha$ -potporodica	$\beta$ -potporodica	$\gamma$ -potporodica	
	HSV-1	CMV	EBV	KSHV
Nishodna regulacija proupalnih citokina/kemokina od strane virusnih proteina i miRNA	IL-6, IL-12, IL-23, TNF- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , CCL5 preko VP, ICP4, ICP27	IFN- $\alpha$ i IFN- $\beta$ preko US9, TNF- $\alpha$ i IFN- $\gamma$ , CCCL5 preko UL21.5 i US28	IFN- $\gamma$ preko BZLF1 i preko Zta, TNF- $\alpha$ preko LMP1, IL-1 preko miR-BHRF1-2-5p	TNF- $\alpha$ i IL-i

## 7. STANICE NK

U rastućem polju istraživanja prirodnih limfoidnih stanica (ILC), stanice prirodne ubojice (NK), koje pripadaju ILC skupini I, najbolje su okarakterizirana populacija. One predstavljaju do 15% limfocita u perifernoj krvi, prisutne su u raznim tkivima i limfoidnim organima te se mogu učinkovito regrutirati na mjesta virusne infekcije (54,55). Stanice NK eksprimiraju različite površinske receptore koji mogu pokrenuti ili inhibirati njihovu funkciju (citotoksičnost i oslobađanje citokina). Većina aktivirajućih receptora prepoznaje ligande koji se mogu inducirati stresom ili aktivacijom stanica i stoga se mogu izražavati u virusom zaraženim ili tumorskim stanicama. Ti receptori uključuju NKG2D, receptore prirodne citotoksičnosti (NCR) (npr. NKp30, NKp44 i NKp46), receptor DNAM-1 itd. S druge strane, inhibicijski receptori tipično prepoznaju MHC molekule razreda I, koje izražavaju gotovo sve zdrave stanice. U ljudi, inhibicijski receptori specifični za humani leukocitni razred I (HLA-I), a predstavljaju ih heterodimerni receptori CD94 / NKG2A i brojnim KIR receptorima. Stanice NK također izražavaju određene aktivacijske receptore specifičnih za molekule HLA-I (tj. aktivacijske KIR-ove i CD94/NKG2C). [Tablica 4](#) daje pregled nekih od bolje karakteriziranih receptora NK stanica i njihovih poznatih liganada. Receptori KIR, NKG2A i NKG2C prepoznaju jedinstvene obrasce alela HLA-I i klonski su raspoređeni unutar pojedinačne stanične populacije, što doprinosi "raznolikosti" repertoara stanica NK. Nije potpuno razumljivo kako se taj repertoar generira i regulira tijekom individualnog životnog vijeka. Ipak, postoje dokazi koji sugeriraju da virusne infekcije, posebno neke herpesvirusne infekcije, mogu

sudjelovati u tom procesu (56). U ljudi infekcija humanim citomegalovirusom (HCMV) može inducirati NKG2C<sup>+</sup> NK-staničnu ekspanziju (57), dok se kod miševa pokazalo da infekcije mišjim citomegalovirusom (MCMV) promiču dugotrajno prisustvo stanica NK koje reagiraju na virus i izražavaju Ly49H-receptor specifičan za MHC-slične molekule (58). Ova zapažanja, zajedno s nedavnim nalazima o epigenetici diverzifikacije stanica NK, sugeriraju da stanice NK mogu pokazivati i neke osobine zajedničke "prilagodljivim" ili "memorijskim" stanicama, barem za određene podskupine stanica NK, što ukazuje na određenu razinu funkcionalne plastičnosti unutar populacije stanica NK. Ovaj aspekt biologije stanica NK također je predložen u prethodnim studijama koje su pokazale da bi se stanice NK mogle "educirati" u smislu povećavanja svog citotoksičnog potencijala tijekom terminalne faze diferencijacije ili da se prilagode promjenama u okolišu (59). Bez obzira na funkcionalnu plastičnost, NK-stanicama posredovano prepoznavanje i ubijanje stanice zaražene virusom određuje se vrstom i količinom receptora stanica NK uključenih u prepoznavanje te razinom ispoljavanja i vrstom liganada tijekom interakcije između stanice NK i ciljne stanice. Rezultirajuća ravnoteža u aktivacijskim / inhibicijskim signalima odredit će hoće li stanica NK aktivirati svoj citolitički program, što će rezultirati degranulacijom sekretornih lizosoma (koji sadrže perforine i granzime) i na kraju dovesti do oštećenja i smrti ciljne stanice apoptozom. U određenim dijelovima tijela, uključujući jetru, stanice NK također mogu izražavati FAS-L i TRAIL (TNF-om povezan ligand koji inducira apoptozu) čijim vezivanjem se inducira apoptoza pokretanjem signalnih receptora izraženih na ciljnim stanicama. Uz svoju citolitičku funkciju, aktivirane stanice NK također su važan izvor citokina, posebno interferona gama (IFN- $\gamma$ ), čime usmjeravaju adaptivni imunološki odgovor na unutarstanične patogene (primjerice, uključanjem Th1 staničnog profila).

Herpesvirusi uzrokuju smanjen izražaj MHC molekula razreda I na površini zaraženih stanica (što su ujedno ligandi za inhibicijske receptore stanica NK) u pokušaju smanjenja njihovog

prepoznavanja i uklanjanja od strane CD8<sup>+</sup> citotoksičnih limfocita T (60). Uz to, virusna infekcija može pokrenuti stanične reakcije na stres (npr. odgovor na oštećenje DNA), što rezultira regulacijom molekula povezanih sa stresom, uključujući različite ligande za aktiviranje receptora NK stanica NKG2D i DNAM-1. Takve promjene izazvane virusom u ekspresiji liganada receptora stanica NK čine zaražene stanice osjetljivim ciljevima za stanice NK. Posljedično tome, mnogi virusi su razvili različite mehanizme za suzbijanje kontrole infekcije posredovane stanicama NK.

**Tablica 4. Pregled odabranih aktivacijskih i inhibicijskih receptora stanica NK uz njihove pripadajuće ligande u ljudi i u miševa (61).** (detaljnije objašnjenje nalazi se u tekstu)

	HUMANI		MIŠJI	
	Receptor	Ligand	Receptor	Ligand
<b>AKTIVACIJSKI</b>	DNAM-1 (CD226)	PVR (Necl5, CD155), nektin 2 (CD112)	DNAM-1 (CD226)	PVR (Necl5, CD155), nektin 2 (CD112)
	CRTAM (CD335)	Necl-2	CRTAM (CD335)	Necl-2
	NKG2D	MICA/B, ULBP1 do -6	NKG2D	Rae-1, MULT-1, H60
	NKp46 (CD335)	Virusni HA i HN, CFP (properdin)	NKp46	Virusni HA, CFP (properdin)
	Nkp30 (CD337)	B7-H6, BAT3, HCMV pp65		
	CD16	Fc dijelovi IgG	CD16	Fc dijelovi IgG
	2B4 (CD244)	CD48	2B4 (CD244)	CD48

	Aktivacijski KIR	HLA-A11, Bw-4		
	NKp80	AICL1		
	NKp65	KACL		
	CD94- NKG2C/E/H	HLA-E (za CD94- NKG2C)	KLRD1-KLRC2/3 (CD94-NKG2C/E), PILR beta	PVR (Necl5, CD155), nektin 1 (CD111)
	Taktilni (CD96)	CD155 (Necl, CD155)	Taktilni (DC96)	
	<b>INHIBICIJSKI</b>	Inhibicijski KIR	Polimorfizmi MHC molekula razreda I	Inhibicijski Ly49
NKR-P1A		LLT1	NKR-P1B	Clr-b
CD94- NKG2A/B		HLA-E	KLRD1-KLRC1 (CD94-NKG2A)	Qa-1(b)
TIGIT		PVR (Necl5, CD155), nektin 2 (CD112)	TIGIT	PVR (Necl5, CD155), nektin 2 (CD112)
LIR-1 (ILT- 2/CD85j/LILR B1)		HLA ( $\alpha$ 3), HCMV UL18		
IRp60		PS, PE	CD300a	PS, PE
CEACAM1 (CD66)		CEACAM1 (CD66), TIM-3 (HAVCR2)	CEACAM1	CEACAM1, TIM-3 (HAVCR2)



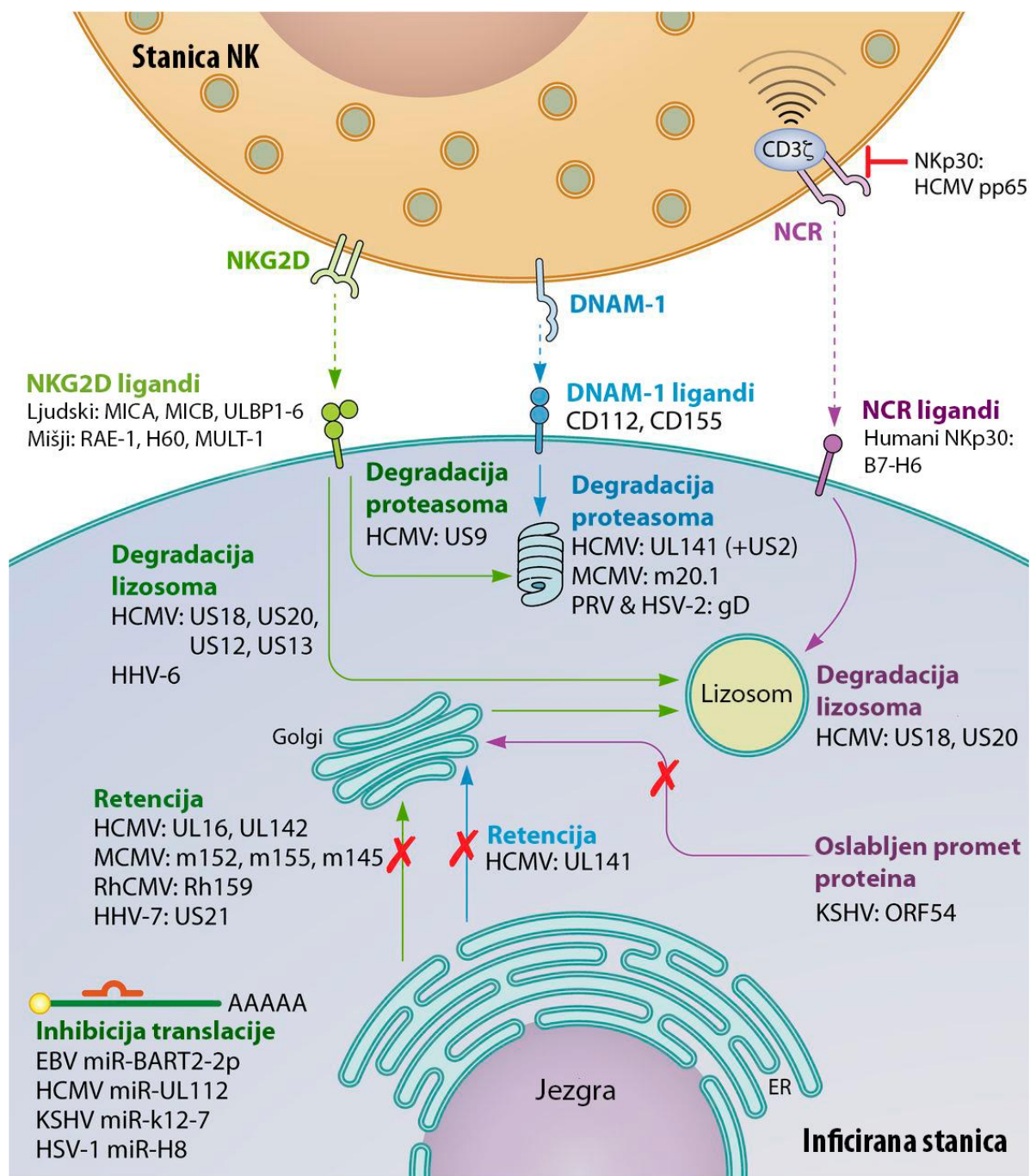
## 8. ULOGA STANICA NK U KONTROLI HERPESVIRUSNIH INFEKCIJA

Iako je opisano nekoliko značajnih razlika u genetskom sadržaju i patogenezu za potporodice tri različite podgrupe Herpesviridae (*Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae*, *Gammaherpesvirinae*), zajednička značajka svih herpesvirusa je njihova sposobnost da razviju složenu i osjetljivu ravnotežu s imunološkim sustavom svog domaćina. To im omogućuje uspostavu doživotnih infekcija koje u imunokompetentnih domaćina obično nisu opasne po život. Nije iznenađujuće što narušavanje ove suptilne ravnoteže može imati duboke posljedice. To je osobito slučaj kod pacijenata koji pate od nedostataka u prirođenom imunološkom odgovoru, posebno sustavu interferona tipa I i stanicama NK (60,62). Članovi sve tri potporodice herpesvirusa u stvari mogu predstavljati neke od većine važnih virusnih ciljnih aktivnosti stanica NK. Kao rezultat toga, pacijentima s različitim vrstama nedostataka NK stanica dijagnosticirane su otežane, po život opasne, a ponekad i fatalne infekcije herpesvirusima sve tri potporodice, uključujući HSV-1 i HSV-2 alfa herpesvirusa, varicella-zoster virus (VZV), HCMV beta herpesvirusa i gamma herpesvirus Epstein-Barr (EBV) (62,63). Ključna uloga stanica NK u ravnoteži herpesvirusa i domaćina također je prikazana brojnim mehanizmima izbjegavanja koje su herpesvirusi razvili kako bi usporili i suzbili aktivnost i eliminaciju od strane stanica NK.

## 9. IZBJEGAVANJE ODGOVORA OD STRANE STANICA NK

Opisano je mnoštvo različitih strategija izbjegavanja odgovora stanica NK kod herpesvirusnih infekcija. Većina tih strategija sastoji se od mehanizama za suzbijanje signalizacije putem aktivirajućih receptora stanica NK ili mehanizama koji pokreću inhibicijsko signaliziranje stanica NK. [Slika 1](#) i [slika 2](#) daju pregled nekih od najvažnijih herpesvirusnih strategija izbjegavanja koje uključuju ometanje aktiviranja NK signalizacije ili povećanje/održavanje inhibicijske signalizacije stanica NK. Ove i druge strategije detaljnije su objašnjene u sljedećim poglavljima.

## 9.1. SUPRESIJA SIGNALA KOJI AKTIVIRAJU STANICE NK



**Slika 1. Interakcija između herpesvirusa i aktivacijskih receptora NK stanica (61).** Detaljnije objašnjenje nalazi se u tekstu.

### 9.1.1. NKG2D

NKG2D (CD226) je snažan aktivacijski receptor i esencijalna komponenta imunološkog sustava za otkrivanje opasnosti. Povećana regulacija izražaja NKG2D liganda može biti pokrenuta reakcijom oštećenja DNA i događa se u transformiranim stanicama i stanicama zaraženim virusima. Angažiranje NKG2D na stanicama NK, ali i na citotoksičnim limfocitima T može potaknuti njihovu citolitičku aktivnost (64,65). Brojna istraživanja ukazuju na relevantnost NKG2D receptora u odgovoru na infekciju herpesvirusima. Zabilježeno je da sve tri potporodice herpesvirusa razvijaju strategije za suzbijanje mehanizama prepoznavanja inficiranih stanica posredovanih NKG2D. Kao i kod većine strategija izbjegavanja djelovanja NK stanica, to je najbolje dokumentirano na **citomegalovirusnim modelima**. U miševa su identificirana tri liganda za NKG2D: rano inducibilna retinoična kiselina 1 (**RAE-1**), manji protein histokompatibilnosti 60 (**H60**) i mišji transkript nalik proteinu koji veže UL-16 (**MULT-1**). MCMV infekcija dovodi do povećane transkripcije NKG2D liganda, što bi moglo rezultirati snažnom reaktivnošću stanica NK posredstvom NKG2D (66,67). Međutim, tom ishodu se snažno suprotstavlja nekoliko MCMV mehanizama izbjegavanja. Većina tih strategija izbjegavanja sastoji se od zadržavanja novosintetiziranih NKG2D liganda u endoplazmatskom retikulumu (ER)/Golgijevom aparatu, premda je također opisano pokretanje endocitoze NKG2D liganda (npr. RAE-1 $\epsilon$  od strane *mI38*). Za MCMV glikoprotein gp40 se u početku smatralo da nishodno regulira MHC molekule razreda I, što bi ipak posljedično dovelo do povećanog odgovora posredovanog stanicama NK (68). Međutim, smatralo se i da nishodno regulira NKG2D ligand H60. Ipak, naknadna istraživanja su pokazala da *gp40* sprječava ekspresiju drugog NKG2D liganda - RAE-1 (69,70). Uz ometanje površinske ekspresije RAE-1 i H60, MCMV također suzbija površinsku ekspresiju MULT-1, putem svog *mI45*-kodiranog glikoproteina, pripadnika iste obitelji (66). Još jedan MCMV protein, koji ne pripada obitelji *mI45*, također ometa ekspresiju površinske stanice mišjih NKG2D liganda. MCMV *mI38*, virusni Fc receptor koji se veže i time inaktivira Fc domenu imunoglobulina,

također smanjuje i regulaciju MULT-1, H60 i specifičnu varijantu RAE-1, RAE-1ε (71,72). Sve ove strategije izbjegavanja važne su za patogenezu MCMV jer mutanti bilo kojeg od ovih virusnih gena koji interferiraju s NKG2D pokazuju smanjenu virulenciju koja se može obnoviti nakon deplecije stanica NK i/ili blokiranja NKG2D (66,69,73). Također je važno napomenuti da MCMV-om posredovano izbjegavanje NKG2D može ovisiti ne samo o virusnim proteinima već i o virusnoj miRNA, iako trenutno nema izravnih dokaza koji podržavaju tu hipotezu. Međutim, replikacija mutantnog MCMV-a kojem nedostaju dvije virusne miRNA; miR-M23-2 i miR-m21-1, selektivno je smanjena u žlijezdama slinovnicama, važnom organu za perzistenciju i prijenos virusa, koji bi se mogli obnoviti kombiniranim iscrpljivanjem stanica NK i CD4<sup>+</sup> limfocita T (74). Stoga, iako je temeljni mehanizam trenutno nejasan, moguće je da poput HCMV, MCMV također kodira miRNA koje ometaju aktivnost stanica NK i/ili ekspresiju NKG2D liganda. U ljudi, NKG2D ligandi uključuju protein AH povezan s lancem MHC razreda I (MICA), MICB i protein 1 koji veže UL16 (ULBP1) do ULBP6. Kao i kod MCMV, HCMV infekcija dovodi do povećane ekspresije različitih NKG2D liganada izazvanih stresom, ali toj regulaciji učinkovito se suprotstavlja nekoliko mehanizama izbjegavanja djelovanja stanica NK na virusom zaražene stanice, primjerice, putem virusnog glikoproteina UL16. U stvari, ULBP su i otkriveni njihovom sposobnošću vezanja UL16 i u skladu s tim imenovani su kao proteini koji vežu UL16 (ULBP). Ekspresija ULBP-a na površini stanice pokreće citotoksičnost stanica NK, a UL16 uzrokuje unutarstanično zadržavanje nekoliko ULBP-a (ULBP1, -2 i -6), time smanjujući citotoksičnost stanica NK (75,76). Uz to, UL16 također uzrokuje unutarstaničnu retenciju drugog važnog NKG2D liganda, MICB (77). Izvanstanična domena UL16 uključena je u vezanje na različite NKG2D ligande, dok je transmembranska i citoplazmatska domena uključena u zadržavanje na ER-u i *cis*-Golgijevom aparatu. UL16 veže MICB, ali ne i usko povezani MICA, što je posljedica razlika u izvanstaničnim  $\alpha 2$  domenama ovih proteina (78). Dakle, UL16 cilja mnoge NKG2D ligande,

ali ne utječe na sve njih. Nadalje, identificiran je i sve veći broj HCMV proteina s komplementarnom i preklapajućom paletom specifičnosti NKG2D liganda, a kojima je zadaća upravo izbjegavanje NKG2D (evasini). *Glikoprotein UL142* HCMV-a smanjuje MICA i ULBP3, također zadržavanjem na *cis*-Golgijevom aparatu (79). Probiranjem dijela HCMV genoma, Fielding i sur. identificirali su dva dodatna NKG2D evasina, *US18* i *US20*, koji djeluju usmjeravanjem MICA na lizosomsku razgradnju (80). Nedavno su, u naknadnoj studiji, ovi autori identificirali *US12* genetsku obitelj HCMV, koja se sastoji od 10 sekvencijalno raspoređenih gena (*US12* do -21), kao novo glavno središte imunološke regulacije u izbjegavanju odgovora stanica NK. Pokazali su da genski proizvodi nekoliko članova *generacije US12* genetski selektivno ciljaju proteine plazmatske membrane, uključujući ligande stanica NK, adhezijske molekule i citokinske receptore. Tako su pokazali da osobito *US13* i, u skladu s njihovim ranijim nalazima, *US20* značajno doprinose smanjenju regulacije MICA i MICB posredovane HCMV-om, te da *US12*, *US13* i *US20* doprinose smanjenju ULBP2. Također su otkrili da različiti članovi obitelji *US12* gena surađuju u svrhu regulacije izražaja NKG2D liganda (81). U skladu s njihovim ranijim nalazima o *US18* i *US20*, nishodna regulacija mnogih ciljnih proteina od strane genske porodice *US12* (uključujući NKG2D ligande MICB i u manjoj mjeri ULBP2), mogla bi se smanjiti do neke mjere inhibicijom puta degradacije lizosoma (81). Od različitih NKG2D liganada, MICA je najpolimorniji, s oko 80 poznatih alela (82). Skraćeni alel MICA\* 008 pokazuje najveću prevalenciju u ljudskoj populaciji. Zanimljivo je da MICA\* 008 nije ciljna molekula nekih HCMV imunoevasina, primjerice UL142, iz razloga što mu nedostaje citoplazmatska domena, a za površinu stanice vezan je GPI sidrom (83). Budući da UL142 ne regulira MICA\* 008, dugo se smatralo da ovaj NKG2D ligand predstavlja "varijantu bijega" otpornu na HCMV strategije izbjegavanja (84). Međutim, u novije vrijeme Seidel i sur. izvijestili su da protein *US9* HCMV-a u transficiranim stanicama (u uvjetima prekomjerne ekspresije) specifično smanjuje MICA\* 008 usmjerujući

ga u proteasomsku razgradnju. Ipak učinak nije bio očit u stanicama zaraženim HCMV-om (85). Autori su pretpostavili da dodatni, još uvijek nepoznati virusni čimbenici uzrokuju unutarstaničnu retenciju MICA\*008 u HCMV-zaraženim stanicama te da US9 specifično ometa njegovo GPI sidrenje, preusmjeravajući ga na citosol i proteasome (85).

Pored gore objašnjenih raznolikih strategija za smanjenje regulacije liganda NKG2D posredovanih proteinima, HCMV također koristi *strategiju miRNA* za suzbijanje ovog puta citotoksičnosti stanica NK. Primjena algoritma za predviđanje miRNA ciljnih molekula u HCMV zaraženim stanicama dovela je do identifikacije HCMV *miR-UL112* kao supresora ekspresije MICB. Ekspresija MICB i MICA u stanicama domaćina strogo je regulirana od strane nekoliko staničnih mikroRNA. Zanimljivo je da je utvrđeno da HCMV *miR-UL122* djeluje sinergijski sa staničnom mikroRNA *miR-376a* kako bi učinkovito suzbio ekspresiju MICB (86).

U limfoblastoidnim staničnim linijama latentno zaraženim **EBV-om**, ekspresija proteina LMP2A dovodi do smanjenja regulacije MICA i ULBP4. Iako ovo potiskuje reaktivnost EBV-specifičnih CD8<sup>+</sup> T-staničnih klonova, potencijalne funkcionalne posljedice u vezi s reaktivnošću stanica NK još nisu elucidirane (87). Analogno HCMV-u, ljudski gama-herpesvirusi KSHV i EBV kodiraju miRNA koja djeluje na izražaj MICB, *miR-K12-7* i *miR-BART2-5p*, što rezultira smanjenom aktivnošću stanica NK. Autori su pretpostavili da bi MICA možda mogao izbjeći djelovanje herpesvirusnih miRNA mutiranjem i/ili skraćivanjem svoje 3' neprevedene regije (UTR) (88). Iako HCMV, KSHV i EBV kodiraju miRNA koja cilja MICB, zanimljivo, ove virusne miRNA ne dijele homologiju sekvenci, što može ukazivati na konvergentnu evoluciju.

Alfa-herpesvirusi također utječu na ekspresiju NKG2D liganda. **HSV-1** i **VZV** uzrokuju smanjenje regulacije određenih NKG2D liganada, a nedavno je otkriveno da infekcija stanica

svinjskim alfa-herpesvirusnim pseudorabies virusom (**PRV**) rezultira smanjenim vezanjem rekombinantnog NKG2D (89). HSV-1 infekcija stanica dovodi do smanjene razine MICA, ULBP1, ULBP2 i ULBP3 (89). Infekcija VZV-om također modulira izražaj NKG2D liganada na staničnoj površini, uzrokujući regulaciju ekspresije MICA i smanjenu ekspresiju ULBP2 i ULBP3 (89). Iako u alfa-herpesvirusa nisu pronađene miRNA koje specifično ciljaju na MICA, navodi se kako HSV-1 miR-H8 djeluje na put GPI sidra, time smanjujući razinu ekspresije ULBP2 i ULBP3, ali ne i MICA/B i ULBP1 (90).

#### 9.1.2. DNAM-1

Osim interakcije s NKG2D, zabilježeno je kako mnogi herpesvirusi interferiraju s nekoliko drugih aktivacijskih receptora. Opisano je izbjegavanje DNAM-1 putem regulacije glavnih liganada CD155 (poliovirusni receptor [PVR]) i CD112 (nektin 2) u pripadnika alfa- i beta-herpesvirusa. Rani izvještaji već su pokazali da su fibroblasti zaraženi atenuiranim laboratorijskim sojevima **HCMV** poput AD169 i Towne pokazali veću osjetljivost na lizu posredovanu NK-stanicama od stanica zaraženih kliničkim izolatima (91). Tomasec i sur. upotrijebili su ove podatke kao polaznu točku za identificiranje *UL141* genskog proizvoda HCMV kao proteina koji štiti zaražene stanice od učinkovite lize posredovane stanicama NK. (92). *UL141* nalazi se na desnom kraju jedinstvenih dugih (UL) regija u regiji (UL/b') koja je obrisana u AD169 i Towne genomima. Ova delecija utječe i na druge HCMV gene za moduliranje stanica NK, uključujući *UL142* i *UL135*. Utvrđeno je da sojevi HCMV koji kodiraju *UL141* učinkovito smanjuju ekspresiju DNAM-1 liganda CD155, dok su stanice zaražene sojevima koji nemaju *UL141* povećano regulirale CD155 u usporedbi s kontrolnim skupinama (92). Uz to, transfekcija glikoproteina *UL141* bila je dovoljna za smanjenje regulacije CD155, zadržavanjem CD155 kao nezrelog proteina u ER (92). Nedavno je utvrđeno da poput HCMV-a, **MCMV** također smanjuje površinsku ekspresiju CD155. Ova regulacija ovisi o proteinu MCMV *m20.1*, koji poput HCMV *UL141* također zadržava CD155 u ER-u i

potiče njegovu razgradnju (93). Kasnije studije pokazale su da UL141 također suzbija ekspresiju na površini stanica glavnog DNAM-1 liganda, CD112, i usmjeruje ga na proteasomsku razgradnju (62). Međutim, za učinkovitu razgradnju CD112 pomoću UL141 potrebna je pomoć drugih virusnih genskih proizvoda, uključujući US2, koji regrutira stanične E3 ligaze TRC8 do UL141 i druge ciljane stanične molekule (94). U nekoliko alfa-herpesvirusa različitih vrsta, gD glikoproteinski omotač igra bitnu ulogu u ulasku virusa u stanicu domaćina interakcijom s jednim od receptora ulaska.

Nekim alfa-herpesvirusima, DNAM-1 ligandi CD112 i CD155 služe kao gD receptori (95). Za **PRV** i **HSV-2** pokazano je da je sinteza gD u zaraženim ili transficiranim stanicama rezultirala smanjenjem regulacije i razgradnjom CD112, čime je suzbijena liza tih stanica posredovana stanicama NK (96). Zanimljivo je da je, kao i u stanicama zaraženim HCMV sojevima kojima nedostaje UL141 (92), infekcija stanica sojevima PRV/HSV-2 s nedostatkom gD rezultirala povećanom razinom DNAM-1 liganda (96), što sugerira da povećana ekspresija DNAM-1 liganda može biti dio općeg odgovora stanice domaćina na herpesvirusnu infekciju, uključujući i stanični odgovor na oštećenje DNA. Važno je napomenuti kako CD155 i CD112 služe kao ligandi ne samo za DNAM-1 već i inhibicijskom NK-staničnom receptoru TIGIT (97).

#### 9.1.3. NCR

Zabilježeni su različiti mehanizmi izbjegavanja aktivnosti receptora prirodne citotoksičnosti (NCR) od strane herpesvirusa. Primjerice, **HCMV** cilja NKp30 suprimiranjem ekspresije staničnih NKp30 liganada i ometanjem signalizacije posredovane NKp30. S jedne strane, utvrđeno je da HCMV *US18* i *US20*, koji također ciljaju MICA, suzbijaju ekspresiju NKp30 liganda B7-H6 na staničnoj površini (81,98). Kao i u slučaju MICA, regulacija B7-H6 uključuje lizosomsku razgradnju i rezultira oslabljenom aktivacijom stanica NK (81). S druge strane, *pp65* kao glavni tegumentni protein HCMV-a, stupa u interakciju s NKp30 i inducira njegovu disocijaciju od CD3zeta signalnog lanca, čime prekida signalni kapacitet NKp30 i



smanjuje ubijanje posredstvom stanica NK (99). Nadalje, u slučaju latentne zaraze gama-herpesvirusom **KSHV**, kada su stanice bile potaknute na ulazak u program litičke replikacije, ekspresija proteina kodiranog virusnim otvorenim okvirom za čitanje 54 (ORF54) rezultirala je smanjenom regulacijom nepoznatog NKp44 liganda. Protein kodiran ORF54 je dUTPaza, ali njegovo enzimsko djelovanje ne pridonosi modulaciji NKp44 liganda, što zapravo ovisi o perturbaciji membranskog prijenosa proteina (100).

#### 9.1.4. CD16 (FcγIII receptor)

NK stanice mogu izražavati Fcγ receptor CD16, koji, nakon vezanja IgG-opsoniziranih ciljnih stanica, aktivira snažni aktivacijski signal te započinje snažan proces ADCC reakcije (stanična citotoksičnost ovisna o protutijelima). Otvajljeno je da nekoliko herpesvirusa kodira virusne Fc receptore koji se mogu vezati i time zaštititi Fc domene protutijela. To uključuje gE-gI HSV-a, VZV-a i PRV-a, gp34, gp95, gpRL13 i gp68 HCMV-a i m138 MCMV-a (68,101,102). Za HCMV se pokazalo da ekspresija gp34 i gp68 suzbija aktivaciju stanica NK (103). Trenutno je nejasno vrijedi li to i za druge herpesvirusne Fc receptore.

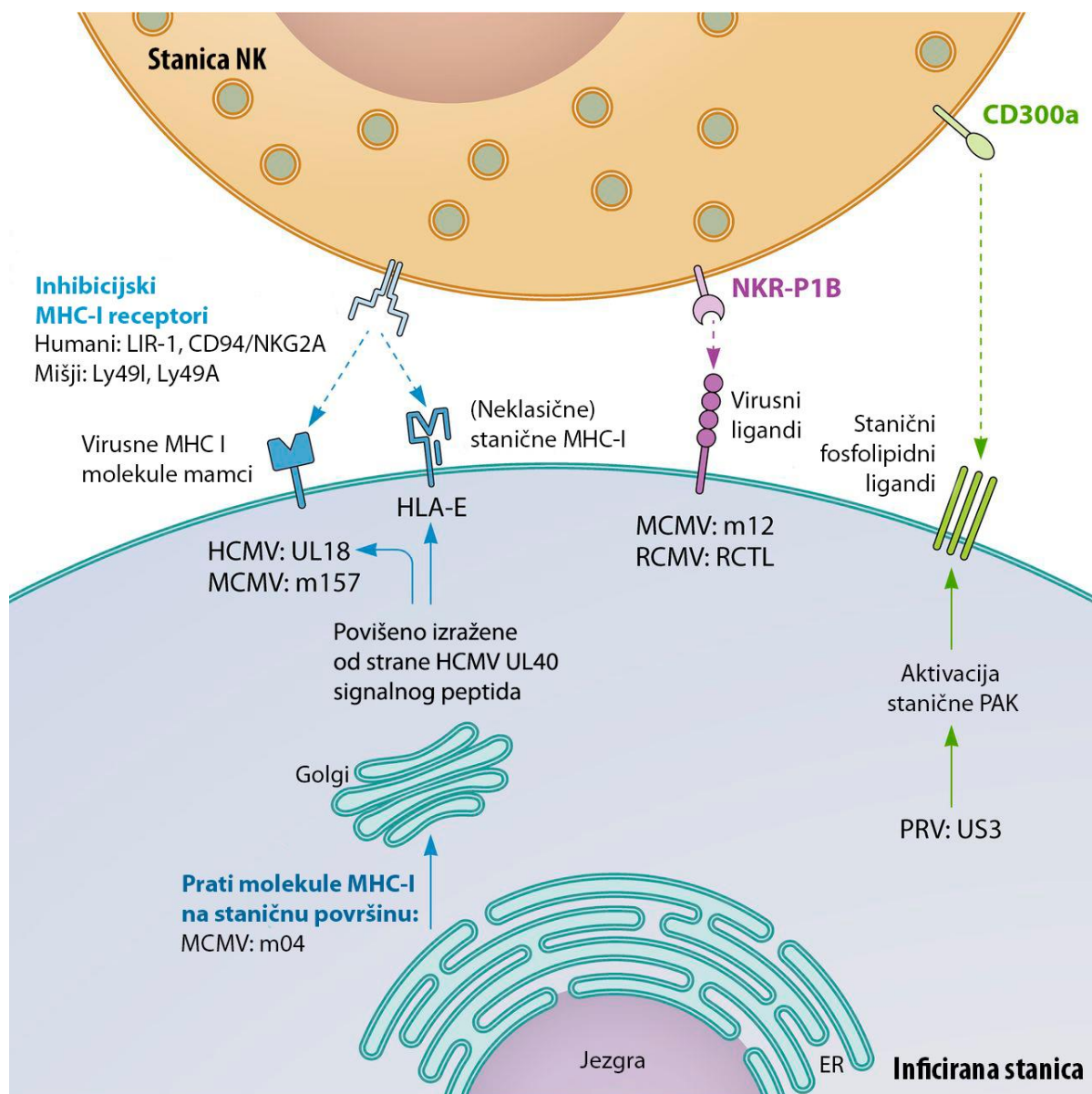
#### 8.1.5. 2B4

2B4 (ili CD244) pripada SLAM (engl. Signaling lymphocytic activation molecule) obitelji gena. U ljudskim NK-stanicama 2B4 općenito funkcionira kao aktivacijski receptor (s izuzetkom specifične decidualne populacije stanica NK koja pokazuje inhibicijski 2B4). Izražavanje proteina adaptera SLAM-povezanog proteina (SAP) potrebno je za generiranje aktivacijskog signala. U bolesnika koji pate od rijetke vrste primarne imunodeficijencije nazvane X-vezana limfoproliferativna bolest (XLP), ekspresija ili funkcija SAP-a je neispravna i rezultira inhibitornom signalizacijom 2B4 i NBTA - dodatnog člana obitelji SLAM (NK-, T- i B-stanični antigen). Zanimljivo je da XLP pacijente karakterizira nemogućnost suzbijanja infekcije Epstein-Barr virusom, što kod tih pacijenata može uzrokovati fulminantnu zaraznu mononukleozu ili promovirati abnormalne upalne reakcije koje često rezultiraju

hemofagocitnom limfocitocitozom (HLH) (80). Iako se većina članova obitelji SLAM uključuje u homotipske interakcije, 2B4 međudjeluje s CD48 (104). U stanicama zaraženim MCMV-om virusni protein m154 dovodi do proteolitičke i lizosomske razgradnje CD48 i ometa citotoksičnost stanica NK. Međutim, sama m154 transfekcija nije utjecala na površinski izražaj CD48, što ukazuje da m154 djeluje u suradnji s drugim virusnim proteinima kako bi se smanjila regulacija 2B4 liganda (105). MCMV mutant kojem nedostaje m154 oslabljen je *in vivo*, a virulencija se može vratiti nakon iscjeljivanja zalihe stanica NK (105).

## 9.2. MODULACIJA INHIBICIJSKIH SIGNALA NK STANICA

Herpesvirusi su razvili različite strategije za smanjenje učinkovitosti uklanjanja zaraženih stanica citotoksičnim T limfocitima (CTL), uglavnom ometajući MHC posredovanu prezentaciju antigena na zaraženim stanicama (59). Kao posljedica toga, razina stanične površine MHC molekula razreda I obično se smanjuje na stanicama zaraženim herpesvirusima. Budući da MHC molekule razreda I na površini stanice predstavljaju najvažniji vlastiti antigen prepoznat od inhibicijskih receptora stanica NK, izbjegavanje CTL odgovora posljedično dovodi do povećane osjetljivosti zaraženih stanica na napad posredovan NK-stanicama. Stoga herpesvirusi, a posebice predstavnici beta-herpesviridae razvijaju nove strategije s ciljem izbjegavanja aktivacije stanica NK zbog osjetljivosti na nedostatak vlastitih antigena („missing self“) koje su prikazane na [slici 2](#). Neki od mehanizama uključuje ekspresiju virusnih „decoy“ MHC-I molekula (molekula mamaca) i selektivno zadržavanje ili regulaciju određenih staničnih varijanti MHC molekula razreda I (posebno HLA-E kod ljudi) koje su neučinkovite u pokretanju značajnih CTL odgovora, ali daju inhibicijski signal NK-stanicama. Uz to, neki herpesvirusi također stimuliraju inhibicijske receptore stanica NK koji djeluju na način neovisan o MHC-I.



**Slika 2. Modulacija inhibicijskih signala NK stanica (61).** Detaljnije objašnjenje nalazi se u tekstu.

### 9.2.1. Virusne MHC-I molekule mamci (engl. decoy)

MHC-I „decoy“ molekule do sada su opisane samo u **citomegalovirusima**. Reyburn i sur. opisali su jednu od prvih virusnih strategija za izbjegavanje eliminacije zaraženih stanica posredstvom stanica NK. Opisali su da ekspresija HCMV *UL18* proteina, homologa MHC-I molekula na staničnoj površini, štiti virusne stanice od napada posredovanih NK-stanicama. N-vezana glikozilacija UL18 bila je uključena u ovaj zaštitni učinak, a budući da su protutijela protiv CD94 ometala zaštitu, autori su pretpostavili da je došlo do aktivacije inhibicijskog NKG2 / CD94 kompleksa na NK-stanicama (106). Međutim, nedugo zatim, Cosman i sur.

pokazali su da se *UL18* zapravo vezao za *LIR-1*, tada novootkrivenog člana imunoglobulinskih glikoproteina za koji je utvrđeno da djeluje kao MHC-I inhibicijski receptor (84). Ultrastrukturne studije otkrile su da je afinitet UL18 za LIR-1 i do 1000 puta veći od afiniteta za MHC-I (85). Budući da je LIR-1 široko izražen na različitim populacijama stanica (npr. limfocitima B, limfocitima T, makrofagima i dendritičkim stanicama), UL18 može pozitivno ili negativno utjecati na aktivnost drugih stanica imunološkog sustava (107). Kao i MHC-I molekule domaćina, UL18 se povezuje s  $\beta$ 2-mikroglobulinom te, također s endogenim peptidima koji nalikuju onima predodčenima MHC molekulama razreda I, što je jedinstveno među virusnim homologima MHC I (108). Aktivnost UL18 reguliraju i drugi virusni proteini. *UL40* je signalni peptid HCMV-a koji pojačava ekspresiju HLA-E na površini stanice (109). Pored toga, protein US6 HCMV-a je inhibitor transportera povezanog prezentacijom antigena (TAP), te time ometa predočavanje antigena. S jedne strane, UL18 interferira s US6 posredovanom inhibicijom TAP, čime obnavlja TAP posredovanu translokaciju peptida u ER. S druge strane, UL18 djeluje zajedno s US6 kako bi ometao povezanost MHC-I i TAP u ER, suzbijajući tako izražaj MHC-I s peptidom na staničnoj površini, bez obzira na inhibiciju TAP (110).

Poput HCMV-a, **MCMV** kodira za sintezu nekoliko proteina koji dijele homologiju s MHC-I. Nekoliko od njih, kao što su m145, m152 i m155, izgleda da ne služe kao ligandi za inhibicijske receptore stanica NK, ali i dalje mogu utjecati na aktivnost stanica NK smanjivanjem regulacije liganada za aktiviranje receptora stanica NK, uključujući NKG2D ligande izazvane stresom. Farrell i sur. opisali su da virusni *m144* MHC-I homolog MCMV-a interferira s mehanizmom uklanjanja virusa posredovanim NK-stanicama *in vivo* i navodi da bi to mogla biti posljedica vezanja m144 na inhibicijski receptor stanica NK (111). Međutim, obzirom da protutijela na MHC I-vezujuće mišje inhibicijske receptore NK-stanica Ly49A, -C, -G ili -I nisu imala utjecaj na inhibicijski učinak m144 na aktivnost stanica NK, inhibicijski učinak m144 i dalje ostaje

nepoznat (112). Nadalje je otkriven *m157*, protein MCMV-a nalik na MHC-I za koji je potvrđeno da ulazi u interakciju s receptorima stanica NK koji vežu MHC-I. Ovisno o soju miševa, *m157* komunicira s inhibicijskim receptorom NK-stanica Ly49I ili s njime povezanim aktivacijskim receptorom Ly49H, što korelira s osjetljivošću ili rezistencijom soja miševa na MCMV infekciju (113). Doista, C57B/6 miševi koji izražavaju Ly49H- razvijaju rezistenciju na MCMV infekciju koju gube nakon deplecije stanica NK (114). Međutim, važno je naglasiti da MCMV izolati divljih miševa pokazuju vrlo značajne varijacije u *m157* sekvenci, a mnogi od ovih sojeva mogu se replicirati na miševima C57BL/6, što ukazuje da koncept rezistencije ovisi o uvjetima (115). Jedno od mogućih objašnjenja sposobnosti *m157* da veže i inhibicijski Ly49I i aktivacijski Ly49H jest da je MCMV, putem svog proteina *m157* inicijalno mogao koristiti Ly49I da izbjegne eliminaciju posredovanu NK-stanicama, a imunosni sustav domaćina adaptirao se na način da je razvio sličan aktivirajući receptor – Ly49H koji prepoznaje identičan virusni ligand (113).

### 9.2.2. Izražaj MHC-I varijanti

Izražaj nekласične MHC-I molekule HLA-E na površini stanice zahtijeva dodavanje nonamernih peptida nastalih iz signalnih sekvenci većine klasičnih MHC-I molekula. Na staničnoj površini, HLA-E može vezivati CD94/ NKG2A na NK-stanicama, tako prenoseći inhibicijski signal. Pretraga baze podataka za konzervirani peptid koji veže HLA-E otkrila je savršenu podudarnost s 9-aminokiselinskom sekvencom u transmembranskom glikoproteinu *UL40 HCMV-a* (116). Tako je utvrđeno da UL40 regulira pojačavanje ekspresije HLA-E, posebno u prisutnosti IFN- $\gamma$  i time osigurava zaštitu stanica od lize preko CD94 NKG2A<sup>+</sup> NK stanica (117). Iako aktivirajući CD94 /NKG2C receptor također može vezati UL40 / HLA-E kompleks, što bi rezultiralo aktivacijom stanica NK, afinitet CD94/NKG2C za ovaj kompleks je 6 puta niži od CD94 / NKG2A afiniteta (67,118). Kao što je navedeno u prethodnom poglavlju, *epitop na UL40 koji veže HLA-E povisuje ne samo ekspresiju HLA-E, već i virusnog*

*proteina mamca UL18* (109). Nadalje, vezanje HLA-E za njegov endogen peptido ovisi o transportu peptida iz citosola u ER putem TAP-a (119). Valja ponovno naglasiti kako u jednoj od svojih nekoliko strategija za izbjegavanje učinkovite eliminacije zaraženih stanica citotoksičnim limfocitima T, HCMV blokira TAP-om posredovan transport putem svog virusnog proteina US6, što bi također moglo utjecati na transport ER peptida UL40. Međutim, peptid koji veže HLA-E s UL40 dopijeva u ER putem koji zaobilazi TAP, omogućujući istodobnu inhibiciju transporta TAP i HLA-E povećanu regulaciju u stanicama zaraženim HCMV-om. Ovaj put vezanja UL40 na HLA-E neovisan o TAP-u trenutno se smatra slabo istraženim područjem (120). Kao još jednu strategiju za suzbijanje aktivnosti CTL-a protiv zaraženih stanica, HCMV kodira dva virusna proteina, US2 i US11, koji usmjeravaju nekoliko MHC I alelnih varijanti iz ER u citoplazmu, čime započinje njihova razgradnja (21). Zanimljivo, molekule HLA-E otporne su na MHC-I razgradnju posredovanu aktivnošću US2 i US11 (121). Protein *m04* (gp34) MCMV-a dolazi u kontakt s MHC-I u ER-u i prati MHC-I molekule na površinu stanice. Na taj način, *m04* zapravo djeluje kao antagonist *m152*, koji zadržava MHC-I u ER-u (122). Omogućujući MHC-I molekulama da dođu do stanične površine, *m04* u stanicama zaraženim MCMV-om omogućuje angažiranje inhibicijskog Ly49A receptora. Kao posljedica toga, MCMV mutanti kojima nedostaje *m04* pokazuju povećanu osjetljivost na kontrolu posredovanu NK-stanicama *in vivo* (123). Iako se u početku pretpostavilo da vezanje *m04* za MHC-I može kompromitirati peptidno punjenje, ispraviti MHC-I konformaciju i/ili angažirati T-stanične receptore, kasnije se dokazalo kako *m04* zaista služi kao pozitivan regulator predočavanja antigena (122). Iz ovoga se može zaključiti da različiti virusi, ovisno o vrsti domaćina koje inficiraju, pokazuju razlike u njihovoj ravnoteži potiskivanja puta predočavanja MHC-I antigena za suzbijanje citotoksičnog odgovora posredovanog T-stanicama, a istovremeno omogućuju da dovoljna količina MHC-I molekula dosegne površinu stanice u cilju smanjenja citotoksičnosti posredovane NK-stanicama.

### 9.2.3. Pokretanje inhibicijskih receptora stanica NK neovisnih o MHC-I

MHC-I molekule predstavljaju najzastupljeniji i najvažniji ligand za inhibicijske receptore stanica NK. Međutim, opisani su inhibicijski receptori stanica NK neovisni o MHC-I, također modulirani od strane herpesvirusa. U miševa je zabilježeno da NKR-P1 NK-stanični receptori, koji sadrže i inhibicijske i aktivirajuće sastojnice, stupaju u interakciju sa vlastitim Clr proteinima. Konkretno, vlastiti Clr-b je prepoznat od strane inhibicijskog NKR-P1B receptora (124). MCMV infekcija dovodi do gubitka ekspresije gena Clr-b, djelovanjem virusnog proteina m122 za koji je očekivano da stvara signal za aktivaciju stanica NK (125). Nedavno je, međutim, pokazano da m122 izražen na površini stanica izravno zahvaća NKR-P1B, time suzbijajući izvršnu aktivnost NK stanica *in vitro* i *in vivo* (126). Isto tako, infekcija citomegalovirusom štakora (RCMV) dovodi do brzog suzbijanja ekspresije Clr-b, ali virusni NKR-P1B „decoy“ ligand RCTL štiti stanice od uništenja posredovanog NK-stanicama (127). Mišji gama-herpesvirus MHV-68 povećano regulira ekspresiju inhibicijskog receptora CEACAM1 na alveolarnim epitelnim stanicama, a postoje i indikacije da povećana regulacija posredovana *trans* homofilnom interakcijom CAECAM1 na stanicama NK može rezultirati smanjenjem aktivnošću stanica NK (128).

### 9.3. Ostale herpesvirusne strategije izbjegavanja stanica NK

Iako održavanje ravnoteže između aktivacijskih i inhibicijskih receptora stanica NK predstavlja veliku većinu strategija koje herpesvirusi koriste kako bi ometali aktivnost stanica NK, herpesvirusi mogu ciljati i druge aspekte biologije stanica NK. Primjerice, virusni homolozi citokina mogu ometati migraciju/aktivnost NK stanica. Konkretno, kemokin vMIP-II (vCCL2), produkt KSGV ORF K4 gena, inhibira migraciju stanica NK blokirajući vezanje kemokina domaćina Fractalkine i RANTES-a na njihove odgovarajuće receptore. Nadalje, virusni interleukin-10 (vIL-10), kodiran od strane EBV BCRF1-a smanjuje NK-stanično posredovano uništenje inficiranih limfocita B (129). HCMV također može ometati učinkovito stvaranje imunološke sinapse između stanica NK i zaraženih stanica domaćina, što je potrebno

za učinkovitu lizu ciljnih stanica, preuređivanjem cUL-aktinskog citoskeleta u inficiranoj stanici putem pUL135 ((130)). Također, citomegalovirusi potiskuju ekspresiju TRAIL receptora smrti (DR) u zaraženim stanicama, koji su potrebni za apoptozu induciranu TRAIL-om od strane stanica NK. Konkretno, UL141 HCMV-a, koji također potiskuje ekspresiju stanične površine DNAM-1 liganda, veže ljudske TRAIL DR-ove i zadržava ih u ER-u (131). U konačnici, protein m166 MCMV-a, koji nije povezan s UL141 HCMV-a, potiskuje ekspresiju TRAIL DR-a u zaraženim stanicama, doprinoseći tako izbjegavanju odgovora stanica NK *in vivo*. Međutim, temeljni mehanizam nije u potpunosti objašnjen (132).

## 10. ULOGA CD4<sup>+</sup> LIMFOCITA U KONTROLI LATENTNE INFEKCIJE

Mnoge virusne infekcije kontroliraju se reakcijama domaćinskih citotoksičnih limfocita T (CD8<sup>+</sup>) i limfocita B, što dovodi do uklanjanja infektivnog patogena (akutna infekcija). U tom kontekstu CD4<sup>+</sup> limfociti T uglavnom su uključeni da podržavaju reakcije CD8<sup>+</sup> limfocita T, posebno tijekom sekundarnih infekcija, kao za pomoć limfocitima B u procesu aktivacije, rekombinacije razreda protutijela i afinitetnom sazrijevanju. Međutim, u kroničnim latentnim infekcijama uzrokovanim herpesvirusima, CD4<sup>+</sup> limfociti T ne podržavaju samo CD8<sup>+</sup> limfocite T i limfocite B, već imaju i izravne antivirusne učinke koji su ključni za prekid litičke replikacije i uspostavljanje virusne latencije, a s ciljem kontrole reaktivacije virusa i u svrhu sprječavanja morbiditeta i mortaliteta domaćina. Zbog općenito niske učestalosti virusno-specifičnih CD4<sup>+</sup> limfocita T, ovu je staničnu podskupinu mnogo teže proučavati od CD8<sup>+</sup> CTL. Istraživanja kroničnih latentnih infekcija posljednjih godina ukazala su na važnost i funkcionalne mogućnosti CD4<sup>+</sup> stanične populacije. Studije humanih primarnih imunoloških deficijencija snažno ukazuju na činjenicu da CD4<sup>+</sup> limfociti T imaju jednaku, ako ne i veću važnost od CD8<sup>+</sup> limfocita T u kontroli herpesvirusnih infekcija (133,133). Za razliku od bolesnika s narušenim funkcijama CD8<sup>+</sup> limfocita T, osjetljivost na virusne infekcije, posebno iz obitelji herpesvirusa, povećana je u bolesnika s nedostatkom CD4<sup>+</sup> limfocita T. Ideja da su



snažni odgovori CD4<sup>+</sup> limfocita T korisni u kontroli herpesvirusnih infekcija dodatno je podržana studijama kronično zaraženih HIV-om osoba. Imunokompromitirani HIV bolesnici često pate od bolesti povezanih s virusima iz obitelji herpesa zbog česte i nekontrolirane virusne reaktivacije. Pacijenti s brojem CD4<sup>+</sup> limfocita T ispod 100 stanica/μl imaju visok rizik od razvoja bolesti povezane s CMV-om i CMV-seropozitivni HIV bolesnici napreduju znatno brže do AIDS-a od CMV-seronegativnih pacijenata (134). Slično tome, primarna CMV infekcija u HIV bolesnika, čak i s brojem CD4 limfocita T višim od 100 stanica/ μl, korelira s povećanim rizikom za raniji početak AIDS-a (135). U novije vrijeme, dokazana je korelacija između niskog broja CD4<sup>+</sup> T-stanica i viremije uzrokovane KSHV kod osoba zaraženih HIV-om (136). Nizak broj CD4<sup>+</sup> T-stanica u imunokompromitiranih pacijenata daljnji je čimbenik rizika za razvoj bolesti povezane s EBV-om (137). Rekonstitucija imuniteta T-stanica *ex vivo* proširenih virusnih specifičnih T-stanica u pacijenata s transplantiranim čvrstim organima koji su podvrgnuti reaktivaciji herpesvirusa dodatno je potvrdila zaštitnu ulogu CD4<sup>+</sup> limfocita T. Usvojeni prijenos VZV-specifičnih limfocita T u primatelja transplantiranih krvotvornih stanica koji su podvrgnuti VZV-reaktivaciji doveo je do rekonstitucije VZV-specifičnih odgovora CD4<sup>+</sup> limfocita T i korelirao sa smanjenim rizikom od VZV-inducirane bolesti (138). Dokazi da su CD4<sup>+</sup> limfociti T presudne antivirusne efektorske stanice u kontroli infekcija herpesvirusom ne dolaze samo od imunosuprimiranih pacijenata već i od zdravih osoba. Primarna infekcija u djece popraćena je produljenim izbacivanjem virusa u mokraći, za koje je utvrđeno da koreliraju sa smanjenom indukcijom CMV-specifičnih CD4<sup>+</sup> limfocita T, ali sličnim odgovorima CD8<sup>+</sup> limfocita T u usporedbi s odraslima (139). Iako se akutna faza infekcije herpesvirusom može kontrolirati drugim skupinama stanica imunološkog sustava, koje uključuju CD8<sup>+</sup> limfocite T, limfocite B i stanice NK, čini se da CD4<sup>+</sup> limfociti T imaju presudnu ulogu u uspostavljanju virusne latencije i u dugoročnoj kontroli infekcije. Primjerice, tijekom infekcije MCMV, litička replikacija virusa ne može se kontrolirati u žlijezdama

slinovnicama u odsutnosti CD4<sup>+</sup> limfocita T, a povećani titri virusa ili produljena replikacija virusa mogu se otkriti u slezeni, plućima i jetri (140). Nadalje, CD4<sup>+</sup> limfociti T u interakciji s drugim imunološkim stanicama sprječavaju virusno prodiranje (141). Iako se pokazalo da CD4<sup>+</sup> limfociti T imaju izravnu izvršnu funkciju kod nekih akutnih infekcija, smatra se da CD4<sup>+</sup> limfociti T uglavnom upravljaju drugim stanicama imunološkog sustava koje u potpunosti uklanjaju infektivne patogene. Naime, zbog svoje sposobnosti lučenja širokog spektra citokina, kao i izražaja različitih molekula važnih u regulaciji imunološkog odgovora (npr. CD40L), neophodni su u modulaciji cjelokupnog odgovora domaćina te omogućuje efektivnu eliminaciju patogenih uzročnika. Međutim, danas postaje sve očiglednije da iako su pomoćni mehanizmi glavna funkcija CD4<sup>+</sup> limfocita T, ova podskupina stanica također je u stanju ubiti ili inhibirati replikaciju patogena na izravniji način u slučaju infekcija herpesvirusima (142). Posljednjih godina postignut je velik napredak u otkrivanju antivirusnih mehanizama koje CD4<sup>+</sup> limfociti T koriste tijekom infekcije virusom herpesa, posebno na mišjim modelima.

### 10.1. IFN- $\gamma$

Lučini i sur. su u svojim studijama prvi primijetili protektivnu ulogu MCMV-specifičnih CD4<sup>+</sup> limfocita T domaćina pomoću sekrecije IFN- $\gamma$  uvidjevši kako neutralizacija IFN- $\gamma$  i deplecija CD4<sup>+</sup> limfocita T dovodi do značajnog porasta virusnog titra u žlijezdama slinovnicama (143). Daljnjim studijama je utvrđeno kako su CD4<sup>+</sup> limfociti T izolirani iz MCMV-zaraženih miševa s nedostatkom CD8<sup>+</sup> limfocita T dramatično smanjili virusne titre  $\gamma$ -ozračenih domaćina u subletalnim dozama na način ovisan o IFN $\gamma$  (140,144). Iako je prijenos imunih CD4<sup>+</sup> limfocita T bio potreban za zaštitu ispitivanih miševa, oni sami po sebi nisu bili dovoljni, ukazujući na potrebu povezivanja i međusobne komunikacije CD4<sup>+</sup> limfocita T s drugim vrstama stanica kako bi se postigao protektivni učinak. Stoga su autori pretpostavili da se CD4<sup>+</sup> limfociti T putem IFN- $\gamma$  povezuju s drugim imunološkim stanicama (npr. NK-

stanicama u žlijezdama slinovnicama), a u cilju postizanja zaštite od virusnih infekcija (145). Međutim, prethodno spomenutu hipotezu osporili su rezultati Walton i sur. koji su korištenjem miješanih kimerne koštane srži dokazali da IFN- $\gamma$  koji luče CD4<sup>+</sup> limfociti T doista izravno kontrolira replikaciju MCMV-a u žlijezdama slinovnicama. Ekspresija IFN- $\gamma$  receptora (IFN- $\gamma$ R) na stanicama otpornim na zračenje, ali ne i na imunološkim stanicama, bila je potrebna za kontrolu replikacije virusa. To sugerira da IFN- $\gamma$  kojeg luče CD4<sup>+</sup> limfociti T, izravno šalje signale inficiranim ne-hematopoetskim stanicama ili susjednim neimunim stanicama, te da je postignut zaštitni učinak bez aktivacije drugih stanica imunološkog sustava ovisne o IFN- $\gamma$  (146). Važnost CD4<sup>+</sup> limfocita T koji luče IFN- $\gamma$  u CMV infekcijama dodatno je podržana i kliničkim podacima. Naime, uočeno je da su više razine CD4<sup>+</sup> limfocita T koje proizvode IFN- $\gamma$  korelirale s bržom kontrolom virusa i smanjenjem kliničkih simptoma (147,148). Ključna uloga IFN- $\gamma$  koju proizvode CD4<sup>+</sup> limfociti T u inhibiranju replikacije herpesvirusa također je potvrđena u MHV-68 infekciji (149). Čini se da IFN- $\gamma$  djeluje izravno na mijeloidne stanice gdje suprimira gensku ekspresiju virusa u litičkoj fazi (150)(151). Međutim, uloga IFN- $\gamma$  u kontroli latencije je kontroverzna i vjerojatno ovisi o virusnom soju. Čini se da su u HSV-2 infekciji CD4<sup>+</sup> limfociti T koje proizvode IFN- $\gamma$  ključni za uspostavljanje latentne infekcije (151).

## 10.2. TNF

Obzirom da liječenje MCMV-om inficiranih miševa rekombinantnim IFN- $\gamma$  nije moglo nadomjestiti nedostatak CD4<sup>+</sup> limfocita T, vjerovalo se da CD4<sup>+</sup> limfociti T djeluju putem dodatnog mehanizma u kontroli replikacije virusa. TNF je bio najizgledniji kandidat zbog činjenice da IFN- $\gamma$  djeluje sinergistički s TNF-om *in vitro* u inhibiciji virusne replikacije (152–154). Međutim, niti istodobna primjena rekombinantnih IFN- $\gamma$  i TNF nije dovela do očekivanog učinka pojačane virusne kontrole u slinovnicama u odsutnosti CD4<sup>+</sup> limfocita T (153). *In vivo* primjena anti-TNF protutijela povećala je virusno opterećenje u slinovnicama,

što je dovelo do tumačenja da neutralizacija TNF-a ukida antivirusne aktivnosti CD4<sup>+</sup> limfocita T. Međutim, za razliku od ove pretpostavke, u slučaju kada su samo CD4<sup>+</sup> limfociti T pokazivale nedostatnu sekreciju TNF- $\alpha$ , virusna kontrola u slinovnici bila je usporediva s životinjama divljeg tipa (146). To pokazuje da CD4<sup>+</sup> limfociti T ne moraju same lučiti TNF da bi došlo do prekida MCMV replikacije u žlijezdama slinovnicama, ali istovremeno ne isključuje mogućnost da je TNF koji luče druge stanice presudan za postignut zaštitni učinak u slinovnicama.

### 10.3. Citotoksičnost

Citotoksičnost CD4<sup>+</sup> limfocita T tijekom infekcije herpesvirusima uglavnom je proučavana na ljudima zaraženim HCMV-om, EBV-om i VZV-om (155,156). Nakon primarne HCMV infekcije pojavljuje se subpopulacija CD4<sup>+</sup> limfocita T koja je CD28 negativna, stvara granzim B i moguće je da posjeduje citotoksične kapacitete u transplantiranih pacijenata (157). HCMV CD4<sup>+</sup> limfociti T specifični za pp65 pokazali su površinsku mobilizaciju CD107a, markera degranulacije, uz istodobni gubitak granzima kao odgovor na *in vitro* restimulaciju (158) Nadalje, u istim studijama ekspresija granzima A i B, kao i perforina bila je visoko povišena u terminalno diferenciranim CD27<sup>-</sup> CD57<sup>+</sup> memorijskim CD4<sup>+</sup> limfocitima T, što upućuje da CD4<sup>+</sup> limfociti T specifični za HCMV stječu citotoksične sposobnosti tijekom procesa sazrijevanja. Ovaj mogući potencijal citotoksične aktivnosti CD4<sup>+</sup> limfocita T specifičnih za HCMV potvrđen je *in vitro* testovima ubijanja s EBV-transformiranim limfoblastoidnim staničnim linijama B-stanica (B-LCL) inkubiranim sa CD4<sup>+</sup> limfocitima T izoliranim izravno *ex vivo*. Koristeći poliklonalne CMV-specifične CD4<sup>+</sup> T stanične linije, Tazume i sur. su uspjeli pokazati da su ove stanice sposobne ubijati HCMV-om inficirane fibroblaste putem mehanizma ovisnog o perforinu, kao i Fas-FasL interakcijom. Nadalje, izravne citolitičke funkcije prema fibroblastima inficiranim CMV-om ovisile su o IFN $\gamma$ -induciranoj povećanoj regulaciji izražaja HLA-DR i zahtijevale su inkubaciju u trajanju od 16

sati (159). Ova su otkrića ipak osporena novijom studijom koja je koristila klonove CD4<sup>+</sup> limfocita T specifične za IE1, u kojoj se tvrdi da su ove stanice sposobne ubiti ciljne stanice inficirane peptidom, ali ne i HCMV-om inficirane stanice (160). Međutim, odstupanja u vremenu inkubacije od 16 nasuprot 5 sati mogla bi objasniti ovu nepodudarnost. U skladu s potonjom studijom, Tovar-Salazar i sur. predlažu da CD4<sup>+</sup> T limfociti specifični za HCMV obavljaju regulatorne, a ne citotoksične funkcije (161). CD27<sup>-</sup>CD28<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> limfociti T uzeti iz HCMV-om stimuliranih monokulearnih stanica periferne krvi (PBMC) CMV-seropozitivnih davatelja inhibirale su proliferaciju autolognih CMV-specifičnih T-stanica na način ovisan o dozi, djelomično putem sekrecije TGFβ i granzima B. Istraživanja koje se bave citotoksičnim CD4<sup>+</sup> T-stanicama u mišjem modelu vrlo su rijetka (162). Međutim, u mješovitim kimerama koštane srži gdje ekspresija perforina nedostaje isključivo u CD4<sup>+</sup> T-stanicama, replikacija MCMV kontrolirana je u slinovnici i drugim organima, usporedivo s kontrolama divljeg tipa (146). Dakle, iz ovoga se može zaključiti kako citotoksične CD4<sup>+</sup> limfociti T ipak nemaju glavnu ulogu u kontroli MCMV infekcije, iako citolitička funkcija kroz interakciju Fas-FasL do sada nije proučavana. Nadalje, dokumentirani su EBV-specifične CD4 limfociti T koji ekspimiraju granzim, perforin i granulizin *in vivo* i *in vitro* (163,164). *In vitro*, EBV-specifični klonovi CD4<sup>+</sup> limfocita T pokazivali su citolitičke funkcije oslobađanjem citotoksičnih granula (163), a u manjoj mjeri i staničnom smrću induciranom Fas/FasL-om. Uz to, kulture EBV-specifičnih CD4<sup>+</sup> limfocita T koji izražavaju citotoksične efektorske molekule (npr. granzim, perforin, granulizin) dugoročno inhibiraju rast limfoblastoidnih staničnih linija (165). Dakle, iz navedenih istraživanja može se zaključiti kako su CD4<sup>+</sup> limfociti T s citolitičkim funkcijama ipak važno obilježje herpesvirusnih infekcija.

## 11. IZBJEGAVANJE CD4<sup>+</sup> STANIČNOG ODGOVORA

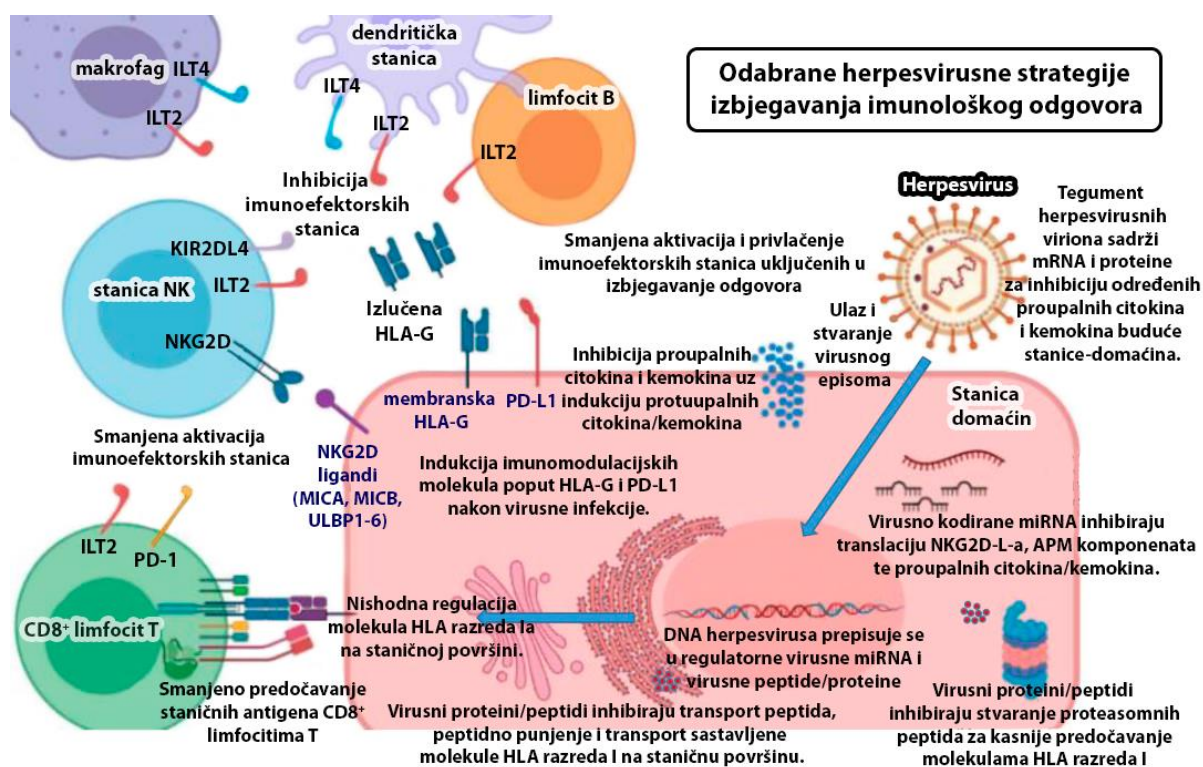
Herpesvirusi kodiraju za sintezu širokog spektra proteina kako bi upravljali odgovorom CD4<sup>+</sup> limfocita T. Herpesvirusni imunoevazini djeluju na nekoliko vidova sazrijevanja i

funkcija CD4<sup>+</sup> limfocita T; narušavaju funkciju dendritičkih stanica nishodnom regulacijom kostimulacijskih molekula, interferiraju s odgovorima IFN-a, upravljaju signalnim putem NFκB, modiliraju izražaj MHC molekula razreda II kao i kostimulacijskih molekula, te kodiraju vlastite inhibitorne receptore. Modulacija prezentacije antigena putem MHC molekula razreda II usmjerena je na nekoliko točaka (166,167). Naime, pokazano je da proteini herpesvirusa potiskuju promotor CIITA, čime inhibiraju transkripciju MHC II molekula, razgrađuju mRNA, usmjeravaju svijene MHC II proteine u razgradnju te upravljaju invarijabilnim lancem i na taj način interferiraju s pravilnim punjenjem i predočavanjem epitopa CD4<sup>+</sup> limfocitima T. Na površini stanica mogu preusmjeriti MHC-II molekule u egzosome i manipulirati njihovim prepoznavanjem pomoću T-staničnih receptora. Sveobuhvatan pregled mehanizama koje herpesvirusi koriste kako bi izbjegli prepoznavanje od strane CD4<sup>+</sup> limfocita T daleko je izvan opsega ovog preglednog rada, ali obilje proteina kodiranih od strane virusa naglašava njihovu važnost u efikasnoj kontroli infekcije. Osim što kodiraju imunoevazine, kronične virusne infekcije pospješuju i imunosupresivno okruženje, potičući tako postojanost virusa. Nedavno istraživanje na eksperimentalnom modelu latencije HCMV-a otkrilo je da je sekret latentno zaraženih stanica obogaćen imunosupresivnim citokinima poput IL-10 i TGF-β koji inhibiraju izlučivanje citokina od strane CD4<sup>+</sup> limfocita T kao i CD4<sup>+</sup> T-staničnu citotoksičnost posredovanu MHC-II molekulama. Time se ističe novi način izbjegavanja odgovora CD4<sup>+</sup> limfocita T tijekom HCMV latencije (168). Također, pokazano da rana indukcija staničnog IL-10 tijekom akutne infekcije mišjim CMV-om dovodi do oslabljene komunikacije između NK/DC stanica i suzbijanja proliferacije CD4<sup>+</sup> limfocita T i izlučivanje citokina. (169). Zanimljivo je da se, unatoč velikom broju imuno-regulatornih funkcija herpesvirusa, može ipak izazvati snažan odgovor CD4<sup>+</sup> kao i CD8<sup>+</sup> limfocita T u domaćina koji, naravno, ima zaštitnu ulogu. Jedno od mogućih objašnjenja je da virusne antigene ne predstavljaju izravno inficirane stanice, već “profesionalne” stanice poput APC-a.

Te stanice mogu obraditi i predstaviti virusne antigene limfocitima T nakon uzimanja virusnih proteina, neispravnih virusnih čestica ili apoptotičnih tijela iz stanica zaraženih CMV-om, a da same nisu nužno zaražene. Budući da predočavanje egzogenih antigena CD8<sup>+</sup>, ali ne i CD4 limfocitima T, zahtijeva križno predočavanje (funkciju koja je specifično ograničena na određene podskupove dendritičkih stanica), CD4<sup>+</sup> limfociti T mogu imati prednosti u odgovoru na infekcije herpesvirusima, posebno u organima u kojima križno predočavanje ne postoji. Pokazano je kako APC u žlijezdama slinovnicama domaćina inficiranih MCMV-om nemaju sposobnost prezentacije egzogenih antigena CD8 limfocitima T, čime je potvrđena ovisnost o CD4 T-staničnoj kontroli litičke MCMV replikacije u ovom organu (146).

## 12. RASPRAVA

Herpesvirusi izbjegavaju imunološki odgovor domaćina koristeći brojne strategije. Neke od njih uključuju infekciju tkiva s ograničenom dostupnošću imunoloških medijatora, što je izrazito naglašeno kod  $\alpha$ -herpesvirusa, uspostavljanje latencije koja omogućuje minimalno imunološko prepoznavanje, te brojne aktivne imunomodulacijske funkcije svojstvene herpesvirusima. Mnogo izvrsnih recenzija govori o imunovazivnim ili imuno-upravljačkim svojstvima različitih herpesvirusa (18,170,171). [Slika 3](#) prikazuje odabrane mehanizame kojima herpesvirusi izbjegavaju imunološki odgovor, a objašnjeni su u prethodnim poglavljima.



**Slika 3. Odabrane herpesvirusne strategije izbjegavanja imunološkog odgovora** (172). Detaljnija objašnjenja nalaze se u tekstu.

Nadalje, herpesvirusi mogu uspostaviti produktivnu infekciju čak i u imuniziranom domaćinu. Ova činjenica smanjuje entuzijazam za razvojem cjepiva te je, nažalost, većina testiranih cjepiva pokazala samo djelomičnu efikasnost.

Svi članovi obitelji herpesvirusa oslabljuju imunološki sustav bilo ometanjem mobilizacije komponenata imunološkog sustava ili stvaranjem protuupalnih molekula. Na primjer, ICP47



HSV-a i US6 HCMV-a međudjeluju s TAP-om čime blokiraju učinkovit transport citosolnih virusnih peptida za predočavanje MHC molekulama razreda I (173). S druge strane, HCMV protein pp65 može potaknuti zadržavanje MHC molekula razreda II u lizosomima radi njihovog uništavanja, na taj način smanjujući njihovu dostupnost na površini stanica što posljedično smanjuje aktivnost CD4<sup>+</sup> limfocita T (174,175). Uz prethodno navedeno, MCMV i HCMV mogu smanjiti izražaj MHC-I molekula na površini stanice na način da ulaze u interakciju s  $\beta$ 2 mikroglobulinom što dovodi do njegove nishodne regulacije (176).

Kao što je već istaknuto u prethodnim poglavljima, niska razina izražaja MHC-I molekula mogla bi aktivirati stanice NK. Međutim, neki herpesvirusi su osmislili strategije za suzbijanje NK-stanicama posredovane lize inficiranih stanica (177). Neki od mehanizama uključuju modulaciju izražaja proteina u stanici domaćinu, kodiranje homologa za stanične proteine kao i virusne proteine koji zajednički oslabljuju odgovor stanica NK (89,96).

Kao primarni mehanizam izbjegavanja kod EBV-a, navodi se protein EBNA1, odnosno njegove ponavljajuće sekvence glicin-alanina koje ometaju stvaranje imunogenih epitopa koji smanjuju sposobnost prepoznavanja inficiranih stanica od strane CD8<sup>+</sup> limfocita T (178,179). Nuklearni antigen povezan s latencijom (LANA) KSHV-a, kao i LANA-homolozi drugih  $\gamma$ -herpesvirusa također ometaju predočavanje antigena (180). KSHV pokazuju brojne imunomodulatorne aktivnosti koje se kreću od ometanja komponenata sustava komplementa, signala IFN tipa I, uz oštećenje odgovora T i B stanica, kao i blokiranje apoptoze (171).

Neki herpesvirusi kodiraju protuupalne molekule poput homologa receptora domaćina i protuupalne molekule poput IL-10 i IL-35 kod CMV, odnosno EBV infekcije (181). Sveukupno gledajući, herpesvirusi su "genijalni manipulatori" imunološkog odgovora i mogu uspješno preživjeti u imuniziranom domaćinu. Budući da herpesvirusne infekcije zahvaćaju većinu svjetske populacije, ideja koju vrijedi razmotriti je kako herpesvirusi utječu na ishod

drugih istovremenih infekcija, karcinoma i transplantata. U radu se spominju neizravni mehanizmi, poput EBV indukcije onkogenog miR-155 u B-stanicama domaćina, međutim, poznato je da herpesvirusi kodiraju gene koji imaju onkogeni potencijal, a takvi čimbenici nisu ograničeni na samo dva člana  $\gamma$ -podporodice herpesvirusa; EBV i KSHV, već se pokazalo da HSV-1 i HSV-2 djeluju kao kofaktori za malignu transformaciju, uključujući tumore štitnjače, karcinom prostate i povišenu incidenciju melanoma, kao i rak vrata maternice u kombinaciji s HPV-om (182–184). Svi obrađeni mehanizmi imunološkog nadzora također su usmjereni na tumorske stanice neovisno o virusnim infekcijama i stoga valja naglasiti snažnu vezu između imunologije tumora i virusologije.

### 13. ZAKLJUČCI

Suživot herpesvirusa i njihovih domaćina nameće evolucijski pritisak i na virus i na imunološki sustav domaćina. S jedne strane, domaćin razvija imunološki sustav koji je sposoban kontrolirati viruse i virusom inficirane stanice, dok su s druge strane virusi razvili niz mehanizama izbjegavanja imunološkog odgovora. Strategije imunološkog izbjegavanja usmjerene su prema humoralnom odgovoru, staničnom imunološkom odgovoru te prema efektornim funkcijama imunološkog sustava. Članovi obitelji herpesvirusa sposobni su ometati imunološki sustav domaćina na gotovo svakoj razini; sposobnosti protutijela da prepoznaju virusne epitope, predočavanju virusnih peptida MHC molekulama razreda I i II, regrutaciji efektornih stanica, aktivaciji komplementa, poticanju apoptoze i sl. Istaknuta je važnost u vremenskom poretku uspostavljanja strategija koje herpesvirusima omogućuju učinkovito izbjegavanje imunološkog odgovora. Kao prvi korak navodi se nishodna regulacija proupalnih citokina i kemokina s obzirom na činjenicu da virioni herpesvirusa u sebi sadrže molekule kojima izravno ometaju pravilnu signalizaciju citokina i kemokina. Tek nakon uspješne infekcije stanice domaćina, transkripcije virusne DNA i translacije virusnih mRNA u peptide i proteine, herpesvirusi razvijaju sposobnost aktiviranja dodatnih mehanizama izbjegavanja imunološkog odgovora uključujući, između ostalog, sekreciju protuupalnih citokina/kemokina, predočavanje antigena MHC molekulama razreda I te interakciju s aktivacijskim i inhibicijskim receptorima stanica NK. Nažalost, ne zna se postoje li razlike u opisanim molekularnim interakcijama između virusnih miRNA/peptida/proteina s ciljnim stanicama imunološkog sustava u različitim fazama virusne infekcije (primarna infekcija, latencija, reinfekcija itd.). Također je upitno kako različite stanice domaćina reagiraju na infekciju istim virusom, primjerice, EBV-om inficirani B-limfociti naspram inficiranih epitelnih stanica respiratornog trakta. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se provjerio značaj *in vitro* studija u kliničkoj praksi.

## 14. SAŽETAK

Brojna svojstva herpesvirusa doprinose njihovom uspjehu, a najvažnija karakteristika je njihova sposobnost usvajanja dva različita načina životnog ciklusa: latentni i litički ciklus. Herpesvirusi su razvili nekoliko učinkovitih strategija za suzbijanje imunološkog odgovora domaćina. Glavni među njima je inhibicija puta obrade i predočavanja antigena MHC molekulama razreda I, čime se smanjuje učinkovitost predočavanja virusnih epitopa na površini inficirane stanice. U ovom preglednom radu sažeti su mehanizmi koje herpesvirusi koriste za postizanje svojeg cilja, uključujući zaustavljanje sinteze MHC molekula razreda I, blokadu stvaranja peptida posredovanu proteasomomima i prevenciju transporta peptida uz pomoć TAP-a. Nadalje, proteini herpesvirusa mogu zadržati MHC molekule razreda I u endoplazmatskom retikulumu ili usmjeriti njihovu retrogradnu translokaciju iz endoplazmatskog retikuluma u citosol ili endocitozu iz plazmatske membrane uz naknadnu razgradnju. Rezultirajuća nishodna regulacija peptidnih kompleksa MHC I na površini stanice sprječava sposobnost citotoksičnih limfocita T da prepoznaju i eliminiraju stanice zaražene virusom. Također se raspravlja o herpesvirusnim proteinima i mikroRNA koji uzrokuju subverziju odgovora stanica NK. Posljednje, u kroničnim latentnim infekcijama uzrokovanim herpesvirusima, CD4<sup>+</sup> limfociti T ne podržavaju samo CD8<sup>+</sup> limfocite T i limfocite B u obavljanju njihovih uloga, već i same vrše izravne antivirusne efektorske funkcije koje su ključne za prekid litičke replikacije i uspostavljanje virusne latencije.

## 15. SUMMARY

Numerous properties of herpesviruses contribute to their success and the most important characteristic is their ability to adopt two different ways of life cycle: latent and lytic cycle. Herpesviruses have developed several effective strategies to suppress the host immune response. The major among them is the inhibition of the processing and presentation of antigens by MHC class I molecules, thereby reducing the efficiency of presentation of viral epitopes on the surface of the infected cell. This review summarizes the mechanisms that herpesviruses use to achieve their goal, including inhibition of MHC class I molecules synthesis, proteasome-mediated blockade of peptide production, and prevention of TAP-mediated peptide transport. Furthermore, herpesvirus proteins can retain MHC class I molecules in the endoplasmic reticulum, direct their retrograde translocation from the endoplasmic reticulum or endocytose them from the plasma membrane with subsequent degradation. The resulting down-regulation of MHC class I peptide complexes on the cell surface prevents the ability of cytotoxic T lymphocytes to recognize and eliminate virus-infected cells. Herpesvirus proteins and microRNAs that cause subversion of NK cell responses are also discussed. Lastly, in chronic latent infections caused by herpes viruses, CD4<sup>+</sup> T cells not only support CD8<sup>+</sup> T cells and B cells in performing their roles but also perform direct antiviral effector functions themselves that are key to disrupting lytic replication and establishing viral latency.

## 16. LITERATURA

1. Murphy K, Weaver C. *Janeway's Immunobiology*. 9th ed. Philadelphia, PA: Garland Publishing; 2017.
2. Ryan K, Ray CG, Ahmad N, Drew WL, Plorde J. *Sherris Medical Microbiology 6/E*. 6th ed. New York, NY: McGraw-Hill Professional; 2014.
3. King AMQ, Lefkowitz E, Adams MJ, Carstens EB, editors. *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Elsevier; 2014.
4. Magel GD, editor. *Herpesviridae - A look into this unique family of viruses*. InTech; 2012.
5. Kawaguchi Y, Mori Y, Kimura H, editors. *Human herpesviruses*. 1st ed. Singapore, Singapore: Springer; 2018.
6. Bukur J, Jasinski S, Seliger B. The role of classical and non-classical HLA class I antigens in human tumors. *Semin Cancer Biol*. 2012;22(4):350–8.
7. Kloetzel PM, Ossendorp F. Proteasome and peptidase function in MHC-class-I-mediated antigen presentation. *Curr Opin Immunol*. 2004;16(1):76–81.
8. Ferrington DA, Gregerson DS. Immunoproteasomes: structure, function, and antigen presentation. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2012;109:75–112.
9. McCarthy MK, Weinberg JB. The immunoproteasome and viral infection: a complex regulator of inflammation. *Front Microbiol*. 2015;6:21.
10. Benitez R, Godelaine D, Lopez-Nevot MA, Brasseur F, Jiménez P, Marchand M, et al. Mutations of the beta2-microglobulin gene result in a lack of HLA class I molecules on melanoma cells of two patients immunized with MAGE peptides. *Tissue Antigens*. 1998;52(6):520–529.
11. Ritz U, Drexler I, Sutter D, Abele R, Huber C, Seliger B. Impaired transporter associated with antigen processing (TAP) function attributable to a single amino acid alteration in the peptide TAP subunit TAP1. *J Immunol*. 2003;170(2):941–946.
12. Røder G, Geironsen L, Bressendorff I, Paulsson K. Viral proteins interfering with antigen presentation target the major histocompatibility complex class I peptide-loading complex. *J Virol*. 2008;82(17):8246–8252.
13. Abendroth A, Lin I, Slobedman B, Ploegh H, Arvin AM. Varicella-zoster virus retains major histocompatibility complex class I proteins in the Golgi compartment of infected cells. *J Virol*. 2001;75(10):4878–4888.
14. Hislop AD, Rensing ME, van Leeuwen D, Pudney VA, Horst D, Koppers-Lalic D, et al. A CD8+ T cell immune evasion protein specific to Epstein-Barr virus and its close relatives in Old World primates. *J Exp Med*. 2007;204(8):1863–1873.
15. Zuo J, Currin A, Griffin BD, Shannon-Lowe C, Thomas WA, Rensing ME, et al. The Epstein-Barr virus G-protein-coupled receptor contributes to immune evasion by targeting MHC class I molecules for degradation. *PLoS Pathog*. 2009;5(1):e1000255.

16. Rowe M, Glaunsinger B, van Leeuwen D, Zuo J, Sweetman D, Ganem D, et al. Host shutoff during productive Epstein-Barr virus infection is mediated by BGLF5 and may contribute to immune evasion. *Proc Natl Acad Sci U A*. 2007;104(9):3366–3371.
17. Quinn LL, Williams LR, White C, Forrest C, Zuo J, Rowe M. The missing link in Epstein-Barr virus immune evasion: The BDLF3 gene induces ubiquitination and downregulation of major histocompatibility complex class I (MHC-I) and MHC-II. *J Virol*. 2015;90(1):356–367.
18. Hewitt EW, Gupta SS, Lehner PJ. The human cytomegalovirus gene product US6 inhibits ATP binding by TAP. *EMBO J*. 2001;20(3):387–396.
19. Park B, Kim Y, Shin J, Lee S, Cho K, Früh K, et al. Human cytomegalovirus inhibits tapasin-dependent peptide loading and optimization of the MHC class I peptide cargo for immune evasion. *Immunity*. 2004;20(1):71–85.
20. Furman MH, Dey N, Tortorella D, Ploegh HL. The human cytomegalovirus US10 gene product delays trafficking of major histocompatibility complex class I molecules. *J Virol*. 2002;76(22):11753–11756.
21. Wiertz EJ, Tortorella D, Bogyo M, Yu J, Mothes W, Jones TR, et al. Sec61-mediated transfer of a membrane protein from the endoplasmic reticulum to the proteasome for destruction. *Nature*. 1996;384(6608):432–438.
22. Urban S, Textoris-Taube K, Reimann B, Janek K, Dannenberg T, Ebstein F, et al. The efficiency of human cytomegalovirus pp65(495-503) CD8+ T cell epitope generation is determined by the balanced activities of cytosolic and endoplasmic reticulum-resident peptidases. *J Immunol*. 2012;189(2):529–538.
23. Grundy JE, McKeating JA, Ward PJ, Sanderson AR, Griffiths PD. Beta 2 microglobulin enhances the infectivity of cytomegalovirus and when bound to the virus enables class I HLA molecules to be used as a virus receptor. *J Gen Virol*. 1987;68 ( Pt 3)(3):793–803.
24. Hudson AW, Blom D, Howley PM, Ploegh HL. The ER-luminal domain of the HHV-7 immunoevasin U21 directs class I MHC molecules to lysosomes: The ER-luminal domain of U21 diverts class I MHC. *Traffic*. 2003;4(12):824–37.
25. Coscoy L, Ganem D. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus encodes two proteins that block cell surface display of MHC class I chains by enhancing their endocytosis. *Proc Natl Acad Sci U A*. 2000;97(14):8051–8056.
26. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116(2):281–297.
27. Nielsen AF, Gloggnitzer J, Martinez J. MicroRNAs cross the line: the battle for mRNA stability enters the coding sequence. *Mol Cell*. 2009;35(2):139–140.
28. Dimitrova M, Zenarruzabeitia O, Borrego F, Simhadri VR. CD300c is uniquely expressed on CD56bright Natural Killer Cells and differs from CD300a upon ligand recognition. *Sci Rep*. 2016;6(1).
29. Mullany LE, Herrick JS, Wolff RK, Slattery ML. MicroRNA seed region length impact on target messenger RNA expression and survival in colorectal cancer. *PLoS One*. 2016;11(4):e0154177.

30. Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol.* 2014;9(1):287–314.
31. Jasinski-Bergner S, Mandelboim O, Seliger B. The role of microRNAs in the control of innate immune response in cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(10).
32. Skalsky RL, Cullen BR. Viruses, microRNAs, and host interactions. *Annu Rev Microbiol.* 2010;64(1):123–141.
33. Wood CD, Carvell T, Gunnell A, Ojeniyi OO, Osborne C, West MJ. Enhancer control of MicroRNA miR-155 expression in Epstein-Barr virus-infected B cells. *J Virol.* 2018;92(19).
34. Cai L, Ye Y, Jiang Q, Chen Y, Lyu X, Li J, et al. Epstein-Barr virus-encoded microRNA BART1 induces tumour metastasis by regulating PTEN-dependent pathways in nasopharyngeal carcinoma. *Nat Commun.* 2015;6(1):7353.
35. O’Hara AJ, Wang L, Dezube BJ, Harrington WJ Jr, Damania B, Dittmer DP. Tumor suppressor microRNAs are underrepresented in primary effusion lymphoma and Kaposi sarcoma. *Blood.* 2009;113(23):5938–41.
36. Jurak I, Silverstein LB, Sharma M, Coen DM. Herpes simplex virus is equipped with RNA- and protein-based mechanisms to repress expression of ATRX, an effector of intrinsic immunity. *J Virol.* 2012;86(18):10093–10102.
37. Albanese M, Tagawa T, Bouvet M, Maliqi L, Lutter D, Hoser J, et al. Epstein-Barr virus microRNAs reduce immune surveillance by virus-specific CD8+ T cells. *Proc Natl Acad Sci U A.* 2016;113(42):E6467–E6475.
38. Kim S, Lee S, Shin J, Kim Y, Evnouchidou I, Kim D, et al. Human cytomegalovirus microRNA miR-US4-1 inhibits CD8(+) T cell responses by targeting the aminopeptidase ERAP1. *Nat Immunol.* 2011;12(10):984–991.
39. Honda, K., Taniguchi, T. IRFs: master regulators of signalling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. *Nat Rev Immunol.* 2005;(6):644–658.
40. Duvallat E, Semerano L, Assier E, Falgarone G, Boissier M-C. Interleukin-23: a key cytokine in inflammatory diseases. *Ann Med.* 2011;43(7):503–511.
41. Zlotnik A, Yoshie O. The chemokine superfamily revisited. *Immunity.* 2012;36(5):705–716.
42. Mogensen TH, Melchjorsen J, Malmgaard L, Casola A, Paludan SR. Suppression of proinflammatory cytokine expression by herpes simplex virus type 1. *J Virol.* 2004;78(11):5883–5890.
43. Morrison TE, Mauser A, Wong A, Ting JP, Kenney SC. Inhibition of IFN-gamma signaling by an Epstein-Barr virus immediate-early protein. *Immunity.* 2001;15(5):787–799.
44. Wong NHM, YK-S Chan C P, et al. Suppression of IFN- $\beta$  production by Epstein- Barr virus lytic transactivator Zta. *J Immunol.* 2017;
45. Chuang H-C, Lay J-D, Chuang S-E, Hsieh W-C, Chang Y, Su I-J. Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein-1 down-regulates tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) receptor-1 and confers resistance to TNF-alpha-induced apoptosis in T cells: implication for the progression



- to T-cell lymphoma in EBV-associated hemophagocytic syndrome. *Am J Pathol*. 2007;170(5):1607–1617.
46. Herbst H, Foss HD, Samol J, Araujo I, Klotzbach H, Krause H, et al. Frequent expression of interleukin-10 by Epstein-Barr virus-harboring tumor cells of Hodgkin's disease. *Blood*. 1996;87(7):2918–2929.
  47. Miller DM, Zhang Y, Rahill BM, Waldman WJ, Sedmak DD. Human cytomegalovirus inhibits IFN-alpha-stimulated antiviral and immunoregulatory responses by blocking multiple levels of IFN-alpha signal transduction. *J Immunol*. 1999;162(10):6107–13.
  48. Choi HJ, Park A, Kang S, Lee E, Lee TA, Ra EA, et al. Human cytomegalovirus-encoded US9 targets MAVS and STING signaling to evade type I interferon immune responses. *Nat Commun*. 2018;9(1):125.
  49. Feng L, Sheng J, Vu G-P, Liu Y, Foo C, Wu S, et al. Human cytomegalovirus UL23 inhibits transcription of interferon- $\gamma$  stimulated genes and blocks antiviral interferon- $\gamma$  responses by interacting with human N-myc interactor protein. *PLoS Pathog*. 2018;14(1):e1006867.
  50. Pontejo SM, Murphy PM, Pease JE. Chemokine subversion by human herpesviruses. *J Innate Immun*. 2018;10(5–6):465–478.
  51. Wang D, Bresnahan W, Shenk T. Human cytomegalovirus encodes a highly specific RANTES decoy receptor. *Proc Natl Acad Sci U A*. 2004;101(47):16642–16647.
  52. Pleskoff O, Trébouté C, Brelot A, Heveker N, Seman M, Alizon M. Identification of a chemokine receptor encoded by human cytomegalovirus as a cofactor for HIV-1 entry. *Science*. 1997;276(5320):1874–1878.
  53. Gregory SM, Wang L, West JA, Dittmer DP, Damania B. Latent Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection of monocytes downregulates expression of adaptive immune response costimulatory receptors and proinflammatory cytokines. *J Virol*. 2012;86(7):3916–3923.
  54. Montaldo E, Vacca P, Vitale C, Moretta F, Locatelli F, Mingari MC, et al. Human innate lymphoid cells. *Immunol Lett*. 2016;179:2–8.
  55. Freud AG, Mundy-Bosse BL, Yu J, Caligiuri MA. The broad spectrum of human natural killer cell diversity. *Immunity*. 2017;47(5):820–833.
  56. Strauss-Albee DM, Fukuyama J, Liang EC, Yao Y, Jarrell JA, Drake AL, et al. Human NK cell repertoire diversity reflects immune experience and correlates with viral susceptibility. *Sci Transl Med*. 2015;7(297):297ra115.
  57. Gum M, Angulo A, Vilches C, Gomez-Lozano N, Malats N, Lopez-Botet M. Imprint of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire. *Blood*. 2004;104(12):3664–3671.
  58. O'Sullivan TE, Sun JC, Lanier LL. Natural killer cell memory. *Immunity*. 2015;43(4):634–645.
  59. Sun JC. Re-educating natural killer cells. *J Exp Med*. 2010;207(10):2049–2052.
  60. Jouanguy E, Zhang SY, Chagnier A, Sancho-Shimizu V, Puel A, Picard C, et al. Human primary immunodeficiencies of type I interferons. *Biochimie*. 2007;89(6–7):878–883.

61. De Pelsmaecker S, Romero N, Vitale M, Favoreel HW. Herpesvirus evasion of natural killer cells. *J Virol*. 2018;92(11).
62. Orange JS. Natural killer cell deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(3):515–25; quiz 526.
63. Almerigogna F, Fassio F, Giudizi MG, Biagiotti R, Manuelli C, Chiappini E, et al. Natural killer cell deficiencies in a consecutive series of children with herpetic encephalitis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2011;24(1):231–238.
64. Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL, et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science*. 1999;285(5428):727–729.
65. Diefenbach A, Jamieson AM, Liu SD, Shastri N, Raulet DH. Ligands for the murine NKG2D receptor: expression by tumor cells and activation of NK cells and macrophages. *Nat Immunol*. 2000;1(2):119–126.
66. Krmpotic A, Hasan M, Loewendorf A, Saulig T, Halenius A, Lenac T, et al. NK cell activation through the NKG2D ligand MULT-1 is selectively prevented by the glycoprotein encoded by mouse cytomegalovirus gene m145. *J Exp Med*. 2005;201(2):211–220.
67. Sun JC, Lanier LL. The natural selection of herpesviruses and virus-specific NK cell receptors. *Viruses*. 2009;1(3).
68. Ziegler H, Thiele R, Lucin P, Muranyi W, Flohr T, Hengel H, et al. A Mouse Cytomegalovirus Glycoprotein Retains MHC Class I Complexes in the ERGIC/cis-Golgi Compartments. *Immunity*. 1997;6(1):57–66.
69. Krmpotić A, Busch DH, Bubić I, Gebhardt F, Hengel H, Hasan M, et al. MCMV glycoprotein gp40 confers virus resistance to CD8+ T cells and NK cells in vivo. *Nat Immunol*. 2002;3(6):529–535.
70. Lodoen M, Ogasawara K, Hamerman JA, Arase H, Houchins JP, Mocarski ES, et al. NKG2D-mediated natural killer cell protection against cytomegalovirus is impaired by viral gp40 modulation of retinoic acid early inducible 1 gene molecules. *J Exp Med*. 2003;197(10):1245–1253.
71. Lenac T, Budt M, Arapovic J, Hasan M, Zimmermann A, Simic H, et al. The herpesviral Fc receptor fcr-1 down-regulates the NKG2D ligands MULT-1 and H60. *J Exp Med*. 2006;203(8):1843–1850.
72. Arapović J, Lenac Roviš T, Reddy AB, Krmpotić A, Jonjić S. Promiscuity of MCMV immunoevasin of NKG2D: m138/fcr-1 down-modulates RAE-1ε in addition to MULT-1 and H60. *Mol Immunol*. 2009;47(1):114–122.
73. Selective Down-Regulation of the NKG2D Ligand H60 by Mouse Cytomegalovirus m155 Glycoprotein [Internet]. Nih.gov. American Society for Microbiology; Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=548429>
74. Dolken L., Kothe S., Marcinowski L., Ruzsics Z., Koszinowski U.H., Krmpotic A., et al. Cytomegalovirus microRNAs facilitate persistent virus infection in salivary glands. *PLoS Pathog*. 2010;6(10).

75. Kubin M, Cassiano L, Chalupny J, Chin W, Cosman D, Fanslow W, et al. ULBP1, 2, 3: novel MHC class I-related molecules that bind to human cytomegalovirus glycoprotein UL16, activate NK cells. *Eur J Immunol.* 2001;31(5):1428–1437.
76. Welte SA, Sinzger C, Lutz SZ, Singh-Jasuja H, Sampaio KL, Eknigk U, et al. Selective intracellular retention of virally induced NKG2D ligands by the human cytomegalovirus UL16 glycoprotein. *Eur J Immunol.* 2003;33(1):194–203.
77. Wu J, Chalupny NJ, Manley TJ, Riddell SR, Cosman D, Spies T. Intracellular retention of the MHC class I-related chain B ligand of NKG2D by the human cytomegalovirus UL16 glycoprotein. *J Immunol.* 2003;170(8):4196–4200.
78. Spreu J, Stehle T, Steinle A. Human cytomegalovirus-encoded UL16 discriminates MIC molecules by their alpha2 domains. *J Immunol.* 2006;177(5):3143–3149.
79. Bennett NJ, Ashiru O, Morgan FJE, Pang Y, Okecha G, Eagle RA, et al. Intracellular sequestration of the NKG2D ligand ULBP3 by human cytomegalovirus. *J Immunol.* 2010;185(2):1093–1102.
80. Fielding CA, Aicheler R, Stanton RJ, Wang ECY, Han S, Seirafian S, et al. Two novel human cytomegalovirus NK cell evasion functions target MICA for lysosomal degradation. *PLoS Pathog.* 2014;10(5):e1004058.
81. Fielding CA, Weekes MP, Nobre LV, Ruckova E, Wilkie GS, Paulo JA, et al. Control of immune ligands by members of a cytomegalovirus gene expansion suppresses natural killer cell activation. *Elife.* 2017;6.
82. Fernández-Messina L, Reyburn HT, Valés-Gómez M. Human NKG2D-ligands: cell biology strategies to ensure immune recognition. *Front Immunol.* 2012;3:299.
83. Ashiru O, López-Cobo S, Fernández-Messina L, Pontes-Quero S, Pandolfi R, Reyburn HT, et al. A GPI anchor explains the unique biological features of the common NKG2D-ligand allele MICA\*008. *Biochem J.* 2013;454(2):295–302.
84. Zou Y, Bresnahan W, Taylor RT, Stastny P. Effect of human cytomegalovirus on expression of MHC class I-related chains A. *J Immunol.* 2005;174(5):3098–3104.
85. Seidel E, Le VTK, Bar-On Y, Tsukerman P, Enk J, Yamin R, et al. Dynamic co-evolution of host and pathogen: HCMV downregulates the prevalent allele MICA\*008 to escape elimination by NK cells. *Cell Rep.* 2015;10(6):968–982.
86. Nachmani D, Zimmermann A, Oiknine Djian E, Weisblum Y, Livneh Y, Khanh Le VT, et al. MicroRNA editing facilitates immune elimination of HCMV infected cells. *PLoS Pathog.* 2014;10(2):e1003963.
87. Rancan C, Schirrmann L, Hüls C, Zeidler R, Moosmann A. Latent membrane protein LMP2A impairs recognition of EBV-infected cells by CD8+ T cells. *PLoS Pathog.* 2015;11(6):e1004906.
88. Nachmani D, Stern-Ginossar N, Sarid R, Mandelboim O. Diverse herpesvirus microRNAs target the stress-induced immune ligand MICB to escape recognition by natural killer cells. *Cell Host Microbe.* 2009;5(4):376–385.

89. Campbell TM, McSharry BP, Steain M, Slobedman B, Abendroth A. Varicella-zoster virus and herpes simplex virus 1 differentially modulate NKG2D ligand expression during productive infection. *J Virol.* 2015;89(15):7932–7943.
90. Enk J, Levi A, Weisblum Y, Yamin R, Charpak-Amikam Y, Wolf DG, et al. HSV1 MicroRNA modulation of GPI anchoring and downstream immune evasion. *Cell Rep.* 2016;17(4):949–956.
91. Cerboni C, Mousavi-Jazi M, Linde A, Söderström K, Brytting M, Wahren B, et al. Human cytomegalovirus strain-dependent changes in NK cell recognition of infected fibroblasts. *J Immunol.* 2000;164(9):4775–4782.
92. Tomasec P, Wang ECY, Davison AJ, Vojtesek B, Armstrong M, Griffin C, et al. Downregulation of natural killer cell-activating ligand CD155 by human cytomegalovirus UL141. *Nat Immunol.* 2005;6(2):181–188.
93. Lenac Rovis T, Kucan Brlic P, Kaynan N, Juranic Lisnic V, Brizic I, Jordan S, et al. Inflammatory monocytes and NK cells play a crucial role in DNAM-1-dependent control of cytomegalovirus infection. *J Exp Med.* 2016;213(9):1835–1850.
94. Hsu J-L, van den Boomen DJH, Tomasec P, Weekes MP, Antrobus R, Stanton RJ, et al. Plasma membrane profiling defines an expanded class of cell surface proteins selectively targeted for degradation by HCMV US2 in cooperation with UL141. *PLoS Pathog.* 2015;11(4):e1004811.
95. Campadelli-Fiume G, Menotti L. Entry of alphaherpesviruses into the cell. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, et al., editors. *Human Herpesviruses*. Cambridge: Cambridge University Press; 2010. p. 93–111.
96. Grauwet K, Cantoni C, Parodi M, De Maria A, Devriendt B, Pende D, et al. Modulation of CD112 by the alphaherpesvirus gD protein suppresses DNAM-1-dependent NK cell-mediated lysis of infected cells. *Proc Natl Acad Sci U A.* 2014;111(45):16118–16123.
97. Stanietsky N, Simic H, Arapovic J, Toporik A, Levy O, Novik A, et al. The interaction of TIGIT with PVR and PVRL2 inhibits human NK cell cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U A.* 2009;106(42):17858–17863.
98. Charpak-Amikam Y, Kubsch T, Seidel E, Oiknine-Djian E, Cavaletto N, Yamin R, et al. Human cytomegalovirus escapes immune recognition by NK cells through the downregulation of B7-H6 by the viral genes US18 and US20. *Sci Rep.* 2017;7(1):8661.
99. Arnon TI, Achdout H, Levi O, Markel G, Saleh N, Katz G, Gazit R, Gonen-Gross T, Hanna J, Nahari E, Porgador A, Honigman A, Plachter B, Mevorach D, Wolf DG, Mandelboim O. Inhibition of the NKp30 activating receptor by pp65 of human cytomegalovirus. *Nat Imm.* 2005;
100. Madrid AS, Ganem D. Kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus ORF54/dUTPase downregulates a ligand for the NK activating receptor NKp44. *J Virol.* 2012;86(16):8693–8704.
101. Favoreel HW, Nauwynck HJ, Van Oostveldt P, Mettenleiter TC, Pensaert MB. Antibody-induced and cytoskeleton-mediated redistribution and shedding of viral glycoproteins, expressed on Pseudorabies virus-infected cells. *J Virol.* 1997;71(11):8254–8261.

102. Recombinant human cytomegalovirus (HCMV) RL13 binds human immunoglobulin G Fc. *PLoS One*. 2012;7(11).
103. Corrales-Aguilar E, Trilling M, Hunold K, Fiedler M, Le VTK, Reinhard H, et al. Human Cytomegalovirus fcy binding proteins gp34 and gp68 antagonize fcy receptors I, II and III. *PLoS Pathog*. 2014;10(5):e1004131.
104. Evolving role of 2B4/CD244 in T and NK cell responses during virus infection. *Front Immunol*. 2012;
105. Zarama A, Pérez-Carmona N, Farré D, Tomic A, Borst EM, Messerle M, Jonjic S, Engel P, Angulo A. Cytomegalovirus m154 hinders CD48 cell-surface expression and promotes viral escape from host natural killer cell control. *plos*. 2014;
106. Reyburn HT, Mandelboim O, Vales-Gomez M, Davis DM, Pazmany L, Strominger JL. The class I MHC homologue of human cytomegalovirus inhibits attack by natural killer cells. *Nature*. 1997;386(6624):514.
107. Wagner CS, Ljunggren H-G, Achour A. Immune modulation by the human Cytomegalovirus-encoded molecule UL18, a mystery yet to be solved. *J Immunol*. 2008;180(1):19.
108. Browne H, Smith G, Beck S, Minson T. A complex between the MHC class I homologue encoded by human cytomegalovirus and b2 microglobulin. *Nature*. 1990;347(6295):770–772.
109. Prod'homme V, Griffin C, Aicheler RJ, Wang Ecy, McSharry BP, Rickards CR, et al. The human Cytomegalovirus MHC class I homolog UL18 inhibits LIR-1+but activates LIR-1–NK cells. *J Immunol*. 2007;178(7):4473–4481.
110. Kim Y, Park B, Cho S, Shin J, Cho K, Jun Y, et al. Human Cytomegalovirus UL18 utilizes US6 for evading the NK and T-cell responses. *PLoS Pathog* *PLoS Pathog*. 2008;4(8):e1000123.
111. Farrell HE, Vally H, Lynch DM, Fleming P, Shellam GR, Scalzo AA, et al. Inhibition of natural killer cells by a cytomegalovirus MHC class I homologue in vivo. *Nature*. 1997;386(6624):510–514.
112. Kubota A, Kubota S, Farrell HE, Davis-Poynter N, Takei F. Inhibition of NK cells by Murine CMV-encoded class I MHC homologue m144. *Cell Immunol*. 1999;191(2):145–151.
113. Arase H. Direct recognition of Cytomegalovirus by activating and inhibitory NK cell receptors. *Science*. 2002;296(5571):1323–1326.
114. Scalzo AA, Fitzgerald NA, Wallace CR, Gibbons AE, Smart YC, Burton RC, et al. The effect of the Cmv-1 resistance gene, which is linked to the natural killer cell gene complex, is mediated by natural killer cells. *J Immunol*. 1992;149(2):581–589.
115. Voigt V, Forbes CA, Tonkin JN, Degli-Esposti MA, Smith HRC, Yokoyama WM, et al. Murine cytomegalovirus m157 mutation and variation leads to immune evasion of natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci U A*. 2003;100(23):13483–13488.
116. Tomasec P, Braud VM, Rickards C, Powell MB, McSharry BP, Gadola S, et al. Surface expression of HLA-E, an inhibitor of natural killer cells, enhanced by human cytomegalovirus gpUL40. *Science*. 2000;287(5455):1031.

117. Ulbrecht M, Martinuzzi S, Grzeschik M, Hengel H, Ellwart JW, Pla M, et al. Cutting edge: The human Cytomegalovirus UL40 Gene product contains a ligand for HLA-E and prevents NK cell-mediated lysis. *J Immunol.* 2000;164(10):5019–5022.
118. Kaiser BK, Pizarro JC, Kerns J, Strong RK. Structural basis for NKG2A/CD94 recognition of HLA-E. *Proc Natl Acad Sci U A.* 2008;105(18):6696–6701.
119. Braud VM, Allan DS, Wilson D, McMichael AJ. TAP- and tapasin-dependent HLA-E surface expression correlates with the binding of an MHC class I leader peptide. *Curr Biol.* 1998;8(1):1–10.
120. Prodhomme V, Tomasec P, Cunningham C, Lemberg MK, Stanton RJ, McSharry BP, et al. Human Cytomegalovirus UL40 Signal Peptide Regulates Cell Surface Expression of the NK Cell Ligands HLA-E and gpUL18. *J Immunol.* 2012;188(6):2794–2804.
121. Llano M, Gumá M, Ortega M, Angulo A, López-Botet M. Differential effects of US2, US6 and US11 human cytomegalovirus proteins on HLA class Ia and HLA-E expression: impact on target susceptibility to NK cell subsets. *Eur J Immunol.* 2003;33(10):2744–2754.
122. Holtappels R, Gillert-Marien D, Thomas D, Podlech J, Deegen P, Herter S, et al. Cytomegalovirus encodes a positive regulator of antigen presentation. *J Virol.* 2006;80(15):7613–7624.
123. Babić M, Pyzik M, Zafirova B, Mitrović M, Butorac V, Lanier LL, et al. Cytomegalovirus immunoevasin reveals the physiological role of “missing self” recognition in natural killer cell dependent virus control in vivo. *J Exp Med.* 2010;207(12):2663–2673.
124. Carlyle JR, Jamieson AM, Gasser S, Clingan CS, Arase H, Raulet DH. Missing self-recognition of Ocl/Clr-b by inhibitory NKR-P1 natural killer cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U A.* 2004;101(10):3527–3532.
125. Kirkham CL, Aguilar OA, Yu T, Tanaka M, Mesci A, Chu K-L, et al. Interferon-dependent induction of clr-b during mouse Cytomegalovirus infection protects bystander cells from natural killer cells via NKR-P1B-mediated inhibition. *J Innate Immun.* 2017;9(4):343–358.
126. Aguilar OA, Berry R, Rahim MMA, Popović B, Tanaka M, Fu Z, et al. A viral immunoevasin controls innate immunity by targeting the prototypical natural killer cell receptor family. *Cell.* 2017;169(1):58–71.e14.
127. Voigt S, Mesci A, Ettinger J, Fine JH, Chen P, Chou W, et al. Cytomegalovirus evasion of innate immunity by subversion of the NKR-P1B:Clr-b missing-self axis. *Immunity.* 2007;26(5):617–627.
128. Adler H, Steer B, Juskewitz E, Kammerer R. To the Editor Murine gammaherpesvirus 68 (MHV-68) escapes from NK-cell-mediated immune surveillance by a CEACAM1-mediated immune evasion mechanism: Letter to the Editor. *Eur J Immunol.* 2014;44(8):2521–2522.
129. Yamin R, Kaynan NS, Glasner A, Vitenshtein A, Tsukerman P, Bauman Y, et al. The viral KSHV chemokine vMIP-II inhibits the migration of naive and activated human NK cells by antagonizing two distinct chemokine receptors. *PLoS Pathog.* 2013;9(8):e1003568.

130. Stanton RJ, Prod'homme V, Purbhoo MA, Moore M, Aicheler RJ, Heinzmann M, et al. HCMV pUL135 remodels the actin cytoskeleton to impair immune recognition of infected cells. *Cell Host Microbe*. 2014;16(2):201–214.
131. Smith W, Tomasec P, Aicheler R, Loewendorf A, Nemčovičová I, Wang ECY, et al. Human Cytomegalovirus glycoprotein UL141 targets the TRAIL death receptors to thwart host innate antiviral defenses. *Cell Host Microbe*. 2013;13(3):324–335.
132. Verma S, Loewendorf A, Wang Q, McDonald B, Redwood A, Benedict CA. Inhibition of the TRAIL death receptor by CMV reveals its importance in NK cell-mediated antiviral defense. *PLoS Pathog*. 2014;10(8):e1004268.
133. Carneiro-Sampaio M, Coutinho A. Immunity to microbes: lessons from primary immunodeficiencies. *Infect Immun*. 2007;75(4):1545–1555.
134. Sabin CA, Phillips AN, Lee CA, Janossy G, Emery V, Griffiths PD. The effect of CMV infection on progression of human immunodeficiency virus disease is a cohort of haemophilic men followed for up to 13 years from seroconversion. *Epidemiol Infect*. 1995;114(2):361–372.
135. Robain M, Boufassa F, Hubert JB, Persoz A, Burgard M, Meyer L, et al. Cytomegalovirus seroconversion as a cofactor for progression to AIDS. *AIDS*. 2001;15(2):251–256.
136. Parisi SG, Boldrin C, Andreis S, Ferretto R, Fuser R, Malena M, et al. KSHV DNA viremia correlates with low CD4+ cell count in Italian males at the time of diagnosis of HIV infection. *J Med Virol*. 2011;83(3):384–390.
137. Sebelin-Wulf K, Nguyen TD, Oertel S, Papp-Vary M, Trappe RU, Schulzki A, et al. Quantitative analysis of EBV-specific CD4/CD8 T cell numbers, absolute CD4/CD8 T cell numbers and EBV load in solid organ transplant recipients with PLTD. *Transpl Immunol*. 2007;17(3):203–210.
138. Blyth E, Gaundar SS, Clancy L, Simms RM, Bilmouk I, Micklethwaite KP, et al. Clinical-grade varicella zoster virus-specific T cells produced for adoptive immunotherapy in hemopoietic stem cell transplant recipients. *Cytotherapy*. 2012;14(6):724–732.
139. Tu W, Chen S, Sharp M, Dekker C, Manganello AM, Tongson EC, et al. Persistent and selective deficiency of CD4+ T cell immunity to cytomegalovirus in immunocompetent young children. *J Immunol*. 2004;172(5):3260–3267.
140. Jonjić S, Pavić I, Lucin P, Rukavina D, Koszinowski UH. Efficacious control of cytomegalovirus infection after long-term depletion of CD8+ T lymphocytes. *J Virol*. 1990;64(11):5457–5464.
141. Polić B, Hengel H, Krmpotić A, Trgovcich J, Pavić I, Luccaroni P, et al. Hierarchical and redundant lymphocyte subset control precludes cytomegalovirus replication during latent infection. *J Exp Med*. 1998;188(6):1047–1054.
142. Stevenson PG, Simas JP, Efstathiou S. Immune control of mammalian gamma-herpesviruses: lessons from murine herpesvirus-4. *J Gen Virol*. 2009;90(Pt 10):2317–2330.
143. Lucin P, Pavić I, Polić B, Jonjić S, Koszinowski UH. Gamma interferon-dependent clearance of cytomegalovirus infection in salivary glands. *J Virol*. 1992;66(4):1977–1984.

144. Polić B, Jonjić S, Pavić I, Crnković I, Zorica I, Hengel H, et al. Lack of MHC class I complex expression has no effect on spread and control of cytomegalovirus infection in vivo. *J Gen Virol.* 1996;77 ( Pt 2 )(2):217–225.
145. Campbell AE, Cavanaugh VJ, Slater JS. The salivary glands as a privileged site of cytomegalovirus immune evasion and persistence. *Med Microbiol Immunol.* 2008;197(2):205–213.
146. Walton SM, Mandaric S, Torti N, Zimmermann A, Hengel H, Oxenius A. Absence of cross-presenting cells in the salivary gland and viral immune evasion confine cytomegalovirus immune control to effector CD4 T cells. *PLoS Pathog.* 2011;7(8):e1002214.
147. Gamadia LE, Rentenaar RJ, van Lier RAW, ten Berge IJM. Properties of CD4(+) T cells in human cytomegalovirus infection. *Hum Immunol.* 2004;65(5):486–492.
148. Sester M, Sester U, Gärtner B, Heine G, Girndt M, Mueller-Lantzsch N, et al. Levels of virus-specific CD4 T cells correlate with cytomegalovirus control and predict virus-induced disease after renal transplantation. *Transplantation.* 2001;71(9):1287–1294.
149. Sparks-Thissen RL, Braaten DC, Hildner K, Murphy TL, Murphy KM, Virgin HW 4th. CD4 T cell control of acute and latent murine gammaherpesvirus infection requires IFN $\gamma$ . *Virology.* 2005;338(2):201–208.
150. Steed A, Buch T, Waisman A, Virgin HW 4th. Gamma interferon blocks gammaherpesvirus reactivation from latency in a cell type-specific manner. *J Virol.* 2007;81(11):6134–6140.
151. Chan T, Barra NG, Lee AJ, Ashkar AA. Innate and adaptive immunity against herpes simplex virus type 2 in the genital mucosa. *J Reprod Immunol.* 2011;88(2):210–218.
152. van der Meer JW, Rubin RH, Pasternack M, Medearis DN, Lynch P, Dinarello CA. The in vivo and in vitro effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor on murine cytomegalovirus infection. *Biotherapy.* 1989;1(3):227–231.
153. Pavić I, Polić B, Crnković I, Lucin P, Jonjić S, Koszinowski UH. Participation of endogenous tumour necrosis factor alpha in host resistance to cytomegalovirus infection. *J Gen Virol.* 1993;74 ( Pt 10)(10):2215–2223.
154. Lucin P, Jonjić S, Messerle M, Polić B, Hengel H, Koszinowski UH. Late phase inhibition of murine cytomegalovirus replication by synergistic action of interferon-gamma and tumour necrosis factor. *J Gen Virol.* 1994;75 ( Pt 1)(1):101–110.
155. Martorelli D, Muraro E, Merlo A, Turrini R, Rosato A, Dolcetti R. Role of CD4+ cytotoxic T lymphocytes in the control of viral diseases and cancer. *Int Rev Immunol.* 2010;29(4):371–402.
156. Weinberg A, Levin MJ. VZV T cell-mediated immunity. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2010;342:341–357.
157. van Leeuwen EMM, Remmerswaal EBM, Heemskerk MHM, ten Berge IJM, van Lier RAW. Strong selection of virus-specific cytotoxic CD4+ T-cell clones during primary human cytomegalovirus infection. *Blood.* 2006;108(9):3121–3127.



158. Casazza JP, Betts MR, Price DA, Precopio ML, Ruff LE, Brenchley JM, et al. Acquisition of direct antiviral effector functions by CMV-specific CD4+ T lymphocytes with cellular maturation. *J Exp Med*. 2006;203(13):2865–2877.
159. Tazume K, Hagihara M, Gansuud B, Higuchi A, Ueda Y, Hirabayashi K, et al. Induction of cytomegalovirus-specific CD4+ cytotoxic T lymphocytes from seropositive or negative healthy subjects or stem cell transplant recipients. *Exp Hematol*. 2004;32(1):95–103.
160. Delmas S, Brousset P, Clément D, Le Roy E, Davignon J-L. Anti-IE1 CD4+ T-cell clones kill peptide-pulsed, but not human cytomegalovirus-infected, target cells. *J Gen Virol*. 2007;88(Pt 9):2441–2449.
161. Tovar-Salazar A, Patterson-Bartlett J, Jesser R, Weinberg A. Regulatory function of cytomegalovirus-specific CD4+CD27-CD28- T cells. *Virology*. 2010;398(2):158–167.
162. Jellison ER, Kim S-K, Welsh RM. Cutting edge: MHC class II-restricted killing in vivo during viral infection. *J Immunol*. 2005;174(2):614–618.
163. Khanolkar A, Yagita H, Cannon MJ. Preferential utilization of the perforin/granzyme pathway for lysis of Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid cells by virus-specific CD4+ T cells. *Virology*. 2001;287(1):79–88.
164. Sun Q, Burton RL, Lucas KG. Cytokine production and cytolytic mechanism of CD4(+) cytotoxic T lymphocytes in ex vivo expanded therapeutic Epstein-Barr virus-specific T-cell cultures. *Blood*. 2002;99(9):3302–3309.
165. Haigh TA, Lin X, Jia H, Hui EP, Chan ATC, Rickinson AB, et al. EBV latent membrane proteins (LMPs) 1 and 2 as immunotherapeutic targets: LMP-specific CD4+ cytotoxic T cell recognition of EBV-transformed B cell lines. *J Immunol*. 2008;180(3):1643–1654.
166. Abendroth A, Kinchington PR, Slobedman B. Varicella zoster virus immune evasion strategies. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2010;342:155–171.
167. Zuo J, Rowe M. Herpesviruses placating the unwilling host: manipulation of the MHC class II antigen presentation pathway. *Viruses*. 2012;4(8):1335–1353.
168. Mason GM, Poole E, Sissons JGP, Wills MR, Sinclair JH. Human cytomegalovirus latency alters the cellular secretome, inducing cluster of differentiation (CD)4+ T-cell migration and suppression of effector function. *Proc Natl Acad Sci U A*. 2012;109(36):14538–14543.
169. Mandaric S, Walton SM, Rüllicke T, Richter K, Girard-Madoux MJH, Clausen BE, et al. IL-10 suppression of NK/DC crosstalk leads to poor priming of MCMV-specific CD4 T cells and prolonged MCMV persistence. *PLoS Pathog*. 2012;8(8):e1002846.
170. Orange JS, Fassett MS, Koopman LA, Boyson JE, Strominger JL. Viral evasion of natural killer cells. *Nat Immunol*. 2002;3(11):1006–1012.
171. Rezaee SAR, Cunningham C, Davison AJ, Blackbourn DJ. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus immune modulation: an overview. *J Gen Virol*. 2006;87(Pt 7):1781–1804.
172. Jasinski-Bergner S, Mandelboim O, Seliger B. Molecular mechanisms of human herpes viruses inferring with host immune surveillance. *J Immunother Cancer*. 2020;8(2):e000841.

173. Ahn K, Gruhler A, Galocha B, Jones TR, Wiertz EJHJ, Ploegh HL, et al. The ER-luminal domain of the HCMV glycoprotein US6 inhibits peptide translocation by TAP. *Immunity*. 1997;6(5):613–621.
174. Ploegh HL. Viral strategies of immune evasion. *Science*. 1998;280(5361):248–253.
175. Odeberg J, Plachter B, Brandén L, Söderberg-Nauclér C. Human cytomegalovirus protein pp65 mediates accumulation of HLA-DR in lysosomes and destruction of the HLA-DR alpha-chain. *Blood*. 2003;101(12):4870–4877.
176. Halenius A, Gerke C, Hengel H. Classical and non-classical MHC I molecule manipulation by human cytomegalovirus: so many targets—but how many arrows in the quiver? *Cell Mol Immunol*. 2015;12(2):139–153.
177. Jonjić S, Babić M, Polić B, Krmpotić A. Immune evasion of natural killer cells by viruses. *Curr Opin Immunol*. 2008;20(1):30–38.
178. Levitskaya J, Sharipo A, Leonchiks A, Ciechanover A, Masucci MG. Inhibition of ubiquitin/proteasome-dependent protein degradation by the Gly-Ala repeat domain of the Epstein-Barr virus nuclear antigen 1. *Proc Natl Acad Sci U A*. 1997;94(23):12616–12621.
179. Münz C, Moormann A. Immune escape by Epstein-Barr virus associated malignancies. *Semin Cancer Biol*. 2008;18(6):381–387.
180. Coscoy L. Immune evasion by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(5):391–401.
181. Rouse BT, Sehrawat S. Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome? *Nat Rev Immunol*. 2010;10(7):514–526.
182. Jensen K, Patel A, Larin A, Hoperia V, Saji M, Bauer A, et al. Human herpes simplex viruses in benign and malignant thyroid tumours. *J Pathol*. 2010;221(2):193–200.
183. Thomas F, Elguero E, Brodeur J, Le Goff J, Missé D. Herpes simplex virus type 2 and cancer: a medical geography approach. *Infect Genet Evol*. 2011;11(6):1239–1242.
184. Golais F, Mrázová V. Human alpha and beta herpesviruses and cancer: passengers or foes? *Folia Microbiol Praha*. 2020;65(3):439–449.

## 17. ŽIVOTOPIS

Romina Grozaj-Hranić rođena je u Zaboku, 9.6.1990. godine. Školovanje započinje u Osnovnoj školi Ksavera Šandora Gjalskog u Zaboku te istovremeno pohađa glazbenu školu i školu stranih jezika. Potom upisuje Gimnaziju Antuna Gustava Matoša u Zaboku (opći smjer, sportsko odjeljenje) koju završava 2008. godine. Usporedno sa srednjoškolskim obrazovanjem, nastupala je za hrvatsku žensku nogometnu U-19 reprezentaciju. Nakon kratkotrajnih avantura na određenim Sveučilišnim studijima koji, zapravo, nikad nisu bili njezin predmet interesa, naposljetku se odlučuje za svoju „prvu ljubav“ – medicinu. Integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij Medicina na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci upisuje 2012. godine. U slobodno vrijeme uživa u sviranju flaute i videoigrama („gamingu“). Aktivno se koristi engleskim i španjolskim jezikom.