

Kemokiner og kemokinreceptorer

Nye behandlingsmuligheder ved hiv-infektion

Christian N. Meyer, Morten Svenson og Klaus Bendtzen

Kemokiner er en stor gruppe signalpeptider som især produceres af leukocytter og som tiltrækker celler involveret i infektiøse og andre immuninflammatoriske processer. Kemokinerne virker ved binding til såkaldte 7-transmembranreceptorer, der bl.a. findes på T-lymfocytter og monocytter/makrofager. Studiet af disse kemotaktiske signalsystemer er accentueret betydeligt efter påvisning af at humant immundefekt virus (hiv) benytter kemokinreceptorer som et værktøj til at inficere T-lymfocytter og monocytter/makrofager. Den kliniske betydning er åbenbar; bl.a. kan hiv-resistens hos enkeltindivider kædes sammen med høj produktion af kemokiner og/eller med personer der på deres T-lymfocytter og monocytter/makrofager har muterede kemokinreceptorer.

Artiklen beskriver kort de nyligt erkendte molekulære interaktioner mellem hiv og målceller samt eksisterende og nye behandlingsmuligheder der hermed er muliggjort.

I 1980-81 blev man opmærksom på en ophobning blandt yngre mandlige, homoseksuelle patienter af ellers relativt sjældne sygdomsmanifestationer som akut virushepatitis, lungebetændelser med *Pneumocystis carini* og svampe samt cancer med hud- og slimhindetumoren Kaposi sarkom; en af de første iagttagelser kom fra Danmark (1). Patienterne havde lave koncentrationer af T-hjælper (Th)-lymfocytter i blodet (såkaldt CD4-tal) og nedsat funktion af især T-lymfocytter og *Natural Killer* (NK)-celler. Få år senere var det sygdomsudløsende retrovirus *human immunodeficiency virus* (hiv) identificeret, og siden kunne de enkelte virus placeres i to undergrupper: hiv-1 og hiv-2.

Siden 1989 har man vidst at in vitro-aktiverede leukocytter frigiver stoffer der modvirker hiv-infektion af CD4⁺-leukocytter. Disse stoffer er inden for de sidste to år blevet karakteriseret, og de forventes at få væsentlig indflydelse på behandlingsstrategi, vaccineudvikling og andre forebyggelsesstrategier i forbindelse med hiv-sygdommen.

Kemokiner og kemokinreceptorer

Sidst i 1995 identificeredes tre signalpeptider, cytokiner, med blokerende virkning på hiv-infektionen in vitro (2). Disse tilhører undergruppen af cytokiner, kaldet kemokiner, som især produceres af leukocytter og som udmærker sig ved at tiltrække og ofte aktivere celler involveret i infektiøse og andre immuninflammatoriske processer (3-5). Den kemotaktiske funktion er særlig virksom over for fagocyterende leukocytter. Kemokinerne er polypeptider med to velkonserverede disulfidbroer, og de inddeles på basis heraf i mindst tre grupper; en fjerde gruppe, som af nogle regnes til kemokinerne, har kun én disulfidbro (6). Afhængigt af om disse disulfidbroer udgår fra cysteinmolekyler der har en enkelt eller flere aminosyrer imellem sig (-X_n-) eller ligger side om side i kemokinet, skelner man mellem:

- 1) CXC- eller α -kemokiner, der har en aminosyre mellem cysteinmolekylerne; de er især betydningsfulde for rekrutteringen af neutrofile granulocytter (og i mindre grad basofile granulocytter).
- 2) CC- eller β -kemokiner, der udmærker sig ved at tiltrække monocytter/makrofager (ud over lymfocytter samt eosinofile og basofile granulocytter).
- 3) CX₃C eller fractalkiner, med tre aminosyrer mellem cysteingrupperne. CX₃C-domænet sidder på en mucinlignende stilk koblet til endotelcellers membraner. Disse kemokiner tiltrækker og immobiliserer monocytter og T-lymfocytter til blodets endotel.

Gruppen med kun én disulfidbro benævnes:

- 4) C- eller γ -kemokiner (lymfotactin), der produceres af og virker kemotaktisk over for T-lymfocytter.

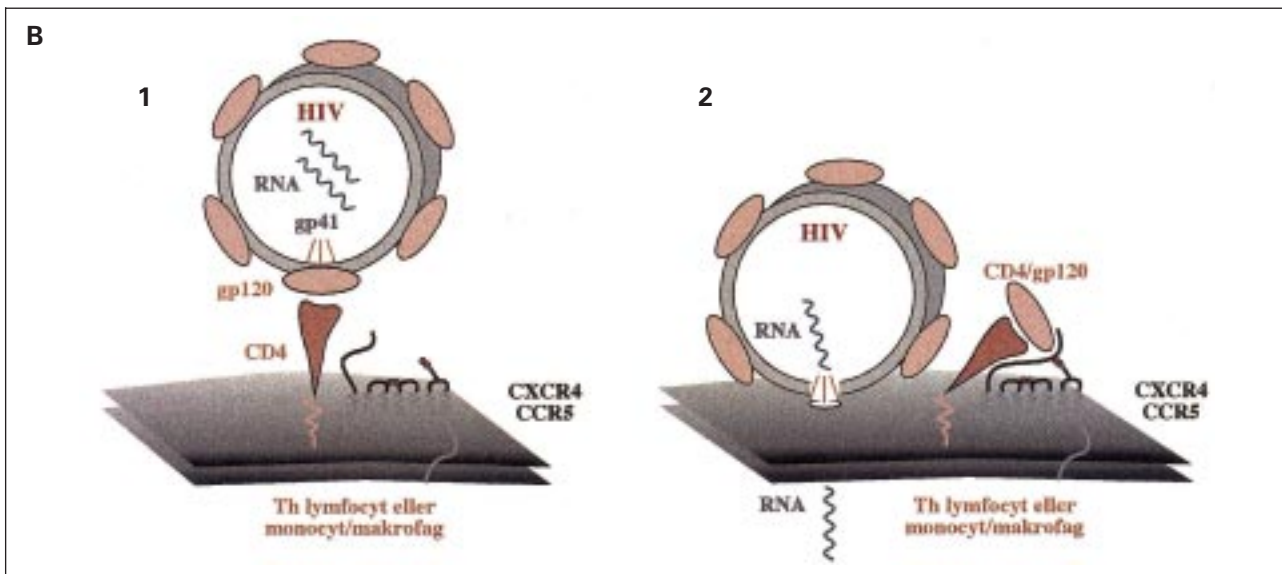
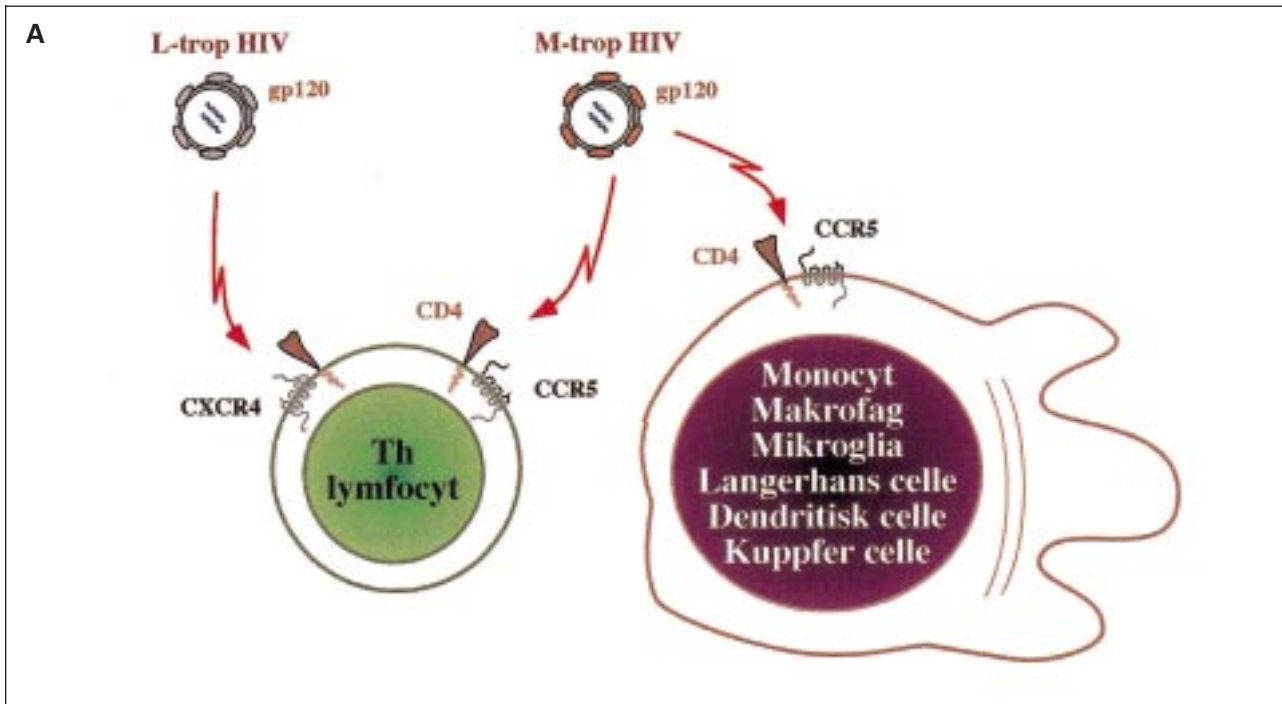


Fig. 1. Hiv-infektion af CD4⁺-lymfocyt og celle tilhørende monocyt-/makrofaglinien.

A: L-trope hiv-stammer inficerer CXCR4⁺ CD4⁺ T-hjælper (Th)-lymfocytter, og M-trope hiv-stammer inficerer CCR5⁺ Th og celler tilhørende monocyt-/makrofaglinien. CD: Cluster of differentiation.

B: Molekylære mekanismer ved hiv-infektionen: 1) Hiv-glykoprotein 120 (gp 120) binder til CD4. 2) CD4 og gp 120 bindes til CXCR4 respektive CCR5 på cellen. Blotlagt glykoprotein 41 (gp 41) frilægges og bidrager til membranpenetrationen, hvorefter hiv-rna transfereres til cellen.

Fig. 1. HIV infection of CD4⁺ lymphocyte and a cell of the monocyte/macrophage lineage.

A: The L-tropic HIV strains infect CXCR4⁺ CD4⁺ T helper (Th) lymphocytes and the M-tropic HIV strains infect CCR5⁺ Th and cells of the monocyte/macrophage lineage. CD: Cluster of differentiation.

B: Molecular mechanisms underlying the HIV infection: 1) HIV glycoprotein 120 (gp 120) binds to CD4. 2) CD4 and gp 120 bind to cellular CXCR4 and CCR5, respectively. Glycoprotein 41 (gp 41) is activated and contributes to membrane penetration. Then, HIV RNA is transcribed to the cell.

Receptorerne for de to undergrupper af kemokiner er ligeledes karakteriseret; de er af typen 7-transmembranreceptorer (Fig. 1 og 2). Her er der tale om familier af receptormolekyler der for CXC-kemokinreceptorerne benævnes CXCR1 - CXCR4, og for C-C-kemokinreceptorerne benævnes CCR1 - CCR5.

Inden for hver af de to receptorundergrupper har nogle affinitet for flere af kemokinerne, og tilsvarende kan hvert kemokin ofte binde til adskillige af receptorerne samtidigt. Sammensætningen og tætheden af receptorer på den enkelte celletype menes at afgøre hvorvidt en kemokinpåvirkning får betydning for kemotaksi og aktivering af denne celletype.

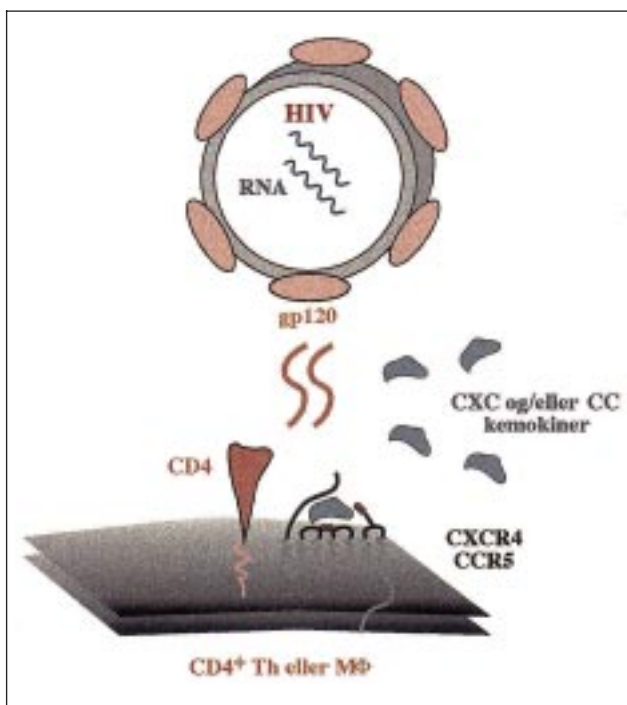


Fig. 2. Beskyttelse mod hiv-infektion af kemokiner. CC-kemokinerne RANTES (Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted), MIP (Macrophage Inflammatory Protein)-1 α og MIP-1 β er effektive blokkere af hiv-infektion in vitro. CXC-kemokinet SDF (Stromal-Derived Factor)-1 er på samme måde effektivt i infektionsmodeller med L-trope virus (men ikke med M-trope virus) (18,19).

Fig. 2. Protection by chemokines of HIV infection. The CC chemokines RANTES (Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted), MIP (Macrophage Inflammatory Protein)-1 α and MIP-1 β are effective suppressors of HIV infection in vitro. Likewise, the CXC chemokine SDF (Stromal-Derived Factor)-1 is effective in models of infection with L-tropic virus (but not with M-tropic virus) (18,19).

Kemokiner og hiv

En af årsagerne til den vedvarende hiv-infektion er at hiv er hypermuterende, hvorved virusvarianter opstår hurtigere end værten kan etablere et nyt effektivt immunrespons. Disse mange hiv-stammer kan inficere visse celler af human oprindelse samt tilsvarende celler fra nært beslægtede aber. Karakteristisk for disse celler er membranmarkøren CD4, der har stor bindingsaffinitet til hiv-proteinet gp 120 (Fig. 1). Såkaldte L-trope hiv-stammer inficerer CD4⁺-Th-lymfocytter, mens M-trope stammer tillige inficerer CD4⁺-celler af monocyt-/makrofaglinien. Man har dog i nogle år vidst at CD4-molekylet ikke alene afgør om en celle lader sig inficere, og at kofaktorer derfor må være medinddraget i hiv-infektionsprocessen.

Det er nu vist at CCR5 på monocytter/makrofager og Th-lymfocytter fungerer som koreceptor for de M-trope hiv-virus (7-9), mens CXCR4 (også benævnt fusin) på Th-lymfocytter er koreceptor for de L-trope virus (10) (Fig. 1). Også hjernens mikroglia inficeres via CCR, men her primært CCR3 og CCR5 (11).

Betydningen af kemokinreceptorerne understreges af at enkelte individer, der trods gentagen eksposition for hiv forbliver uinficerede, er homozygote for en særlig mutation i CCR5 (12-15). Disse individer lader sig tilsyneladende ikke inficere med M-trope hiv-stammer, fordi den CCR5-medierte internalisering af virus ikke kan gennemføres. Den heterozygote form findes hos hiv-positive individer, men de udviser langsommere sygdomsprogression end hiv-positive uden denne mutation. CCR5-mutationen er kun beskrevet hos mennesker af den kaukasiske race, og den er hidtil ikke set i befolkningsgrupper af asiatisk eller afrikansk oprindelse. Den synes i øvrigt ikke at afficere immunsystemets normale funktioner.

Hos hiv-inficerede der overlever i mange år uden tegn på reduktion af CD4-tallet, er kemokin-produktionsevnen væsentligt større end hos patienter med progredierende sygdom (9-13). Dette, sammenholdt med rekombinante kemokiners evne til at blokere hiv-infektion in vitro (2), demonstrerer en mekanisme hvor naturlige eller syntetiske kemokiner kan udnyttes til at modvirke infektion af CD4-celler og derved hæmme infektionens udbredelse i individet (Fig. 2).

Perspektiver for behandling

Kombinationsbehandling med en cocktail af anti-retrovirale farmaka har de seneste år haft særdeles gavnlig virkning. Disse farmaka angriber processer der syntetiserer dna på basis af det af virus overførte rna, og virale proteasers tilskæring af proteiner til opbygning af nye viruspartikler (Fig. 3). De kliniske virkninger er a) at koncentrationen af hiv-rna i

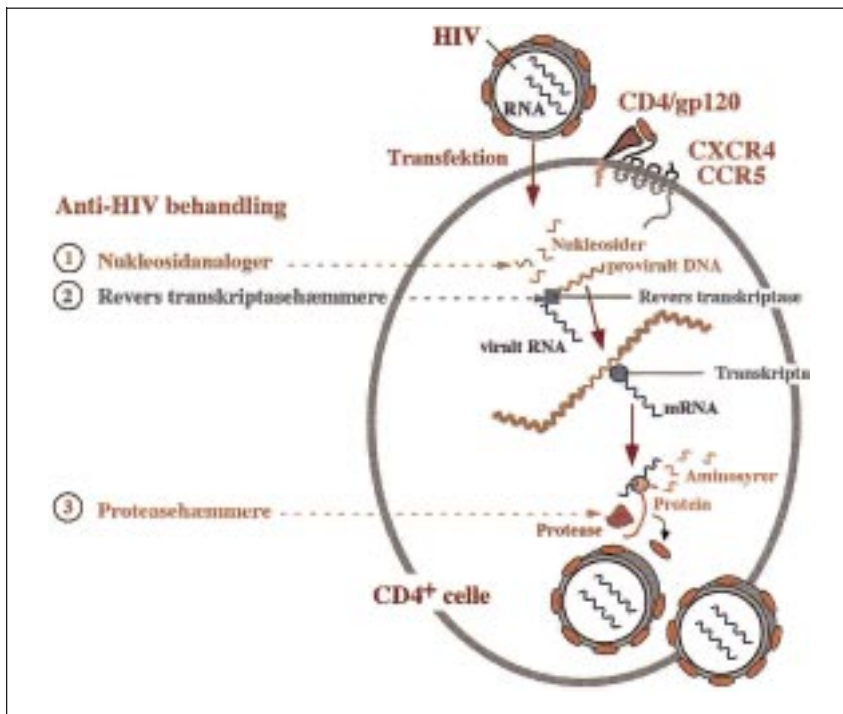


Fig. 3. Antiviral behandling af hiv-infektion. Molekylære mål for kombinationsbehandling af hiv-sygdommen: 1. Analoger til nukleosider, der er byggesten for dna. Disse analoger indbygges i den på baggrund af hiv-rna-nydannede dna og blokerer derved for færdiggørelsen af såkaldt proviralt dna. 2. Hæmmere af revers transkriptase der medvirker til opbygningen af proviralt dna på baggrund af hiv-rna. 3. Hæmmere af hiv-kodede proteaser der medvirker ved opbygningen af nysyntetiseret hiv.

Fig. 3. Antiviral treatment of HIV infection. The molecular targets for combination therapy of HIV infection: 1. Nucleoside analogues – the DNA building blocks. These analogues are incorporated into HIV RNA-coded DNA and blocks the termination of proviral DNA. 2. Inhibitors of reverse transcriptase, which contributes to the formation of proviral DNA on the basis of HIV RNA. 3. Inhibitors of HIV-coded proteases involved in the formation of newly synthesised HIV particles.

blodceller og lymfoidt væv mindskes væsentligt, i mange tilfælde til umåleligt niveau, b) at det ellers faldende CD4-tal, der benyttes som markør for sygdommens sværhedsgrad, stiger vedvarende, uden dog at normaliseres helt, og c) at patienterne ikke udviser den forventede sygdomsprogression. Disse virkninger er set efter op til to års behandling. De næste år vil vise om disse gavnlige effekter kan opretholdes.

Ved resistens mod den antivirale kombinationsbehandling kan modulation af kemokinsystemet komme til at spille en væsentlig rolle. Det er også tænkeligt at resistensudvikling kan forebygges ved på et tidligt tidspunkt at inddrage kemokinsystemet som terapeutisk angrebepunkt. Erkendelsen af CCR5, CXCR4 og kemokinernes betydning for hiv-infektionen har naturligvis intensiveret forsøgene på at manipulere disse mekanismer. Farmaka der på receptorplan kan udkonkurrere hiv-bindingen, kan være native kemokiner, kemokinanaloger (agonister eller antagonist), CCR5- og CXCR4-bindende antistoffer samt stoffer der øger produktionen af kemokiner eller reducerer produktionen af receptorerne. Kemokinanaloger med antagonistisk virkning på CCR5 og med in vitro-hæmmende virkning på hiv-infektionen er allerede beskrevet (16,17).

Udvikling af en hiv-vaccine med beskyttende effekt hos mennesker har hidtil været uden succes, og aktiviteten på dette felt er faldet de senere år. Behovet for en effektiv vaccine er imidlertid stort, især i den tredje verden, fordi hyppig-

heden af hiv/aids er betydelig i disse lande, og fordi man ikke dér har økonomiske muligheder for at bekoste antiviral behandling af de hiv-smittede. En vaccine der stimulerer hiv-specifikke, cytotoxiske lymfocytter og evt. samtidig øger kemokinproduktionen, eller en vaccine der inducerer antistoffer mod CCR5 og CXCR4, er attraktive muligheder. Opdagelsen af kemokinernes betydning for hiv-infektionen kan således også være incitament til at forny bestræbelserne på at udvikle en effektiv hiv-vaccine.

English summary

Chemokines and chemokine receptors. New therapeutic possibilities in HIV infection

Chemokines constitute a large group of signal peptides produced primarily by leucocytes; they are chemotactic for cells involved in infectious and other immunoinflammatory processes. The chemokines function through binding to so-called 7-transmembrane receptors found on T-lymphocytes and monocytes/macrophages, among other cell types. The study of these signalling molecules has increased considerably after investigations showing that Human Immunodeficiency Virus (HIV) uses chemokine receptors as tools to infect T-lymphocytes and monocytes/macrophages. The clinical significance of this knowledge is obvious, since HIV resistance in individuals is correlated with increased production of chemokines and/or with individuals having T-lymph-

ocytes and monocytes/macrophages with mutated chemokine receptors.

The paper describes new knowledge on the molecular interactions between HIV and target cells, and existing and novel therapeutic possibilities derived from this knowledge.

Litteratur

1. Høybye G, Skinhøj P, Hentzer B, Faber V, Mathiesen L. An epidemic of acute viral hepatitis in male homosexuals. Etiology and clinical characteristics. *Scand J Infect Dis* 1980; 12: 241-4.
2. Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 α , and MIP-1 β as the major HIV-suppressive factors produced by CD8⁺ T cells. *Science* 1995; 270: 1811-5.
3. Bendtzen K, Hansen MB, Ross C, Poulsen LK, Svenson M. Cytokines and autoantibodies to cytokines. *Stem Cells* 1995; 13: 206-22.
4. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: An update. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 675-705.
5. Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, Wang W, Soo K, Rossi D, et al. A new class of membrane-bound chemokine with a CX₃C motif. *Nature* 1997; 385: 640-4.
6. Kelner GS, Kennedy J, Bacon KB, Kleyensteuber S, Largaespada DA, Jenkins NA, et al. Lymphotactin: A cytokine that represents a new class of chemokine. *Science* 1994; 266: 1395-9.
7. Alkhatib G, Combadiere C, Broder CC, Feng Y, Kennedy PE, Murphy PM, et al. CC CKR5: a RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* 1996; 272: 1955-8.
8. Deng H, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M, et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996; 381: 661-6.
9. Dragic T, Litwin V, Allaway GP, Martin SR, Huang Y, Nagashima KA, et al. HIV-1 entry into CD4⁺ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 1996; 381: 667-73.
10. Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 1996; 272: 872-7.
11. He J, Chen Y, Farzan M, Choe H, Ohagen A, Gartner S, et al. CCR3 and CCR5 are co-receptors for HIV-1 infection of microglia. *Nature* 1997; 385: 645-9.
12. Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 1996; 86: 367-77.
13. Paxton WA, Martin SR, Tse D, O'Brien TR, Skurnick J, VanDevanter NL, et al. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure. *Nat Med* 1996; 2: 412-7.
14. Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996; 382: 722-5.
15. Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Smith MW, Allikmets R, et al. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. *Science* 1996; 273: 1856-62.
16. Simmons G, Clapham PR, Picard L, Offord RE, Rosenkilde MM, Schwartz TW, et al. Potent inhibition of HIV-1 infectivity in macrophages and lymphocytes by a novel CCR5 antagonist. *Science* 1997; 276: 276-9.
17. Arenzana-Seisdedos F, Virelizier J-L, Rousset D, Clark-Lewis I, Loetscher P, Moser B, et al. HIV blocked by chemokine antagonist. *Nature* 1997; 383: 400.
18. Oberlin E, Amara A, Bachelier F, Bessia C, Virelizier J-L, Arenzana-Seisdedos F, et al. The CX₃C chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. *Nature* 1996; 382: 833-5.
19. Bleul CC, Farzan M, Choe H, Parolin C, Clark-Lewis I, Sodroski J, et al. The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. *Nature* 1996; 382: 829-33.

Forfattere

Christian N. Meyer, klinisk assistent, læge, Morten Svenson, laboratoriechef, cand.scient., og Klaus Bendtzen, professor, overlæge, dr.med.
Institut for Inflammationsforskning, RHIMA centret, Rigshospitalet, Tagensvej 20, 2200 København N