



2024. XXIV. évfolyam 1. szám

Tartalom:

Humán anellovírusok – a rendkívül széles körben elterjedt víruscsalád

Szerző: Hettmann Andrea

Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ, Molekuláris Referencia

Laboratóriumi Főosztály, Virologiai Laboratóriumi Osztály

2024



Kiadja: Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ

A kiadó és a szerkesztőség székhelye: 1097 Budapest, Albert Flórián út 2-6.

Felelős kiadó: Dr. Müller Cecília

Alapító szerkesztő:

Dr. Füzi Miklós

Dr. Gacs Mária

Felelős szerkesztő:

Pásztai Judit

Mikrobiológiai Referencia Laboratóriumi Főosztály

Szerkesztő:

Dr. Áy Éva

Erdősi Tímea

Dr. Tóth Ákos

Technikai szerkesztő:

Adraveczi Lilla

Olvasó szerkesztő:

Dr. Dencs Ágnes

Prof. Dr. Pál Tibor

ISSN 2063-9813 (Online)

A Mikrobiológiai Körlevelek az NNGYK honlapján

www.nnk.gov.hu elérhetőek

Humán anellovírusok – a rendkívül széles körben elterjedt víruscsalád

Szerző: Hettmann Andrea

Nemzeti Népegészségügyi és Gyógyszerészeti Központ, Molekuláris Referencia

Laboratóriumi Főosztály, Virologiai Laboratóriumi Osztály

Bevezetés

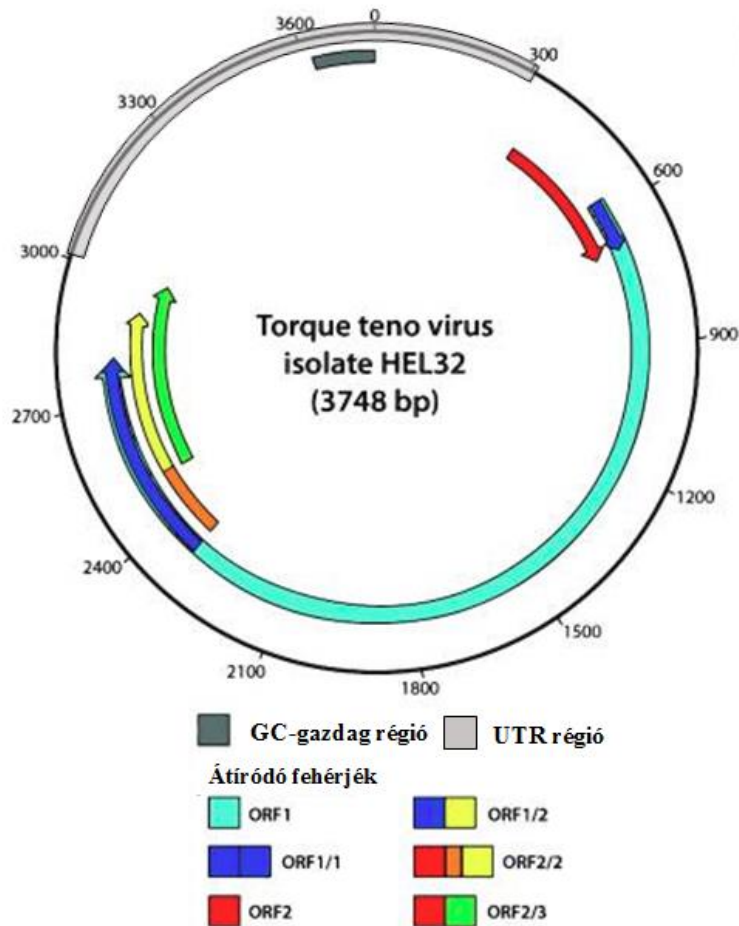
A Torque Teno vírust először egy poszt-transzfúziós hepatitiszben szenvedő betegből mutatták ki Japánban, 1997-ben. Eredetileg a beteg nevének kezdőbetűiről (TT) kapta a nevét, illetve utaltak ezzel az elnevezéssel a terjedési módra is (transfusion-transmitted), azonban 2009-ben a Nemzetközi Vírustaxonómiai Bizottság (International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV) megváltoztatta a nevét az eredeti rövidítés megtartása mellett. A torque teno név latin eredetű, a “*torque*” nyakláncot jelent, míg a “*tenuis*” jelentése vékony, ami a vírus egyszálú, cirkuláris genomjára utal.

Morfológiai hasonlóságuk alapján a TTV-t eleinte a *Circoviridae* családba sorolták, ma már azonban az *Anelloviridae* család tagja. Ez egy genetikailag rendkívül változatos víruscsalád, a jelenleg ismert 31 nemzetségéből háromba, az *Alpha-* (Torque teno vírus) a *Beta-* (TTV-szerű minivírus-TTMV) és a *Gammatorquevirus* (TTV-szerű midivírus-TTMDV) genusba tartozó vírusok fertőznek embert, a többi anellovírus a legkülönbélebb emlősöket fertőzi. A víruscsalád változatosságát mutatja, hogy az ICTV meghatározása alapján az egyes genusok között minimum 35% az eltérés nukleotid szinten. A víruscsalád ilyen fokú változékonyságának magyarázatára egyelőre csak elméletek vannak. Egyrészt eredhet abból, hogy egy nagyon ősi víruscsaládról van szó, és a több millió éves koevolúció a gazdaszervezetekkel megágyazhatott ennek a változékonyságnak, azonban más folyamatoknak is közre kellett játszaniuk, például gyakori rekombinációknak az egyes törzsek között, vagy genetikai átrendeződéseknek, azonban ezek szerepére egyelőre nincsenek megbízható bizonyítékok (Kaczorowska és van der Hoek, 2020).

Morfológia és életciklus

Az anellovírusok burok nélküli, ikozahedrális szimmetriájú vírusok, kapszidjuk átmérője a TTV esetében 30-50 nm, míg a TTMV esetében 30 nm alatti. Kompakt, egyszálú, negatív irányultságú DNS genomjuk hossza kevesebb, mint 4 kilobázis. A genom elején egy konzervált nem átíródó régió (untranslated region – UTR) található, melynek feltehetően a vírus replikációjának szabályozásában van szerepe. Ezt egy extrém változékony kódoló régió

követi, amely több, egymással átfedő nyitott leolvasási keretet tartalmaz (open reading frame – ORF). A genomról háromféle mRNS íródik át, melyekről alternatív splicing révén összesen hatféle virális fehérje keletkezhet. A genom sematikus felépítése az 1. ábrán látható.



1. ábra *A TTV genom szerkezete*: A mintegy 4 kB nagyságú genomban egy GC-gazdag régiót tartalmazó nem transzlálódó régiót (UTR) egymással átfedő nyitott leolvasási kereteket tartalmazó kódoló régió követ (Kaczorowska és van der Hoek, 2020 alapján módosításokkal).

Legnagyobb mennyiségben az ORF1 átírata keletkezik, ami a kapszidfehérjét kódolja. Az ORF2 fehérjéje egy szabályozófehérje, mely nagy valószínűséggel az immunválasz elkerülésében is szerepet játszik, azonban mivel kizárólag a citoplazmában lokalizálódik, strukturális szerepe is lehet. A kétszeres splicing eredményeképpen létrejövő egyéb fehérjék (ORF1/1, ORF 2/2, ORF 1/2 és ORF 2/3) pontos funkcióit nem ismerjük (Kaczorowska és van der Hoek, 2020).

A legtöbb ismert cirkuláris DNS vírus a DNS megkettőzéséhez az ún. gördülő kör (rolling circle) mechanizmust használja, és az eddigi ismeretek alapján igaz ez a TT vírusokra is. Genomjuk olyan konzervatív motívumokat tartalmaz, melyek hasonlítanak a rolling circle replikáció asszociált fehérjék motívumaira, illetve mutattak ki máj- és csontvelőmintákban

kétszálú TTV genom intermediereket, ami jellemző a gördülő kör replikáció mechanizmusára. Az anellovírusok nem kódolnak saját DNS polimerázt, a gazdasejt replikációs rendszerét használják, ezért a replikációjuk a sejtmagban zajlik.

Bár már huszonöt éve ismert víusról van szó, az életciklusával kapcsolatos hipotézisek nagyrészt a többi cirkuláris egyszálú DNS genommal rendelkező vírus életciklusának ismeretén alapulnak. A vírus receptora nem ismert, de az a tény, hogy sokféle szövetet képes fertőzni valószínűsíti, hogy egy olyan sejtfelszíni molekula lehet, ami sokféle sejttípuson nagy számban megjelenik. Ehhez hasonlóan nem ismertek a virion összeszerelődésének és a sejtekből történő kijutásának a pontos részletei, itt is azzal a feltételezéssel élnek, hogy a többi buroknélküli vírushoz hasonlóan a kész vírusrészecskék a citoplazmában szerelődnek össze, és a fertőzött sejt lízisével jutnak ki a külvilágba. Az utóbbi időszak kutatásai TTV virionokat mutattak ki extracellulárisan keringő vezikulumokban, ami egy alternatív útvonal lehet a sejtekből való kijutásra, illetve például az immunválasz elkerülésében is szerepet játszhat (Spezia és mtsai, 2023).

Epidemiológia

Bár felfedezése után a TTV-t többféle kórképpel is kapcsolatba hozták, valószínűleg nem okoz közvetlenül betegséget. A konzervatív UTR régióra specifikus primerek használatával kiderült, hogy az anellovírusok jellegzetessége a rendkívül magas prevalencia, gyakorlatilag az egész emberi populáció fertőzöttnek tekinthető. Gyakori a többféle genotípussal történő egyidejű fertőzés is. A kutatások alapján a primer fertőzés már csecsemőkorban megtörténhet, a prevalencia az első néhány hónapban meredeken emelkedik, és négyéves korra eléri a felnőttkorra jellemző értéket (Tyschik és mtsai, 2018; Väisänen és mtsai, 2022). Izolációban élő embereknél is a társadalomban élőkhez hasonló fertőzöttség mutatható ki. A TTV terjed vérrel és vérkészítményekkel, és terjedhet vertikálisan is (anyáról magzatra). Emellett egyéb testváladékokból is kimutatható (nyál, orrváladék, könny, nemi váladék, széklet, vizelet), így valószínűsíthető a más átviteli út is.

A vírus nemcsak a populáció szintjén rendkívül elterjedt, hanem nagyon magas kópiaszámban lehet jelen a szervezet különböző szekrétumaiban, és a legkülönbözőbb szöveteket képes fertőzni egy szervezeten belül. Így valószínűleg az emberi virom legnagyobb mennyiségben jelen levő tagja. A virom kifejezést a szervezetben (vagy akár csak egy vizsgált szervben) aktuálisan jelen levő vírusokra értjük. A vírusokról korábban azt gondolták, hogy csak betegség esetén vannak jelen a szervezetben, mára azonban bebizonyosodott, hogy nagy mennyiségben előfordulnak egészséges egyénekben is. Ez a

virális „flóra” egyrészt a szervezet számára veszélytelen komponenseket is tartalmaz, mint a bakteriofágok, endogén retrovírusok, ártalmatlan eukarióta vírusok, de természetesen a virom részei azon vírusok is, melyek látens fertőzéseket, illetve akut vagy krónikus megbetegedéseket okoznak (Spezia és mtsai, 2023).

Klinikai vonatkozások és patogenezis

Egyelőre nincsen egyértelmű magyarázat arra, hogy minek köszönhető az anellovírusok ilyen mértékű elterjedése és a sikerük az immunválasz elkerülésében. A legújabb kutatások azt igazolták, hogy a TT vírus által termelt peptidek nagy része nem eredményez hatékony ellenanyag választ, annak ellenére, hogy kimutattak immunrendszert aktiváló fehérjérszleteket. A leginkább immunogén epitópok az ORF1 peptid C terminálisán helyezkednek el mindhárom humán fertőzést okozó genus esetében. Kimutatták azonban, hogy ezek az epitópok az érett virionban nem mutathatók ki, az összeszerelődés során kivágódnak. A hipervariábilis régió által kódolt részek tüske domének csúcsán helyezkednek el a kapszidban, ami az immunrendszer számára a legkönnyebben hozzáférhető régió, viszont a rendkívül gyorsan változó természetük miatt a vírus elleni védekezésben csaliként viselkednek, nem tud hatékony ellenanyagválasz kialakulni ellenük (Liou és mtsai, 2022). Ezt támasztják alá azok a vizsgálati eredmények, ahol ép immunrendszerű recipiensekben vizsgálták a vérkészítménnyel kapott TT vírusok elleni ellenanyagválaszt. Azt találták, hogy ép immunrendszerű recipiensek esetén sem volt kimutatható ellenanyagválasz a donortól kapott anellovírusok nagy része ellen, és ahol volt, ott is a megszokottnál sokkal később (a transzfúziót követően 100-150 nappal) alakult csak ki. Ez a fent említett okok mellett következhet az anellovírus fertőzés kommenzális (nem patogén) természetéből, valamint abból, hogy a születést követően nagyon rövid időn belül megtörténik a fertőződés, és ez egyfajta toleranciát alakít ki ezekkel a vírusokkal szemben (Venkataraman és mtsai, 2022).

Sajnos a TTV kiváltotta celluláris immunválaszról még kevesebbet tudunk. Az ismert, hogy az ORF2 termékének immunmoduláló szerepe van. Az NF- κ B transzkripció faktort gátolja, ami mind a veleszületett, mind az adaptív immunrendszer beindításában központi szerepet játszik (Spezia és mtsai, 2023). A TTV DNS-ről bebizonyosodott, hogy *ex vivo* kísérletekben aktiválta a toll-szerű receptor-9-et (TLR-9). Ez egy intracelluláris DNS-receptor, és elősorban virális és bakteriális DNS jelenlétében indít be gyulladáso folyamatokat (Rocchi és mtsai, 2009). Ezeket a megfigyeléseket azonban *in vivo* nem sikerült alátámasztani, és a primer TTV fertőzést követő longitudinális vizsgálatok sem tudtak szisztémás gyulladáso választ kimutatni a TTV fertőzést követően (Gore és mtsai, 2023).

A TTV és általában az anellovírusok pontos klinikai hatásai jelenleg nem ismertek. A felfedezésének körülményei miatt sokáig tartotta magát az a feltételezés, hogy szerepük van valamilyen akut vagy krónikus májbetegség kialakulásában. A ma elfogadott nézet szerint azonban közvetlenül nem okoznak betegséget, már csak ubikviter jellegük miatt sem, az viszont nem kizárható, hogy egyes genotípusok vagy genocsoportok patogénebbek a többinél. Emellett számos betegcsoportban a kontrollcsoporthoz képest magasabb TTV prevalenciát írtak le egyes genocsoportok esetében, így különböző vese-, máj-, tüdő- és immunrendszert érintő megbetegedésekben, valamint különböző daganatos elfajulásokban. Sajnos az emögött álló okok nem tisztázottak, bár nem zárható ki a TTV kofaktor szerepe, azonban a betegségek esetében fennálló gyulladás, a – daganatok esetében – megnövekedett mértékű sejtsztódás vagy az immunrendszer állapota is okozhatja a magasabb prevalenciát (Spandole és mtsai, 2015).

A TTV-vel kapcsolatos kutatások napjainkban döntően arra irányulnak, hogy lehet-e a vírus mennyiségét a vérben az immunrendszer állapotának biológiai markereként használni. A TTV replikációját is – mint a virom minden tagját – a megfelelően működő immunrendszer valamennyire kordában tartja, és a vérben kimutatható TTV mennyiség rendszeres időközönként vizsgálva képet adhat az immunrendszer aktuális állapotáról. Az eredmények leginkább a szolid szerv transzplantáltak esetében tűnnek ígéretesnek. Ebben a betegcsoportban az alkalmazott – az immunrendszer működését elnyomó – kilökődésgátló gyógyszerek adagolását azok vérben lévő szintje alapján határozzák meg jelenleg, ez azonban nem áll szoros korrelációban az esetleges kilökődéssel (aluldozírozás) vagy a megjelenő fertőzésekkel (túldozírozás). A TTV vérben kimutatható mennyisége azonban jó biomarkernek tűnik. Az alacsony TTV szint kifejezetten jól korrelál a kilökődési folyamat megindulásával, és a magasabb TTV szint is mutat összefüggést a különböző fertőzések magasabb kockázatával. Emellett a mérés is egyszerű és viszonylag gyorsan és olcsón kivitelezhető real-time PCR módszerrel alapszik, és ha a korábbi mintákat megfelelően tárolják, akkor összehasonlítás céljából a vizsgálat retrospektíven is elvégezhető. Jelenleg két klinikai vizsgálat is zajlik Európában, ahol azt vizsgálják, hogy tüdő-, illetve vesetranszplantáltak esetében a vérben kimutatható TTV szint mérése helyettesítheti-e a kilökődésgátló gyógyszerek szintjének mérését. Mindkét vizsgálat 2025-ben zárul majd, és mindenképpen izgalmas próbálkozás arra, hogy a humán viromból származó információ hogyan hasznosítható akár immunológiai célokra (Gore és mtsai, 2023).



Diagnosztika

A TTV laboratóriumi diagnosztikája több szempontból is nehezített. Nem áll rendelkezésre megfelelő sejtvonal a vírus izolálásához és a tenyésztéséhez. Mivel az antitest válasz, ha van egyáltalán, lassú és bizonytalan, így a szerológiai diagnosztika sem alkalmazható, ráadásul a virális antigének is kis számban vannak jelen, így az antigén alapú diagnosztika sem működik. Emiatt egyedül a nukleinsav alapú kimutatás jön szóba. Korábban genocsoport specifikus kvalitatív PCR vizsgálatot használtak, napjainkban azonban az UTR régió konzervatív szakaszára specifikus real-time PCR terjedt el, ami alkalmas az összes ismert species kimutatására. Általában a laboratóriumok egymástól függetlenül dolgozzák ki saját TTV diagnosztikájukat, ami korlátozza az eredmények összehasonlíthatóságát. Egyelőre egyféle standardizált reagens van kereskedelmi forgalomban. Erre valószínűleg akkor lenne nagyobb igény, ha a TTV-szint mérés a standard protokoll része lenne például a fent említett szolid szerv transzplantáltak körében.

Felhasznált irodalom:

- Gore EJ, Gard L, Niesters HGM, Van Leer Buter CC. Understanding torquetenovirus (TTV) as an immune marker. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Jun 13;10:1168400. doi: 10.3389/fmed.2023.1168400. PMID: 37384041; PMCID: PMC10296770
- Kaczorowska J, van der Hoek L. Human anelloviruses: diverse, omnipresent and commensal members of the virome. *FEMS Microbiol Rev*. 2020 May 1;44(3):305-313. doi: 10.1093/femsre/fuaa007. PMID: 32188999; PMCID: PMC7326371.
- Rocchi J, Ricci V, Albani M, Lanini L, Andreoli E, Macera L, Pistello M, Ceccherini-Nelli L, Bendinelli M, Maggi F. Torquetenovirus DNA drives proinflammatory cytokines production and secretion by immune cells via toll-like receptor 9. *Virology*. 2009 Nov 25;394(2):235-42. doi: 10.1016/j.virol.2009.08.036. Epub 2009 Sep 18. PMID: 19765789.
- Shu-hao Liou, Noah Cohen, Yue Zhang, Nidhi Mukund Acharekar, Hillary Rodgers, Saadman Islam, Lynn Zeheb, Jared Pitts, Cesar Arze, Harish Swaminathan, Nathan Yozwiak, Tuyen Ong, Roger J. Hajjar, Yong Chang, Kurt A. Swanson, Simon Delagrave, 2022 Anellovirus Structure Reveals a Mechanism for Immune Evasion bioRxiv 2022.07.01.498313; doi: <https://doi.org/10.1101/2022.07.01.498313>
- Spandole S, Cimponeriu D, Berca LM, Mihăescu G. Human anelloviruses: an update of molecular, epidemiological and clinical aspects. *Arch Virol*. 2015 Apr;160(4):893-908. doi: 10.1007/s00705-015-2363-9. Epub 2015 Feb 15. PMID: 25680568.
- Spezia PG, Focosi D, Baj A, Novazzi F, Ferrante FD, Carletti F, Minosse C, Matusali G, Maggi F. TTV and other anelloviruses: The astonishingly wide spread of a viral infection. *Asp Mol Med*. 2023;1:None. doi: 10.1016/j.amolm.2023.100006. PMID: 37398508; PMCID: PMC10308510.
- Tyschik EA, Rasskazova AS, Degtyareva AV, Rebrikov DV, Sukhikh GT. Torque teno virus dynamics during the first year of life. *Virology*. 2018 May 30;15(1):96. doi: 10.1186/s12985-018-1007-6. PMID: 29843750; PMCID: PMC5975406.
- Väisänen E, Kuisma I, Mäkinen M, Ilonen J, Veijola R, Toppari J, Hedman K, Söderlund-Venermo M. Torque Teno Virus Primary Infection Kinetics in Early Childhood. *Viruses*. 2022 Jun 11;14(6):1277. doi: 10.3390/v14061277. PMID: 35746748; PMCID: PMC9231046.
- Venkataraman T, Swaminathan H, Arze CA, Jacobo SM, Bhattacharyya A, David T, Nawandar DM, Delagrave S, Mani V, Yozwiak NL, Larman HB. Comprehensive profiling of antibody responses to the human anelloviralome using programmable phage display. *Cell Rep*. 2022 Dec 20;41(12):111754. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111754. PMID: 36543141.