Diplomarbeit

Chromosomal integriertes humanes Herpesvirus 6

(ciHHV-6)

Auswirkungen und klinische Relevanz

eingereicht von

Michael HARG

Geb.Dat.: 06.05.1985

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Univ. Klinik für Kinder und Jugendheilkunde

unter der Anleitung von

Univ.-Ass. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Strenger Volker

&

Dr.in med.univ. Pansy Jasmin

Graz, 21. August 2012

(Unterschrift)

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, 21. August 2012

Unterschrift

Das einzig Wichtige im Leben sind die Spuren der Liebe,
die wir hinterlassen, wenn wir gehen.
(Albert Schweizer)

Danksagungen

Ich danke meinen Eltern, die mich zeitlebens in weit mehr als nur in materieller Hinsicht unterstützt haben und durch ihre offene und großzügige Art zu einem wesentlichen Teil geprägt haben. Ich danke euch von ganzem Herzen!

Besonderer Dank gilt meinem Betreuer Dr. Volker Strenger, der mich bereits im Sommer 2010 während einer Famulatur für dieses Thema begeistern konnte und infolge der Entstehung dieser Arbeit stets für Nachfragen für mich erreichbar war und mir mit Rat und Tat zur Seite stand. Auch die spätabendlichen Diplomarbeits- und Studienbesprechungen, die oft auch nur Alltägliches zum Inhalt hatten, werden mir in angenehmer Erinnerung bleiben.

Ein herzliches Danke auch an meine Kobetreuerin Dr. Jasmin Pansy, die sich auch während ihres Urlaubs der Korrektur dieser Diplomarbeit widmete und mit viel konstruktiver Kritik zum Feinschliff dieser Arbeit beitrug.

Ich danke dir Lisa, für deine Unterstützung in den letzten Jahren und für deine Opfer, die du speziell im letzten Semester gebracht hast um mich bei meiner Arbeit zu unterstützen. Auch dir danke ich von ganzem Herzen.

Zuletzt möchte ich mich bei all meinen Freunden bedanken, die einen Teil zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben und mir während dieser Zeit motivierend zur Seite standen.

Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNGEN IV

INHALTSVERZEICHNIS V

GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN VIII

ABBILDUNGSVERZEICHNIS XI

TABELLENVERZEICHNIS XII

ZUSAMMENFASSUNG XIII

ABSTRACT XIV

1 EINLEITUNG 1

2 HUMANPATHOGENE HERPESVIREN 4

2.1 Eigenschaften 4

2.2 Virusaufbau 4

2.3 Herpesvirus-Typen 6

2.3.1 Alpha-virinae 6

2.3.2 Beta-virinae 9

2.3.3 Gamma virinae 11

2.4 Humanes Herpesvirus 6 (HHV-6) 13

2.4.1 Grundlagen 13

2.4.2 Epidemiologie 13

2.4.3 Pathogenese 13

2.4.4 Tropismus 14

2.4.5 Latenz 14

2.4.6 Übertragung 15

2.4.7 Krankheitsbilder 15

2.4.8 Onkogenes Potential 18

2.4.9 Transaktivierende Eigenschaften von HHV-6 18
2.4.10 Virale Interaktionen mit HHV-6 19
2.4.11 Molekulare Interaktion zwischen HHV-6 und dem Immunsystem 20
2.4.12 Nachweismethoden 21
2.4.13 Therapie 21

3 CHROMOSOMAL INTEGRIERTES HUMANES HERPESVIRUS 6 (CIHHV-6) 23

3.1 Allgemeines 23

3.2 Prävalenz 25

3.3 Nachweismethoden 26

3.4 Klinische Relevanz 30
3.4.1 ciHHV-6 als ein Störfaktor in der Diagnose aktiver HHV-6-Infektionen 30
3.4.2 Krankheitsrelevanz von ciHHV-6 33

4 MATERIAL UND METHODEN 37

5 ERGEBNISSE 40

5.1 ciHHV-6-Nachweis anhand des hierarchischen Nachweismodells 40
5.1.1 ciHHV-6-Nachweis durch FISH 40
5.1.2 ciHHV-6-Nachweis in verschiedenartigen Geweben (Haarfollikel/Nägel) 42
5.1.3 ciHHV-6-Nachweis durch PCR in Vollblut und Serum bei zusätzlichen positiv-Fällen in der Familie 42
5.1.4 ciHHV-6-Nachweis durch PCR in Vollblut/Serum/PBMCs/Nabelschnurblut ohne zusätzliche positiv-Fälle in der Familie 43

5.2 Präsentation ciHHV-6 positiver Personen/PatientInnen anhand begleitender Krankheitsbilder 44
5.2.1 Hämatoonkologische Erkrankungen 44
5.2.2 Neurologische Erkrankungen 46
5.2.3 TransplantationspatientInnen 47
5.2.4 Zusätzliche Herpesvirusinfektionen 49
5.2.5 Nachweis von ciHHV-6 im Rahmen anderer Erkrankungen 49
5.2.6 Gesunde bzw. asymptomatische ciHHV-6-positive Personen 50

5.3 Spezielle Fragestellungung im Bezug auf eine mögliche klinische Relevanz von ciHHV-6 51
5.3.1 ciHHV-6 und antivirale Therapien 52

5.3.2 Reaktivierung von ciHHV-6 51
5.3.3 ciHHV-6 und Antikörperproduktion 53

5.4 Grazer PatientInnenkollektiv 54

6 DISKUSSION 56

7 LITERATURVERZEICHNIS 64

Glossar und Abkürzungen

AAV	Adeno Assoziiertes Virus
AHS	Antikonvulsives Hypersensitivitäts-Syndrom
ALL	Akute Lymphatische Leukämie
AML	Akute Myeloische Leukämie
bzw.	beziehungsweise
CB	Cord Blood
CBMC(s)	Cord blood mononuclear cell(s)
CD	Cluster of Differentiation
ciHHV-6	chromosomal integriertes Humanes Herpesvirus-6
CLL	Chronisch Lymphatische Leukämie
CMP	Cardiomyopathie
CMV	Cytomegalie Virus
CSF	Cerebrospinal-Flüssigkeit
DIHS	Drug Induced Hypersensitivity Syndrome
DNA	Desoxyribonuklein-Acid
DRESS	Drug Rush with Eosinophilia and Systemic Symptoms
EBV	Ebstein Barr Virus
FISH	Fluorescence In Situ Hybritisation
GvHD	Graft versus Host Disease
HD	Hodgkin Disease
HDAC-Inhibitor	Histondeacetylaseinhibitor
HERV	Humane Endogene Retrovieren
HF	Haarfollikel
HHV-x	Humanes Herpesvirus-(1-8)
HIV	Humanes Immunschwäche Virus
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
HS-Viren	Herpes Simplex-Viren
HSCT	Haematopoietic Stem Cell Transplantation
HSV-1	Humanes Herpesvirus-1
HSV-2	Humanes Herpesvirus-2

i.e.L.	in erster Linie
IE-, E-, L-Proteine	Intermediate Early-, Early-, Late-Proteine
IFN	Interferon
iHHV-6	inherited Human Herpesvirus-6
IL	Interleukin
ITP	Idiopathische Thrombozytopenische Purpura
JMML	Juvenile Myelomonozytäre Leukämie
kb	Kilo-Basen
kbp	Kilo-Basenpaare
kDA	Kilodalton
LHAS	Lymphohistiocytic Activation Syndrom
LKH	Landeskrankenhaus
Mb.	Morbus
MDS	Myelo Dysplastisches Syndrom
mRNA	messenger-Ribonuclein-Acid
MS	Multiple Sklerose
N	Nägel
NB	Nabelschnurblut
NHD	Non Hodgkin Disease
NK-Zellen	Natürliche Killer-Zellen
nm	Nanometer
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
PBMC(s)	Peripheral Blood Mononuclear Cell(s)
PCR	Polymerase Chain Reaction
PHA	Phytohemagluttinin
PKU	Phenylketonurie
RPLE	Reversible Posteriore Leukenzephalopathie;
rtPCR	reverse transcription Polymerase Chainreaction
s.o.	siehe oben
s.u.	siehe unten
SAA	Servere Aplastic Anaemia
SC	Stem Cell
SCT	Stem-Cell Transplantation
SOT	Solid Organ Transplantation
tc	Tachycardie

Th0, Th1, Th2	T-Helfer-Zellen vom Typ 0: undifferenziert; Typ 1: inflammatorisch; Typ 2: B-Zell-stimulatorisch
TMP-SMX	Trimethoprim-Sulfamethoxazol
TNF	Tumornekrosefaktor
TPA	12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate
TSA	Trichostatin-A
u.a.	unter anderem
UCBT	Umbilical Crod Blood Transplantation
u.U.	unter Umständen
VB	Vollblut
VZV	Varizella Zoster Virus
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach
ZNS	Zentralnervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 *Herpesvirus-Aufbau; zytoplasmatische Viruspartikel in humanen Leukozyten; Ultradünnschnitt (100nm)* *5*

Abbildung 2 *[46] ciHHV-6-Nachweis durch Fluoreszenz In Situ Hybridisierung (FISH)* *30*

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 *Humanpathogene Herpesviren - Übersicht (modifiziert nach Douglas et al. [8])* 5
Tabelle 2 *In verschiedenen Studien angegebene Prävalenzen für ciHHV-6 in Europa, USA und Japan* 26
Tabelle 3 *Arzneimittel/Substanzgruppen im Zusammenhang mit einer Reaktivierung/Replikationsinduktion von HHV-6 bzw. ciHHV-6 (mit * markiert), modifiziert nach Pellett et al.[1])* 36
Tabelle 4 *Hierarchisches Modell der diagnostischen Aussagekraft unterschiedlicher Nachweismethoden für ciHHV-6* 38
Tabelle 5 *ciHHV-6-Nachweis durch FISH* 41
Tabelle 6 *Chromosomale Integrationsloci von HHV-6* 41
Tabelle 8 *ciHHV-6-Nachweis in Haarfollikeln oder Fingernägeln (HF/N)* 42
Tabelle 10 *ciHHV-6 Nachweis durch PCR aus Blutproben ohne zusätzliche positiv-Fälle in der Familie* 44
Tabelle 11 *ciHHV-6 bei hämatoonkologischen Erkrankungen* 45
Tabelle 12 *ciHHV-6 bei neurologischen Erkrankungen* 46
Tabelle 13 *ciHHV-6-Übertragung im Zuge HSCT, UCBT* 47
Tabelle 14 *ciHHV-6-positive EmpfängerInnen von HSCT/UCBT* 48
Tabelle 15 *ciHHV-6 bei Organtransplantationen (SOT)* 48
Tabelle 16 *ciHHV-6 und zusätzliche Herpesvirusinfektionen* 49
Tabelle 17 *ciHHV-6-Nachweis im Rahmen anderen Erkrankungen* 50
Tabelle 18 *ciHHV-6 bei gesunden Personen* 51
Tabelle 19 *HHV-6-Antikörperproduktion bei ciHHV-6-positiven Personen/PatientInnen* 54
Tabelle 20 *PatientInnenkollektiv der Grazer Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde mit ciHHV-6* 55

Zusammenfassung

Das Humane Herpes Virus 6 (HHV-6) besitzt wie alle Vertreter der Herpesviridae die Fähigkeit zur Persistenz und Reaktivierung in infizierten Organismen.
Mitunter kommt es zur Integration des HHV-6-Genoms in das Wirtsgenom. Erfolgt dies in Keimbahnzellen, aus welchen ein Embryo entsteht, wird die chromosomal integrierte virale DNA auf das Kind vererbt (chromosomal integriertes HHV-6, ciHHV-6). Das virale Genom findet sich somit in jeder kernhaltigen Körperzelle des betroffenen Organismus wieder und kann wiederum auf nachfolgende Generationen weitervererbt werden. Derzeit ist noch unklar, ob dieses Phänomen nur als Zufallsbefund ohne klinische Relevanz erhoben wird oder eine pathophysiologische Bedeutung hat und wenn ja, welche Erkrankungen damit assoziiert sind.
Ziel dieser Arbeit war es, durch Zusammenführung sämtlicher, mit ciHHV-6 im Zusammenhang stehende Publikationen, unter Miteinbeziehung eines ciHHV-6-positiven Patientenkollektivs, welches derzeit an der Grazer Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde betreut wird, einen Überlick über die häufig mit diesem Phänomen vergesellschafteten Krankheitsbilder und Gemeinsamkeiten in den PatientInnen-geschichten aufzuzeigen.
In Summe konnten 206 ciHHV-6-positive Individuen mit z.T. sehr heterogenen Krankheitsbildern aber auch gesunde, ciHHV-6-positive Personen identifizert werden. Es zeigte sich, dass ciHHV-6-positive PatientInnen neben der Fähigkeit zur aktiven Antikörperproduktion gegen HHV-6 möglicherweise auch für zusätzliche Wildvirusinfektionen zugänglich waren. Die klinische Herausforderung bei betroffenen PatientInnen lag dabei nicht in ciHHV-6 und den damit vermuteten krankheitsrelevanten Folgen selbst, sondern in der Fehlinterpretation der durch ciHHV-6 hervorgerufenen hohen HHV-6-DNA-Spiegel als aktive Infektion durch das Virus und den damit verbundenen therapeutischen Folgen.
Aufgrund zu geringer PatientInnenzahlen konnte kein gesicherter kausaler Zusammenhang in der Pathogenese von – häufig mit ciHHV-6 assoziierten – Krankheiten und ciHHV-6 nachgewiesen werden. In Zukunft werden somit umfangreichere Studien notwendig sein, um allgemein gültige Aussagen über eine tatsächliche klinische Relevanz von ciHHV-6 treffen zu können.

Abstract

BACKGROUND: The Human Herpesvirus 6 (HHV-6) has like other members of the herpesviridae the ability to persist in infected host-cells and to reactiviate under special circumstances.
Furthermore, HHV-6 has the ability to integrate its genome into host-chromosomes – even in germ line cells. In case of fertilization affected germ line cells, the viral DNA is transmitted to the child and can thereby be found in every nucleated cell of the body (chromosomally integrated HHV-6, ciHHV-6). As a result, ciHHV-6 can be passed on subsequent generations. At present, it is unclear wether this phenomenon has a clinical impact or is just a medical finding without pathophysiological consequences.

METHODS: The aim of this project was to provide an overview about frequently ciHHV-6-associated diseases and similarities in patients' medical histories by searching the ciHHV-6-specific literature. We also examined a ciHHV-6-positiv group of patients that is at present in care of the Department of Pediatrics and Adolencent Medicine in Graz.

RESULTS: Overall, we were able to identify 206 ciHHV-6-positve individuals suffering from heterogenous diseases but also healthy people with ciHHV-6. ciHHV-6-positive patients showed the abilty of an active production of antibodies against HHV-6 and where possibly susceptible for additional wild-type-virus infections.
The clinical challenge in affected patients laid in the misinterpretation of the high HHV-6-DNA-levels caused by chromosomal integration of the virus as active infections and thereby linked therapeutical consequences.

CONCLUSIONS: Due to the small number of patients, we were not yet able to proof a significant causative connection between ciHHV-6 and the pathogenesis of specific diseases that are frequently associated with ciHHV-6. For the future, larger studies will be needed to understand the actual clicial consequences of this phenomenon.

1 Einleitung

Das humane Herpesvirus 6 (HHV-6) stellt den Sammelbegriff für zwei eng miteinander verwandte Herpesviridae dar: HHV-6A und -6B [1], die sich jedoch hinsichtlich ihrer genetischen, biologischen und epidemiologischen Eigenschaften unterscheiden [2].
Die weltweite Prävalenz für HHV-6 beläuft sich dabei in Abhängigkeit geographischer Unterschiede auf 70-100% mit einem Erkrankungsgipfel zwischen 6 und 36 Monaten [1,3].
Im Gegensatz zu HHV-6B ist über die Auswirkungen einer Erstinfektion mit HHV-6A und seiner weiteren Rolle im Zusammenhang mit Krankheiten nur wenig bekannt [2]. Dennoch konnte HHV-6A bislang mit mehreren Erkrankungen in Verbindung gebracht werden. So steht es im Verdacht, unter anderem als Cofaktor bei HIV-Infektionen und Multipler Sklerose (MS) zu fungieren und scheint bei unterschiedlichen neurologischen Erkrankungen wie Enzephalitis, Hypersomnie, milden Formen von Demenzen, Ataxie, Krampfgeschehen und dem Chronic Fatigue Syndrom eine Rolle zu spielen [4].
Primärinfektionen mit HHV-6B (Drei-Tage-Fieber, *Exanthema subitum, Roseola infantum* oder Sixth disease) präsentieren sich häufig mit Fieber und Hautausschlägen und können auch mit Konvulsionen einhergehen [2,3].
Zu den häufigsten Symptomen solcher Primärinfektionen zählen allgemeines Unwohlsein, Myringitis, gastrointestinale und respiratorische Beschwerden. Fieberkrämpfe kommen bei bis zu 10% der an HHV-6B Erkrankten vor und repräsentieren 10-20% aller fieberhaften Krampfgeschehen bei Kindern unter 2 Jahren. Auch Berichte über schwere Affektionen des ZNS durch HHV-6 Infektionen mit Ausbildung von Enzephalitiden und Meningoenzephalitiden liegen vor[3].

Eine Besonderheit aller Herpesviridea – wie auch von HHV-6 – ist die Fähigkeit zur lebenslangen Persistenz nach einer Primärinfektion in den Wirtszellen und die Möglichkeit zur Reaktivierung insbesondere bei Immunschwäche [4,5]. HHV-6 wurde bei PatientInnen mit unterschiedlichen hämatoonkologischen Erkrankungen wie Hodgkin-Lymphom, Non-Hodgkin- und Burkitt-Lymphom, akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL), chronischer myeloischer Leukämie (CML) und akuter myeloischer Leukämie (AML) nachgewiesen. Darüber hinaus existieren Fallberichte, bei denen das Virus mit fulminanten Hepatitiden

und Leberversagen sowie mit Thrombozytopenien und der Entwicklung von Hämophagozytose in Zusammenhang gebracht wird [3,4].
In mehreren Studien konnte mithilfe von FISH (Fluoreszenz In Situ Hybridisierung) gezeigt werden, dass HHV-6A und -6B die Fähigkeit besitzen, sich chromosomal in das menschliche Genom, im Speziellen in die Telomerregionen von Chromosomen, zu integrieren. Geschieht eine solche Integration in Keimbahnzellen, aus denen im Zuge der Befruchtung ein Embryo entsteht, findet sich virale DNA in jeder kernhaltigen Zelle des entstehenden Organismus wieder. Dieser Zustand wird in der Literatur als „ciHHV-6 (chromosomal integriertes Humanes Herpesvirus-6)“ bezeichnet. Aufgrund von (natürlicher) Zelllyse kann HHV-6-spezifische DNA in Folge auch in sämtlichen Körperflüssigkeiten wie Serum oder Liquor in unterschiedlich hohen Konzentrationen nachgewiesen werden [1,2,4,5]. Diese spezielle biologische Eigenschaft des Virus führt immer wieder zu einer Fehlinterpretation als aktive HHV-6-Infektion und zur Anwendung teurer und oft nebenwirkungsreicher aber möglicherweise wirkungsloser Virostatika [2,6].

Es gilt zu klären, ob und inwieweit dieses Phänomen eine pathophysiologische Rolle aufweist und nicht nur einen Zufallsbefund ohne klinische Relevanz darstellt [2].
ciHHV-6 konnte bislang bei PatientInnen mit unterschiedlichen Erkrankungen nachgeweisen werden [2].
Auf der anderen Seite wurde ciHHV-6 auch bei gesunden Neugeborenen, Blut-, Organ- oder KnochenmarkspenderInnen dokumentiert, ohne dabei ein pathologisches Korrelat aufzuweisen [2].

Nach einem Überblick über die humanpathogenen Herpesviren soll durch einen systematischen Review und eine Zusammenführung sämtlicher bisher mit ciHHV-6 im Zusammenhang stehender Publikationen ein Überblick über die häufig mit diesem Phänomen vergesellschafteten Krankheitsbilder gegeben und Gemeinsamkeiten aufgezeigt werden. Zusätzlich wird über 13 weitere ciHHV-6-positive PatientInnen berichtet, die derzeit an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde des LKH Graz betreut werden.

In dieser Arbeit beschäftigte ich mich darüber hinaus mit der Frage, ob bzw. inwieweit ciHHV-6 bei betroffenen Personen die Fähigkeit besitzt, aus seinem chromosomal integrierten Zustand heraus zu reaktivieren. So existieren *in vitro* Experimente, bei denen

bei ciHHV-6 positiven Zellreihen das chromosomal integrierte Virus in ein Stadium der aktiven viralen Replikation überführt werden konnte. Ob ein solches Szenario jedoch auch *in vivo* bei betroffenen Personen/PatientInnen möglich ist, ist bislang nicht bekannt [1].

Weiteres Interesse galt der Reaktion des Immunsystems von ciHHV-6-positiven Individuen im Falle eines Kontakts mit einem HHV-6-Wildtyp. Ist es in der Lage Antikörper gegen das Virus zu produzieren bzw. besteht dafür überhaupt eine Notwendigkeit? Verfügt der Organismus aufgrund der chromosomalen Integration über eine Toleranz oder eine natürliche Immunität gegenüber HHV-6 und wie beeinflusst ciHHV-6 den Verlauf anderer Herpeserkrankungen?

Zuletzt widmete ich mich der Frage nach dem zugrundeliegenden Mechanismus der Fähigkeit einer chromosomalen Integration des Virus in Keimbahnzellen.

2 Humanpathogene Herpesviren

2.1 Eigenschaften

Die Familie der humanpathogenen Herpesviren zählt derzeit acht Mitglieder, die sich in drei Subklassen unterteilen lassen: alpha-, beta- und gamma- Viridae (Tabelle 1).
Eine große Gemeinsamkeit liegt in ihrer Fähigkeit, nach einer erstmaligen (Primär-) Infektion lebenslang im Wirtsorganismus als nukleäres zirkuläres Episom in einem latenten Stadium zu verbleiben und sich in Zeiten relativer Immunschwäche über den Mechanismus des „rolling circle“ wieder zu reaktivieren. Episome stellen extrachromosomale DNA- oder RNA-Moleküle dar, die das virale Erbgut beinhalten und als unabhängig replizierende, ringförmig angeordnete Elemente vorliegen können [7].
Abgesehen von Herpes Simplex Virus 2 (HSV-2) und HHV-8 ist ihre Prävalenz im Erwachsenenalter trotz bestehender geographischer Unterschiede sehr hoch [3,4].

2.2 Virusaufbau

Herpesviridae bestehen aus drei Hauptstrukturelementen:

a) einem ikosaedrischen Nukleokapsid von 90-110 nm Durchmesser, welches die virale DNA enthält,
b) einer Hülle, in welche virale Glykoproteine eingebettet sind und
c) einem proteinreichen Tegument im Raum zwischen Nukleokapsid und Hülle.

Reife Virionen weisen einen Durchmesser von bis zu 200 nm auf und ihr Genom besteht dabei aus einem linearen, doppelsträngigen DNA-Molekül mit einer Größe von 150-230 Kilobasenpaaren (kbp) [3,4].

Tabelle 1 Humanpathogene Herpesviren - Übersicht (modifiziert nach Douglas *et al*. [8])

Subfamilie	Herpesvirus	Sero-prävalenz	assoziierte Krankheiten	Persistenz
Alpha	HSV 1 (Herpes Simplex Virus-1, HHV-1)	50-90%	*Stomatitis aphthosa*, *Herpes labialis*, *Herpes genitalis*, Enzephalitis	sensorische Ganglien
	HSV 2 (Herpes Simplex Virus-2, HHV-2)	15-95% [a]	Herpes *genitalis, Stomatitis aphthosa, Herpes labiaslis*, Enzephalitis	sensorische Ganglien
	VZV (Varizella Zoster Virus, HHV-3)	90-100%	Varizellen *Herpes zoster*	sensorische Spinalganglien
Beta	CMV (Cytomegalie Virus, HHV-5)	60-100%	Mononukleose kongenitale Defekte	lymphatisches Gewebe hämatopoetische Zellen glatte Muskelzellen Speicheldrüsenzellen Nierengewebe
	HHV-6 (Humanes Herpesvirus-6)	90-100%	3-Tage-Fieber, *Exanthema subitum*	lymphatisches Gewebe hämatopoetische Zellen Speicheldrüsenzellen
	HHV-7 (Humanes Herpesvirus-7)	90-100%	*Exanthema subitum*	lymphatisches Gewebe hämatopoetische Zellen Speicheldrüsenzellen
Gamma	EBV (Epstein Barr Virus, HHV-4)	90-100%	Mononukleose (Burkitt-)-Lymphome Nasopharyngeal-Karzinome	B-Zellen
	HHV-8 (Humanes Herpesviurs-8)	<5 - >50% [b]	Kaposi-Sarkom Primäres-Effusionslymphom Morbus Castleman	B-Zellen endotheliale Zellen

[a] Prävalenzspanne abhängig von Anzahl der Sexualpartner
[b] Prävalenzspanne abhängig von geographischen Unterschieden
rez., rezidivierend;

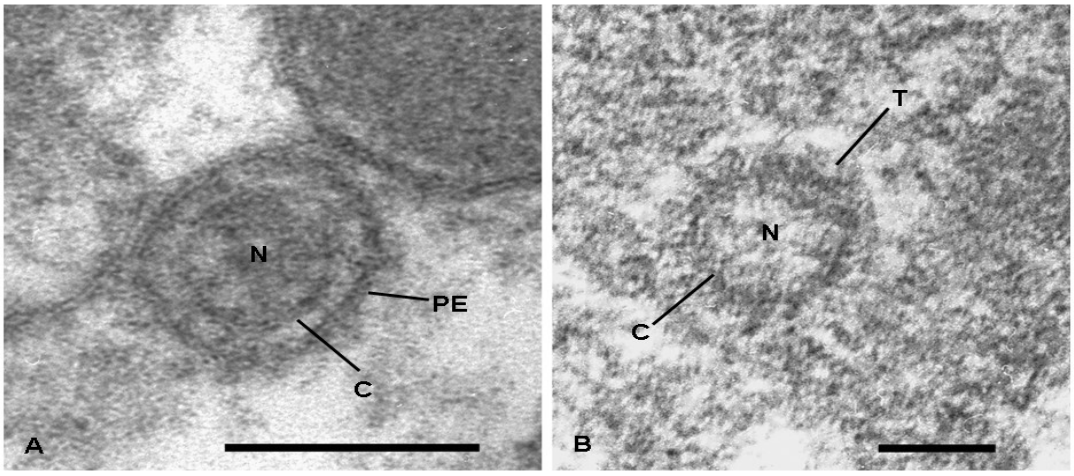

Abbildung 1 Herpesvirus-Aufbau; zytoplasmatische Viruspartikel in humanen Leukozyten; Ultradünnschnitt (100nm). Dankenswerterweise zur Verfügung gestellt von Dr. Susanne Richter (AGES Österreich)

A,B: unreife zytoplasmatische Viruspartikel: Nukleotid (N: DNA-Kern), Capsid (C), Primärhülle (PE), verschwommenes Tegument (T).

2.3 Herpesvirus-Typen

2.3.1 Alpha-virinae

2.3.1.1 Herpes Simplex Virus-Typ 1 und -Typ 2 (HHV-1 bzw. HSV-1 und HHV-2 bzw. HSV-2)

Die beiden Virustypen HSV-1 und HSV-2 waren die ersten Vertreter der Gruppe der Herpesviridae, die entdeckt wurden. Es handelt sich dabei um neurotrope, doppelsträngige, behüllte DNA-Viren, die als Auslöser von *Stomatitis aphthosa*, Fieberblasen (im Speziellen bei Reaktivierung), *Herpes genitalis* und gelegentlich auch Enzephalitiden verantwortlich gemacht werden [3]. Die Prävalenzen für beide Virusarten sind hoch und eine Übertragung ist sowohl während symptomatischen als auch asymtpomatischen Infektionen möglich. Diese erfolgt bei HSV-1 als auch HSV-2 durch direkten Kontakt mit der infizierten Schleimhaut bzw. den betroffenen Hautläsionen. Die Dauer der Ausscheidung von infektösen Viruspartikeln richtet sich dabei nach der Art der Infektion. Bei Erstinfektionen dauert dieser Prozess in der Regel eine bis mehrere Wochen – im Gegensatz zu Reaktivierungen, während derer das Virus nur für wenige Tage ausgeschieden wird.

Typisch für eine HSV-1-Primär-Infektion ist eine Gingivostomatitis mit ulzerierendem Enanthem der Gingiva und der Mundschleimhaut in Kombination mit Fieber, Gereiztheit und submandibulärer Lymphadenopathie, die oftmals bereits gemeinsam mit vesikulären perioralen Läsionen auftreten kann.

HSV-2 ist der klassische Erreger des Genitalherpes, einer Erkrankung, die sich häufig durch Bläschen und Ulzerationen der Geschlechtsorgane sowie des Perineums präsentiert und in der Regel bei sexuell aktiven Jugendlichen und Erwachsenen erstmalig auftritt. In 20% der Fälle von *Herpes genitalis* kann jedoch auch eine Infektion mit HSV-1 dafür verantwortlich sein. Auch *Herpes labialis* kann zu einem kleinen Prozentsatz durch Infektionen mit HSV-2 verursacht werden.

Nach der Erstinfektion persistieren HS-Viren in der Regel in latenter Form im Trigeminusganglion (nach *Herpes labialis*) bzw. in den sakralen Spinalganglien (nach *Herpes genialis*).

Reaktivierungen dieser beiden Vertreter verlaufen oftmals asymptomatisch oder präsentieren sich durch typische, teils einzeln stehende, teils gruppierte Bläschen perioral bzw. im Genitalbereich.

Eine wichtige Komplikation einer Infektion bzw. Reaktivierung von HSV stellt die Herpes-Enzephalitis dar. Diese wird, im Unterschied zum *Herpes neonatorum* (s.u.), in der Regel durch Infektionen bzw. Reaktivierungen mit HSV-1 verursacht. Charakteristisch für diese Form der Erkrankung sind eine typische Affektion der Temporal-Regionen des Gehirns sowie ein fulminanter Verlauf, der unbehandelt in der Mehrzahl der Fälle rasch zu Koma und Tod führen kann[9].

Die Inzidenz des *Herpes neonatorum* (neonatale Herpes-Simplex-Infektion) liegt bei 1:3000-1:20000 Lebendgeburten. Eine Übertragung geschieht dabei intrauterin diaplazentar oder durch aufsteigende Infektionen in die Amnionhöhle, peripartal durch den Kontakt mit dem infizierten mütterlichen Genitaltrakt bzw. postpartal durch den Kontakt mit an *Herpes labialis* Erkrankten. In bis zu 45% der Fälle äußert sich eine solche Infektion nur als lokalisierte Erkrankung der Haut, der Augen und des Mundes. Etwa bei einem Drittel der Erkrankungen kommt es zu einer isolierten Beteiligung des ZNS, und bis zu 20% der HSV-Infektionen zeigen sich als eine disseminierte, mehrere Organsysteme (insbesondere Lunge, Leber und ZNS) betreffende Erkrankung. In den meisten Fällen besteht dabei zusätzlich auch eine charakteristische Hautbeteiligung.

Neonatale Herpesinfektionen, die in 75% der Fälle durch HSV-2 verursacht werden, verlaufen trotz der Verfügbarkeit antiviraler Therapeutika oft schwer und zeichnen sich durch eine hohe Mortalitäts- und Morbiditätsrate aus. In seltenen Fällen können intrauterine Infektionen auch zu kongenitalen Malformationen führen. Erstinfektionen bei älteren Säuglingen und Kleinkindern verlaufen im Gegensatz oft asymptomatisch [9].

2.3.1.2 Varicella Zoster Virus (HHV-3 bzw. VZV)

Als Eintrittspforte für VZV dienen i.e.L. die Schleimhäute des oberen Respirationstraktes und die Bindehaut. Übertragen wird das Virus direkt von Mensch zu Mensch, wobei eine Ansteckung bereits zwei Tage vor dem Auftreten der ersten Hauterscheinungen möglich ist und in weiterer Folge über Aerosole sowie durch den Kontakt mit dem hoch infektiösen Inhalt der Effloreszenzen erfolgt.

Primärinfektionen mit dem Virus verursachen im Kindesalter nach einer Inkubationszeit von 14-16 Tagen typischerweise die Windpocken (in Österreich werden diese auch Schafblattern genannt).

Diese präsentieren sich als klassisches Exanthem, bestehend anfangs aus roten Makulae, die sich innerhalb kurzer Zeit zu Papeln, Bläschen und Pusteln ausbilden und schließlich verkrusten. Die verschiedenen Stadien der Effloreszenzen treten dabei häufig nebeneinander (Heubnerscher Sternenhimmel), mit besonderer Bevorzugung des Kopfes, des Rumpfes und der Schleimhäute und oftmals begleitet von Fieber, auf.

Nach der Primärinfektion wandert VZV in die sensorischen Spinalganglien und verbleibt dort im latenten Stadium [10,11].

Die Inzidenz variiert abhängig von geographischen und saisonalen Unterschieden sowie der Durchimpfungsrate [11]. Bis zum 14. Lebensjahr sind etwa 95% aller Kinder mit VZV infiziert. Das Varizella Zoster Virus ist weiters das einzige humanpathogene Herpesvirus, gegen das derzeit eine aktive Impfung verfügbar ist [3].

Komplikationen einer (Primär-)Infektion reichen von Superinfektionen der Hautläsionen, Pneumonien, Mitbeteiligungen des ZNS mit Gefahr der Ausbildung einer akuten zerebellären Ataxie und Enzephalitis über Thrombozytopenien, bishin zu selteneren Komplikationen wie Reye-Syndrom, Glomerulonephritis, Arthritis und Hepatitis.

Auch bleibende Sehstörungen bei Befall der Augen (*Zoster ophthalmicus*), Hörstörungen, Fazialisparese sowie Ohrenschmerzen (*Zoster oticus*) können die Folge sein [10].

Besonders gefährdet sind PatientInnen mit geschwächtem Immunsystem, insbesondere Kinder mit kongenitalen T-Lymphozyten-Defekten oder HIV-Erkrankungen. Für sie besteht ein deutlich erhöhtes Risiko, schwere Komplikationen im Zuge einer VZV-Infektion zu entwickeln. Auch Kortikoidtherapien können sich unter Umständen aggravierend auf eine VZV-Infektion auswirken.

Infektionen im Kindesalter weisen in der Regel einen milderen Verlauf als im Jugend- oder Erwachsenenalter auf [11].

Reaktivierungen kommen häufig bei immungeschwächten Individuen und älteren Personen vor und präsentieren sich als *Herpes Zoster* (Gürtelrose). Dabei handelt es sich um eine auf ein oder mehrere Dermatome beschränkte, juckende, teils schmerzhafte, selbstlimitierende Hauterkrankung, die auch mit einer postherpetischen Neuralgie einhergehen kann [3,10].

VZV-Infektionen bei Schwangeren zwischen dem ersten und frühen zweiten Trimenon können schwere Schädigungen des Embryos nach sich ziehen. Vorzeitiger Abort bzw. eine kongenitale Varizellenembryopathie mit typischer Gliedmaßenhypoplasie, kutaner

Narbenbildung und Fehlbildungen der Augen sowie Schädigungen des ZNS sind mögliche Folgen. Gleichfalls problematisch ist eine Erstinfektion der Mutter fünf Tage vor bis zwei Tage nach der Geburt. Für das Kind besteht während dieser Zeit aufgrund von noch zu wenig vorhandener schützender mütterlicher Antikörper ein hohes Risiko, schwere Komplikaionen zu entwickeln. Ohne antivirale Therapie beträgt die Sterblichkeitsrate für das Neugeborene bis zu 20% [12].

2.3.2 Beta-virinae

2.3.2.1 Cytomegalie Virus (HHV-5 bzw. CMV)

Bei CMV handelt es sich um ein ubiquitär vorkommendes Virus mit einer Vielzahl an unterschiedlichen Stämmen. Aufgrund dieser Stammheterogenität sind wiederholte Infektionen mit CMV trotz einer bestehenden Seropositivität möglich.
Nach der Primärinfektion persistiert CMV v.a. in lymphatischem Gewebe und hämatopoetischen Zellen.
Eine Übertragung des Virus erfolgt auf mehrere Arten. Der klassische Weg ist der einer horizontalen Infektion durch direkten Kontakt mit infektiösen Sekreten und geschieht i.e.L. über Speichel und Urin. Bei Neugeborenen erfolgt diese vorrangig peripartal durch Kontakt mit mütterlicher Schleimhaut bzw. postnatal durch CMV-positive Muttermilch.
Ebenfalls möglich ist eine Transmission des Virus über Blut und Blutprodukte sowie durch Transplantation von Organen CMV-positiver SpenderInnen.
Ein dritter Weg der Übertragung ist die vertikale Transmission des Virus. Sie erfolgt diaplazentar *in utero*.
Die genaue Inkubationszeit für horizontal erworbene CMV-Infektionen ist nicht bekannt. Iatrogene bzw. nosokomiale (CMV-) Infektionen nach Bluttransfusionen oder nach Transplantationen zeigen sich üblicherweise nach 3 bis 16 Wochen [13].

Der Schweregrad einer CMV-Erkrankung variiert stark mit dem Alter und dem Immunstatus des Patienten/der Patientin. Insbesondere im Kindesalter verläuft eine solche Infektion in den meisten Fällen asymptomatisch. Die Symptome, speziell bei Jugendlichen und Erwachsenen, sind der einer Infektion mit EBV (s.u.) ähnlich (CMV-Mononukleose),

in ihrer Ausprägung jedoch milder. Sie präsentieren sich meist mit prolongiertem Fieber, einer exsudativen Tonsillitis und einer geringgradigen Lymphadenitis, oftmals begleitet von milden Hepatitiden [10,13].

Bei immungeschwächten PatientInnen (z.B. PatientInnen mit HIV oder PatientInnen unter zytostatischer Therapie) können Infektionen bzw. Reaktivierungen mit CMV sowohl Pneumonien, Colitiden und Retinitiden als auch generalisierte Infektionen verursachen [13].

CMV-Infektionen sind ferner eine gefürchtete Komplikation bei EmpfängerInnen hämatopoetischer Stammzelltransplantationen [14].

Konnatale CMV-Infektionen stellen darüber hinaus eine wichtige Ursache für Hörverlust und mentale Retardierung dar. Beachtet man, dass in Abhängigkeit der Seroprävalenz bis zu 1% der lebend geborenen Kinder bereits *in utero* mit CMV infiziert werden und zum Zeitpunkt der Geburt bereits CMV ausscheiden, handelt es sich um die häufigste konnatale Virusinfektion [13].

2.3.2.2 Humanes Herpesvirus 6 (HHV-6)

Siehe Kapitel 2.4

2.3.2.3 Humanes Herpesvirus 7 (HHV-7)

HHV-7 konnte bislang keinem definitiven Krankheitsbild zugeordnet werden, abgesehen von einem dem Drei-Tage-Fieber (*exanthema subitum,* s. Kapitel 2.4) ähnlichen Krankheitsbild.

Bei TransplantationspatientInnen wurde lediglich gezeigt, dass eine Reaktivierung von HHV-7 aus seinem latenten Stadium die Ausbildung einer CMV-Infektion unterstützen bzw. fördern kann [3].

2.3.3 Gamma virinae

2.3.3.1 Epstein Barr Virus (HHV-4 bzw. EBV)

EBV ist der häufigste Auslöser der Mononukleose („Pfeiffer'sches Drüsenfieber") und wie HHV-8 lymphotrop (mit vorrangigem Befall der B-Lymphozyten). Beide, EBV und HHV-8, sind die einzigen humanpathogenen Herpesviren, für die ein onkogenes Potential gesichert ist. Ein klassischer zytopathischer Effekt wie bei HSV oder CMV besteht bei EBV jedoch nicht [10].

Eine Übertragung erfolgt hauptsächlich über Speichel und engen persönlichen Kontakt zu infizierten Personen. Auch Infektionen im Rahmen von Bluttransfusionen und Transplantationen sind möglich. Die durchschnittliche Inkubationszeit beträgt 30 bis 50 Tage [3,15].

Erstinfektionen erfolgen in der Regel früh und verlaufen im Kindesalter oft unbemerkt. Eine Häufung infektiöser Mononukleosen findet sich speziell unter Jugendlichen und jungen Erwachsenen („kissing disease").

Typische Symptome einer Infektion sind Fieber, vergesellschaftet mit einer exsudativen Pharyngitis, einer Lymphadenopathie und Hepatosplenomegalie. Laborchemisch findet sich eine atypische Lymphozytose. Das klinische Spektrum einer Erkrankung reicht dabei von milden, teilweise asymptomatischen Verläufen bis hin zu fatalen Ausgängen.

Komplikationen einer Infektion können dabei mehrere Organsysteme betreffen und finden sich bei einer Beteiligung des ZNS als aseptische Meningitis, Enzephalitis, Myelitis, Optikusneuritis, Hirnnervenlähmungen und Guillain Barrè Syndrom.

Hämatologische Komplikationen umfassen Milzruptur, Thrombozytopenie, Agranulozytose, hämolytische Anämie und das Hämophagozytosesyndrom. Auch Pneumonien, Orchitiden und Myokarditiden können im Zuge einer EBV-Infektion beobachtet werden.

Weiters steht EBV mit einer Reihe anderer unterschiedlicher Krankheiten in Verbindung. So gilt es als möglicher Auslöser der Histiozytose X, Burkitt-Lymphomen, lymphoproliferativen Erkrankungen nach Transplantationen, Nasopharyngeal-Karzinomen und undifferenzierten B- oder T-Zelllymphomen des ZNS [15].

2.3.3.2 Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)

Bei diesem Vertreter der Herpesviridae handelt es sich um ein lymphotropes Virus mit onkogenem Potential. HHV-8 soll an der Entstehung des Kaposi-Sarkoms und anderen malignen Erkrankungen wie dem primären Effusionslymphom und Morbus Castleman beteiligt sein [3,16]. Bei Kaposi Sarkom-PatientInnen wurde gezeigt, dass sich HHV-8 speziell in tumorbefallenem Gewebe wiederfindet und dabei eine Reihe von latenten und lytischen viralen Proteinen (virusspezifische Interleukine und Chemokine) exprimiert, die modifizierend in die physiologischen Signalkaskaden der Wirtszelle eingreifen, Zellreplikation fördern, Apoptose verhindern und darüber hinaus die körpereigene Zytokin- und Wachstumsfaktorsekretion stimulieren [17].

Die Übertragung des Virus erfolgt hauptsächlich über infektiösen Speichel. Nach Erstinfektion persistiert das Virus in einem latenten Stadium vorzugsweise in lymphatischem Gewebe und PBMCs. Die Inkubationszeit von HHV-8 und eine effiziente antivirale Therapie sind bislang noch unbekannt.

Die Erstinfektion erfolgt in Endemiegebieten wie dem Mittelmeerraum und dem mittleren Osten häufig bereits vor der Pubertät. Die Symptome bestehen in der Regel aus Fieber und einem makulopapulösen Exanthem. Bei erwachsenen PatientInnen kann eine Erstinfektion unter Umständen auch nur mit einer milden Lymphadenopathie einhergehen.

Vor allem bei HIV-PatientInnen und immungeschwächten PatientInnen (z.B. nach Organtransplantation) stellt das Karposi-Sarkom eine häufige tumorassoziierte Todesursache dar [10,16].

2.4 Humanes Herpesvirus 6 (HHV-6)

2.4.1 Grundlagen

HHV-6 stellt, wie bereits eingangs erwähnt, einen Sammelbegriff für zwei eng miteinander verwandte, jedoch unterschiedliche Herpesvirusarten dar: HHV-6A und HHV-6B [4].
Wie alle Herpesviridae besteht auch HHV-6 aus den drei Hauptstrukturelementen: einem Nukleokapsid, einer Hülle und dem Tegument (s. Abbildung 1) [3].
Im Speziellen umfasst das virale Genom von HHV-6A 159 Kilobasen (kb) und das von HHV-6B 162 kb. Das virale Genom beider unterscheidet sich in seiner Gesamtheit um < 4 - 10%, mit intermittierenden Sequenzunterschieden von bis zu 25% [3,18].
Beide beinhalten zusätzlich ein besonderes Array an Sequenzen, die ähnlich derer sind, die sich in den Telomerregionen von Chromosomen bei Säugetieren finden. Ihre Aufgabe und Funktion ist großteils noch unbekannt. Sie scheinen jedoch eine Rolle bei der Integration des Virus in das Wirtsgenom zu spielen (s. Kapitel 3.1) [4,18].

2.4.2 Epidemiologie

Die weltweite Prävalenz für HHV-6 beläuft sich in Abhängigkeit geographischer Unterschiede auf 70-100% [3].
Üblicherweise besteht ein Erkrankungsgipfel zwischen 6 und 36 Monaten mit einer typischen Inkubationszeit von einer bis zwei Wochen.
Der genaue Zeitpunkt einer Serokonversion für HHV-6A ist derzeit noch nicht bekannt. Es wird jedoch angenommen, dass eine solche Infektion etwas später, in der Regel erst nach einer Primärinfektion mit HHV-6B, geschieht und subklinisch verläuft.
Auch Reinfektionen mit anderen HHV-6-Virusstämmen beider Virusvarianten sind möglich [3].

2.4.3 Pathogenese

Beide Virusvarianten infizieren die Zelle über Interaktionen mit dem CD46-Rezeptor, welcher sich in den Zellmembranen aller kernhaltigen Zellen wiederfindet. Nach

Andocken am Rezeptor wandert das Nukleokaspid durch das Zytoplasma der infizierten Zelle hin zum Kernporenkomplex (nuclear pore complex), wo die virale DNA in das Nukleoplasma abgegeben wird. Das Virus nützt im Anschluss daran die zelluläre Transkriptionsmaschinerie, um drei kinetische Klassen viraler Proteine zu produzieren: IE- (intermediate early), E- (early) und L- (late) Proteine.
IE-Proteine werden bereits wenige Stunden nach einer Infektion produziert und fungieren unter anderem als regulierende Instanz der Expression anderer viraler Gene.
E-Proteine – in ihrer Funktion von den IE-Proteinen abhängig – regulieren die Produktion von Proteinen, die hauptsächlich für DNA-Metabolismus und -Replikation verantwortlich sind.
L-Proteine dienen in der Regel als Bausteine reifer Viruspartikel, greifen jedoch auch in die Chemokinregulierung des Organismus mit ein.
Der Reifungsprozess von HHV-6 unterscheidet sich von dem anderer Vertreter der Herpesfamilie insofern, als während diesem bei HHV-6 keine virale Glykoproteine in den Zellmembranen infizierter Zellen zu finden sind [3].

2.4.4 Tropismus

HHV-6A und -6B sind typischerweise T-lymphotrop. Durch ihre Fähigkeit Zellen über CD-46-Rezeptoren zu infizieren, besitzen sie aufgrund der großen Dichte dieses Rezeptors im menschlichen Organismus zusätzlich die Möglichkeit, eine Vielzahl weiterer unterschiedlicher Gewebe zu infizieren (u.a. auch Speicheldrüsenzellen und Nervengewebe) [3,18].

2.4.5 Latenz

Nach der Erstinfektion entwickelt HHV-6 eine lebenslange Persistenz in befallenen Organismen (s.o.). Jüngeren Studien zufolge besitzt HHV-6 im Gegensatz zu anderen Vertretern der Herpesviridae darüber hinaus auch die Fähigkeit, sich durch kovalente Bindung seines Genoms in die Telomerregionen menschlicher Chromosomen zu integrieren (s. Kapitel 3.1).
Das Virus persistiert nach der Primärinfektion einerseits in einem latenten Stadium,

während dem nur in Folge einer Reaktivierung Viruspartikel produziert werden. Andererseits ist auch eine chronisch aktive Replikation infektiöser Viruspartikel möglich, die dann über den Speichel ausgeschieden werden und damit andere Individuen in der Umgebung gegebenenfalls infizieren können [2,4].

2.4.6 Übertragung

Eine Übertragung des Virus erfolgt auf unterschiedlichem Weg. Es wird angenommen, dass vor allem im Hinblick auf HHV-6B ein Großteil der Kinder durch infektiösen Speichel von Familienangehörigen infiziert wird. Auch eine fäko-orale Übertragung ist theoretisch möglich, konnte bislang jedoch nicht dokumentiert werden.
Hinsichtlich HHV-6A war es bislang noch nicht möglich, dessen Übertragungsweg klar zu identifizieren [3].
Konnatale Infektionen mit HHV-6 können diaplazentar erfolgen. Die Inzidenz für eine vertikale Übertragung wird dabei mit 1-2% aller Geburten angegeben (zur Übertragung im chromosomal integrierten Zustand siehe Kapitel 3 „ciHHV-6“) [3,18].
Ferner besteht die Möglichkeit einer peripartalen Infektion durch Kontakt des Kindes mit der mütterlichen Schleimhaut. Obwohl HHV-6B bei nahezu 20% der schwangeren Frauen im Genitaltrakt nachgewiesen werden kann, ist die Wahrscheinlichkeit einer Infektion jedoch als gering zu werten – ebenso wie die Möglichkeit einer Übertragung des Virus über die Muttermilch [3,18].
Vor dem Hintergrund, dass sich HHV-6 in einer großen Anzahl an unterschiedlichen Geweben findet, stellen nosokomiale bzw. iatrogene Übertragungswege durchaus gesicherte Methoden der Transmission dar. Dazu zählen etwa Bluttransfusionen, Organ- oder Knochenmarkstransplantationen [3,18].

2.4.7 Krankheitsbilder

2.4.7.1 Primärinfektionen

Erstinfektionen mit HHV-6B verursachen fieberhafte Erkrankungen, typischerweise bei Kindern im Alter zwischen 6 Monaten und einem Jahr. Charakteristisch dafür sind hohes

Fieber (>40°C) für ca. 3 Tage und Exantheme (in ca. 20% der Erkrankungsfälle), in der Regel erst nach Abfiebern mit besonderer Betonung des Oberkörpers, des Genicks und Gesichts. Dieser klassische Verlauf einer Primärinfektion mit HHV-6B wird 3-Tage-Fieber (*exanthema subitum*) genannt, andere Bezeichnungen sind *Roseola infantum* oder auch „6th disease".

Zu den häufigen Begleiterscheinungen zählen Abgeschlagenheit, Myringitis, gastrointestinale Beschwerden wie Diarrhoe sowie eine Mitbeteiligung des oberen Respirationstraktes. Zusätzlich kann diese Erkrankung mit Thrombozytopenien und Hepatitiden vergesellschaftet sein [3,18,19].

Fieberkrämpfe konnten in bis zu 10% aller Primärinfektionen beobachtet werden und begründen damit 10-20% aller fieberinduzierten Krampfgeschehen bei Kindern unter 2 Jahren.

Schwere, wenn auch seltene Komplikationen umfassen eine Mitbeteiligung des ZNS mit Meningoenzephalitis bzw. einer Enzephalitis/Enzephalopathie, die Entwicklung fulminanter Hepatitiden, Leberfunktionsstörungen und Hämophagozytosesyndrom.

Auch afebrile Krampfanfälle werden beobachtet und lassen somit den Schluss einer direkten Affektion des ZNS durch HHV-6 zu. Histopathologisch konnte gezeigt werden, dass das ZNS mitunter ein wichtiges Reservoir für aktive und latente HHV-6-Infektionen darstellt.

Erstinfektionen im Erwachsenenalter hingegen sind selten und gleichen in ihrem Verlauf und Ausgang in der Regel derer im Kindesalter [3,18].

Abgesehen von den beschriebenen seltenen Komplikationen ist eine Primärinfektion in immunkompetenten Individuen in der Regel von gutartigem Charakter und selbstlimitierend. Bei immungeschwächten PatientInnen wie bei HIV- oder TransplantationspatientInnen können jedoch durchaus schwere Manifestationen von HHV-6B beobachtet werden [3,18]. Diese umfassen zusätzlich Fälle von Stevens-Johnson Syndrom (*Erythema exsudativum multiforme*), Nierenversagen, Myokarditis, Pneumonitis, Hypogammaglobulinämie und Arteriopathien [1].

Im Hinblick auf HIV-Infektionen steht bislang noch nicht fest, ob HHV-6B schlicht die Rolle eines opportunistischen Pathogens zukommt oder ob das Virus tatsächlich den Verlauf einer HIV-Infektion beschleunigt [3].

HHV-6B steht weiters mit fulminanten, multifokalen, demyelinisierenden

Krankheiten des ZNS sowohl bei immungeschwächten als auch bei immunkompetenten PatientInnen im Zusammenhang. Das Virus wird als Kofaktor in der Entstehung der progressiven, multifokalen Leukenzephalopathie und der Multiplen Sklerose (MS) angesehen. Untersuchungen ergaben, dass HHV-6-Antigen nur in von MS betroffenen Arealen des ZNS, im Speziellen den myelinproduzierenden Oligodendrozyten, nachgewiesen werden konnte, nicht jedoch in gesunden Gebieten [3].
Die Beteiligung des Virus an MS und ein Zusammenhang mit dem Chronic Fatigue Sydrom werden aber sehr kontrovers diskutiert [18]. So ist nicht bekannt, ob der Nachweis von HHV-6 in MS-Läsionen tatsächlich auf einen kausalen Zusammenhang in der Entstehung dieser Erkrankung mit dem Virus hinweist. Es wäre auch denkbar, dass ohne ätiopathologische Relevanz lediglich ein erhöhter Tropismus seitens HHV-6 für diese Läsionen besteht [3].

HHV-6A konnte im Gegensatz zu -6B trotz seiner erhöhten Neuroinvasivität bislang keinem sicheren Krankheitsbild zugewiesen werden [1,18].

2.4.7.2 Reaktivierung

Die meisten Reaktivierungen von HHV-6 verlaufen subklinisch und betreffen i.e.L. die Virusvariante -6B. Betroffen sind häufig kritisch Kranke bzw. immungeschwächte PatientInnen. Aber auch bei anderen viralen Infektionen (Masern, Dengue-Fieber und Superinfektionen mit HHV-7) und während Schwangerschaften konnte eine Reaktivierung von HHV-6B beobachtet werden.
Reaktivierungen von HHV-6A wurden im Zusammenhang mit MS, HIV-Infektionen, Enzephalitis und der „Syncytial Giant-Cell Hepatitis“ gefunden [1,3,18].

Bei TransplantationspatientInnen unter Immunosuppression richten sich die Häufigkeiten und klinischen Manifestationen einer Reaktivierung von HHV-6 nach der Art der durchgeführten Transplantation.
Bei Knochenmarks- und StammzelltransplantationspatientInnen zählen Enzephalitis bzw. Enzephalopathie, gefolgt von Pneumonitis und verzögertem Engraftment, zu den häufigsten, durch aktive Infektionen mit HHV-6 bzw. durch Reaktivierungen des Virus hervorgerufenen Erkrankungen. Fieber und Exantheme werden dagegen eher selten

beobachtet. HHV-6 steht weiters unter Verdacht, Endothelschäden zu verursachen und für Knochenmarkssuppression mitverantwortlich zu sein [3].
Aktive HHV-6-Infektionen bzw. Reaktivierungen des Virus nach Organtransplantationen (SOT) sind im Vergleich zu Knochenmarks- und Stammzelltransplantationen ähnlich in ihrer Ausprägung, sie werden jedoch wesentlich seltener beschrieben. Am häufigsten zeigen sich dabei Fieber und Exantheme, gefolgt von Enzephalitiden, Enzephalopathien, Hepatitis, Transplantat-Dysfunktion oder -Abstoßung, Knochenmarkssuppression und Pneumonitis.

Ebenso konnte gezeigt werden, dass HHV-6 entweder durch direkte Virusinteraktionen oder durch Modulation des Immunsystems des Wirts oder durch beide Mechanismen CMV-Infektionen bzw. -Reaktivierungen modifizieren kann. Andererseits konnte gezeigt werden, dass eine gleichzeitige CMV-Infektion die klinischen Symptome einer HHV-6-Infektion zu aggravieren im Stande ist [3,20].

2.4.8 Onkogenes Potential

Im Gegensatz zu EBV und HHV-8 besteht für HHV-6 kein sicherer direkter Zusammenhang mit der Entwicklung von Neoplasien. Durchgeführt wurden Untersuchungen auf diesem Gebiet, nachdem das Virus bei PatientInnen mit lymphoproliferativen Erkrankungen isoliert werden konnte. Es zeigte sich, dass das virale Genom durchaus für mehrere transaktivierende Proteine kodiert, von denen eines auch transformierendes Potential aufweist. Andererseits wirkt das gleichfalls vorhandene U94-Gen des Virus diesem Prozess durch die Unterdrückung von Ras-induzierten Transformationen entgegen (s.u.).
HHV-6 scheint in diesem Zusammenhang als ein opportunistischer Krankheitserreger zu agieren, der sich die Situation veränderter Immunlagen betroffener PatientInnen zu Nutze macht [3].

2.4.9 Transaktivierende Eigenschaften von HHV-6

Die Gruppe der transaktiverenden Proteine reguliert gewisse Instanzen in der Expression ihrer Zielgene durch z.B. Bindung an Promotorsequenzen. Es konnte gezeigt werden, dass

das HHV-6 Genom für mehrere solcher transaktivierenden Proteine (in erster Linie IE-Proteine) kodiert. Das HHV-6A-spezifische Gen DR7 kodiert z.B. für ein Protein, welches durch seine transaktivierenden Eigenschaften im Stande ist, die Replikation von HIV-1 zu verstärken. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass dasselbe Gen die Fähigkeit besitzt, das Tumorsuppressorgen p53 zu binden und damit zu inaktivieren.
Wie das U3- kodiert auch das U27- Gen des Virus für Proteine, denen ebenfalls transaktivierende Eigenschaften speziell auf HIV-1 zugeschrieben werden.
Die Gruppe der IE-B Proteine (U16-U19) steht ihrerseits damit in Verbindung, die virale und die zelluläre Transkriptionsmaschinerie nach oben zu regulieren.
Das U94-Gen, ein Homolog zum AAV-rep-Gen, weist ebenfalls transaktivierendes Potential auf. Es zeigte sich, dass seine Proteinprodukte einerseits HIV-1 zu transaktivieren im Stande sind und andererseits Transformationen durch das humane H-ras-Onkogen möglicherweise supprimieren können.
Der IE-A Lokus von HHV-6 kodiert für die zwei Genprodukte IE-1 und IE-2. Dabei scheint speziell IE-2 eine wichtige Rolle in der Kontrolle der Expression zellulärer wie auch viraler Gene zu spielen [3].

2.4.10 Virale Interaktionen mit HHV-6

Eingehender untersucht wurde das Thema viraler Interaktionen mit HHV-6, als Lusso *et al*. [21] 1995 HHV-6 als einen Kofaktor bei der Entwicklung und Progression von HIV-Infektionen identifizieren konnten. HHV-6 und HIV besitzen u.a. denselben Zelltropismus (CD4+ T-Zellen). Eine aktive Infektion mit dem Herpesvirus steht im Verdacht, bei HIV-positiven PatientInnen die Reduktion von CD4+-T-Zellen zu beschleunigen. Zusätzlich induziert HHV-6 die Expression von CD4+ und macht damit Zellen, die unter normalen Umständen nicht von HIV befallen werden würden, empfänglich für das Immunschwächevirus. Des Weiteren scheint HHV-6 aufgrund seiner transaktivierenden Eigenschaften die Expression von HIV zu stimulieren (s.o.).
HHV-6 beeinflusst außerdem die Expression einiger Immunmediatoren wie z.B. Tumor-Nekrose-Faktor-Alpha (TNF-α), die ihrerseits wiederum eine Expression von HIV-1 aktivieren können.
Ein definitiver klinischer Beweis für eine tatsächliche Rolle von HHV-6 bei der HIV-Erkrankung wurde bislang jedoch noch nicht erbracht.

Interessant ist allerdings die Beobachtung, dass durch down-Regulierung des HIV-1-Rezeptors CXCR4 im Zuge einer HHV-6-Infektion CD4+-T-Lymphozyten *in vitro* unempfänglich für HIV-1 wurden.

Neben HIV können auch andere Herpesviren wie z.B. EBV durch die transaktivierenden Eigenschaften von HHV-6 aus ihrem Latenzzustand heraus reaktiviert werden. Im Gegenzug machen EBV-Infektionen B-Zellen empfänglicher für HHV-6.

Auch wurden Interaktionen mit dem AAV-2 (Adeno-assoziiertes Virus) beschrieben.
Wie bereits erwähnt eignete sich HHV-6 während seiner Entwicklung das AAV-2-spezifische rep-Gen an (s.o.). Dieses besitzt neben transaktivierendem Potential auch die Fähigkeit, Zelltransformierungen zu hemmen.

Zusätzlich verstärkt HHV-6 die Expression HPV-spezifischer mRNA in HPV-positiven zervikalen Epithelien [3].

2.4.11 Molekulare Interaktion zwischen HHV-6 und dem Immunsystem

Im Laufe der Evolution entwickelte HHV-6, wie auch andere Viren, verschiedene Methoden die Immunantwort des infizierten Organismus für seine Vorteile zu manipulieren und zu imitieren. So kodieren zum Beispiel Teile des HHV-6-Genoms für unterschiedliche Chemokine und Chemokinrezeptoren. Dazu zählen unter anderem die Gruppen der Interferone (IFN), Tumornekrosefaktoren (TNF) und Interleukine (IL). Während einer Infektion mit HHV-6 kommt es neben einem erhöhtem TNF-α-Release auch zu einem gesteigertem Shift unter den T-Zellen von Th1 zu Th2. Der Grund dafür liegt in der Veränderung in der IL-Regulierung durch das Virus. Auch eine Aktivierung von T-Lymphozyten, die für eine effektive virale Replikation notwendig ist, erreicht das Virus über Steigerung der IL-2-Produktion. Die immunsupprimierenden Eigenschaften von HHV-6 liegen in erster Linie in der Beeinträchtigung der T-Zell-Antwort auf Mitogen- und Antigen-Präsentation.
Eine weitere interessante Beobachtung stellt der Umstand dar, dass das Virus während einer Infektion die Expression des CD-46-Rezeptors, der auch für die Bindung von HHV-6 an seine Zielzellen essentiell ist – sowohl in infizierten als auch in nicht infizierten Zellen

– herunterreguliert. Zugleich konnte ein gesteigertes zytotoxisches Potential von NK-Zellen, ausgelöst durch IL-15 und Triggerung der IFN-γ-Synthese, nachgewiesen werden. Durch erhöhte Expression von TNF-Rezeptoren im Rahmen einer Infektion mit HHV-6A bzw. -6B zeigten sich *in vitro* und auch *in vivo* gesteigerte Apoptoseraten. Kirn *et al*. demonstrierten außerdem in mit HHV-6 infizierten Nabelschnurblutzellen erhöhte Spiegel von p53 und p21 [3].

2.4.12 Nachweismethoden

In der Mehrzahl der Fälle handelt es sich bei einer HHV-6-Infektion um eine selbstlimitierende Erkrankung, bei der die Diagnose anhand der typischen Klinik des Patienten/der Patientin (Drei-Tage-Fieber) gestellt wird. Ein HHV-6-Nachweis ist dazu in der Praxis nicht erforderlich. Trotzdem kann es insbesondere beim Auftreten von Komplikationen oder auch während Immunschwäche notwendig werden, einen Nachweis von HHV-6 und eine Unterscheidung der beiden Subtypen durchzuführen. Dies geschieht einerseits über Antikörpernachweis und andererseits über direkten Virusnachweis.
Mittels Antikörpernachweis ist eine Unterscheidung der beiden Varianten A und B derzeit jedoch nicht möglich. Zu dieser Methode zählen u.a. die indirekte immunfluoreszenz-Testung zur Beurteilung der Antikörperproduktion und -Spiegel und die Antikörperaviditätstestung. Bei letzterer Methode wird die Bindungsstärke der nachgewiesenen Antikörper bestimmt und damit zwischen einer frischen (niedrige Avidität) und einer bereits länger zurückliegenden Infektion (hohe Avidität) unterschieden.
Im Gegensatz zu Antikörpertests ist über einen direkten Virusnachweis eine Unterscheidung zwischen -6A und -6B durchaus möglich. Eine Möglichkeit ist dabei der Nachweis viraler DNA mittels PCR (Polymerase-Kettenreaktion). Weitere Methoden, die jedoch aufwendig und in der Routine unüblich sind, umfassen Virusisolation und –Kultivierung sowie Antigendetektion [18].

2.4.13 Therapie

Bislang existieren keine kontrollierten Studien sondern nur vereinzelte Fallberichte zur antiviralen Therapie von HHV-6-Infektionen. Medikamente mit eventueller Wirkung wie Ganciclovir, Foscarnet und Cidofovir, die mitunter mit schweren Nebenwirkungen (v.a.

Nephro- und Myelotoxizität) einhergehen können, sind bei komplikationslosen Verläufen bei immunkompetenten PatientInnen nicht indiziert.

In vitro erwiesen sich Foscarnet und Cidofovir jedoch am effektivsten, um die aktive HHV-6-Replikation zu verhindern. Aufgrund der hochgradigen Nephrotoxizität dieser beiden Substanzen sollten diese ausschließlich bei Resistenzen des Virus gegenüber dem weit weniger nebenswirkungsreichen Ganciclorvir zur Anwendung kommen [3,18].

3 Chromosomal integriertes humanes Herpesvirus 6 (ciHHV-6)

3.1 Allgemeines

Wie alle Vertreter der Herpesviridae besitzt auch HHV-6 die Fähigkeit, nach der Erstinfektion eine lebenslange Persistenz in befallenen Wirtsorganismen zu etablieren. Dies geschieht über die Ausbildung nukleärer zirkulärer Episome in infizierten Zellen, aus denen es über den Mechanismus des „rolling circle“ unter bestimmten Umständen wieder reaktivieren kann.

Arbuckle *et al*. [4] zeigten *in vitro*, dass HHV-6A und HHV-6B weiters die Fähigkeit besitzen, sich durch kovalente Bindung ihres Genoms an Wirts-Zell-DNA im Zuge einer Infektion chromosomal in die Telomerregionen menschlicher Chromosomen zu integrieren. Untersuchungen ergaben, dass HHV-6 im Gegensatz zu anderen Vertretern der Herpesvirusfamilie ein dem „rep-Gen“ des Adeno-assoziierten Virus-2 (AAV-2) gleiches Gen besitzt (U94).

Es zeigte sich, dass U94 auch einige der Basisfunktionen des AAV-2-rep-Gens, welches bei der Integration von AAV-2 in Chromosom 19 eine wichtige Rolle spielt, aufweist.

Der Latenzzustand von HHV-6 könnte somit, abgesehen von der Ausbildung zirkulärer Episome, auch über den Mechanismus einer chromosomalen Integration seiner DNA in Wirtschromosome erfolgen [4,18,22].

Kommt es nach direkter HHV-6-Infektion einer Keimbahnzelle zu einer solchen chromosomalen Integration des viralen Genoms in das Genom der Keimbahnzelle, so besteht die Möglichkeit einer Vererbung der viralen DNA. Danach findet sich virale (HHV-6-spezifische)-DNA in jeder kernhaltigen Zelle des entstehenden Organismus wieder und kann daher wiederum auf die nächste Generation weitervererbt werden [4]. In der Literatur wird dieses Phänomen, bei dem sich virale DNA in jeder kernhaltigen Zelle (inkl. der Keimbahnzellen) eines Organismus wiederfindet, häufig mit ciHHV-6 für „chromosomally integrated Human Herpesvirus 6“ oder synonym mit iHHV-6 für „inherited Human Herpesvirus 6“ (ererbtes HHV-6) bezeichnet.

In dieser Arbeit wird in weiterer Folge mit ciHHV-6 stets diese ererbte Form der Persistenz bezeichnet und nicht eine eventuelle, ebenfalls in einigen Zellen vorliegende, Integration des Virus nach Primärinfektion, wie von Arbuckle *et al*. [4] hypothetisiert.

Die ersten Fälle einer chromosomalen Integration des Virus wurden von Luppi *et al*. 1993 [23] beschrieben, nachdem bei zwei Lymphom- und einem MS-Patienten mithilfe des Southern Blotting auffallend hohe Spiegel an HHV-6-DNA nachgewiesen werden konnten. Im Anschluss daran durchgeführte FISH-Analysen bestätigten in allen drei Fällen eine chromosomale Integration viraler Sequenzen in allen untersuchten PBMCs, nahe der oder innerhalb von Telomerregionen des kurzen Arms von Chromosom 17. Auch nachfolgende Untersuchungen in unterschiedlichen Ländern (s. Kapitel 3.2, Tabelle 2) identifizierten zahlreiche PatientInnen, die eine der beiden Varianten (A oder B) des Virus, ebenfalls im Bereich der Telomerregionen, chromosomal in allen untersuchten Zellen integriert hatten [2].
Daibata *et al*. [24] berichteten 1999 erstmals das Phänomen der Übertragung viraler DNA über die Keimbahn von beiden betroffenen Elternteilen: Bei einer Patientin mit Burkitt's Lymphom konnte in deren Genom ciHHV-6 mittels FISH-Analyse am langen Arm des Chromosoms 22 (Genomlocus: 22q13) identifiziert werden. Ihr gesunder Ehemann hatte ebenfalls das HHV-6-Genom chromosomal integriert (Genomlocus: 1q44). Bei der gemeinsamen Tochter wurde ebenso eine FISH-Analyse durchgeführt. Diese zeigte eine chromosomale Integration von HHV-6 am jeweiligen Genlocus ihrer Eltern (22q13 und 1q44) [24].

Eine weitere Möglichkeit, ciHHV-6 zumindest in bestimmten Körperzellen zu akquirieren, besteht durch Transplantationen. Davon besonders betroffen sind EmpfängerInnen von hämatopoetischen Stammzelltransplantationen von ciHHV-6-positiven SpenderInnen (s. Kapitel 3.4.1.1). So ist nach erfolgreichem Engraftment das HHV-6-Genom in allen Zellen, welche aus hämatopoetischen Stammzellen hervorgehen, integriert, sodass – wie bei allen ciHHV-6-positiven Personen – eine deutlich erhöhte HHV-6-DNA-Kopienzahl in Blutproben des Empfängers/der Empfängerin nachweisbar ist und auch FISH-Analysen dieser Proben eine chromosomale Integration des Virus aufzeigen. Zellen des EmpfängerInnenorganismus, die nicht aus den transplantierten hämatopoetischen Stammzellen hervorgehen, bleiben von einer ciHHV-6-Positivität weiterhin unbeeinflusst und damit logischerweise ciHHV-6-negativ [25].

Da auch die Keimbahnzellen des Empfängers/der Empfängerin davon nicht betroffen sind, ist eine Weitervererbung dieser transplantierten ciHHV-6-Positivität nicht möglich.

Chromosomale Integration viraler DNA in das menschliche Genom stellt kein Novum dar. Berechnungen zufolge dürften sich bereits vor 10 Millionen Jahren „humane endogene Retroviren“ (HERV) in das menschliche Genom integriert haben. Bis heute beträgt ihr Anteil an der menschlichen Erbsubstanz ca. 8% [26]. Durch die Evolution, durch Mutationen und Deletionen ihrer Gensequenzen verloren diese endogenen Retroviren schließlich die Fähigkeit zur aktiven Replikation. Zur Hausen *et al.* zeigten 2008 [26], dass HHV-6 die Transkription von gag (group specific antigen)-, pol (polymerase)- und env (envelope)- Genen von HERVs in PBMCs induzieren konnte. Darüber hinaus wurden HERV-env-Proteine auch in unterschiedlichen malignen entarteten Zellen nachgewiesen. In diesem Zusammenhang stellten Duelli *et al*. 2007 [27] die Theorie auf, dass Zellfusionen, ausgelöst durch endogene Viren und „syncytium-forming viruses“ (Syncytium formende Viren), Aneuploidie und in weiterer Folge chromosomale Instabilität und maligne Entartungen provizieren können [4].

3.2 Prävalenz

Die Gesamtprävalenz für ciHHV-6 liegt zwischen 0,2% und 5,5% (Tabelle 2). Die Zahlen dazu stammen dabei hauptsächlich von klinischen Daten von PatientInnen mit unterschiedlichen Grunderkrankungen. Bezüglich der gesunden ProbandInnen und ciHHV-6 exisitieren nur wenige Daten. Ihre Prävalenzen belaufen sich jedoch ähnlich der von erkrankten PatientInnen auf 0,8-4%. Zu einem Fünftel bis zu einem Drittel der Fälle handelt es sich dabei um die Virusvariante HHV-6A [2,18,28].

Tabelle 2 In verschiedenen Studien angegebene Prävalenzen für ciHHV-6 in Europa, USA und Japan

Studie	Klinischer Hintergrund	Land	positiv	Prävalenz (%)
gesund/asymptomatisch				
Hudnall *et al*. [29]	Blutspender	USA	1/100	1,0%
Hall *et al*. [28,30]	asymptomatische Neugeborene	USA	48/5638	0,9%
Leong *et al.* [31]	BlutspenderInnen	UK	4/500	0,8%
Clark *et al*. [32]	Freiwillige	UK	1/25	4,0%
PatientInengruppen				
Lee *et al*. [33]	NTX	USA	1/47	2,1%
Kidd *et al*. [34]	NTX	UK	1/52	1,9%
Lee *et al*. [20]	LTX	USA	7/548	1,3%
Griffiths *et al*. [35]	LTX	UK	3/60	5,0%
Potenza *et al*. [36]	Dünndarmtransplantation	Italien	1/135	0,7%
Potenza *et al*. [36]	SOT (1) / HSCT (1)	Italien	2/205	0,9%
Potenza *et al*. [36]	HSCT	Italien	1/70	1,4%
Hubacek *et al*. [37]	LeukämiepatientInnen	Tschechien	5/339	1,5%
Ward *et al*. [38]	EnzephalitispatientInnen	UK	8/510	1,6%
Leong *et al*. [31]	SpitalspatientInnen	UK	13/449	2,9%
Ward *et al*. [39]	Enzephalitis-Studie Serumbank	UK UK	6/184 10/653	3,3% 1,5%
Tanaka-Taya *et al*. [40]	HHV-6-typische Erkrankungen	Japan	5/2332	0,2%
Torelli *et al*. [41]	NHL	Italien	2/64	3,1%
Torelli *et al*. [41]	HD	Italien	3/55	5,5%
Torelli *et al*. [41]	MS	Italien	1/31	3,2%

HD, Hodgkin Disease; HSCT, Hematopoietic Stem Cell Transplantation; LTX, Lebertransplantation; MS, Multiple Sklerose; NHL, Non Hodgkin Lymphom; NTX, Nierentransplantation; SOT, Solid Organ Transplantation;

3.3 Nachweismethoden

ciHHV-6 hat zur Folge, dass sich virale DNA in jeder kernhaltigen Zelle des Körpers mit zumindest einer Kopie an HHV-6-spezifischer DNA wiederfindet [18].

Aus diesem Grund sollten erhöhte HHV-6-DNA-Spiegel in Blutproben immer als ein Hinweis einer chromosmal integrierten Variante (ciHHV-6) des Virus betrachtet werden (s.u.) [2].

Derzeit existieren mehrere, in ihrer diagnostischen Aussagekraft jedoch voneinander abweichende, Methoden, um eine chromosomale Integration des Virus nachzuweisen.

Quantitative PCR in Vollblut/Serum

Die einfachste Möglichkeit, die jedoch nur einen ersten Hinweis auf ciHHV-6 liefern kann, ist die einer quantitativen PCR im **Vollblut** oder an **isolierten PBMCs** von betroffenen PatientInnen [1,2].

Personen/PatientInnen mit ciHHV-6 weisen dabei signifikant höhere und persistierende virale DNA-Spiegel als Negative oder PatientInnen während Primärinfektionen auf. Im Fall einer chromosomalen Integration des Virus bedeutet das den Nachweis von in der Regel einer HHV-6-DNA-Kopie pro untersuchtem Leukozyten. Dies entspricht in Abhängigkeit der Leukozytenzahl einer Gesamtzahl von ca. 5,5 x 10^5 - 10^6 HHV-6-DNA-Kopien/ml im **Vollblut** [1,25].

Für **Serumproben**, die ebenfalls nur hinweisend auf ciHHV-6 sein können, wird dieser Wert mit ca. 10^5 HHV-6-DNA-Kopien/ml angegeben. Dieser Wert ist auf freie DNA infolge von Zelllyse zurückzuführen und damit besonders Schwankungen ausgesetzt [2].
In jüngeren Publikationen erwies sich die Quantifizierung der HHV-6-DNA-Kopien aus Serumproben jedoch als ungeeignet, ciHHV-6 verlässlich von aktiven Infektionen durch das Virus abzugrenzen [42].

Limitationen dieser Nachweismethoden:
Untersuchungen haben ergeben, dass während der Akutphase von HHV-6-Primärinfektionen bei Kindern Virusspiegel von > 10^7 /ml **Vollblut** nachgewiesen werden können [2]. Weiters existieren Fälle von HSCT (Hematopoietic Stem Cell Transplantation)-PatientInnen mit GvHD (Graft vs. Host Disease) und PatientInnen mit „drug-induced hypersensitivity syndrome“ (DIHS) und dem damit verwandten „drug rush with eosinophilia and systemic symptoms“ (DRESS), bei denen Virusspiegel von > 10^6 HHV-6-DNA-Kopien/ml in **Serum und Plasma** gemessen wurden [1].
Diese HHV-6-DNA-Kopienzahlen entsprechen somit denen, die bei ciHHV-6 zu erwarten sind. Die Quantifizierung alleine erlaubt demnach keine Unterscheidung zwischen aktiven Infektionen mit dem Virus und ciHHV-6 [1,2].

Besonderes Augenmerk gilt außerdem der Gruppe der TransplantationspatientInnen. So ist es möglich, auch Organe und Stammzellen von ciHHV-6-positiven SpenderInnen *per transplantationem* zu übertragen. Dies führt z.B. nach HSCT und erfolgreichem Engraftment zu einem rapiden Anstieg von HHV-6-DNA in Blutproben des/der zuvor negativen Empfängers/Empfängerin. Eine genaue Behandlung dieser Thematik erfolgt in den Unterkapiteln 3.4.1.1 „ciHHV-6 bei Stammzelltransplantationen“ und 3.4.1.2 „ciHHV-6 bei Organtransplantationen“.

Korrelation viraler DNA mit Wirtszell-DNA

Die Höhe der HHV-6-DNA-Spiegel ciHHV-6-positiver Personen/PatientInnen variiert in Abhängigkeit der Anzahl der **Zellen in den untersuchten Blutproben**. Um diesen Umstand zu berücksichtigen, sollte virale DNA in Relation zu zellulärer DNA, z.B. zum β-Globin-Gen, gesetzt und in DNA-Kopien/zellulärer DNA (i.e. DNA-Kopien/Zelle) angegeben werden. Dies sollte insbesondere dann geschehen, wenn der/die PatientIn eine Leukopenie oder Leukozytose aufweist. Durch diese Methode wird der Nachweis viraler DNA von der Leukozytenzahl unabhängig. Das ist speziell bei hämatoonkologischen PatientInnen oder bei der Quantifizierung der HHV-6-DNA-Kopien aus anderen Materialien (s.u.) von Bedeutung [1,2].

Nachweis der Persistenz erhöhter HHV-6-spezifischer DNA

Ein zusätzlicher Hinweis auf ciHHV-6 stellt neben der beschriebenen Höhe der Virusspiegel auch eine lebenslange Persistenz derselben dar [2,43]. Eine Persistenz ist jedoch für die Differenzierung von ciHHV-6 gegenüber einer HHV-6-Wildtyp-Infektion im akuten Erkrankungsfall schwierig zu beweisen. Diese nachzuweisen kann z.B. durch eine Untersuchung der getrockneten Blutproben auf Neugeborenenscreening-Karten – diese werden oft als PKU (Phenylketonurie)-Karten bezeichnet – erfolgen. Diese Blutproben werden wenige Tage nach der Geburt routinemäßig abgenommen und für mehrere Jahre in einem zentralen Archiv aufbewahrt. So kann, wie auch bei einigen PatientInnen des Grazer PatientInnenkollektivs, in Zusammenschau mit dem aktuellen HHV-6-DNA-Spiegel eine eventuelle Persistenz der Viruslasten gezeigt und somit der Verdacht auf ciHHV-6 erhärtet werden [44].

Positives Verwandtenscreening

Eine Vererbung von ciHHV-6 erfolgt streng nach den Mendelschen Gesetzen. Deshalb kann, abgesehen von einer *de-novo*-Integration, auch durch den Nachweis hoher HHV-6-DNA-Kopienzahlen bei einem leiblichen Elternteil oder bei Geschwistern und anderen leiblichen Verwandten der betroffenen Person auf eine chromosomal integrierte Variante des Virus geschlossen werden [2].

Nachweis HHV-6-spezifischer DNA in unterschiedlichen Geweben

Als eine ebenfalls geeignete und wesentlich sicherere Methode ciHHV-6 zu bestätigen, bietet sich der Nachweis viraler DNA in unterschiedlichen Geweben wie z.B. in Haarfollikeln an, da bei einer vererbten chromosomalen Integration des Virus, HHV-6-spezifische DNA in jeder kernhaltigen Zelle des Organismus zu finden sein muss.

Liegt ciHHV-6 vor, erwartet man eine virale DNA-Last von $> 10^4$ HHV-6-DNA-Kopien/Haarfollikel bzw. korrelliert mit zellulärer DNA, zumindest eine HHV-6-DNA-Kopien/Zelle [2,43].

Limitationen dieser Nachweismethode:

Es muss bedacht werden, dass es bei dieser Methode u.U. speziell während akuten HHV-6-Virämien zu viralen Kontaminationen der Haarfollikel bei der Probengewinnung kommen kann und somit auch positive Ergebnisse bei Primärinfektionen möglich wären. Daten bzgl. eines DNA-Nachweises aus Haarfollikeln bei Wildvirus-Infektionen existieren nur vereinzelt. In diesen Fällen waren diese jedoch jeweils negativ [28,44].

Nachweis von ciHHV-6 durch FISH

Das verlässlichste in der Literatur beschriebene Verfahren zum Nachweis von ciHHV-6 stellt die FISH-Analyse dar. Zum Einsatz kommen dabei oftmals Phytohemagglutinin (PHA)-stimulierte und während der Phase der Zellteilung (Metaphase) fixierte PBMCs von betroffenen Personen. An die zuvor aufgespaltene Zell-DNA werden einerseits fluoreszierende, HHV-6-DNA-spezifische Sonden zur Detektion des viralen Genoms und andererseits fluoreszierende Kontroll- und Mapping-Sonden zum Nachweis der jeweiligen Chromosomenloci gebunden und in Folge sichtbar gemacht. Bei Personen, bei denen mittels FISH-Analyse eine chromosomale Integration des Virus nachgewiesen wurde, konnte in 100% der untersuchten B- und T-Zellen ein HHV-6-Signal gefunden werden [18,45].

Bei dieser Methode lässt sich auch eine Aussage über die Lokalisation der chromosomalen Integration treffen (s. Abbildung 2).

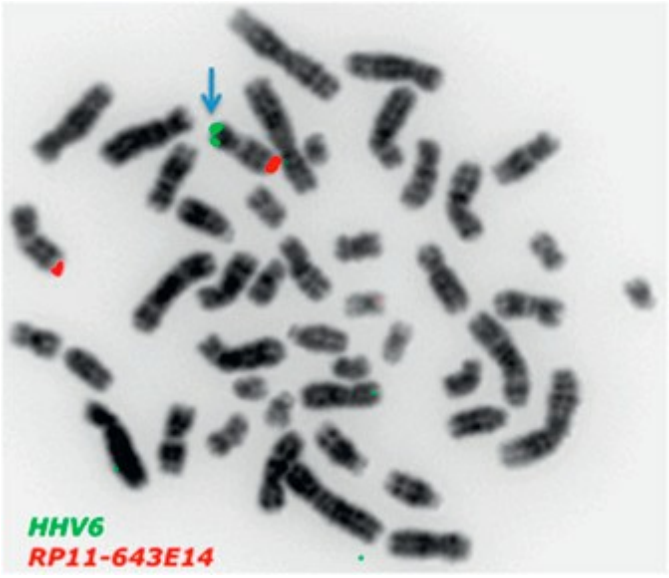

Abbildung 2 aus [46] ciHHV-6-Nachweis durch Fluoreszenz In Situ Hybridisierung (FISH)
grün: deutliches FISH-Signal der HHV-6-spezifischen Sonde an der Telomerregion des kurzen Arms eines Homologs von Chromosom 9 (Pfeil)
rot: zwei deutliche FISH-Signale der Kontrollsonden

3.4 Klinische Relevanz

Untersuchungen ergaben, dass ciHHV-6-positive Individuen annähernd das gesamte virale Genom chromosomal integriert hatten [1,2]. Obwohl die Produktion einer Reihe von viralen IE-, E- und L-Proteine in PBMCs eines Patienten und späte HHV-6-spezifische Gentranskripte im Nabelschnurblut von drei Kindern mit ciHHV-6 nachgewiesen werden konnte, existiert bislang kein eindeutiger Beweis für eine vollständige Replikation von ciHHV-6 *in vivo* [2,28]. Im Gegensatz dazu konnte ciHHV-6 *in vitro* durchaus in ein Stadium der aktiven vollständigen Replikation überführt werden (s.u.) [1,2].

3.4.1 ciHHV-6 als ein Störfaktor in der Diagnose aktiver HHV-6-Infektionen

Die Diagnose einer HHV-6 Infektion (s. Kapitel 2.4.12) umfasst Antikörpernachweis, Antikörper-Aviditätstests und direkten Virusnachweis mittels Isolierung oder PCR.
Aufgrund der mit ciHHV-6 verbundenen hohen Virus-DNA-Spiegel besteht die Gefahr einer möglichen Fehlinterpretation als fulminate Infektion. So z.B. bei HHV-6-PCR-Positivität in Liquor-Proben bei PatientInnen/Personen mit ciHHV-6, bei der irrtümlich auf

eine aktive Infektion des ZNS durch HHV-6 geschlossen werden könnte [1]. Zurückzuführen sind die viralen DNA-Kopien im Liquor ähnlich wie in Serum- und Plasma-Proben jedoch auf die Freisetzung zellulärer DNA als Folge von (physiologischer) Zelllyse [2].

Eine alternative Methode eines HHV-6-Nachweises stellt die Detektion von HHV-6-spezifischer mRNA mittels Reverse-Transkriptions-PCR (rtPCR) dar. Doch auch dieses Verfahren kann nicht zwischen aktiver exogener Infektion und ciHHV-6 unterscheiden, da ein positiver Nachweis von HHV-6-spezifischer mRNA (messenger RNA) neben einer tatsächlichen Infektion auch durch eine chromosomale Integration des Virus verursacht sein kann [2]. Dieser wiederum müssen nicht zwingend eine vollständige Replikation des Virus und krankheitsrelevante Effekte zugrunde liegen (s.u.).

Auch ein HHV-6-DNA-Nachweis in Speichelproben von Neugeborenen ist nicht aussagekräftig. Sowohl Neugeborene mit postnatalen HHV-6-Infektionen als auch solche mit ciHHV-6 weisen unmittelbar nach der Geburt bereits konstant erhöhte HHV-6-DNA-Spiegel im Speichel auf [2].

Bei der Antikörperbestimmung als Methode eine aktive Infektion nachzuweisen, muss bedacht werden, dass Antikörper gegen das Virus auch bei ciHHV-6-positiven Personen/PatientInnen nachgewiesen wurden. Bisher ist unklar, ob diese Antikörper im Zuge einer (zusätzlichen) exogenen Infektion mit dem Wildvirustyp oder als Antwort auf eine Reaktivierung von ciHHV-6 produziert werden.

Umgekehrt sollte das Wissen um die Beeinflussung der Ergebnisse der HHV-6-Diagnostik durch ciHHV-6 nicht zu Fehlschlüssen verleiten:

Es existieren – wie bereits erwähnt – Situationen, in denen auch ohne ciHHV-6-Positivität Viruslasten von $> 10^7$ HHV-6-DNA-Kopien/ml im Vollblut bzw. $> 10^5$ HHV-6-DNA-Kopien/ml Serum in der akuten Phase von HHV-6-Infektionen oder während Überempfindlichkeitsreaktionen auftreten können (s.o.) [1,2]. Dieser Umstand muss bedacht werden, um nicht fälschlicherweise alleine aufgrund der Höhe der viralen DNA-Kopien eine chromosomale Integration des Virus sicher anzunehmen [1,2].

3.4.1.1 ciHHV-6 bei Stammzelltransplantationen

Aufgrund der Möglichkeit einer iatrogenen Übertragung von ciHHV-6-positivem Gewebe *per transplantationem* nimmt die Gruppe der TransplantationspatientInnen eine besondere Stellung ein.
Ist der/die StammzellspenderIn im Gegensatz zum/zur EmpfängerIn ciHHV-6-positiv, so wird der/die EmpfängerIn im Zuge des Engraftments in bei diesem PatientInnenkollektiv häufig routinemäßig durchgeführten Virus-PCR-Untersuchungen durch zunehmend steigende HHV-6-DNA-Spiegel auffallen. Diese könnten als aktive Infektion fehlinterpretiert werden. Das Wissen einer ciHHV-6-Positivität in den SpenderInnenzellen vor der geplanten Transplantation verringert das Risiko einer anschließenden, wahrscheinlich ungerechtfertigten, antiviralen Therapie des/der Empfängers/Empfängerin.
Dieses Phänomen wurde erstmals von Clark *et al*. 2006 [25] bei einem 47 Jahren alten Patienten beobachtet, bei dem aufgrund einer akuten myeloischen Leukämie (AML) eine HLA (Humanes Leukozyten Antigen)-idente allogene Stammzelltransplantation durchgeführt wurde. Bereits vor der Transplantation war die Spenderin – im Gegensatz zum Empfänger – hoch positiv für HHV-6 (> 8 x 10^6 HHV-6-Genome/ml im Vollblut), ohne jedoch eine typische Klinik aufzuweisen. Nach der Transplantation wurden im Zuge des Engraftments auch die Blutproben des Patienten zunehmend positiv für HHV-6-DNA. Da in diesem Fall bereits die Möglichkeit einer Übertragung von ciHHV-6 angenommen wurde, wurde keine antivirale Therapie eingeleitet [2].

Ist bereits der/die EmpfängerIn im Gegensatz zum/zur SpenderIn vor der Transplantation positiv für ciHHV-6, kommt es im Zuge der Konditionierung vor HSCT mit der Abnahme der kernhaltigen Zellen im peripheren Blut auch zu einer rapiden Abnahme der HHV-6-DNA-Spiegel. Die virale DNA-Last bleibt auch nach erfolgreichem Engraftment der ciHHV-6-negativen Stammzellen auf niedrigem Niveau bzw. verschwindet ganz. Nach wie vor bleibt ciHHV-6 in allen nicht von der Konditionierung betroffenen Zellen des Organismus erhalten [2,47].
Dies wurde erstmal von Hubacek *et al*. 2007 [48] bei einem 7 Jahre alten Knaben beschrieben, der aufgrund eines Rückfalls einer ALL einer HSCT unterzogen wurde. Bereits vor HSCT zeigten sich extrem hohe HHV-6-DNA-Spiegel in den routinemäßig abgenommenen Blutproben. Der Patient wies keinerlei typische Klinik auf, weshalb in der Annahme von ciHHV-6 keine antivirale Therapie verabreicht wurde. Nach der

Transplantation und erfolgreichem Engraftment präsentierte sich die mediane virale DNA-Last in Blutproben um das 1000-fache niedriger als davor, welche auf freigesetzte DNA aus nicht von der Transplantation betroffenen, ciHHV-6-positiven Zellen des Empfängers zurückzuführen ist.

3.4.1.2 ciHHV-6 bei Organtransplantationen (SOT)

Eine weitere Möglichkeit der iatrogenen Übertragung von ciHHV-6 stellt die Organtransplantation (SOT) dar, bei der ein/e ciHHV-6-negativer/negative EmpfängerIn ein Organ von einem/einer -positiven SpenderIn erhält. Folglich kann trotz des Mangels an publizierten Fällen vermutet werden, dass es zu einem relativen Anstieg HHV-6-spezifischer DNA in den Blutproben des/der Empfängers/Empfängerin kommen kann. Verantwortlich für diesen Anstieg wäre der natürliche Zellzerfall innerhalb des transplantierten Organs bzw. Organnekrosen, wie z.B. im Zuge von Abstoßungsreaktionen. Auch die Größe und die Art des transplantierten Organs würden den Anstieg der viralen DNA-Spiegel wahrscheinlich mitbeeinflussen. Die Zunahme der viralen DNA wäre jedoch mit Sicherheit von wesentlich geringerem Ausmaß als vergleichsweise bei ciHHV-6-negativen HSCT-PatientInnen nach einer Transplantation von ciHHV-6-positiven Stammzellen (s.o.).

Im Vergleich dazu berichteten bislang sieben Publikationen über den umgekehrten Fall, bei dem ciHHV-6-positive SOT-PatientInnen Organe von ciHHV-6-negativen SpenderInnen erhielten. Veränderungen der Höhe der HHV-6-DNA-Spiegel wurden bei diesen PatientInnen nach erfolgreicher Transplantation naturgemäß nicht beobachtet [20,33-36,40,45].

3.4.2 Krankheitsrelevanz von ciHHV-6

Seit seiner Entdeckung konnte ciHHV-6 bei einer Reihe verschiedenster PatientInnenkollektive und bei gesunden Personen, wie zum Beispiel Neugeborenen, ihren Eltern, BlutspenderInnen und SpenderInnen von hämatopoetischen Stammzellen, nachgewiesen werden. Zu den bei ciHHV-6 beschriebenen PatientInnengruppen zählen

sowohl vorwiegend hämatoonkologische und neurologische PatientInnen als auch die Gruppe der Organ- und StammzelltransplantationspatientInnen.
Derzeit ist unklar, ob ciHHV-6 tatsächlich pathogenes Potential besitzt und den Verlauf bestimmter Krankheiten (mit)beeinflusst oder nur als Zufallsbefund zu werten ist [1,2,4].
Auch die Frage, ob ciHHV-6-positive Personen bei Auftreten von Symptomen, die mit HHV-6 im Zusammenhang stehen, antiviral behandelt werden sollen oder nicht, kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht zufriedenstellend beantwortet werden und wird in Folge Teil der Ergebnisse sowie der Diskussion sein.

Reaktivierungen von HHV-6, insbesondere der Variante -6B, treten häufig bei PatientInnen unter Immunschwäche bzw. auch bei immunkompetenten Personen während bestimmten Erkrankungen auf (s. Kapitel 2.4.7.2). Bislang ist nicht bekannt, ob auch ciHHV-6 bei betroffenen Personen/PatientInnen die Fähigkeit besitzt, unter bestimmten Umständen aus diesem Zustand heraus zu reaktivieren.
Es konnte gezeigt werden, dass einige chemische Substanzen und Medikamente (Tabelle 4) eine Replikation von ciHHV-6 in Zellkulturen induzieren können. Die in den Untersuchungen verwendeten Substanzkonzentrationen entsprachen dabei annähernd denen, wie sie als therapeutische Dosis auch beim Menschen zur Anwendung kommen würden.
Das erste derartige Experiment wurde von Daibata *et al*. [49] 1998 durchgeführt, bei dem es gelang, bei einer ciHHV-6-positiven Burkitt-Lymphom-Zelllinie die Expression von viraler (HHV-6-spezifischer) mRNA durch Kultivierung dieser Zelllinien mit dem Phorbolester TPA (12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate) zu induzieren. Darauf aufbauend zeigten u.a. auch Arbuckle *et al*. [5] eine Reaktivierung von ciHHV-6 bei T-Zellen betroffener PatientInnen durch Co-Kultivierung der Zellreihen mit dem HDAC-Inhibitor Trichostatin A (TSA) oder mit TPA in Kombination mit Hydrocortison. Diese, bei diesen Experimenten beobachteten Reaktivierungen von ciHHV-6, können nach Auffassung einiger AutorInnen als Beweis dafür angesehen werden, dass HHV-6 durch den Mechanismus einer chromosomalen Integration eine Art der Persistenz entwickelt, aus der es auch in einer eventuell krankmachenden Art wieder zu reaktivieren vermag [4]. Ob ciHHV-6-positive Personen tatsächlich durch die Einnahme bestimmter pharmakologischen Substanzen (Tabelle 4) möglicherweise dem Risiko einer Reaktivierung des „endogenen“ Virus ausgesetzt sind, kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht beantwortet werden [1].

Der Zustand einer chromosomalen Integration von HHV-6, sofern dieser nicht durch hämatopoetische Stammzelltransplantationen zum Teil akquiriert wurde (s.o.), setzt wie bereits erwähnt voraus, dass sich virale DNA in jeder kernhaltigen Zelle des Organismus wiederfindet. Vor dem Hintergrund, dass ciHHV-6 u. U. einem tatsächlichen Latenzzustand des Virus entspricht, könnte eine mögliche Reaktivierung folglich an sämtlichen Stellen des Organismus und in sämtlichen Geweben stattfinden, was mitunter schwerwiegende Folgen, wie z.B. Zelltod, Änderungen von Zellfunktionen und eine weitere Ausbreitung des Virus über seinen Zielrezeptor (CD46) und eine Verbreitung des Virus in der Umwelt nach sich ziehen könnte [4].

Aufgrund der unklaren Datenlage bezüglich der Möglichkeit einer *in vivo*-Reaktivierung von ciHHV-6 wird in Folge dieser Arbeit speziell auf die im Zusammenhang mit ciHHV-6 beschriebene Klinik eingegangen werden. Weiters werden die möglichen immunologischen Auswirkungen einer chromosomalen Integration von HHV-6 diskutiert. So ist bislang nicht bekannt, ob bzw. inwieweit das Immunsystem betroffener Individuen auf das „endogene Virus“ – sofern es repliziert wird – oder den Wildvirustyp reagiert. Ebenso ist unklar, ob bei Personen mit ciHHV-6 die immunologische Antwort auf andere Herpesviren durch eine möglicherweise permanente oder intermittierende Replikation von ciHHV-6 beeinflusst wird.

Tabelle 3 Arzneimittel/Substanzgruppen im Zusammenhang mit einer Reaktivierung/Replikationsinduktion von HHV-6 bzw. ciHHV-6 (mit * markiert), modifiziert nach Pellett *et al*. [1])

Wirkstoffklasse	in vitro	in vivo[a]
HDAC-Inhibitor	Trichostatin A* Sodium n-butyrate	
Antibiotika	Amoxicillin	TMP-SMX Minocycline Vancomycin Dapsone
Immunsuppressivum	Hydrocortisone *	
anti-inflammatorische Stoffe		Sulfasalazin
Anästhetika		Trichlorethylen
Antiarrhythmika		Mexiletine
Antikonvulsiva	Carbamazepin[b] Valproinsäure[b]	Carbamazepin[b] Zonisamide Phenobarbitol Lamotrigin Phenytoin
NSAR		Ibuprofen Naproxen
andere	TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) *	Allopurinol

[a]In vivo-Assoziationen mit DIHS, DRESS, TEN, SJS, AHS
[b]HDAC-inhibitor-Eigenschaften
[*]**Fähigkeit zur Aktivierung von ciHHV-6**

AHS, Akutes Hypersensitivitäts Syndrom; DIHS, drug-induced hypersensitivity syndrome; DRESS, drug rush with eosinophilia and systemic symptoms; HDAC, Histondeacetylase; NSAR, Nicht Steroidale Anti Rheumatika; SJS, Stevens Johnson Syndrom; TEN, Toxische Epidermale Nekrolyse; TMP-SMX, Trimethoprim-Sulfamethoxazol;

4 Material und Methoden

In dieser Arbeit wird durch einen systematischen Review der ciHHV-6-spezifischen Literatur ein Überblick über dieses Thema und den damit vergesellschafteten Krankheitsbildern gegeben.
In die Literaturrecherche miteinbezogen wurden sämtliche bis Anfang März 2012 in der biomedizinischen Datenbank „Pubmed“ (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/) gelisteten Publikationen, die sich mit dem Phänomen einer chromosomalen Integration von HHV-6 (ciHHV-6) beschäftigten. Kongressbeiträge, Poster und Fallberichte, die sich mit dieser Thematik ebenfalls auseinandersetzten und nicht in „Pubmed“ gelistet sind, wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt.
Gesucht wurde mit den Schlagwörtern „chromosomally integrated Human Herpesvirus 6“, „chromosomal integration Human Herpesvirus 6“, „inherited Human Herpesvirus 6“ und „chromosomal transmission Human Herpesvirus 6“. Die Begriffe „Human Herpesvirus 6“ sowie „chromosomally integrated Human Herpesvirus 6“ wurden dabei wahlweise auch durch die dafür geläufigen Abkürzungen „HHV-6“ bzw. „ciHHV-6“ ersetzt.

Die gesammelten Informationen über ciHHV-6-positive Personen/PatientInnen wurden in Folge hinsichtlich der diagnostischen Aussagekraft der Nachweismethoden und des klinischen Erscheinungsbildes tabellarisiert und mit deskriptiven statistischen Verfahren dargestellt. Mehrfach beschriebene PatientInnen – sofern als solche erkennbar – wurden aus den Studien herausgefiltert und in Summe nur einmal gewertet.
Die so gewonnen Daten wurden weiters hinsichtlich einer möglichen klinischen Relevanz von ciHHV-6 analysiert.

Als sicherste Methode eines ciHHV-6-Nachweises wird in dieser Arbeit die FISH-Analyse angesehen, gefolgt vom Nachweis HHV-6-spezifischer DNA in verschiedenartigen Geweben (i.e.L. in Haarfollikeln und Nägeln). Andere Methoden, wie die einer einfachen quantitativen Virus-PCR aus Blutproben, weisen z.T. Limitationen in ihrer diagnostischen Aussagekraft auf (s. Kapitel 3.3), weshalb diesen infolge ein niedrigeres Evidenzniveau zugesprochen wird.

Tabelle 4 zeigt in absteigender Reihenfolge die diagnostische Wertigkeit der unterschiedlichen Methoden zum Nachweis von ciHHV-6.
Kombinationen der verschiedenen Nachweismethoden untereinander erhöhen zusätzlich ihre Aussagekraft.

Tabelle 4 Hierarchisches Modell der diagnostischen Aussagekraft unterschiedlicher Nachweismethoden für ciHHV-6

Evidenzniveau	**Methode**
1	FISH-Analyse
2	Nachweis viraler DNA in unterschiedlichen Geweben (i.e.L. Haarfollikel)
3	positives Verwandtenscreening
4	persistierende Höhe* HHV-6-spezifischer DNA in Blutproben (z.B. „Screening-Karte“)
5	HHV-6-DNA-Last: Vollblut $> 10^6$ Kopien/ml, Serum $> 10^5$ HHV-6 Kopien/ml
* HHV-6-DNA-Kopien/ml: Vollblut $> 10^6$, Serum $> 10^5$ bzw. $\geq$ 1/Wirts-DNA	
i.e.L., in erster Linie; FISH, Fluoreszenz in situ Hybridisierung;	

Da in der Literatur nicht genauer definiert, wird das Kriterium der Persistenz erhöhter HHV-6-DNA-Spiegel (s. Tabelle 4), welches für die Diagnose „ciHHV-6“ erforderlich ist, ab einem Zeitraum von drei Monaten (90 Tage) durchgehender HHV-6-PCR-Positivität als erfüllt angesehen.

Zusätzlich wird über 13 weitere ciHHV-6-positive Personen/PatientInnen der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde des LKH Graz berichtet. Diese werden derzeit im Rahmen der laufenden und durch die Ethikkommission genehmigten Studie „Chromosomale Integration von HHV-6 – diagnostische Möglichkeiten und pathophysiologische Bedeutung“ betreut. Die Studie verfolgt u.a. das Ziel, HHV-6-Antigen bei ciHHV-6-positiven Personen/PatientInnen nachzuweisen. Vier dieser Fälle (s. Kapitel 5.4, Tabelle 20, Pat.Nr. 1-3 und 6) wurden bereits im Rahmen anderer Arbeiten publiziert [44,46,50]. Ihre Beschreibung erfolgt im Kapitel 5.4 zusammen mit den anderen TeilnehmerInnen der Studie.
Bei 10 von 13 dieser PatientInnen (Tabelle 20, Pat.Nr. 1-10) wurde ciHHV-6 mittels FISH-Analyse [45] bestätig und mittels „nested PCR“ eine Differenzierung in beide Virusvarianten unternommen [51]. PBMCs dieser PatientInnen wurden mit Hilfe von „Ficoll-Paque-Density-Gradient-Centrifugation“ isoliert, anschließend auf Objektträger zytozentrifugiert und mit Aceton fixiert. Der Antigennachweis in den PBMCs erfolgte

mittels indirekter Immunperoxidase-Färbung [52]. Zur Anwendung kamen hierfür zwei verschiedene (Primär-)Antikörper. Der erste war gegen ein 101 kDa großes Virionprotein von HHV-6B (MAB 8535, Chemicon, Inc. Temecula, CA) [53] gerichtet. Dieses Protein stellt ein spätes Antigen von HHV-6 dar und wird in der Regel erst während der aktiven Virusreplikation exprimiert [54]. Der zweite Antikörper ist gegen beide Varianten (A und B) des Virus (Ref-11-242, Argene Biosoft, Varilhes, France) gerichtet. Dieser detektiert ein 70 kDa schweres Protein von HHV-6A sowie ein 62 kDa schweres Protein von HHV-6B.
Als Sekundär- und Tertiär-Antikörper kamen ein Peroxidase-konjugierter Hase-anti-Maus- (Dako, Copenhagen, Denmark) und ein Peroxidase-konjugierter Ziege-anti-Hase Antikörper (Zymed, San Francisco, CA) zum Einsatz. Jede Serie von Immunofärbungen umfasste positiv- und negativ-Kontrollproben.
Die Reaktion wurde durch Hydrogen-Peroxidase-hältige, 3-amino-9-ethyl Carbazole Lösung sichtbar gemacht. Zur Gegenfärbung kam Mayer's Hemalum Lösung zur Anwendung.
Diese Untersuchungen wurden am „Department of Virology" der University of Helsinki, Helsinki, Finnland (Leitung: Irmeli Lautenschlager) durchgeführt.

Bei den drei übrigen PatientInnen der Studie (Tabelle 20, Pat.Nr. 11-13) wurde der ciHHV-6-Nachweis in zwei Fällen (Vater und Tochter) durch den Nachweis hoher HHV-6-DNA-Kopienzahl in Haarfollikeln sowie bei direkten Verwandten und in einem Fall durch den Nachweis über mehrere Jahre persistierender viraler DNA in untersuchten Blutproben erbracht. Bei zwei von drei dieser PatientInnen erfolgte ebenfalls eine Differenzierung der beiden Virusvarianten durch eine „nested-PCR".
FISH-Analysen und Antigennachweise dieser StudienteilnehmerInnen sind zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch ausständig.

Klinisch relevante Details und einige anamnestische Daten wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit bereits vor Studienschluss ausgearbeitet und ebenfalls tabellarisch dargestellt.

5 Ergebnisse

Insgesamt konnten 206 ciHHV-6-positive Personen/PatientInnen (83 männlich, 87 weiblich, 36 k.A. zum Geschlecht) identifiziert werden.
Die klinischen Daten dazu stammen zum einen aus 35 publizierten Arbeiten aus den Jahren 1995-2012 (193 Personen/PatientInnen) und zum anderen aus der in Kapitel 4 näher beschriebenen Studie „Chromosomale Integration von HHV-6 – diagnostische Möglichkeiten und pathophysiologische Bedeutung“ (13 Personen/PatientInnen). Eine Beschreibung dieser 13 Grazer StudienteilnehmerInnen erfolgt im Anschluss in Kapitel 5.4

5.1 ciHHV-6-Nachweis anhand des hierarchischen Nachweismodells

Im Prozess der Diagnosefindung erfolgte bei der Mehrzahl der betroffenen Personen/PatientInnen der Nachweis von ciHHV-6 auf mehrere Methoden. Um einen klaren Überblick zu erhalten, wurde in den folgenden Tabellen nur die aussagekräftigste Nachweismethode aufgelistet.

5.1.1 ciHHV-6-Nachweis durch FISH

Von insgesamt 193 ciHHV-6-positiven Personen/PatientInnen konnte bei 43 eine chromosomale Integration des Virus mittels FISH bestätigt werden (Tabelle 5).
Die Integrationsloci von ciHHV-6 fanden sich stets in den Telomerregionen verschiedener Chromosomen und umfassen, einschließlich der Grazer Studien-PatientInnen (s. Kapitel 5.4), derzeit 11 unterschiedliche Genloci (Tabelle 6, Tabelle 7).

Tabelle 5 ciHHV-6-Nachweis durch FISH

Studie	positiv-Fälle	Genlokus (Fallzahl)	klinischer Hintergrund (Fallzahl)	Land
Hubacek *et al*. [55]	2	18p11.3 1x k.A.	AML (1) ALL (1)	Tschechien
Watanabe *et al*. [56]	1	1q44	AHS	Japan
Hall *et al*. [28]	4	k.A.	konnatale HHV-6-Positivität	USA
Lohi *et al*. [57]	1	22qtel	ALL	Finnland
Arbuckle *et al*. [5]	8	18q23 (4) 17p13.3 (2) 22q13.3 (2)	asymptomatisch (4) ZNS-Dysfunktion (4)	USA
Nacheva *et al*. [45]	9	9q34.3 (2) 10q26.3 11p15.5 17p13.3 (3) 19q13.4 (2)	asymptomatisch (1) Meningitis/Parkinson (1) Nierentransplantation (3) Mekoniumaspiration, Tc (1) Stammzell-Spender (1) neonatale Konvulsionen (1) EBV-Enzephalitis (1)	UK
Tanaka-Taya *et al*. [40]	4	22q13 (4)	Organspender (1) Nierentranplantation (1) Mumpsmeningitis/Leberdys-funktion (1) ITP /Fettleber (1)	Japan
Daibata *et al*. [24]	3	22q13 1q44 22q13+1q44	asymptomatisch (2) Burkitt-Lymphom (1)	Japan
Daibata *et al*. [58]	3	1q44 (3)	ALL	Japan
Leong *et al*. [31]	4	k.A.	Spitalskollektiv [a]	UK
Torelli *et al*. [41]	3	17p13 (3)	NHD (1) HD (1) MS (1)	Italy
de Pagter *et al*. [59]	1	9qtel	Nabelschnurblut-Spender (1)	NL

[a] Spitalskollektiv bestehend aus PatientInnen mit HHV-6-typischem Erkrankungsmuster, Organ -spenderInnen und -empfängerInnen

AHS, Antikonvulsives Hypersensitivitätssyndrom; ALL, Akute Lymphatische Leukämie; AML, Akute Myeloische Leukämie; HD, Hodgkin Lymphom; ITP, idiopathische thrombozytopenische Purpura; k.A., keine Angabe; MS, Multiple Sklerose; NHD, non Hodgkin Lymphom; Tc, Tachycardie;

Tabelle 6 Chromosomale Integrationsloci von HHV-6

Integrationslokus	Anzahl
1q44 [24,56,58]	5
1q44+22q13 [24]	1
9q34.3 [45]	2
10q26.3 [45]	1
11p15.5 [45]	1
17p13 [5,41,45]	8
18p11.3 [55]	1
18q23 [5]	4
19q13.4 [45]	2
22q13 [5,24,40]	7
22q-tel [57]	1
k.A. [28,31,55]	9

k.A., keine Angabe;

Tabelle 7 Chromosomale Integrationsloci von HHV-6 im Grazer PatientInnenkollektiv	
Integrationslokus	Anzahl
9p ter	5
17p ter	3
19q ter	2

5.1.2 ciHHV-6-Nachweis in verschiedenartigen Geweben (Haarfollikel/Nägel)

Weitere 80 Fälle von ciHHV-6 konnten durch den Nachweis von HHV-6-spezifischer-DNA in Haarfollikeln (HF) oder Fingernägeln (N) identifiziert werden (Tabelle 8).

Tabelle 8 ciHHV-6-Nachweis in Haarfollikeln oder Fingernägeln (HF/N)

Studie	positiv-Fälle	Nachweis	klinischer Hintergrund (Fallzahl)	Land
Kamble *et al*. [60]	1	HF	Stammzell-Spender	USA
Hubacek *et al*. [37]	5	2 HF; 3 N	AML	Tschechien
Jeulin *et al*. [47]	1	HF	HD	Frankreich
Ciccopioppo *et al*. [61]	1	HF	Morbus Crohn	Italien
Hubacek *et al*. [62]	1	HF	aplastische Anämie	Tschechien
Troy *et al*. [6]	3	HF	Enzephalomyelitis (1) asymptomatisch (2)	USA
Hall *et al*. [28]	57	HF	Neugeborene mit konnataler HHV-6-Positivität (26) asymptomatische Eltern (31)	USA
Potenza *et al*. [36]	2	HF	MDS (1) SOT-Patient (1)	Italien
Mori *et al*. [63]	1	HF	MDS	Japan
Hall *et al*. [64]	6	HF	asymptomatisch	USA
Kobayashi *et al*. [65]	2	HF	asymptomatisch (1) refraktäre Anämie mit Blasten (1)	Japan

AML, Akute Myeloische Leukämie; HD, Hodgkin Disease; HF, Haarfollikel; MDS, Myelo-Dysplastisches Syndrom; N, Nägel; SOT, Solid Organ Transplantation;

5.1.3 ciHHV-6-Nachweis durch PCR in Vollblut und Serum bei zusätzlichen positiv-Fällen in der Familie

Bei 16 Personen/PatientInnen erfolgte die Diagnose „ciHHV-6“ aufgrund des Nachweises hoher Kopienzahlen HHV-6-spezifischer DNA in untersuchten Blutproben der betreffenden Person sowie zusätzlich bei direkten Verwandten (z.B. Eltern, Großeltern, Geschwister) (Tabelle 9).

Tabelle 9 ciHHV-6-Nachweis durch PCR aus Blutproben bei zusätzlichen positiv-Fällen in der Familie

Studie	positive Fälle	Nachweis	klinischer Hintergrund (Fallzahl)	Land
Lohi *et al*. [57]	1	VB/Serum	asymptomatisch	Finnland
Arbuckle *et al*. [5]	3	VB/Serum	ZNS-Dysfunktion (1) asymptomatisch (2)	USA
Mori *et al*. [63]	3	VB/Serum	asymptomatisch	Japan
Tanaka-Taya *et al*. [40]	5	VB/Serum	CMV-Infektion/Hämolytische Anämie (1) Hämolytische Anämie (1) Masern (1) Fieber/Exanthem (1) asymptomatisch (1)	Japan
Kobayashi *et al*. [65]	2	VB/Serum	asymptomatisch	Japan
Ward *et al*. [38]	2	VB/Serum	neonatale Konvulsionen (1) Sepsis/Enzephalitis (1)	UK

CMV, Cyto-Megalie Virus; NB, Nabelschnurblut; VB, Vollblut;

5.1.4 ciHHV-6-Nachweis durch PCR in Vollblut/Serum/PBMCs/Nabelschnurblut ohne zusätzliche positiv-Fälle in der Familie

Bei 54 Personen/PatientInnen wurde aufgrund der Höhe der HHV-6-spezifischen DNA in untersuchten Blutproben auf ciHHV-6 geschlossen, ohne dies durch aussagekräftigere Methoden zu bestätigen (Tabelle 10).

In 11 von 54 Fällen konnte zusätzlich zur Höhe der viralen-DNA-Spiegel auch ihre Persistenz nachgewiesen werden.

Tabelle 10 ciHHV-6 Nachweis durch PCR aus Blutproben ohne zusätzliche positiv-Fälle in der Familie

Studie	positiv-Fälle	Nachweis	klinischer Hintergrund (Fallzahl)	Land
Ward *et al*. [38]	15	VB/Serum	neonatale Kovulsionen* (1) Etwicklungsverzögerung/afrebrile Konvulsionen* (1) Enzephalitis* (3) chronische Enzephalitis (1) Enzephalitis (2) Meningokokkenmeningitis (1) Konvulsionen/Enzephalopathie (1) Fieber/Exanthem (1) Fieber/Konvulsionen (3) Fieber/Exanthem/Konvulsionen (1)	UK
Leong *et al*. [31]	13	VB/Serum	Spitalskollektiv * (3) BlutspenderInnen (4) Spitalskollektiv (6)	UK
Lee *et al*. [33]	1	VB/Serum	NTX *	USA
Griffith *et al*. [35]	3	VB/Serum	LTX *	UK
Hall *et al*. [28]	7	NB	konnatale HHV-6 Positivität *	USA
Kamble *et al*. [60]	1	VB/Serum	Stammzell-Spender	USA
Araujo *et al*. [66]	1	VB	LHAS	Frankreich
Jeulin *et al*. [67]	1	VB/Serum	Stammzell-Spender	Frankreich
Tanaka-Taya *et al*. [40]	1	VB/Serum	asymptomatisch	Japan
Torelli *et al*. [41]	3	PBMC	NHL (1) HD (2)	Italien
Lee *et al*. [20]	7	VB/Serum	NTX/LTX	USA
Hudnall *et al*. [68]	1	VB/Serum	asymptomatisch	USA

* persistierend hohe HHV-6-DNA-Spiegel (> 90 Tage)

[a] Spitalskollektiv bestehend aus PatientInnen mit HHV-6-typischem Erkrankungsmuster, Organ -spenderInnen und -empfängerInnen

HD, Hodgkin Disease; LHAS, Lymphohistiocytic Activation Syndrom; LTX, Lebertransplantation; NHL, Non Hodgkin Disease; NTX, Nierentransplantation; PBMC, Peripheral Blood Mononuclear Cell; VB, Vollblut;

5.2 Präsentation ciHHV-6 positiver Personen/PatientInnen anhand begleitender Krankheitsbilder

5.2.1 Hämatoonkologische Erkrankungen

25 der 193 ciHHV-6-positiven PatientInnen wiesen hämatoonkologische Erkrankungen (Tabelle 11) auf.

16 von 25 dieser PatientInnen wiesen maligne hämatologische Erkrankungen auf. Diese umfassten Fälle von Hodgkin (HD)- und Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL), akute lymphatische- (ALL) und akute myeloische Leukämien (AML) und Burkitt-Lymphom.

8 weitere ciHHV-6-positive PatientInnen konnten im Zuge anderer, nicht maligner hämatologischer Krankheiten identifiziert werden. Ein einziger Fall von Ewing Sarkom repräsentierte die Gruppe der onkologischen PatientInnen.
In 10 Fällen handelte es sich um die Variante -B des chromosomal integrierten HHV-6. In weiteren 7 Fällen konnte ciHHV-6A nachgewiesen werden. In 8 Fällen wurde keine Differenzierung vorgenommen.

Hubacek *et al*. [37] untersuchten die Krankengeschichten von ciHHV-6-positiven LeukämiepatientInnen auf spezifische HHV-6-assoziierte Komplikationen. Die beobachteten Episoden von Hepatitis, Neuropathien und Hautausschlägen zählten jedoch zu den typischen Therapienebenwirkungen dieser PatientInnen.
In der Annahme von aktiven Infektionen aufgrund hoher HHV-6-DNA-Spiegel wurden häufig antivirale Therapeutika verabreicht.

Potenza *et al*. [36] zeigten, dass sich – möglicherweise – aufgrund erhöhter Zelllyse während Episoden einer GvHD, die DNA-Kopienzahl von HHV-6 im Plasma bei ciHHV-6-positiven Individuen zusätzlich erhöhten.

Tabelle 11 ciHHV-6 bei hämatoonkologischen Erkrankungen

Studie	positive Fälle	klinischer Hintergrund (Fallzahl)	Variante HHV-6
Jeulin *et al*. [47]	1	HD	k.A.
Hubacek *et al*. [37]	5	AML	4 x A 1 x B
Hubacek *et al*. [55]	2	AML (1), ALL (1)	1 x B 1 x k.A.
Hubacek *et al*. [62]	1	Aplatische Anämie	1 x A
Araujo *et al*. [66]	1	LHAS	k.A.
Potenza *et al*. [36]	1	MDS	1 x A
Lohi *et al*. [57]	1	ALL	k.A.
Jeulin *et al*. [67]	1	Ewing Sarkom	k.A.
Mori *et al*. [63]	1	MDS	1 x A
Tanaka-Taya *et al*. [40]	3	ITP (1) Hämolytische Anämie /CMV (1) Hämolytische Anämie (1)	3 x B
Daibata *et al*. [24]	1	Burkitt Lymphom	k.A.
Daibata *et al*. [58]	1	ALL	1 x B
Kobayashi *et al*. [65]	1	refraktäre Anämie mit Blasten	1 x B
Torelli *et al*. [41]	5	HD (3), NHL (2)	3 x B 2 x k.A.

ALL, Akute Lymphatische Leukämie; AML, Akute Myeloische Leukämie; HD, Hodgkin Disease; ITP, Idiopathische Thrombozytopenische Purpura; k.A., keine Angabe; LHAS, Lymphohistiocytic Activation Syndrom; MDS, Myelo-Dysplastisches Syndrom;

5.2.2 Neurologische Erkrankungen

27 ciHHV-6-positive PatientInnen wiesen neurologische Erkrankungen und Auffälligkeiten auf (Tabelle 12).
In 19 von 27 Fällen handelte es sich um die Variante -B des chromosomal integrierten HHV-6. In den übrigen 8 Fällen wurde ciHHV-6A nachgewiesen.
Die neurologischen Symptome erstreckten sich von häufig beschriebenen Konvulsionen speziell bei Neugeborenen und Kleinkindern über Fälle von Meningo-Enzephalitiden und Fatigue-Syndromen bei älteren PatientInnen. Auch über einen Patienten mit Multipler Skerlose (MS) wurde berichtet.

Ward *et al*. [38] zeigten, dass immunkompetente, ciHHV-6-positive PatientInnen weiters zu jeder Zeit (auch in Abwesenheit von Krankheit) nachweisebare Spiegel von HHV-6-DNA im Liquor aufweisen können. Zurückgeführt wurde diese Beobachtung dabei auf die permanente Freisetzung viraler DNA infolge von (natürlicher) Zelllyse (s. Kapitel 3.4.1.1).

Tabelle 12 ciHHV-6 bei neurologischen Erkrankungen

Studie	positive Fälle	klinischer Hintergrund (Fallzahl)	Variante HHV-6
Troy *et al*. [6]	1	Enzephalitis	1 x A
Arbuckle *et al*. [5]	5	Hypersomnie (1) Ataxie (1) Fatigue Syndrom (2) Fatigue Syndrom/Ataxie (1)	3 x A 2 x B
Ward *et al*. [38]	17	Enzephalitis/Spesis (1) neonatale Konvulsionen (2) Entwicklungsverzögerung/afebrile Konvulsionen (1) Meningokokkenmeningitis (1) HSV-1-Enzephalitis (2) Fieber/Konvulsionen (4) Fieber/Exanthem (1) Enzephalitis (2) akute demyelinisierende Enzephalitis (1) chronische Enzephalitis (1) Konvulsionen/Enzephalopathie (1)	4 x A 13 x B
Nacheva *et al*. [45]	2	Meningitis/Parkinsons Disease (1) neonatale Konvulsionen (1)	2 x B
Tanaka-Taya *et al*. [40]	1	Mumpsmeningitis/Leberdysfunktion	1 x B
Torelli *et al*. [41]	1	MS	1 x B

HSV, Herpes Simplex Virus; MS, Multiple Sklerose; Z.n., Zustand nach;

5.2.3 TransplantationspatientInnen

5.2.3.1 Hämatopoetische Stammzelltransplantationen (HSCT/CBT)

Bei 6 PatientInnen, die sich einer HSCT bzw. Nabelschnurbluttransplantation (UCBT) unterzogen, wurde eine Übertragung von ciHHV-6 *per transplantationem* durch positive SpenderInnenzellen beobachtet (Tabelle 13). Einer dieser 6 PatientInnen war bereits vor der Transplantation ciHHV-6 positiv. Die HSCT erfolgte in diesem Fall vom ciHHV-6-positiven Bruder des Patienten [63].

Nach Konditionierung und erfolgreichem Engraftment der ciHHV-6-positiven SpenderInnenzellen zeigte sich ein rapider Anstieg der HHV-6-spezifischen-DNA in den untersuchten Blutproben aller 6 EmpfängerInnen. Die PatientInnen zeigten zu keiner Zeit HHV-6 typische Symptome (wie z.B. verzögertes Engraftment oder Knochenmarkssuppression).

Tabelle 13 ciHHV-6-Übertragung im Zuge HSCT, UCBT

Studie	positive Fälle	Transplantationsgrund	Art der Transplantation	Variante HHV-6
Kamble *et al*. [60]	2	B-Zell ALL	HSCT	k.A.
De Pagter *et al*. [59]	1	MPS	UCBT	k.A.
Jeulin *et al*. [67]	1	Ewing Sarkom	HSCT	k.A.
Clark *et al*. [25]	1	AML	HSCT	1 x A
Mori *et al*. [63] *	1	MDS	HSCT	2 x A

* Patient und Spender bereits im Vorhinein ciHHV-6 positiv

ALL, Akute Lymphatische Leukämie; AML, Akute Myeloische Leukämie; UCBT, Umbilical Cord Blood Transplantation; HSCT, Hematopoietic Stem Cell Transplantation; k.A., keine Angabe; MDS, Myelo-Dysplastisches Syndrom; MPS, Mukopolysaccharidose;

Sieben, bereits vor der Transplantation ciHHV-6-positive PatientInnen, erhielten hämatopoetische Stammzellen von ciHHV-6-negativen SpenderInnen (Tabelle 14).

Im Zuge der Konditionierung vor HSCT kam es durch die Abnahme der kernhaltigen Zellen im Blut dieser PatientInnen auch zu einem Rückgang der HHV-6-spezifischen DNA. Nach der Transplantation und erfolgreichem Engraftment der ciHHV-6-negativen SpenderInnenzellen verblieb die virale DNA-Last auf niedrigem Niveau. Die Höhe dieser DNA-Last war dabei abhängig von der Restaktivität des hämatopoetischen Systems des (ciHHV-6-positiven) EmpfängerInnenorganismus (Empfänger-Spender-Chimerismus) und

der Freisetzung viraler DNA aus nicht transplantierten, nicht hämatologischen (und damit weiterhin ciHHV-6-positiven) Zellen in die Blutbahn [47].

Tabelle 14 ciHHV-6-positive EmpfängerInnen von HSCT/UCBT

Studie	positive Fälle	Transplantationsgrund (Fallzahl)	Art der Transplantation	Variante HHV-6
Jeulin *et al*. [47]	1	HD	HSCT	k.A.
Hubacek *et al*. [37]	2	ALL	HSCT	k.A.
Hubacek *et al*. [55]	2	ALL (1), AML (1)	HSCT	1 x B 1 x k.A.
Potenza *et al*. [36]	1	MDS,	HSCT	1 x A
Kobayashi *et al*. [65]	1	refraktäre Anämie	CBT	1 x B

HD, Hodgkin Disease; HSCT, Hematopoietic Stem Cell Transplantation; ALL, Akute Lymphatische Leukämie; AML, Akute Myeloische Leukämie; k.A., keine Angabe;

5.2.3.2 Organtransplantationen (SOT)

Bei 17 ciHHV-6-positiven PatientInnen führte man eine SOT durch (Tabelle 15). Mit Ausnahme eines einzigen Patienten, der im Zuge einer Verwandtenspende ein Organ von einem ciHHV-6-positiven Spender erhielt [40], fanden sich bei den übrigen SpenderInnen keine Hinweise auf eine ciHHV-6-Positivität.

Lee *et al*. [20] wiesen dabei bei ihren PatientInnen ein signifikant erhöhtes Risiko für bakterielle Infektionen und einen nicht signifikant erhöhten Trend zu Allograft-Abstoßungsreaktionen nach.

Tabelle 15 ciHHV-6 bei Organtransplantationen (SOT)

Studie	positive Fälle	transplantiertes Organ (Fallzahl)	Variante HHV-6
Lee *et al*. [20]	7	Leber (5), Leber /Niere (2)	1 x A 6 x B
Lee *et al*. [33]	1	Niere	1 x B
Potenza *et al*. [36]	1	Dünndarm	1 x B
Nacheva *et al*. [45]	3	Niere	1 x A 2 x B
Tanaka-Taya *et al*. [40] *	1	Niere	1 x B
Kidd *et al*. [34]	1	Niere	k.A.
Griffith *et al*. [35]	3	Leber	k.A.

* Spender und Empfänger bereits im Vorhinein ciHHV-6-positiv

k.A., keine Angabe; SOT, Solid Organ Transplantation;

5.2.4 Zusätzliche Herpesvirusinfektionen

Bei 11 von 193 ciHHV-6-positiven PatientInnen kam es zusätzlich zur Grunderkrankung zu einer Infektion mit anderen Herpesviren (Tabelle 16).
In 8 von 11 Fällen handelte es sich um Koinfektionen mit CMV, die sich in 7 von 8 dieser Fälle unter Immunsupression während HSCTs oder SOTs ereigneten [20,36,47,55].
2 von 11 PatientInnen entwickelten eine HSV-1-Enzephalitis und ein Patient erkrankte an einer EBV-Enzephalitis.
Die Mehrzahl der zusätzlichen Herpesvirusinfektionen konnte mit antiviralen Therapeutika erfolgreich behandelt werden. Zwei Patienten verstarben aufgrund einer Ganciclovir-resistenten CMV-Pneumonie [55].

Nach Lee *et al*. [20] zeigte sich bei ciHHV-6-positiven-PatientInnen jedoch kein signifikant erhöhter Trend zu invasiven CMV-Erkrankungen.

Tabelle 16 ciHHV-6 und zusätzliche Herpesvirusinfektionen

Studie	pos.Fälle	klinischer Hintergrund	zusätzliche Herpesvirusinfektion
Jeuline *et al*. [47]	1	HD	CMV
Hubacek *et al*. [55]	2	ALL, AML	CMV
Potenza *et al*. [36]	1	Organtransplantation	CMV
Ward *et al*. [38]	2	HHV-6-Primärinfektion	HSV-1
Nacheva *et al*. [45]	1	auffällige HHV-6-Spiegel	EBV
Tanaka-Taya *et al*. [40]	1	Hämolytische Anämie	CMV
Lee *et al*. [20]	3	Organtransplantationen	CMV

ALL, Akute Lymphatische Leukämie; AML, Akute Myeloische Leukämie; CMV, Cytomegalie Virus; EBV, Epstein Barr Virus; HD, Hodgkin Disease; HSV, Herpes Simplex Virus;

5.2.5 Nachweis von ciHHV-6 im Rahmen anderer Erkrankungen

Tabelle 17 zeigt 17 weitere PatientInnen, bei denen im Zuge anderer Erkrankungen ein chromosomal integrierter Zustand von HHV-6 erkannt wurde.

In der Literatur fanden sich keine Studien oder andere Publikationen, die sich mit ciHHV-6 bei HIV-positiven PatientInnen beschäftigten.

Tabelle 17 ciHHV-6-Nachweis im Rahmen anderen Erkrankungen			
Studie	positiv-Fälle	klinischer Hintergrund	Variante HHV-6
Ciccopioppo *et al*. [61]	1	Morbus Crohn	k.A.
Watanabe *et al*. [56]	1	AHS	k.A.
Tanaka-Taya *et al*. [40]	2	Masern (1) Fieber/Ausschlag (1)	2 x A
Leong *et al*. [31]	13	Spitalskollektiv*	13 x k.A.
* Spitalskollektiv bestehend aus PatientInnen mit HHV-6-typischem Erkrankungsmuster, Organ-spenderInnen und -empfängerInnen.			
AHS, Antikonvulsives Hypersensitivitäts Syndrom; k.A., keine Angabe;			

5.2.6 Gesunde bzw. asymptomatische ciHHV-6-positive Personen

In wiederum 17 Studien konnten in Summe 108 Personen identifiziert werden, die keine HHV-6-typischen Symptome oder Krankheitsbilder aufwiesen (Tabelle 18).

Bei dieser Gruppe handelte es sich um asymptomatische Verwandte von ciHHV-6-positiven Personen/PatientInnen, die aufgrund eines positiv-Falles in der Verwandtschaft auf ciHHV-6 untersucht wurden [5,6,24,28,40,57,58,63-65]. Des Weiteren bestand diese Gruppe aus gesunden bzw. asymptomatischen Stammzell- und Organ-SpenderInnen [40,45,59,60,67], die aufgrund steigender HHV-6-DNA-Spiegel in der Posttransplantationsphase der entsprechenden EmpfängerInnen untersucht wurden. Außerdem zählen zu dieser Gruppe gesunde/asymptomatische Erwachsene (BlutspenderInnen), die im Rahmen von Prävalenzstudien hinsichtlich ciHHV-6 auf dieses Phänomen hin untersucht wurden und asymptomatische ciHHV-6-positive Neugeborene, welche im Rahmen einer Untersuchung von konnataler HHV-6-Infektionen detektiert wurden [28,31,68].

Tabelle 18 ciHHV-6 bei gesunden Personen				
Studie	positiv-Fälle	Nachweis	klinischer Hintergrund	Variante
Kamble *et al*. [60]	2	HF (1), VB/Serum (1)	Stammzell-Spender	k.A.
de Pagter *et al*. [59]	1	FISH	Nabelschnurblut-Spender	k.A.
Troy *et al*. [6]	2	HF	Verwandtenscreening	2 x A
Hall *et al*. [28]	31 37	HF CB	Eltern positiver Kinder Neugeborene*	k.A. k.A.
Lohi *et al*. [57]	1	VB/Serum	Verwandtenscreening	k.A.
Arbuckle *et al*. [5]	6	FISH (4), VB/Serum (2)	Verwandtenscreening	3 x A 3 x B
Jeulin *et al*. [67]	1	VB/Serum	Stammzell-Spender	k.A.
Nacheva *et al.* [45]	3	FISH	Stammzell-Spender (1) asymptomatisch (2)	1 x A 2 x B
Mori *et al*. [63]	3	VB/Serum	Verwandtenscreening	3 x A
Tanaka-Taya *et al*. [40]	3	FISH (1), VB/Serum (2)	Verwandtenscreening Organ-Spender (2)	1 x A 2 x B
Daibata *et al*. [24]	2	FISH	Verwandtenscrenning	k.A.
Daibata *et al*. [58]	2	FISH	Verwandtenscreening	2 X B
Leong *et al*. [31]	4	VB/Serum	Blutspender	4 x B
Kobayashi *et al*. [65]	3	HF (1), VB/Serum (2)	Verwandtenscreening	3 x B
Hudnall *et al*. [68]	1	VB/Serum	Blutspender	1 x B
Hall *et al*. [64]	6	HF (6)	asymptomatisch	3 x A 3 x B
* Untersuchung auf konnatale HHV-6-Infektionen				
CB, Cord Blood; HF, Haarfollikel; k.A., keine Angabe; VB, Vollblut;				

5.3 Spezielle Fragestellungung im Bezug auf eine mögliche klinische Relevanz von ciHHV-6

5.3.1 Reaktivierung von ciHHV-6

Mehrere Studien, die sich mit der Möglichkeit einer Reaktivierung des Virus aus seinem chromosomal integrierten Zustand heraus befassten, fanden *in vivo* sowohl bei Gesunden als auch bei immungeschwächten PatientInnen keine Beweise dafür, die eine solche Theorie unterstützen würden [37,48,62,63,65].

Hall *et al*. [28] konnten jedoch zum Teil HHV-6-mRNA in 8% der Blutproben von 48 ciHHV-6-positiven Kindern nachweisen. Im Gegensatz dazu wurde in Blutproben von ciHHV-6-negativen Kindern keine virale mRNA detektiert.

5.3.2 ciHHV-6 und antivirale Therapien

In 8 Arbeiten wurde eine antivirale Therapie bei insgesamt 8 ciHHV-6-positiven PatientInnen beschrieben [6,37,38,56,59,61-63,67]. Meist wurde aufgrund der hohen HHV-6-DNA-Spiegel eine aktive Infektion durch das Virus angenommen und ohne das Vorliegen von ciHHV-6 zu diagnostizieren eine antivirale Therapie begonnen.
Die meisten Studien zeigten keine Auswirkungen von antiviralen Therapien auf die durch ciHHV-6 bedingte Höhe der HHV-6-DNA-Spiegel. Auch das klinische Erscheinungsbild der PatientInnen und der Krankheitsverlauf blieben von Virostatika meist unbeeinflusst [37,38,56,59,61-63,67].
Dies verdeutlichte ein Bericht über eine Patientin mit aplastischer Anämie. Aufgrund der stark erhöhten HHV-6-Spiegel (150.000 Viruskopien, normalisiert auf 100.000 humane Genomäquivalente) wurde primär von einer aktiven Infektion mit dem Virus ausgegangen. In Folge wurde die Patientin über zwei Monate lang ohne Auswirkungen auf die aplastische Anämie und die Höhe der Virusspiegel antiviral mit Foscarnet, Cidofovir und Ganciclovir therapiert [62].
Ein ähnliches Beispiel schildert die Problematik einer Mb. Crohn-Patientin. Wegen erhöhter HHV-6-DNA-Spiegel in wiederholten Serumproben wurde fälschlicherweise auf eine Reaktivierung von HHV-6 geschlossen. Antivirale Therapien zeigten keine Effekte. Aus diesem Grund wurde zum Absetzen ihrer immunsupprimierenden Basistherapie aus Biologicals und Cortison entschieden. Die Folge waren wiederholte Crohn-Schübe. Ein Nachweis von viraler DNA in Haarfollikelzellen erst Jahre später zeigte schließlich eine chromosomale Integration von HHV-6. Nach der Wiedereinführung der immunsupprimierenden Basistherapie und Absetzen der antiviralen Mittel besserte sich der Zustand der Patienten rasch [61].

Ein einziger Fallbericht zeigte eine Abnahme der HHV-6-DNA-Spiegel eines ciHHV-6-positiven Patienten im Rahmen einer antiviralen Kombinationstherapie.
Troy *et al*. [6] berichteten über einen 34- jährigen immunkompetenten Patienten, der aufgrund einer schweren Enzephalomyelitis hospitalisiert wurde. Diagnostisch zeigten sich hohe Spiegel von HHV-6A in Liquor- und Serum-Proben. Eine empirische antivirale Therapie mittels Ganciclovir brachte nur einen ungenügenden Effekt. Erst als die antivirale Monotherapie zusätzlich durch Foscarnet unterstützt wurde, besserte sich der Zustand des Patienten. Auch die HHV-6-DNA-Spiegel im Liquor waren rückläufig. Ein Nachweis von

HHV-6-spezifischer DNA in Haarfollikeln des Patienten bestätigte eine chromosomale Integration des Virus.

5.3.3 ciHHV-6 und Antikörperproduktion

In 10 Arbeiten wurde die Untersuchung auf HHV-6-spezifische Antikörper bei insgesamt 83 ciHHV-6-positiven PatientInnen beschrieben.

Bei 67 dieser 83 ciHHV-6-positiven PatientInnen konnten Antikörper gegen HHV-6 nachgewiesen werden (Tabelle 19). Manche der Antikörper waren jedoch nur niedrig affin und nicht neutralisierend. Zum Teil wiesen ciHHV-6-positive PatientInnen auch niederigere Antikörperspiegel auf als ciHHV-6-Negative [28,39-41].

Tanaka-Taya *et al*. [40] zeigten, dass 57% (4/7) der untersuchten ciHHV-6-positiven PatientInnen Antikörper gegen IE-Proteine des Virus besaßen. In nur 14% der Fälle (1/7) waren diese Antikörper auch gegen das Glykoprotein B (gB), das wichtigste neutralisierende Epitop des Virus, gerichtet. Bei einem gesunden Kontrollkollektiv wiesen im Vergleich dazu 60% der untersuchten Personen Antikörper gegen gB auf.

Auch Hall *et al*. [28] bestätigten in ihrer Studie die Fähigkeit von ciHHV-6-positiven Kindern, Antikörper gegen HHV-6 zu produzieren. Diese wiesen, wenn auch nicht signifikant, im Vergleich zu ciHHV-6-negativen Kindern niedrigere Antikörperspiegel auf. Die auch z.T. ciHHV-6-positiven Mütter dieser Kinder wiesen ebenfalls Antikörper gegen HHV-6 auf.

Von den 67, für HHV-6 seropositiven PatientInnen, hatten 10 die Virusvariante -6A chromosomal integriert und 16 die Virusvariante -6B. In den übrigen 41 Fällen wurde der integrierte Virustyp nicht spezifiziert.

Auch wurde die Spezifität der untersuchten Antikörper (anti-HHV-6A oder -6B, gegen welches Antigen) meist nicht näher charakterisiert.

Tabelle 19 HHV-6-Antikörperproduktion bei ciHHV-6-positiven Personen/PatientInnen

Studie	positiv getestet (integriete Virusvariante)	klinischer Hintergrund (Fallzahl)	Serologie HHV-6
Troy *et al*. [6]	1/1 (ciHHV-6A)	Enzephalitis	IgG 1:160
Daibata *et al*. [24]	3/3 (k.A.)	Burkitt-Lymphom (1) asymptomatisch (2)	IgG 1:160 (3) IgM <1:10 (3)
Clark *et al*. [25]	1 /1 (ciHHV-6A)	asymptomatisch	Positiv
Leong *et al*. [31]	3/4 (ciHHV-6B)	asymptomatisch	IgG: 1:160 (2) IgG: 1:320 (1)
Kobayashi *et al*. [65]	1/1 (ciHHV-6B)	refraktäre Anämie mit Blasten Typ 2	IgG 1:160 IgM neg.
Mori *et al*. [63]	4/4 (ciHHV-6A)	MDS (1) asymptomatisch (3)	IgG 1:160 (2) IgG 1:40 (2)
Hall *et al*. [28]	37/42 (k.A.)	ciHHV-6-positive Mütter (18/18)* Säuglinge (19/24)	Positiv
Ward *et al*. [39]	12/14 (4 x ciHHV-6A, 8 x ciHHV-6B)	Kinder < 3a Kinder > 3a Erwachsene	IgG: 1: 128 – 512[a] IgG: 1:16 – 256 IgG: 1:16 – 2560[a]
Tanaka-Taya *et al*. [40]	4/7 (ciHHV-6B)	asymptomatisch (1) Nierentransplantation (1) ITP (1) Hämolytische Anämie/CMV-Infektion (1)	Antikörper gegen HHV-6 IE (4/4)[a] Antikörper gegen HHV-6 gB (1/4)
Torelli *et al*. [41]	1/6 (k.A.)	MS (1) HD (3) NHD (2)	IgG: 1: 80

* Nachweis von passiven maternalen Antikörper bei ciHHV-6-positiven Neugeborenen und damit Rückschluss auf Antikörperproduktion der ciHHV-6-positiven Mütter

[a] z.T. nur niedrig affine Antikörper

CMV, Cytomegalie Virus; gB, Glykoprotein B; HD, Hodgkin Disease; IE, Intermediate-Early-Protein; ITP, Idiopathisch Thrombozytopenische Purpura; MDS, Myelo-Dysplastisches Syndrom; MS, Multiple Sklerose; NHD, Non Hodgkin Disease; z.T., zum Teil;

5.4 Grazer PatientInnenkollektiv

Das Grazer PatientInnenkollektiv umfasst derzeit 13 ciHHV-6 positive PatientInnen, wobei sich FISH-Analysen von 3 dieser PatientInnen noch in der Ausarbeitung befinden (Tabelle 20).

Eine Antigensuche von HHV-6 in PBMCs von 10 dieser PatientInnen – manche von ihnen wurden mehrfach getestet – fiel bei 7/10 (70%, 12/16 Proben) zumindest einmalig positiv aus. Vier der TeilnehmerInnen (Pat.Nr. 4, 5, 9, 10) konnten im Median nach 5,3 (1,6-11,3) Monaten wiederholt getestet werden. Dabei wurde bei einem Patienten (Pat.Nr. 4) mit bestätigtem ciHHV-6A auch HHV-6B-Antigen nachgewiesen. Die Anzahl der anti-HHV-

6B-positiven Zellen bei diesem Patienten fiel deutlich geringer aus als die Anzahl anti-HHV-6A+B-positiven Zellen (siehe Methoden). Die Stärke des Signals des anti-HHV-6B-Antikörpers entsprach der einer Reaktivierung oder exogenen Infektion von bzw. mit HHV-6B [52,69-71]

Tabelle 20 PatientInnenkollektiv der Grazer Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde mit ciHHV-6

Patient Nr. (Geb.Jahr)	Klinischer Hintergrund	Geschlecht	integrierte HHV-6-Variante	Antigen-detektion[a]	Verwendete Antikörper [b]	Integrations-lokus
1 (1993) [50]	AML, ciHHV-6 via HSCT	W	A	1/1	AB (10%), B (0%);	17p ter
2 (2003) [46]	DCMP	W	B	0/1	B (0%)	9p ter
3 (1965) [46]	asymptomatisch, Vater von Pat.Nr. 2	M	B	0/1	B (0%)	9p ter
4 (1990)	chronische Parotitis	W	A	3/3	AB (60%); AB (60%); AB (60%), B (10%);	17p ter
5 (1964)	persisiterende CMV- Infektion, Mutter von Pat.Nr. 4	W	A	1/2	AB (0%); AB (15%), B (0%)	17p ter
6 (1998) [44]	transiente Hypertonie mit RPLE	M	B	0/1	AB (0%), B (0%);	19q ter
7 (1965)	asymptomatisch, Mutter von Pat.Nr. 6	W	B	1/1	B (15%)	19q ter
8 (1992)	psychogene Krampfanfälle	W	B	1/1	B (20%)	9p ter
9 (1968)	transiente Anämie, Vater von Pat.Nr. 8	M	B	3/3	B (20%); AB (10%), B (10%); AB (40%), B (40%);	9p ter
10 (1948)	asymptomatisch, Großvater von Pat. Nr.8, Vater von Pat.Nr. 9	M	B	2/2	AB (10%), B (20%) AB (10%), B (20%)	9p ter
11 (2008)	JMML, ciHHV-6 via HSCT	M	n.d.	0/0	-	-
12 (1993)	Mb. Hodgkin und Rezidiv	W	A	0/0	-	-
13 (1960)	Rezidivierender, ausgeprägter *Herpes labialis,* Vater von Pat.Nr. 12	M	A	0/0	-	-

[a] Anzahl positiv/Anzahl getestet
[b] verwendete Antikörper: B – gegen HHV-6B (101p), AB – gegen HHV-6A und B (siehe Methoden)

AML, Akute Lymphatische Leukämie; DCMP, Dilatative Cardiomyopathie; HSCT, Hematopoietic Stem Cell Transplantation; JMML, Juvenile Myelomonozytäre Leukämie; k.A., keine Angabe; n.d., nicht durchgeführt; RPLE, Reversible Posteriore Leukenzephalopathie;

6 Diskussion

Im Rahmen dieser Diplomarbeit konnten insgesamt 206 ciHHV-6-positive Individuen identifiziert werden.

In den relativ kleinen Kollektiven belief sich die Prävalenz für ciHHV-6 bei klinisch auffälligen Personen (0,2-5,5%) ähnlich der von gesunden, asymptomatischen ciHHV-6-positiven Individuen (0,8 - 4%) (s. Tabelle 2) [29,31,32].

In der Mehrzahl der Fälle wurde ein chromosomal integrierter Zustand des Virus deshalb erkannt, da die Erkrankungen betroffener PatientInnen stets auch eine Untersuchung auf HHV-6 nach sich zogen, die auffallend erhöhte HHV-6-DNA-Spiegel zeigten. Dies erklärt, warum ciHHV-6 häufig bei jenen Krankheitsbildern diagnostiziert wird, die eine Indikation für eine HHV-6-Diagnostik darstellen.

In keiner der Publikationen konnte ciHHV-6 ein definitiver pathogener Effekt zugeordnet werden. Es wäre somit interessant, PatientInnenkollektive, die nicht in Verbindung mit HHV-6 stehende Krankheitsbilder aufweisen und damit auch keine HHV-6- oder andere Herpesvirusdiagnostik im Zuge der Diagnosefindung routinemäßig durchlaufen, gezielt auf ciHHV-6 hin zu untersuchen. Die würde zeigen, ob von einer tatsächlichen Häufung von ciHHV-6 bei den jeweiligen Krankheitsbildern (s. Kapitel 5.2) überhaupt gesprochen werden kann.

Die Dunkelziffer für ciHHV-6 könnte darüber hinaus möglicherweise höher liegen als bisher angenommen. So beschäftigten sich bereits frühere Publikationen mit dem Phänomen einer rapiden Zunahme von HHV-6-DNA in Blutproben bei PatientInnen nach HSCT, interpretierten dies jedoch als aktive Infektion mit dem Virus und nicht als chromosomal integrierten Zustand von HHV-6 [25,38].

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, die Datenlage bzgl. der Möglichkeit einer Reaktivierung von ciHHV-6 zu analysieren.

Während Hubacek *et al*. [48], Torelli *et al*. [41], Mori *et al*. [63] und Kobayashi *et al*. [65] eine solche Reaktivierung in ihren Untersuchungen klar verneinten, relativierten dies Hall *et al*. 2008 [28], indem sie späte HHV-6-Gentranskripte in Nabelschnurblutproben bei einem ciHHV-6-positiven Neugeborenenkollektiv nachweisen konnten. Weitere Untersuchungen [64] an ciHHV-6-negativen Neugeborenen zeigten, dass sämtliche

beobachteten transplazentaren Infektionen mit HHV-6 bei diesen Kindern offenbar auf einen chromosomal integrierten Zustand des Virus ihrer Mütter zurückgeführt werden konnten. Dies ließ die AutorInnen schlussfolgern, dass maternales ciHHV-6 repliziert wird und damit infektiöse Viruspartikel diaplazentar auf die Kinder übertragen wurden.

Es wäre somit denkbar, dass der Nachweis später HHV-6-Gentranskripte tatsächlich den Beweis einer aktiven Replikation von ciHHV-6 darstellt [1]. Die Theorie wird auch durch den HHV-6-Antigennachweis bei einem Großteil der Personen aus dem Grazer PatientInnenkollektiv erhärtet. Auf der anderen Seite kann der Nachweis viralen Antigens bei ciHHV-6-positiven Individuen auch einfach nur die Transkription von Teilen des viralen Genoms ohne Replikation intakter Viruspartikel bedeuten und ohne klinische Relevanz verbleiben. Gleichfalls möglich wäre eine zusätzliche Infektion/Reinfektion mit einem HHV-6-Wildtyp [28].

Eine sichere Antwort auf diese Fragen kann in Anbetracht der gegenwärtigen Studienlage jedoch nicht gegeben werden.

Arbuckle *et al*. [5] demonstrierten in diesem Zusammenhang weiters *in vitro* die Möglichkeit einer Reaktivierung von ciHHV-6 bei T-Zellen betroffener PatientInnen durch Co-Kultivierung der Zellreihen mit dem HDAC-Inhibitor Trichostatin A (TSA) oder mit TPA in Kombination mit Hydrocortison (s.o.). Wie bereits erwähnt entsprachen die in diesen Experimenten zur Anwendung gekommenen Substanzkonzentrationen denen, die auch als therapeutische Dosis beim Menschen (*in vivo*) zur Anwendung kommen. Auch hier ist ungewiss, ob ciHHV-6-positive PatientInnen, die *in vivo* einer Behandlung mit diesen Substanzen (s. Tabelle 3) unterzogen werden, möglicherweise einem Risiko einer Reaktivierung von ciHHV-6 ausgesetzt sind.

Auf der anderen Seite fanden sich in der Literatur bisher jedoch keine gegenteiligen Beweise dafür, dass ein HHV-6-Wildtyp in der Lage ist, auch ciHHV-6-positive Individuen zu infizieren. In der derzeit noch laufenden Studie „Chromosomale Integration von HHV-6 – diagnostische Möglichkeiten und pathophysiologische Bedeutung“ an der Grazer Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde wurde zum ersten Mal bei einem Patienten (s. Tabelle 19, Pat.Nr. 4) mit nachweislich chromosomal integriertem HHV-6A HHV-6B-Antigen als Hinweis auf eine Infektion mit bzw. Reaktivierung von einem HHV-6B-Wildtyp nachgewiesen. Dies legt den Schluss nahe, dass zusätzliche Infektionen mit anderen Virussträngen auch bei ciHHV-6-positiven PatientInnen möglich sind. Darüber hinaus konnte HHV-6-Antigen (s. Kapitel 4) in den meisten (7/10) der ciHHV-6-positiven Individuen nachgewiesen werden, jedoch nicht zu jedem Zeitpunkt der

Testungen. Dieser Umstand scheint somit eine variierende Aktivität von ciHHV-6 zu signalisieren.

Bezüglich HHV-6 und HIV konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass sich beide Viren aufgrund transaktivierender Eigenschaften gegenseitig beeinflussen [21,72,73].
Es exisitert jedoch kein Fallbericht, der über ciHHV-6 bei HIV-positiven PatientInnen berichtet, obwohl diese PatientInnengruppe routinemäßig einem intensiveren diagnostischen Screening unterzogen wird. Ob nun einfach die Möglichkeit von ciHHV-6 trotz entsprechender viraler DNA-Lasten bis dato noch nicht in Erwägung gezogen wurde oder andere Gründe, wie z.B. Wechselwirkungen zwischen ciHHV-6 und HIV dafür verantwortlich sind, wäre rein spekulativ und kann hier nicht beantwortet werden. Die Prävalenz für ciHHV-6 bei HIV-positiven PatientInnen sollte erwartungsgemäß zumindest der von gesunden Personen (0,8 - 4%) entsprechen.

Unklar bleibt auch die Rolle, die eine eventuelle ciHHV-6-Positivität bei MS-PatientenInnen [41] spielen könnte – so war es bislang auch nicht möglich einen definitiven kausalen Zusammenhang zwischen einer exogenen Infektion mit HHV-6 und der Entwicklung bzw. Progression von MS nachzuweisen.

Hinsichtlich der Gruppe der TransplantationspatientInnen hat sich gezeigt, dass HHV-6 nach Wildvirustyp-Primärinfektion bei annäherungsweise 50% der TransplantationspatientInnen (SOT/HSCT) während ihrer Behandlung reaktiviert. Dies betrifft vorwiegend HHV-6B, während -6A nur in 2-3% der Fälle dafür verantwortlich ist [36]. Vergleicht man die Prävalenzen für ciHHV-6 bei SOT/HSCT- PatientInnen (0,7-5%) mit der doch deutlich höheren Wahrscheinlichkeit einer Reaktivierung von HHV-6 (60%), so verdeutlicht dies, dass bei Auftreten von unklaren Symptomen und einer entsprechend hohen Viruslast primär eine aktive Infektion durch einen Wildvirustyp angenommen werden sollte. ciHHV-6 sollte ausgeschlossen werden, wenn unternommene antivirale Therapien – insbesondere bei Abwesenheit der typischen Klinik einer aktiven Infektion – keinen Effekt auf die Höhe der Virusspiegel ausüben [36].
Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass es im Zuge einer GvHD bei ciHHV-6-positiven TransplantationspatientInnen zu einer gesteigerten Freisetzung viraler DNA durch Zelllyse mit freier HHV-6-DNA in Blutproben kommen kann. Obwohl dieser

Beobachtung bislang noch keine krankheitsrelevanten Effekte zugeschrieben werden konnten, können die hierdurch erhöhten HHV-6-DNA-Spiegel die Diagnosefindung wesentlich erschweren [36].

Weiteres Interesse galt der Notwendigkeit, ciHHV-6-positive Personen/PatientInnen bei Auftreten von HHV-6-typischen oder anderen Symptomen vor dem Hintergrund einer möglichen Reaktivierung von ciHHV-6 antiviral zu therapieren.
Die Mehrheit der AutorInnen, die sich mit dieser Frage auseinandersetzten, konnten in ihren Untersuchungen keinen Effekt von antiviralen Therapien auf einerseits die Klinik des Patienten/der Patientin und andererseits auf die Höhe der Virus-DNA-Spiegel beobachten [37,38,56,59,61-63,67]. Stattdessen sah man ciHHV-6-positive PatientInnen aufgrund ihrer hohen Virus-DNA-Spiegel, in der Annahme einer aktiven Infektion durch HHV-6, vermehrt einem erhöhten Risiko einer wahrscheinlich ungerechtfertigten antiviralen Therapie ausgesetzt.
Ein einziger Fallbericht von Troy *et al*. [6] berichtete im Gegensatz dazu über einen Rückgang HHV-6-spezifischer DNA in Liquorproben und Besserung des klinischen Zustandsbildes eines ciHHV-6-positiven Enzephalomyelitispatienten – möglicherweise im Zuge einer antiviralen Kombinationstherapie. Liquoruntersuchungen ergaben eine Pleozytose und eine Hypoglykorrhachie. Empirische antibiotische und antivirale Therapien brachten keine Veränderung des klinischen Zustandbildes. Erst als die antivirale Ganciclorvir-Monotherapie, die nicht als HHV-6-wirksam gilt, durch Foscarnet – von dem gezeigt wurde, dass es effektiv die aktive HHV-6-Replikationen in Gliazellen verhindern kann – unterstützt wurde, besserte sich der Zustand des Patienten. Auch die viralen DNA-Spiegel im Liquor waren rückläufig.
Es wäre nun denkbar, dass ciHHV-6 tatsächlich reaktivieren konnte und damit eine bislang noch unbekannte Rolle in der Entwicklung von Enzephalitiden spielt und antivirale Therapeutika daher eine Wirksamkeit zeigen könnten. Andererseits hätte auch eine zusätzliche Infektion mit einem HHV-6-Wildtyp oder einem anderen, nicht untersuchten Virus diese Klinik verursachen können. Der Rückgang der HHV-6-DNA-Spiegel im Liquor könnte allein auch durch den Rückgang der Zelllyse in der Rekonvaleszenz erklärt werden. So zeigten Ward *et al*. [38], dass ciHHV-6-positive PatientInnen zu jeder Zeit nachweisbare HHV-6-DNA-Spiegel im Liquor aufweisen. HHV-6 kann in diesem Fall somit nicht mit Sicherheit als Auslöser bestätigt werden.

Ohne Sequenzierung der HHV-6-DNA aus dem Genom und aus dem Liquor ist es nicht möglich, den Ursprung der HHV-6-DNA zu identifizieren (Replikation von ciHHV-6 oder aktive Infektion durch einen Wildvirustyp?).

Solange ciHHV-6 keinem eindeutigen pathogenen Effekt zugeordnet werden kann, wird es auch nicht möglich sein, die Wirksamkeit von antiviralen Therapien bzgl. der Möglichkeit einer Reaktivierung von ciHHV-6 sicher zu beurteilen.
Auch die Methode der quantitativen PCR zur Beurteilung eines Therapieansprechens bei ciHHV-6-positiven PatientInnen (bei V.a. aktive Infektionen mit einem HHV-6-Wildtyp oder Replikation/Reaktivierung von ciHHV-6) wäre aufgrund der ohnehin konstant deutlich erhöhten HHV-6-DNA-Spiegel nicht aussagekräftig.

Weiters beschäftigte sich diese Arbeit mit der Frage, wie ein ciHHV-6-positiver Organismus immunologisch auf das endogene Virus bzw. auf eine exogene HHV-6-Wildtyp-Infektion reagiert und wie sich eine Antikörperproduktion in beiden Fällen gegen das Virus gestalten könnte.
In Summe konnte bei 67 von 83 (81%) ciHHV-6-positiven Personen/PatientInnen, bei denen von serologischen Untersuchungen berichtet wurde (s. Tabelle 18), Antikörper gegen HHV-6 nachgewiesen werden.
Tanaka-Taya *et al*. [40] demonstrierten anhand vier ihrer ciHHV-6-positiven PatientInnen, dass diese einerseits für HHV-6-Wildtyp-Infektionen empfänglich waren, andererseits jedoch nur niedrig affine Antikörper gegen HHV-6 aufwiesen. Die AutorInnen vermuteten bei ciHHV-6-Positivität eine Art der Immuntoleranz gegenüber HHV-6 und führten diese auf die permanente Exposition betroffener Individuen mit dem viralen Antigen, insbesondere bereits während der frühkindlichen Prägungsphase des Immunsystems, zurück.
Auch Ward *et al*. [39] berichteten bei ciHHV-6-positiven Kindern über typische, mit aktiven HHV-6-Infektionen im Zusammenhang stehende Symptome und Krankheitsbilder. Bei den meisten konnten dabei zum Zeitpunkt ihrer Erkrankung auch Antikörper gegen HHV-6 im Blut nachgewiesen werden.
Eine weitere Studie [28] untersuchte Neugeborene auf eine konnatale HHV-6-Positivität und bestätigte ebenfalls das Vorhandensein von Antikörpern gegen HHV-6 bei allen (einschließlich der ciHHV-6-positiven) teilnehmenden Kindern. Da auch bei den

Säuglingen, die maternales ciHHV-6 aufwiesen, Antikörper gegen HHV-6 gefunden wurden (Nestschutz), zeigte dies, dass gleichfalls deren ciHHV-6-positive Mütter eine humorale Immunantwort gegen das Virus produzieren konnten.
Alle untersuchten Säuglinge wiesen im Verlauf ihrer Entwicklung den zu erwartenden Abfall der Antikörper im Blut auf, gefolgt von einer erneuten Zunahme derselben nach einigen Monaten – wahrscheinlich als Reaktion auf eine zusätzliche Infektion mit einem HHV-6-Wildtyp. Dies verdeutlichte ihre Fähigkeit, trotz ciHHV-6-Positivität eine eigene Immunantwort gegen HHV-6 zu entwicklen. Trotzdem wiesen ciHHV-6-positive Neugeborene – wenn auch nicht signifikant – verhältnismäßig geringere Antikörperspiegel auf als ciHHV-6-negative Kinder.

Zusammenfassend scheint eine immunologische Antwort im Sinne einer aktiven Antikörperproduktion gegen das Wildtyp-Virus auch bei ciHHV-6-positiven Individuen möglich zu sein. Ein großer Nachteil der serologisch/immunologischen Untersuchungen im Bezug auf HHV-6 ist jedoch, dass in den publizierten Arbeiten nicht unterschieden wird, gegen welche Variante des Virus (A oder B) die Antikörper gerichtet sind und dies in den, in der Routine verwendeten, Labor-Assays auch nicht möglich ist. Auch gehen die zitierten Arbeiten in der Mehrzahl der Fälle nicht darauf ein, ob bei den seropositiven Personen/PatientInnen HHV-6A oder HHV-6B integriert ist. Damit kann nicht mit Sicherheit beantwortet werden, ob nachgewiesene Antikörper gegen den jeweils chromosomal integrierten- oder den nicht-integrierten Virustyp (nach ev. Wildvirusinfektion) gerichtet sind.
Unklar bleibt außerdem, ob eine Immunantwort ciHHV-6-positiver Individuen ähnlich potent wie bei ciHHV-6-negativen Personen/PatientInnen ausfällt. Untersuchungen zur zellulären Immunität gegenüber HHV-6 bei ciHHV-6 sind nicht publiziert.

Bei insgesamt 11 ciHHV-6-positiven PatientInnen wurden von zusätzlichen Infektionen mit anderen humanpathogenen Herpesviren berichtet (s. Tabelle 16). In 8 von 11 Fällen handelte es sich dabei um CMV-Infektionen unter Immunsuppression. Aufgrund zu geringer Fallzahlen war es jedoch nicht möglich einen potenziellen Zusammenhang zwischen ciHHV-6 und der Entstehung bzw. dem Verlauf zusätzlicher Herpesvirusinfektionen zu erkennen.

Abschließend sollte dem zugrundeliegenden Mechanismus einer Integration von HHV-6 in menschliche Keimbahnzellen nachgegangen werden.
Dass sich das Virus in die menschliche Keimbahn „integrieren“ kann, um folglich vererbt werden zu können, wurde bereits gezeigt [1,2,5,22]. Warum sich HHV-6 als einziges bisher bekanntes humanpathogenes Virus gerade in Keimbahnzellen integriert, wurde bislang noch nicht diskutiert.

Wie bereits erwähnt infiziert HHV-6 seine Zielzellen über Interaktion mit dem CD-46-Rezeptor auf deren Oberfläche (s. Kapitel 2.4). Zusätzlich besitzt HHV-6 ein dem rep-Gen des AAV ähnliches Gen (U94), durch welches das Virus vermutlich die Fähigkeit erhält, sein Genom speziell in die Telomerregionen von menschlichen Chromosomen zu integrieren (s. Kapitel 3.1) [1,5,22].
Untersuchungen haben gezeigt, dass sich CD-46 auch in hoher Dichte auf Spermatozoen wiederfindet [74]. Dadurch könnten männliche Samenzellen besonders empfänglich für HHV-6 z.B. im Rahmen von Virämien sein und das Virus könnte infolge einer Infektion einen chromosomal integrierten Latenzzustand in Spermatozyten ausbilden. Eine Befruchtung durch davon betroffene („ciHHV-6“-positive) Spermien würde somit die spätere Präsenz des viralen Genoms in sämtlichen kernhaltigen Zellen des entstehenden Organismus und die Möglichkeit der Weitervererbung erklären.

Die Fähigkeit der humanpathogenen Herpesviridae zur lebenslangen Persistenz und ihre Fähigkeit zur Reaktivierung stellen eine klinische Herausforderung dar. Insbesondere die einzigartige Eigenschaft von HHV-6, sein Genom auch chromosomal in menschliche Keimbahnzellen zu integrieren und dadurch vererbt zu werden.
Viele Fragen stellen sich nach wie vor im Hinblick auf die biologischen, epidemiologischen und pathologischen Eigenschaften von ciHHV-6. Aufgrund zu kleiner PatientInnenzahlen und der Heterogenität der mit ciHHV-6-assoziierten Krankheitsbilder konnten diese im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht beantwortet werden.
Es konnte aber gezeigt werden, dass ciHHV-6-positive Individuen durchaus empfänglich für HHV-6-Wildtypinfektionen waren und mit einer aktiven Antikörperproduktion gegen das Virus reagieren konnten. Des Weiteren wurde ein erster Versuch unternommen, die Empfänglichkeit für die Integration des Virus in die menschliche Keimbahn zu erklären.

In Zukunft werden umfangreichere Studien mit deutlich höheren PatientInnenzahlen notwendig sein, um allgemein gültige Aussagen über eine tatsächliche klinische Relevanz von ciHHV-6 treffen zu können. Es muss versucht werden, unabhängig von einem Virus-DNA-Nachweis (mittels PCR) auch einen direkten (z.B. elektronenmikroskopischen) Virusnachweis reifer Virionen bei ciHHV-6-positiven Individuen durchzuführen, nachgewiesene Viruspartikel hinsichtlich ihres Ursprung (ciHHV6 oder Wildvirustyp, z.B. mittels DNA-Sequenzierung) zu unterscheiden und die immunologische Situation bei ciHHV-6-positiven Individuen differenzierter (z.B. auf der Ebene spezifischer Antigene) zu analysieren.

7 Literaturverzeichnis

(1) Pellett PE, Ablashi DV, Ambros PF, Agut H, Caserta MT, Descamps V, et al. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers. Rev Med Virol 2011 Nov 4.

(2) Clark DA, Ward KN. Importance of chromosomally integrated HHV-6A and -6B in the diagnosis of active HHV-6 infection. Herpes 2008 Nov;15(2):28-32.

(3) De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on Human Herpesvirus 6 Biology, Clinical Features, and Therapy. Clin Microbiol Rev 2005 Jan;18(1):217-245.

(4) Arbuckle JH, Medveczky PG. The molecular biology of human herpesvirus-6 latency and telomere integration. Microb Infect 2011 8;13(8–9):731-741.

(5) Arbuckle JH, Medveczky MM, Luka J, Hadley SH, Luegmayr A, Ablashi D, et al. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro. Proceedings of the National Academy of Sciences 2010 March 23;107(12):5563-5568.

(6) Troy SB, Blackburn BG, Yeom K, Caulfield AKF, Bhangoo MS, Montoya JG. Severe Encephalomyelitis in an Immunocompetent Adult with Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6 and Clinical Response to Treatment with Foscarnet plus Ganciclovir. Clinical Infectious Diseases 2008 December 15;47(12):e93-e96.

(7) De Gruyter. Plasmide. In: De Gruyter, editor. Pschyrembel Online; 2012. URL:http://han.medunigraz.at/han/Pschrembel/www.wdg.pschyrembel.de/Xaver/start.xav?col=Pschyrembel#__pschyrembel_hunnius__%2F%2F*[%40attr_id%3D%27hunnius_artikel5069639%27];[04.06.2012].

(8) White DW, Suzanne Beard R, Barton ES. Immune modulation during latent herpesvirus infection. Immunol Rev 2012;245(1):189-208.

(9) Herpes Simplex. In: Pickering LK, editor. Red Book Online: American Academy of Pediatrics; 2012. p. 398-408. URL: http://han.medunigraz.at/han/redbookonline/aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC196.body?sid=07299016-20fb-4eb8-ac0b-ea8552fa9912;[01.03.2012].

(10) Sitzmann FC. Varizellen/Zoster. In: Sitzmann FC, editor. Duale Reihe: Pädiatrie. 3rd ed. Deutschland: Georg Thieme Verlag; 2006. p. 611-614.

(11) Varicella-Zoster Infections. In: Pickering LK, editor. Red Book Online: American Academy of Pediatrics; 2012. p. 774-789. URL: http://han.medunigraz.at/han/redbookonline/aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC289.body?sid=ea04547a-2526-4e57-9d0e-c39134a8b7e4;[01.03.2012].

(12) Sauerbrei A, Wutzler P. Neonatal varicella. J Perinatol 2001 Dec;21(8):545-549.

(13) Cytomegalovirus Infection. In: Pickering LK, editor. Red Book Online: American Academy of Pediatrics; 2012. p. 300-305. URL: http://han.medunigraz.at/han/redbookonline/aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC173.body?sid=6ccfc7d9-edd3-47fe-9ecd-b676d1ca7e7c;[01.03.2012].

(14) Paris C, Kopp K, King A, Santolaya ME, Zepeda AJ, Palma J. Cytomegalovirus infection in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation in Chile. Pediatr Blood Cancer 2009 Sep;53(3):453-458.
(15) Epstein-Barr Virus Infections. In: Pickering LK, editor. Red Book Online: American Academy of Pediatrics; 2012. p. 318-321. URL: http://han.medunigraz.at/han/redbookonline/aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC178.body?sid=a89c1e89-e9c2-4e5f-8589-e54d2f839a07;[01.03.2012].
(16) Human Herpesvirus 8. In: Pickering LK, editor. Red Book Online: American Academy of Pediatrics; 2012. p. 416-418. URL: http://han.medunigraz.at/han/redbookonline/aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC201.body?sid=d9ca8e0f-0ee2-4b43-a919-7b797bdc6a53;[01.03.2012].
(17) Mesri EA, Cesarman E, Boshoff C. Kaposi's sarcoma and its associated herpesvirus. Nat Rev Cancer 2010 Oct;10(10):707-719.
(18) Ward KN. The natural history and laboratory diagnosis of human herpesviruses-6 and -7 infections in the immunocompetent. J Clin Virol 2005 Mar;32(3):183-193.
(19) Human Herpesvirus 6 (Including Roseola) and 7. In: Pickering LK, editor. Red Book Online: American Academy of Pediatrics; 2012. p. 414-416. URL: http://han.medunigraz.at/han/redbookonline/aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC200.body?sid=673b94b9-dc8d-449c-8e5a-2e00fc5596d2;[01.03.2012].
(20) Lee SO, Brown RA, Razonable RR. Clinical significance of pretransplant chromosomally integrated human herpesvirus-6 in liver transplant recipients. Transplantation 2011 Jul 27;92(2):224-229.
(21) Lusso P, Gallo RC. Human herpesvirus 6 in AIDS. Immunol Today 1995 Feb;16(2):67-71.
(22) Morissette G, Flamand L. Herpesviruses and chromosomal integration. J Virol 2010 Dec;84(23):12100-12109.
(23) Luppi M, Marasca R, Barozzi P, Ferrari S, Ceccherini-Nelli L, Batoni G, et al. Three cases of human herpesvirus-6 latent infection: integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA. J Med Virol 1993 May;40(1):44-52.
(24) Daibata M, Taguchi T, Nemoto Y, Taguchi H, Miyoshi I. Inheritance of Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6 DNA. Blood 1999 September 01;94(5):1545-1549.
(25) Clark DA, Nacheva EP, Leong HN, Brazma D, Li YT, Tsao EHF, et al. Transmission of Integrated Human Herpesvirus 6 through Stem Cell Transplantation: Implications for Laboratory Diagnosis. Journal of Infectious Diseases 2006 April 01;193(7):912-916.
(26) Prusty BK, zur Hausen H, Schmidt R, Kimmel R, de Villiers EM. Transcription of HERV-E and HERV-E-related sequences in malignant and non-malignant human haematopoietic cells. Virology 2008 Dec 5;382(1):37-45.
(27) Duelli D, Lazebnik Y. Cell-to-cell fusion as a link between viruses and cancer. Nat Rev Cancer 2007 Dec;7(12):968-976.
(28) Hall CB, Caserta MT, Schnabel K, Shelley LM, Marino AS, Carnahan JA, et al. Chromosomal Integration of Human Herpesvirus 6 Is the Major Mode of Congenital Human Herpesvirus 6 Infection. Pediatrics September 2008 September 2008;122(3):513-520.

(29) Hudnall SD, Chen T, Allison P, Tyring SK, Heath A. Herpesvirus prevalence and viral load in healthy blood donors by quantitative real-time polymerase chain reaction. Transfusion 2008;48(6):1180-1187.
(30) Hall CB, Caserta MT, Schnabel KC, Boettrich C, McDermott MP, Lofthus GK, et al. Congenital infections with human herpesvirus 6 (HHV6) and human herpesvirus 7 (HHV7). J Pediatr 2004 10;145(4):472-477.
(31) Nam Leong H, Tuke PW, Tedder RS, Khanom AB, Eglin RP, Atkinson CE, et al. The prevalence of chromosomally integrated human herpesvirus 6 genomes in the blood of UK blood donors. J Med Virol 2007;79(1):45-51.
(32) Clark DA, Ait-Khaled M, Wheeler AC, Kidd IM, McLaughlin JE, Johnson MA, et al. Quantification of human herpesvirus 6 in immunocompetent persons and post-mortem tissues from AIDS patients by PCR. J Gen Virol 1996 Sep;77 (Pt 9)(Pt 9):2271-2275.
(33) Lee SO, Brown RA, Eid AJ, Razonable RR. Chromosomally integrated human herpesvirus-6 in kidney transplant recipients. Nephrol Dial Transplant 2011 Jul;26(7):2391-2393.
(34) Kidd IM, Clark DA, Sabin CA, Andrew D, Hassan-Walker AF, Sweny P, et al. Prospective study of human betaherpesviruses after renal transplantation: association of human herpesvirus 7 and cytomegalovirus co-infection with cytomegalovirus disease and increased rejection. Transplantation 2000 Jun 15;69(11):2400-2404.
(35) Griffiths PD, Ait-Khaled M, Bearcroft CP, Clark DA, Quaglia A, Davies SE, et al. Human herpesviruses 6 and 7 as potential pathogens after liver transplant: prospective comparison with the effect of cytomegalovirus. J Med Virol 1999 Dec;59(4):496-501.
(36) Potenza L, Barozzi P, Masetti M, Pecorari M, Bresciani P, Gautheret-Dejean A, et al. Prevalence of Human Herpesvirus-6 Chromosomal Integration (CIHHV-6) in Italian Solid Organ and Allogeneic Stem Cell Transplant Patients. American Journal of Transplantation 2009;9(7):1690-1697.
(37) Hubacek P, Muzikova K, Hrdlickova A, Cinek O, Hyncicova K, Hrstkova H, et al. Prevalence of HHV-6 integrated chromosomally among children treated for acute lymphoblastic or myeloid leukemia in the Czech Republic. J Med Virol 2009;81(2):258-263.
(38) Ward KN, Leong HN, Thiruchelvam AD, Atkinson CE, Clark DA. Human Herpesvirus 6 DNA Levels in Cerebrospinal Fluid Due to Primary Infection Differ from Those Due to Chromosomal Viral Integration and Have Implications for Diagnosis of Encephalitis. Journal of Clinical Microbiology April 2007 April 2007;45(4):1298-1304.
(39) Ward KN, Thiruchelvam AD, Couto-Parada X. Unexpected occasional persistence of high levels of HHV-6 DNA in sera: detection of variants A and B. J Med Virol 2005 Aug;76(4):563-570.
(40) Tanaka-Taya K, Sashihara J, Kurahashi H, Amo K, Miyagawa H, Kondo K, et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) is transmitted from parent to child in an integrated form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA. J Med Virol 2004;73(3):465-473.
(41) Torelli G, Barozzi P, Marasca R, Cocconcelli P, Merelli E, Ceccherini-Nelli L, et al. Targeted integration of human herpesvirus 6 in the p arm of chromosome 17 of human peripheral blood mononuclear cells in vivo. J Med Virol 1995 Jul;46(3):178-188.
(42) Caserta MT, Hall CB, Schnabel K, Lofthus G, Marino A, Shelley L, et al. Diagnostic assays for active infection with human herpesvirus 6 (HHV-6). J Clin Virol 2010 May;48(1):55-57.

(43) Ward KN, Leong HN, Nacheva EP, Howard J, Atkinson CE, Davies NWS, et al. Human Herpesvirus 6 Chromosomal Integration in Immunocompetent Patients Results in High Levels of Viral DNA in Blood, Sera, and Hair Follicles. Journal of Clinical Microbiology April 2006 April 2006;44(4):1571-1574.
(44) Strenger V, Pfurtscheller K, Wendelin G, Aberle SW, Nacheva EP, Zöhrer B, et al. Differentiating Inherited Human Herpesvirus Type 6 Genome from Primary Human Herpesvirus Type 6 Infection by Means of Dried Blood Spot from the Newborn Screening Card. J Pediatr 2011 11;159(5):859-861.
(45) Nacheva EP, Ward KN, Brazma D, Virgili A, Howard J, Leong HN, et al. Human herpesvirus 6 integrates within telomeric regions as evidenced by five different chromosomal Sites. J Med Virol 2008;80(11):1952-1958.
(46) Strenger V, Aberle SW, Wendelin G, Pfurtscheller K, Nacheva EP, Zobel G, et al. Chromosomal integration of the HHV-6 genome as a possible cause of HHV-6 detection in cardiac tissues. J Clin Pathol 2010 Dec;63(12):1129-1130.
(47) Jeulin H, Guery M, Clement L, Salmon A, Beri M, Bordigoni P, et al. Chromosomally integrated HHV-6: slow decrease of HHV-6 viral load after hematopoietic stem-cell transplantation. Transplantation 2009 Nov 15;88(9):1142-1143.
(48) Hubacek P, Hyncicova K, Muzikova K, Cinek O, Zajac M, Sedlacek P. Disappearance of pre-existing high HHV-6 DNA load in blood after allogeneic SCT. Bone Marrow Transplant 2007 Oct;40(8):805-806.
(49) Daibata M, Taguchi T, Taguchi H, Miyoshi I. Integration of human herpesvirus 6 in a Burkitt's lymphoma cell line. Br J Haematol 1998;102(5):1307-1313.
(50) Strenger V, Urban C, Schwinger W, Nacheva EP, Aberle SW. Transmission of chromosomally integrated HHV-6 by bone marrow transplantation. Pediatr Blood Cancer 2011 Jan;56(1):171.
(51) Aberle SW, Mandl CW, Kunz C, Popow-Kraupp T. Presence of human herpesvirus 6 variants A and B in saliva and peripheral blood mononuclear cells of healthy adults. J Clin Microbiol 1996 Dec;34(12):3223-3225.
(52) Lautenschlager I, Linnavuori K, Hockerstedt K. Human herpesvirus-6 antigenemia after liver transplantation. Transplantation 2000 Jun 27;69(12):2561-2566.
(53) Pellett PE, Sanchez-Martinez D, Dominguez G, Black JB, Anton E, Greenamoyer C, et al. A strongly immunoreactive virion protein of human herpesvirus 6 variant B strain Z29: identification and characterization of the gene and mapping of a variant-specific monoclonal antibody reactive epitope. Virology 1993 Aug;195(2):521-531.
(54) Potenza L, Luppi M, Barozzi P, Rossi G, Cocchi S, Codeluppi M, et al. HHV-6A in syncytial giant-cell hepatitis. N Engl J Med 2008 Aug 7;359(6):593-602.
(55) Hubacek P, Virgili A, Ward KN, Pohlreich D, Keslova P, Goldova B, et al. HHV-6 DNA throughout the tissues of two stem cell transplant patients with chromosomally integrated HHV-6 and fatal CMV pneumonitis. Br J Haematol 2009;145(3):394-398.
(56) Watanabe H, Daibata M, Tohyama M, Batchelor J, Hashimoto K, Iijima M. Chromosomal integration of human herpesvirus 6 DNA in anticonvulsant hypersensitivity syndrome. Br J Dermatol 2008;158(3):640-642.

(57) Lohi O, Arola M, Lautenschlager I, Nacheva EP, Vettenranta K. A high circulating copy number of HHV-6 due to chromosomal integration in a child with acute lymphoblastic leukemia. Pediatric Blood & Cancer 2010;55(6):1236-1238.

(58) Daibata M, Taguchi T, Sawada T, Taguchi H, Miyoshi I. Chromosomal transmission of human herpesvirus 6 DNA in acute lymphoblastic leukaemia. The Lancet 1998 8/15;352(9127):543-544.

(59) de Pagter PJ, Virgili A, Nacheva E, van Baarle D, Schuurman R, Boelens JJ. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: transmission via cord blood-derived unrelated hematopoietic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 2010 Jan;16(1):130-132.

(60) Kamble RT, Clark DA, Leong HN, Heslop HE, Brenner MK, Carrum G. Transmission of integrated human herpesvirus-6 in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 2007 07/16;40(6):563-566.

(61) Ciccocioppo R, Baldanti F, Russo M, Chezzi L, Viola F, Aloi M, et al. Human herpes virus-6 chromosomal integration misled the management of Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis 2011;17(8):E113-E115.

(62) Hubacek P, Maalouf J, Zajickova M, Kouba M, Cinek O, K H, et al. Failure of multiple antivirals to affect high HHV-6 DNAaemia resulting from viral chromosomal integration in case of severe aplastic anaemia. Haematologica 2007 October 01;92(10):e98-e100.

(63) Mori T, Tanaka-Taya K, Satoh H, Aisa Y, Yamazaki R, Kato J, et al. Transmission of chromosomally integrated human herpesvirsus 6 (HHV-6) variant A from a parent to children leading to misdiagnosis of active HHV-6 infection. Transplant Infectious Disease 2009;11(6):503-506.

(64) Hall CB, Caserta MT, Schnabel KC, Shelley LM, Carnahan JA, Marino AS, et al. Transplacental congenital human herpesvirus 6 infection caused by maternal chromosomally integrated virus. Journal of Infectious Diseases 2010 February 15;201(4):505-507.

(65) Kobayashi D, Kogawa K, Imai K, Tanaka T, Hiroi S, Satoh H, et al. Quantitation of human herpesvirus-6 (HHV-6) DNA in a cord blood transplant recipient with chromosomal integration of HHV-6. Transplant Infectious Disease 2011;13(6):650-653.

(66) Araujo A, Pagnier A, Frange P, Wroblewski I, Stasia MJ, Morand P, et al. Lymphohistiocytic activation syndrome and Burkholderia cepacia complex infection in a child revealing chronic granulomatous disease and chromosomal integration of the HHV-6 genome. Arch Pediatr 2011 Apr;18(4):416-419.

(67) Jeulin H, Salmon A, Gautheret-Dejean A, Agut H, Bordigoni P, Fortier B, et al. Contribution of human herpesvirus 6 (HHV-6) viral load in whole blood and serum to investigate integrated HHV-6 transmission after haematopoietic stem cell transplantation. Journal of Clinical Virology 2009 5;45(1):43-46.

(68) Hudnall SD, Chen T, Allison P, Tyring SK, Heath A. Herpesvirus prevalence and viral load in healthy blood donors by quantitative real-time polymerase chain reaction. Transfusion 2008 Jun;48(6):1180-1187.

(69) Harma M, Hockerstedt K, Lyytikainen O, Lautenschlager I. HHV-6 and HHV-7 antigenemia related to CMV infection after liver transplantation. J Med Virol 2006 Jun;78(6):800-805.

(70) Lehto JT, Halme M, Tukiainen P, Harjula A, Sipponen J, Lautenschlager I. Human herpesvirus-6 and -7 after lung and heart-lung transplantation. J Heart Lung Transplant 2007 Jan;26(1):41-47.

(71) Savolainen H, Lautenschlager I, Piiparinen H, Saarinen-Pihkala U, Hovi L, Vettenranta K. Human herpesvirus-6 and -7 in pediatric stem cell transplantation. Pediatr Blood Cancer 2005 Nov;45(6):820-825.

(72) Ensoli B, Lusso P, Schachter F, Josephs SF, Rappaport J, Negro F, et al. Human herpes virus-6 increases HIV-1 expression in co-infected T cells via nuclear factors binding to the HIV-1 enhancer. EMBO J 1989 Oct;8(10):3019-3027.

(73) Bonura F, Perna AM, Vitale F, Villafrate MR, Viviano E, Guttadauro R, et al. Inhibition of human immunodeficiency virus 1 (HIV-1) by variant B of human herpesvirus 6 (HHV-6). New Microbiol 1999 Jul;22(3):161-171.

(74) Liszewski MK, Kemper C, Price JD, Atkinson JP. Emerging roles and new functions of CD46. Springer Semin Immunopathol 2005 Nov;27(3):345-358.