

Transcriptome analysis of monocyte-HIV interactions

Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor in Bioscience Engineering

Rafael Van den Bergh

November 2009

Promoters:

Prof. Dr. Patrick De Baetselier (Vrije Universiteit Brussel)

Prof. Dr. Guido Vanham (Institute of Tropical Medicine)

Supervisor:

Dr. Geert Raes (Vrije Universiteit Brussel)

Summary

Macrophages, and monocytes as their less differentiated counterparts, play a fundamental yet underexplored role during HIV infection. While monocytes and macrophages can be infected by HIV, they do not enter apoptosis upon infection. Hence, they can act as a reservoir for the virus, from where it can continue to replicate even during highly active antiretroviral therapy (HAART). Furthermore, they develop a broad variety of dysfunctions, which contribute to quasi every step of HIV pathogenesis. In this work, we have focused on transcriptome profiling as a means for the confirmation of existing and generation of novel hypotheses concerning the molecular processes underpinning monocyte-HIV interactions.

In first instance, we have developed a custom transcriptome profiling tool focused on gene expression analysis of human myeloid cells. This screening tool is capable of rapidly, sensitively and cost-effectively assessing the expression pattern of subset of genes with known and documented monocyte/macrophage function in a large collection of samples. This assay was then applied to the analysis of monocytes isolated from two populations of HIV patients: a transversal group of therapy-naïve patients in different stages of the disease, and a longitudinal group of patients followed up during their first 9 months of HAART. A collection of genes was compiled with documented functions

in monocyte/macrophage-associated processes known to be dysfunctional during HIV infection. Such a collection may constitute the basis for further research into specific areas of monocyte/macrophage dysfunction. Additionally, we were able to establish which genes were restored by therapy to control levels and which genes were persistently dysregulated, suggestive of an irreversible dysfunction at the level of the monocyte/macrophage, even under HAART.

One of the genes identified in our transcriptome analysis, the novel adipocytokine visfatin/NAMPT, showed a set of interesting properties, in that it was capable of selectively inhibiting infections by CCR5-using strains of HIV, but not CXCR4-using strains. These results, combined with the association of visfatin expression with dominance of CXCR4-using virus in the plasma, allowed us to formulate the hypothesis that visfatin could be involved in the so-called coreceptor switch of HIV, which occurs in ~50% of all subtype B infected patients. The coreceptor switch, which entails the change in preferential coreceptor usage from CCR5 to CXCR4, is frequently associated with a rapid progression to AIDS. Visfatin shows promise as a molecular marker for this switch, and potentially plays a driving role in its establishment.

Samenvatting

Macrofagen, en monocytten als hun minder gedifferentieerde tegenhangers, spelen een belangrijke maar weinig bestudeerde rol in HIV infectie. Hoewel HIV deze cellen rechtstreeks infecteert, worden ze niet tot apoptose gedreven. Ze kunnen zodoende een reservoir vormen voor het virus, vanwaar het zich zelfs tijdens hoog actieve anti-retrovirale therapie (HAART) kan blijven verspreiden. Daarenboven ontwikkelen ze een reeks dysfuncties die een bijdrage leveren aan quasi elk aspect van virale pathogenese. In dit werk legden we ons toe op zgn. transcriptoomanalyse als een middel om nieuwe en bestaande hypothesen betreffende de moleculaire achtergrond van monocyten-HIV interacties te ontwikkelen en te toetsen.

In eerste instantie ontwikkelden we een onderzoekswerktuig voor transcriptoomanalyse van humane myeloïde cellen. Dit werktuig is in staat om snel, gevoelig en op rendabele wijze het expressiepatroon van genen met een gedocumenteerde rol in monocyten/macrofage biologie te registreren. We pasten dit systeem toe op de analyse van twee populaties van HIV patiënten: een transversale groep in verschillende stadia van infectie, en een longitudinale groep van patiënten die opgevolgd werden gedurende de eerste 9 maanden therapie. Een collectie aan genen met gekende functies in verschillende dysfunctionele domeinen in monocytten tijdens HIV infectie werd opgesteld.

Deze collectie kan de basis vormen voor verder onderzoek betreffende specifieke aspecten van monocyt/macrofaag dysfunctie. Daarenboven konden we documenteren voor welke genen de expressie hersteld werd tijdens HAART en welke genen een blijvend aberrante expressie vertoonden. Deze tweede categorie suggereert een irreversibele dysfunctie in monocyten/macrofagen, zelfs onder HAART.

Een van de genen die geïdentificeerd werd in onze transcriptoomanalyse is de nieuwe adipocytokine visfatine/NAMPT. Deze factor vertoonde een aantal interessante eigenschappen: zo was visfatine in staat om CCR5- maar niet CXCR4-gebruikende stammen van HIV te inhiberen. Deze observatie, gecombineerd met de correlatie tussen visfatine expressie en dominantie van CXCR4-gebruikende virussen in het plasma, liet ons toe de hypothese te formuleren dat visfatine betrokken is bij de zgn. HIV coreceptor switch, die optreedt bij ca. 50% van alle HIV subtype B-geïnfecteerde patiënten. De coreceptor switch, die de verandering van preferentieel CCR5-gebruik naar CXCR4-gebruik inhoudt, is gewoonlijk geassocieerd met een versnelde progressie naar het AIDS-stadium van de infectie, en is zodoende een belangrijke determinant van HIV pathogenese. Visfatine is een veelbelovende merker voor deze switch, en speelt mogelijk een belangrijke sturende rol in de ontwikkeling ervan.