

단핵구세포주에서 사람거대세포 바이러스에 의한 세포간 부착분자-1의 발현

충북대학교 자연과학대학 생명과학부¹, 바이오연구소²

김미숙¹ · 이현아² · 이찬희^{1,2*}

Human Cytomegalovirus Induces Intercellular Adhesion Molecule-1 Expression in a Monocytic Cell Line, THP-1

Mi Suk Kim¹, Hyun Ah Yi² and Chan Hee Lee^{1,2*}

¹School of Life Sciences, ²Institute of Biotechnology, Chungbuk National University,
410 Seongbong-Ro, Heungduk-Gu, Cheongju, Chungbuk 361-763, Republic of Korea

Received : March 4, 2008

Accepted : March 19, 2008

It has been reported that inflammatory diseases such as pneumonitis, retinitis, and hepatitis are associated with human cytomegalovirus (HCMV). Intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 is an important inflammatory mediator, helping monocytes adhere to endothelial cells when tissues are infected by pathogen including the HCMV. However, little is known about the mechanism of ICAM-1 stimulation by the HCMV infection in monocytes. In this study, a monocytic cell line THP-1 was used to understand ICAM-1 expression by the HCMV infection. Flow cytometric analyses demonstrated that ICAM-1 was stimulated by the HCMV in THP-1 cells with maximum at 24 hours post infection. The stimulated ICAM-1 expression was dependent on the amount of input virus. In order to understand the mechanism of ICAM-1 stimulation during the HCMV infection, cells were treated with specific inhibitors of key elements in inflammation: NF- κ B inhibitor PDTC, cyclooxygenase 2 inhibitor NS398, and MEK inhibitor PD98059. Flow cytometric analyses revealed that ICAM-1 expression was decreased when treated with PDTC, but not with NS398 or PD98059. Thus, it is suggested that HCMV-induced ICAM-1 expression in THP-1 cells is associates with NF- κ B.

Key Words: HCMV, Inflammation, ICAM-1, NF- κ B

서 론

사람거대세포바이러스 (human cytomegalovirus; HCMV)는 사람에게 감염률이 높은 바이러스로 건강한 사람에게는 아무 문제를 일으키지 않으나 장기이식 환자나 AIDS 환자와 같이 면역력이 약화된 사람에게는 치명적일 수

있다. 이들 환자들에서 HCMV는 대개 잠복감염으로부터 재활성화가 이루어지며, 그 결과 폐렴, 각막염, 간염, 태반염 등 다양한 기관에서 염증반응을 유발하여 심각한 상태를 초래할 수 있다 (6,18). HCMV에 의한 염증반응에서 가장 중요한 사건의 하나는 말초혈액 속의 혈구세포가 감염된 조직으로 이동하여 식세포로 분화하거나 또는 다양한 cytokine을 분비하는 것이다 (26). 이를 위해서는 혈구세포가 혈관 내피세포 (vascular endothelial cells)와 결합하고 혈관 내피세포 사이를 통과하여 혈액으로 빠져나오는 과정이 필요하며, 이 때 혈구세포와 내피세포간의 결합에는 여러 종류의 부착분자 (adhesion molecule)가 중요한 역할을 한다 (19). 이 중 세포간 부착분자-1

*교신저자: 이찬희. 361-763, 충북 청주시 흥덕구 성봉로 410,
충북대학교 자연과학대학 생명과학부
Phone: +82-43-261-2304, Fax: +82-43-273-2451,
e-mail: chlee@cbu.ac.kr

**이 논문은 2006학년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

(intercellular adhesion molecule-1; ICAM-1)은 세포표면에 발현하는 당단백질로, 인체 내피세포에서 HCMV에 의해 발현이 증가하여 백혈구나 혈소판과 같은 혈구세포와의 부착력이 강해진다고 알려져 있다 (13,21,23). HCMV에 의한 ICAM-1 발현 증가는 인체섬유아세포 (8,10)나 syncytiotrophoblast (4)에서도 보고된 바 있으나, 정작 직접적으로 혈관 내피세포 사이를 뚫고 조직 내로 이동하여 염증을 매개하는 혈구세포에서의 연구는 미비한 편이었다.

앞서 언급한 바와 같이 HCMV의 임상적 증세는 대개 잠복감염으로부터의 재발감염이기 때문에 잠복감염 부위에 대한 많은 연구가 있었는데, 혈구세포 내의 단핵세포 계통의 세포가 HCMV의 잠복감염 부위로 제시되었다. 특히 골수의 CD34+ 과립세포 및 단핵세포의 전구세포 (14, 16,17)와 말초혈액의 CD14+ 단핵세포 (1,26)가 HCMV의 중요한 잠복감염 부위로 제시되었다. 잠복감염된 세포에서 HCMV의 재활성화는 세포분화를 필요로 하며, 특히 단핵세포에서 대식세포 (macrophage)로의 분화가 중요한 역할을 한다 (14,17,27). 이를 위해 단핵세포는 혈액으로부터 빠져나와 말단 조직으로 이동해야 하는데, 이 과정에서 HCMV에 의해 활성화된 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)와 NF- κ B가 HCMV가 감염된 인체 단핵세포의 부착성 (adhesion)과 혈액으로부터의 누출성 (extravasation) 증가에 관여한다고 알려져 있다 (3,24,25). 이에 본 연구에서는 인체 단핵세포의 실험 모델로서 THP-1 같은 단핵세포주에서 HCMV에 의해 ICAM-1 발현이 촉진되는지 살펴보고, 이 과정에 어떠한 신호전이경로가 관여하는지 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 세포와 바이러스

단핵구세포의 대표적 실험 모델인 THP-1 세포주 (ATCC TIB-202)를 이용하였고, RPMI 1640 (Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA) 배지에 10%의 우태아혈청 (fetal bovine serum: FBS, Gibco BRL)와 100 μ g/ml 스트렙토마이신, 100 U/ml 페니실린을 첨가한 배지로 배양하였다. 적절한 산성도를 유지시켜 주기 위해 37°C, 5% CO₂ 대기하의 배양기에서 배양하였다.

본 실험에 사용한 바이러스는 HCMV TB40/E strain이며, 이 바이러스는 인체 내피세포에서도 증식이 되도록

적응시킨 것으로 독일 Tubingen 대학의 Dr. Sinzger로부터 제공받았다. 감염성 HCMV stock을 얻기 위해 세포 배양용 플라스크에 배양한 인체섬유아세포인 human foreskin fibroblast (HFF, 본 실험실에서 남아 포피조직으로부터 만든 것임) 세포 단층에 MOI (multiplicity of infection)가 0.01~0.05 plaque forming unit (PFU)/cell이 되게 접종시킨 후 15분 간격으로 가볍게 흔들어 주어 37°C에서 1시간 동안 흡착시켰다. 바이러스 감염 5~7일 후 배지를 갈아주고 바이러스를 감염 10~14일 후에 세포병변효과가 충분히 나타났을 때 수확하였다. 세포를 모아 원심분리하여 상층액은 50 ml 원심분리관에 넣고 세포침전물은 전체부피의 1/10로 재부유하여 액체 질소에서 얼렸다 녹였다를 2회 반복하여 깨고, 다시 원심분리하여 세포의 침전물을 제거한 상층액을 얻었다. 세포용해물이 제거된 순수한 바이러스를 얻기 위해 4°C, 15,000 rpm에서 1시간 동안 원심분리한 것을 FBS가 첨가되지 않은 배지로 재부유하여 잘 섞은 후 -70°C에 1 ml씩 보관하여 사용하였다.

2. 바이러스 감염과 각종 저해제 처리

바이러스를 감염시킬 때는 특별한 경우를 제외하고는 MOI를 1로 하였다. 바이러스를 감염시키기 24시간 전에 모든 세포 상태를 고르게 유지하기 위해 2%의 FBS를 넣은 RPMI 1640을 처리하였다. 하루 동안 유지배지에서 배양한 THP-1 세포의 수를 셀 뒤 원심분리하여 배지를 제거하고 바이러스 용액을 넣은 뒤 잘 섞어서 1시간 동안 37°C, 5% CO₂ 대기하의 배양기에서 감염시켰다. 바이러스를 감염시킨 후에는 바이러스액을 제거한 후 2%의 FBS를 넣은 RPMI 1640 배지로 유지시켰다.

본 연구에 사용한 각종 저해제는 세포에 독성을 주지 않는 범위의 농도 범위에서 사용하였다. 이를 위해 먼저 THP-1 세포에 각 저해제를 여러 농도로 처리한 뒤 72시간 까지 매 24시간 간격으로 생존세포의 수를 세어 세포 생존에 영향을 미치지 않는 최고농도 (highest nontoxic concentration: HNC)를 결정하였다. 이에 따라 본 실험에서는 HNC 농도 이하의 저해제를 사용하였다. NF- κ B의 저해제로는 PDTC (pyrrolinedithiocarbamate)를, cyclooxygenase-2 (COX-2) 저해제로는 NS398 (N-[2-cyclohexyloxy]-4-nitro-phenyl)methanesulfonamide)을 사용하였으며 MEK 저해제로는 PD98059 (2-[2-amino-3-methoxyphenyl]-4H-1-benzopyran-4-one)를 사용하였다. PDTC와 NS398은 Sigma-

Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서, PD98059는 Calbiochem, Merck KGaA (Darmstadt, Germany)에서 구입하였다. 각각의 저해제는 바이러스를 감염시키기 30분 전에 2%의 FBS를 넣은 RPMI 1640 배지로 희석하여 세포에 처리하였고, 바이러스를 감염시키는 1시간 동안과, 감염 후 분석을 위해 세포를 수확할 때까지 각 저해제의 농도가 유지되도록 하였다.

3. ICAM-1 발현 분석

각각의 저해제 및 바이러스가 처리된 2×10^6 개의 세포를 거두어 2,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 모았다. PBS (인산완충식염수, phosphate buffered saline, pH 7.4)에 3%의 농도로 희석된 포름알데히드로 상온에서 15분간 고정된 후에 2,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 제거하였다. PE-conjugated anti-CD54 (ICAM-1, Santa

Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)를 PBS에 1:100으로 희석한 용액으로 세포를 재부유하여 4℃에서 30분간 반응시켜 염색하였다. 염색된 세포는 PBS로 두 번 세척하고 유세포 분석기 (FACS Calibur, BD Biosciences, San Jose, CA, USA)로 형광값을 분석하였다.

4. Western blotting

THP-1이나 HFF 세포에 바이러스를 감염시킨 후 적절한 시간이 경과한 뒤 세포를 회수한 뒤 원심분리하고 PBS로 세척하였다. 수확한 세포는 NP-40 용해완충액 (50 mM Tris-Cl, pH 8.0, 150 mM NaCl, 1% NP-40)으로 용해하여 단백질을 추출하였다. Bradford 법으로 정량한 단백질을 50 µg을 취해 12% SDS-PAGE에 전기영동한 뒤 PVDF membrane (Milipore, Bedford, MA, USA)에 전기가 동시켰다. 이후에 membrane을 0.1% Tween-20이 포함된

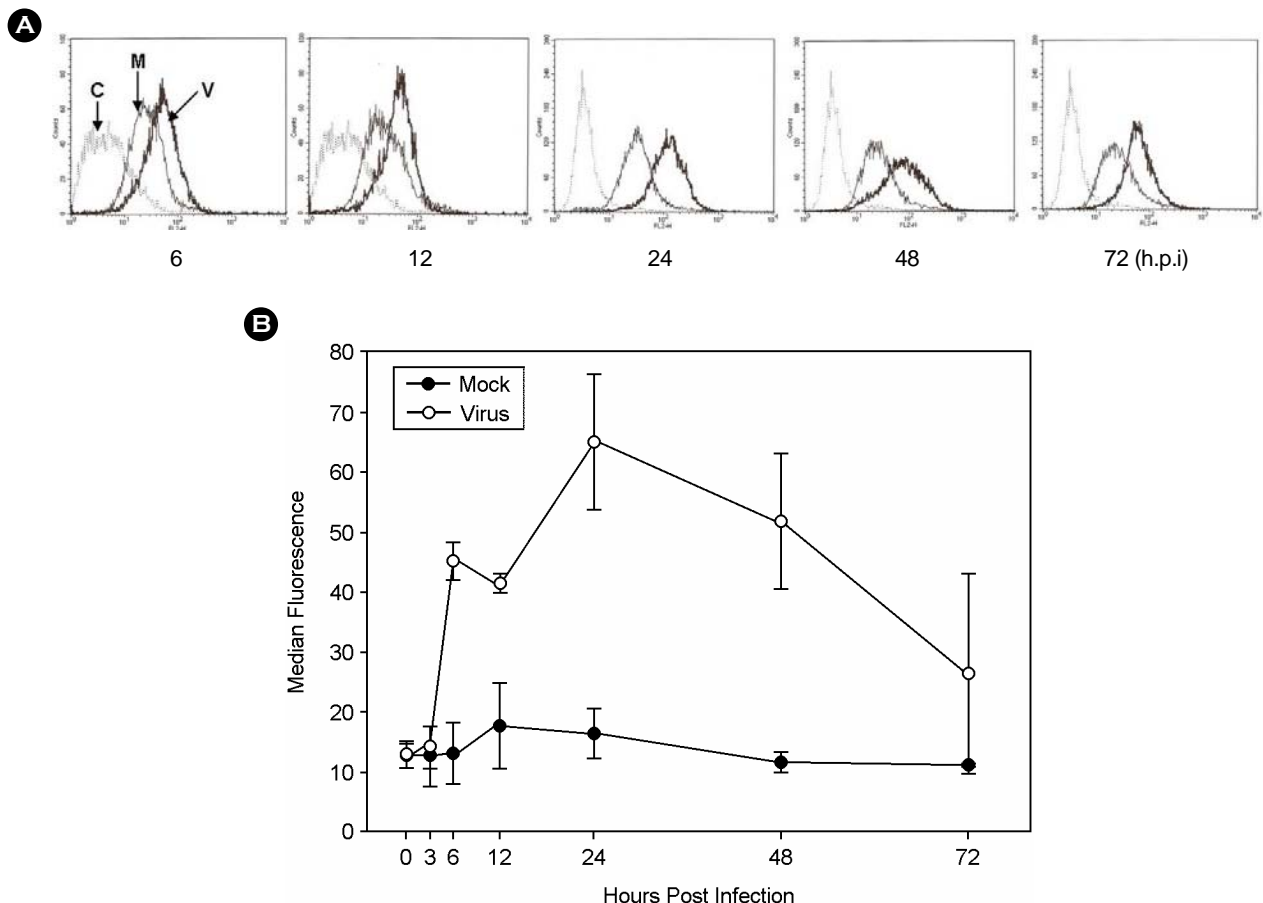


Figure 1. Stimulation of ICAM-1 expression by the HCMV infection on the surface of THP-1 cells. THP-1 cells were infected by HCMV TB40/E at MOI of 1 pfu/cell. Cells were harvested at indicated times and stained with PE-conjugated anti-ICAM-1 antibody. PE fluorescence was determined by a flow cytometry. **(A)** Flow cytometry histogram of a representative experiment. C, background fluorescence; M, mock-infected cells; V, virus-infected cells. **(B)** Time course of ICAM-1 expression. Data are averages of three or more experiments with error bars. Open circles, mock-infected cells; closed circles, HCMV-infected cells.

PBS (PBS-T)로 가볍게 세척한 후 5%의 skim milk가 들어있는 PBS-T로 1시간 동안 상온에서 blocking하였다. Blocking이 끝난 후 1:2,000으로 희석한 1차 항체를 1시간 동안 처리한 후 PBS-T로 10분씩 세 번 세척하였다. Anti-p-ERK1/2와 anti-ERK1/2 항체는 Cell Signaling Biotechnology (Beverly, MA, USA)에서, anti-human COX-2 항체는 Cayman (Ann Arbor, MI, USA)에서, 그리고 anti-actin 항체는 Sigma-Aldrich에서 구입하였다. 1차 항체 처리가 끝난 뒤에는 5% skim milk/PBS-T에 1:5,000으로 희석한 horseradish peroxidase (HRP) conjugated anti-mouse 또는 anti-rabbit IgG (Promega, Madison, WI, USA)를 1시간 동안 처리해 주었다. 항체 처리가 끝난 membrane을 PBS-T로 세 번 세척한 후 Enhanced Chemiluminescence System (Intron, Seoul, Korea)으로 발광반응을 일으켜 X-ray 필름에 노출시켜 상을 얻었다.

결 과

1. THP-1 세포에서 HCMV 감염에 따른 ICAM-1의 발현 유도

단핵구세포주 실험 모델인 THP-1 세포에서 HCMV에 의해 ICAM-1 발현에 변화가 있는지 알아보기 위하여, 2% FBS를 첨가한 RPMI 1640 배지에 하루 동안 유지시켜 상태를 고르게 한 THP-1 세포에 HCMV TB40/E주를 감염시켜 시간 별로 ICAM-1 발현 정도를 확인하였다. 바이러스를 감염시키지 않은 세포에서는 ICAM-1의 발현이 시간에 따라 거의 일정하게 유지되는 반면, HCMV에 의해 감염된 세포에서는 ICAM-1의 발현이 감염 후 6시간부터 증가하여 24시간 쯤 가장 높았으며 이후에는 시간이 지남에 따라 조금씩 줄어드는 양상을 보였다 (Fig. 1).

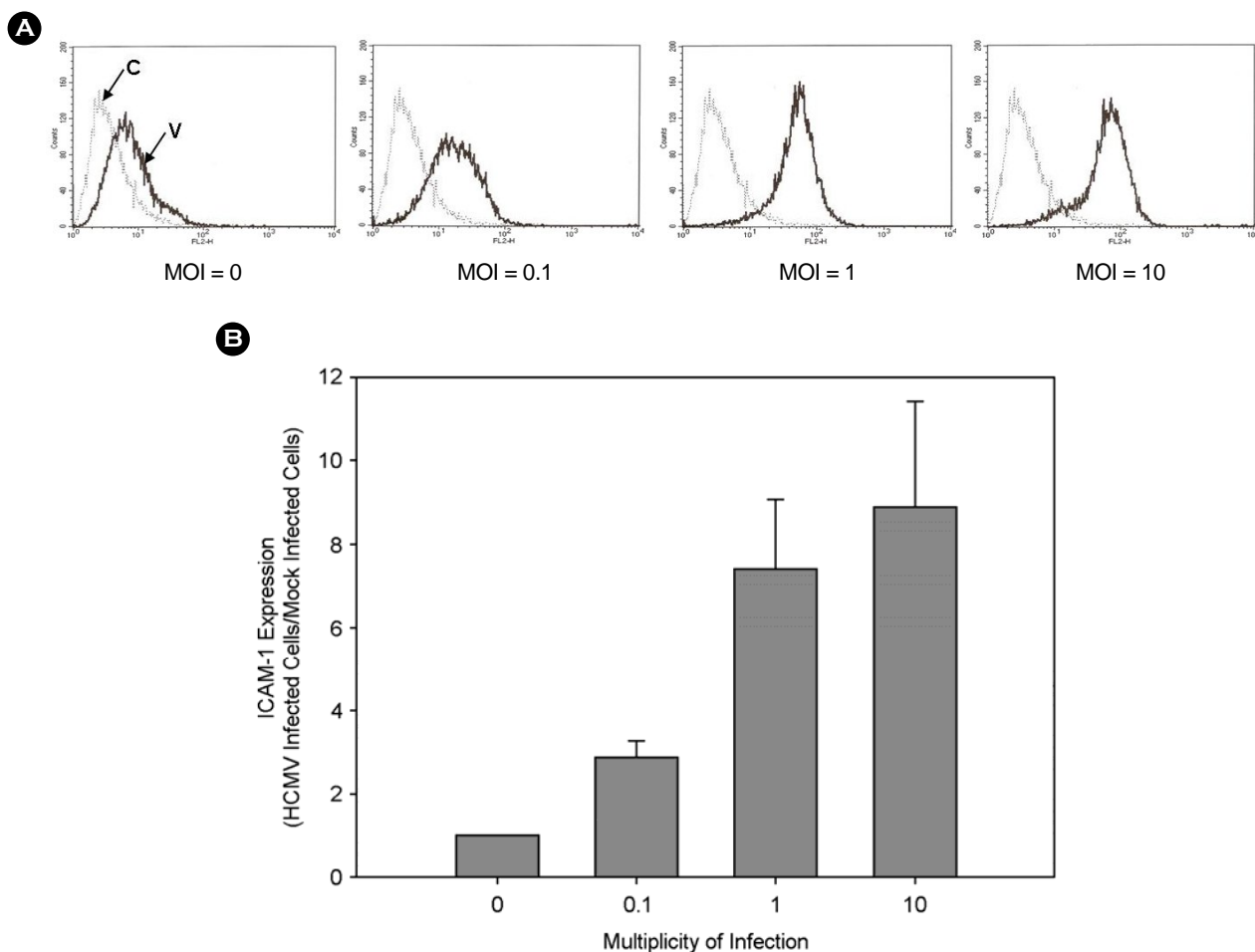


Figure 2. HCMV MOI-dependent stimulation of ICAM-1 expression. THP-1 cells were infected with HCMV TB40/E at different MOIs. Cells were harvested at 24 hours post infection. Cells were stained with PE-conjugated anti-ICAM-1 antibody and analyzed by a flow cytometry. (A) Flow cytometry. C, background fluorescence; V, virus-infected cells. (B) Relative ICAM-1 expression.

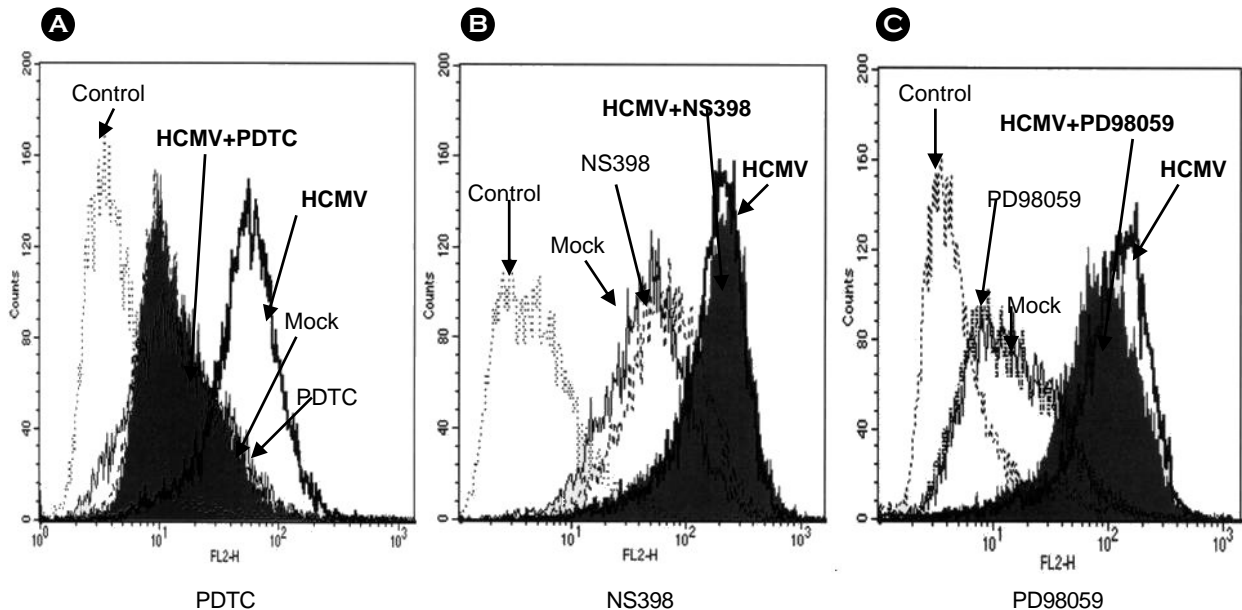


Figure 3. Effect of specific inhibitors on the HCMV-induced ICAM-1 expression. Cells were pre-treated with inhibitors for 30 minutes and infected with HCMV TB40/E at 1 MOI. Twenty four hours after infection, cells were harvested, fixed and stained with PE-conjugated anti-ICAM-1 antibody and fluorescence was determined by a flow cytometry. (A) treated with NF- κ B inhibitor PDTC (1 μ M); (B) treated with COX-2 inhibitor NS398 (50 μ M); (C) treated with MEK inhibitor PD98059 (50 μ M).

ICAM-1 발현에 HCMV가 직접적인 원인이 되는지 알아보기 위해 바이러스 양을 달리하여 감염시키고 바이러스 감염 후 24시간 쯤의 ICAM-1 발현을 살펴보았다. 그 결과 MOI가 0.1일 때에는 바이러스를 감염시키지 않은 세포에 비해 약 2.9배, MOI 1일 때에는 7.4배, 그리고 MOI 10일 때에는 8.9 배로 나타나는 등 ICAM-1의 발현은 감염시킨 바이러스 양에 비례함을 알 수 있었다 (Fig. 2).

2. HCMV에 의한 ICAM-1 발현 유도 경로

THP-1 세포에서 HCMV에 의하여 발현되는 ICAM-1의 경로를 알아보고자 염증반응에서 핵심적인 역할을 하며, 또한 감수성 세포에서 HCMV 감염에 의해 유도되는 것으로 잘 알려진 NF- κ B, COX-2, 그리고 ERK1/2의 연관성을 알아보기 위해 각각의 저해제를 처리하여 HCMV에 감염된 THP-1 세포에서 ICAM-1 발현 변화를 살펴보았다. NF- κ B 저해제인 PDTC는 HCMV 감염시키지 않은 THP-1 세포에서 ICAM-1 발현에는 별 영향을 주지 않았지만, HCMV에 감염된 세포에 처리하였을 때에는 바이러스에 감염되지 않은 세포 수준으로 ICAM-1 발현이 감소하였다 (Fig. 3a). 반면 COX-2의 선택적 저해제인 NS-398이나 ERK의 인산화를 방해하여 활성을 억제하는 PD-

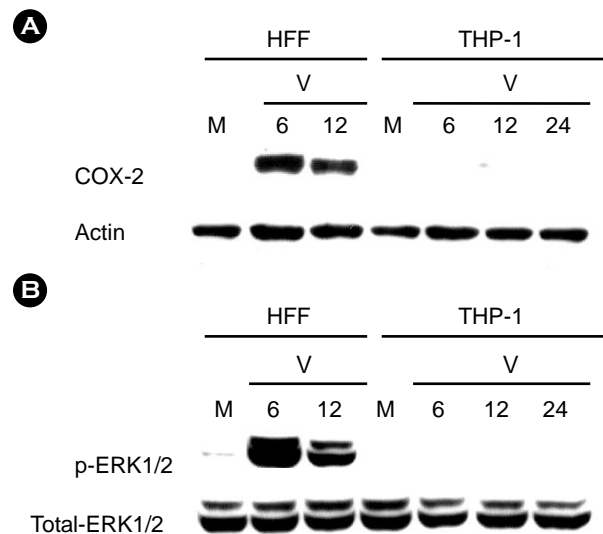


Figure 4. HCMV does not stimulate COX-2 expression or ERK1/2 phosphorylation in THP-1 cells. THP-1 or HFF cells were infected with HCMV (strain TB40/E, MOI = 1). At indicated times after virus infection, cells were harvested and subjected to western blot analysis. (A) COX-2; (B) ERK1/2.

98059를 처리하였을 시에는 HCMV에 의한 ICAM-1 발현 증가에 아무런 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다 (Fig. 3b, 3c). COX-2나 ERK1/2의 기능 억제제가 HCMV에 의한 ICAM-1 발현 증가에 영향을 미치지 못하는 이유를 알아

보기 위해 THP-1 세포에서 COX-2 발현과 ERK1/2 인산화가 HCMV 감염에 의해 유도되는지 western blotting으로 살펴보았다. 먼저 COX-2의 발현이 HFF 세포에서는 HCMV 감염에 의해 유도되는데 반해 (Fig. 4a), THP-1 세포에서는 HCMV 감염에 의해 ICAM-1 발현이 증가하기 시작한 6시간 때부터 ICAM-1 발현이 최대로 관찰되는 24시간 까지 HCMV 감염에 의한 COX-2 발현 증가를 볼 수 없었다 (Fig. 4a). ERK1/2는 HFF 세포나 THP-1 세포 모두에서 단백질 발현이 관찰되었으나, HCMV에 의한 ERK1/2의 인산화가 HFF 세포에서는 관찰된 반면, THP-1 세포에서는 관찰되지 않았다 (Fig. 4b). 따라서 HCMV에 의한 ICAM-1의 발현에 NF- κ B가 핵심적인 역할을 담당하고 있음을 알 수 있었다.

고 찰

본 연구에서는 단핵세포의 실험 모델인 THP-1 세포에서 HCMV 감염에 의하여 ICAM-1의 발현이 증가하며, 이 과정에 NF- κ B가 관여함을 보여 주었다. ICAM-1은 염증반응과 관련된 대표적인 분자로서, 혈액 내의 혈구세포가 혈액을 빠져 나와 조직으로 이동할 때 필요한 과정인 혈구세포와 혈관 내피세포간의 결합에 관여하는 부착분자의 한 종류이다 (19). HCMV는 잠복감염을 일으키는 대표적인 바이러스로 혈구세포 중 단핵세포 계통의 세포가 HCMV의 주된 잠복감염 부위로 제시되었다 (1,9,14,16,17,27). 이들 세포는 염증반응시 혈액을 빠져 나가 조직에서 분화하여 대식세포 등으로 분화하여 염증반응을 일으키게 된다 (14,17,27). 이 과정에서 혈구세포와 혈관 내피세포간의 결합이 필요하게 되고, 따라서 HCMV는 ICAM-1과 같은 부착분자의 발현을 촉진시킬 것이라는 추측이 가능하였다. 실제로 HCMV는 혈관벽을 구성하는 내피세포 (13,21,23)나 혈관벽 기저의 섬유아세포에서 ICAM-1 발현을 촉진시킨다 (8,10). 이에 비하여 혈관 내피 조직 사이를 통과하여 조직으로 이동해 염증을 매개하는 혈구세포에서는 HCMV에 의한 ICAM-1 발현에 대한 연구는 미비한 편이었다.

최근 들어 HCMV에 감염된 단핵세포에서 ICAM-1, ICAM-3, β 1 integrin, β 2 integrin과 같은 부착성 분자의 발현이 증가한다는 보고가 있었다 (25). 또한 HCMV에 의해 활성화된 PI3K와 NF- κ B가 HCMV가 감염된 인체 단핵세포의 부착성과 혈액으로부터의 누출성 증가에 관여

한다고 알려져 있다 (3,24,25). 따라서 ICAM-1 발현 증가에 대한 PI3K 및 NF- κ B의 역할이 제시되었고, 본 연구에서는 단핵세포주인 THP-1 세포에서 HCMV에 의한 ICAM-1 발현 증가에 NF- κ B가 관여함을 밝혔다. NF- κ B는 염증 관련 유전자의 전사인자로 잘 알려져 있으며 (7,11), HCMV는 섬유아세포나 내피세포에서 NF- κ B를 활성화시킨다고 알려져 있다 (2,28). HCMV에 의한 NF- κ B 활성화는 I κ B의 감소와 IKK의 인산화를 수반한다 (2).

IKK의 활성 조절은 매우 복잡하고 다양한 인자에 의해 매개되는데, 그 중의 하나가 MEK/ERK 또는 MAPK 경로이다 (15,20). HCMV는 섬유아세포에서 ERK1/2를 자극한다고 알려져 있으므로 (5,22), 본 연구에서 관찰된 ICAM-1 발현에 관여하는 NF- κ B 활성화가 ERK1/2 경로를 이용하는지 알아보려고 하였다. MEK 저해제인 PD98059는 HCMV에 의한 ICAM-1 발현 증가에 아무런 영향을 미치지 못하였다. 따라서 본 연구에서 관찰된 HCMV에 의한 ICAM-1 발현 증가에 MAPK 경로는 관계가 없다고 볼 수 있다. 그 이유는 HCMV에 의해 ERK1/2의 인산화가 일어나는 섬유아세포와는 달리, 본 연구에서 밝힌 바와 같이 단핵구 THP-1 세포에서는 HCMV가 ERK1/2의 인산화를 유도하지 못하기 때문이라고 생각된다.

HCMV는 염증반응의 주요 매개 유전자인 COX-2의 발현을 mRNA 및 단백질 수준에서 촉진한다 (29). 이에 본 연구에서는 HCMV에 의한 ICAM-1 발현 증가에 COX-2 유전자의 연관성을 알아보려고 COX-2 특이 저해제인 NS398을 처리하여 본 결과, 특별한 관계를 찾아볼 수 없었다. 이는 ERK1/2 인산화 경우와 같이 COX-2 유전자 발현이 섬유아세포에서는 HCMV에 의해 촉진되는 반면, THP-1 세포에서는 HCMV에 의해 촉진되지 않기 때문이라고 생각된다.

염증반응은 외부의 침입자로부터 우리의 몸을 보호하기 위한 면역반응이지만, 비정상적인 면역체계에서는 자가면역질환의 일종으로 여러 염증질환 등을 유발하기도 한다. 염증반응과 관련된 ICAM-1은 세포의 이동에 관여함으로써 염증을 매개시키는 중요한 역할을 담당하고 있다 (12). 따라서 ICAM-1의 발현을 증가시켜 염증반응을 유도하도록 면역반응을 활성화시킬 수도 있고, 염증질환 환자에게서는 ICAM-1 발현을 감소시켜 질병으로부터 벗어날 수 있도록 하는 양면성을 지니고 있다. 이 때문에 ICAM-1 발현의 조절에 관한 연구는 많이 진행되고 있고 앞으로도 많은 연구가 필요하다. 특히 HCMV는 면

역력이 약한 환자에게 치명적인 질병을 일으킬 수 있기 때문에 HCMV에 의한 ICAM-1 발현 조절에 관한 연구는 필수적이라 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) **Bolovan-Fritts CA, Mocarski ES, Wiedeman JA:** Peripheral blood CD14(+) cells from healthy subjects carry a circular conformation of latent cytomegalovirus genome. *Blood* **93**: 394-398, 1999.
- 2) **Caposio P, Dreano M, Garotta G, Gribaudo G, Landolfo S:** Human cytomegalovirus stimulates cellular IKK2 activity and requires the enzyme for productive replication. *J Virol* **78**: 3190-3195, 2004.
- 3) **Chan G, Bivins-Smith ER, Smith MS, Yurochko AD:** Transcriptome analysis of NF-kappaB- and phosphatidylinositol 3-kinase-regulated genes in human cytomegalovirus-infected monocytes. *J Virol* **82**: 1040-1046, 2008.
- 4) **Chan G, Stinski MF, Guilbert LJ:** Human cytomegalovirus-induced upregulation of intercellular cell adhesion molecule-1 on vilous syncytiotrophoblasts. *Biol Reprod* **71**: 797-803, 2004.
- 5) **Chen J, Stinski MF:** Role of regulatory elements and the MAPK/ERK or p38 MAPK pathways for activation of human cytomegalovirus gene expression. *J Virol* **76**: 4873-4885, 2002.
- 6) **Cobbs CS, Harkins L, Samanta M, Gillespie GY, Bharara S, King PH, Nabors LB, Cobbs CG, Britt WJ:** Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res* **62**: 3347-3350, 2002.
- 7) **Gilmore TD:** Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. *Oncogene* **25**: 6680-6684, 2006.
- 8) **Grundy JE, Downes KL:** Up-regulation of LFA-3 and ICAM-1 on the surface of fibroblasts infected with Cytomegalovirus. *Immunology* **78**: 405-412, 1993.
- 9) **Hahn G, Jores R, Mocarski ES:** Cytomegalovirus remains latent in a common precursor of dendritic and myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 3937-3942, 1998.
- 10) **Ito M, Watanabe M, Ihara T, Kamiya H, Sakurai M:** Increased expression of adhesion molecules (CD54, CD29 and CD44) on fibroblasts infected with cytomegalovirus. *Microbiol Immunol* **39**: 129-133, 1995.
- 11) **Karin M, Delhase M:** The I kappa B kinase (IKK) and NF-kappa B: key elements of proinflammatory signalling. *Semin Immunol* **12**: 85-98, 2000.
- 12) **Kevil CG, Patel RP, Bullard DC:** Essential role of ICAM-1 in mediating monocyte adhesion to aortic endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* **281**: 1442-1447, 2001.
- 13) **Knight DA, Waldman WJ, Sedmak DD:** Cytomegalovirus-mediated modulation of adhesion molecule expression by human arterial and microvascular endothelial cells. *Transplantation* **68**: 1814-1818, 1999.
- 14) **Kondo K, Kaneshima H, Mocarski ES:** Human cytomegalovirus latent infection of granulocyte-macrophage progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**: 11879-11883, 1994.
- 15) **Matsubara M, Tamura T, Ohmori K, Hasegawa K:** Histamine H1 receptor antagonist blocks histamine-induced proinflammatory cytokine production through inhibition of Ca2+-dependent protein kinase C, Raf/MEK/ERK and IKK/I kappa B/NF-kappa B signal cascades. *Biochem Pharmacol* **69**: 433-449, 2005.
- 16) **Mendelson M, Monard S, Sissons P, Sinclair J:** Detection of endogenous human cytomegalovirus in CD34+ bone marrow progenitors. *J Gen Virol* **77**: 3099-3102, 1996.
- 17) **Minton EJ, Tysoe C, Sinclair JH, Sissons JG:** Human cytomegalovirus infection of the monocyte/macrophage lineage in bone marrow. *J Virol* **68**: 4017-4021, 1994.
- 18) **Mocarski Jr, ES, Shenk T, Pass RF:** Cytomegalovirus. pp. 2701-2772. In Fields Virology, 5th ed. Knipe DM and Howley PM (Ed). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2007.
- 19) **Munro JM:** Endothelial-leukocyte adhesive interactions in inflammatory diseases. *Eur Heart J* **14**: 72-77, 1993.
- 20) **Panta GR, Kaur S, Cavin LG, Cortes ML, Mercurio F, Lothstein L, Sweatman TW, Israel M, Arsura M:** ATM and the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase activate NF-kappaB through a common MEK/extracellular signal-regulated kinase/p90(rsk) signaling pathway in response to distinct forms of DNA damage. *Mol Cell Biol* **24**: 1823-1835, 2004.
- 21) **Rahbar A, Soderberg-Naucler C:** Human cytomegalovirus infection of endothelial cells triggers platelet adhesion and aggregation. *J Virol* **79**: 2211-2220, 2005.
- 22) **Rodems SM, Spector DH:** Extracellular Signal-Regulated Kinase Activity Is Sustained Early during Human Cytomegalovirus Infection. *J Virol* **72**: 9173-9180, 1998.
- 23) **Sedmak DD, Knight DA, Vook NC, Waldman JW:** Divergent patterns of ELAM-1, ICAM-1, and VCAM-1 expression on cytomegalovirus-infected endothelial cells. *Transplantation*

- 58:** 1379-1385, 1994.
- 24) **Smith MS, Bentz GL, Smith PM, Bivins ER, Yurochko AD:** HCMV activates PI(3)K in monocytes and promotes monocyte motility and transendothelial migration in a PI(3)K-dependent manner. *J Leukoc Biol* **76:** 65-76, 2004.
- 25) **Smith MS, Bivins-Smith ER, Tilley AM, Bentz GL, Chan G, Minard J, Yurochko AD:** Roles of phosphatidylinositol 3-kinase and NF-kappaB in human cytomegalovirus-mediated monocyte diapedesis and adhesion: strategy for viral persistence. *J Virol* **81:** 7683-7694, 2007.
- 26) **Söderberg-Nauclér C:** HCMV microinfections in inflammatory diseases and cancer. *J Clin Virol* **41:** 218-223, 2008.
- 27) **Taylor-Wiedeman J, Sissons JG, Borysiewicz LK, Sinclair JH:** Monocytes are a major site of persistence of human cytomegalovirus in peripheral blood mononuclear cells. *J Gen Virol* **72:** 2059-2064, 1991.
- 28) **Yurochko AD, Kowalik TF, Huong SM, Huang ES:** Human cytomegalovirus upregulates NF-kappa B activity by transactivating the NF-kappa B p105/p50 and p65 promoters. *J Virol* **69:** 5391-5400, 1995.
- 29) **Zhu H, Cong JP, Yu D, Bresnahan WA, Shenk TE:** Inhibition of cyclooxygenase 2 blocks human cytomegalovirus replication. *Proc Natl Acad Sci USA* **99:** 3932-3937, 2002.
-