



Introduction of Chromosomally integrated human herpesvirus 6 and its clinical implications

ARTICLE INFO

Article Type

Review Research

Authors

Kiana ketabi¹

Soamyeh Shatizadeh Malekshahi^{2*}

¹PhD student in virology, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²PhD, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, Tell: +98 21 82883880

Email: s.shatizadeh@modares.ac.ir

Article History

Received: September 27, 2021

Accepted: February 19, 2021

ePublished: December 20, 2020

ABSTRACT

Aims: Human herpes virus 6 (HHV-6) is a ubiquitous virus with a high rate of prevalence worldwide. In recent years, a new form of the virus genome has been identified called chromosomally integrated HHV-6 (ciHHV6). Further studies are required to elucidate the relation between ciHHV-6 and other clinical complications. The purpose of this study was to summarize the literature on different clinical aspects of the ciHHV-6 integration and its prevalence in different communities.

Materials and methods: Search keywords include HHV-6, integrated genome, telomeric regions and integrated HHV-6. Scientific databases such as scopus, PubMed and google scholar with no specified start date were used for information collection.

Findings: About 1% of global populations are infected with ciHHV-6. Real-time PCR can be used to differentiate between ciHHV-6 and HHV-6 acute infection in which the viral load will be higher in ciHHV-6 compared to the acute infection. However, ciHHV-6 can be confirmed by evidence of one copy of viral DNA in hair or nail follicles. It has been shown that ciHHV-6 may disrupt the telomere stability.

Conclusions: To date, no treatment has been discovered to remove the viral genome from the host cells. Taken together, the integrated form of the HHV-6 genome could be linked to the various diseases, including heart and autoimmune diseases. But further studies are needed to find its association with other diseases in different geographic areas.

Keywords: Human Herpesvirus 6, Integration, Telomers, ciHHV-6

معرفی فرم ایتنگره شده هرپس ویروس انسانی ۶ و

پیامدهای بالینی آن: مقاله مروری-روایتی

عنوان مکرر: فرم ایتنگره شده هرپس ویروس انسانی ۶

کیانا کتابی

دانشجوی دکترای ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی،

دانشگاه تربیت مدرس، تهران

سمیه شاطی زاده ملک شاهی*

استادیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه

تربیت مدرس، تهران

چکیده

هدف مطالعه: هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ (HHV-6) ویروسی با شیوع بالا در جمعیت جهان است. در سالهای اخیر، فرم جدیدی از ژنوم ویروس کشف شده و تحت عنوان Chromosomally integrated HHV-6 (ciHHV-6) می باشد. ارتباط ciHHV6 با انواع بیماریها، نیاز به مطالعات بیشتر دارد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی فرم ایتنگره شده ژنوم ویروس HHV-6 از جنبه‌های مختلف بالینی و میزان فراوانی آن در جوامع مختلف است.

مواد و روش‌ها: برای انجام این مطالعه، کلمات کلیدی HHV-6، Integrated HHV-6 و Telomeric regions، Integrated genome در پایگاه‌های علمی معتبر مانند Scopus، PubMed و Google scholar بدون اعمال محدودیت زمانی بررسی شدند.

نتایج: تقریباً یک درصد از جمعیت جهان آلوده به ciHHV-6 هستند که این مقدار در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت است. در صورت ابتلا فرد به ciHHV-6 لود ویروس بالاتر از ابتلا به عفونت حاد خواهد بود و برای تایید فرم ایتنگره شده ژنوم HHV-6 لازم است تا در نمونه‌های فولیکول مو یا ناخن، به جستجوی حداقل یک کپی از ژنوم ایتنگره شده پرداخته شود. ciHHV-6 با ایجاد اختلال در عملکردهای تلومریک می‌تواند سلامتی انسان را تحت تاثیر قرار دهد.

نتیجه‌گیری: تا به امروز درمانی برای حذف ژنوم ویروس از سلول‌های میزبان کشف نشده است. در بررسی به عمل آمده در این مطالعه، فرم ایتنگره شده ژنوم HHV-6 می‌تواند با بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های قلبی و خود ایمنی مرتبط بوده و مطالعات بیشتری برای یافتن ارتباط آن با دیگر بیماری‌ها در نقاط مختلف جغرافیایی جهان نیاز است.

کلیدواژه‌ها: هرپس ویروس انسانی تیپ ۶، ایتنگره شدن، نواحی

تلومر، ciHHV-6

تاریخ دریافت ۹۹/۰۷/۶

تاریخ پذیرش ۹۹/۱۲/۱

* s.shatizadeh@modares.ac.ir

مقدمه و ویژگی‌های هرپس ویروس تیپ ۶:

هرپس ویروس تیپ ۶ (HHV-6) یک بتا هرپس ویروس مرتبط با سایتومگالوویروس انسانی و دارای دو زیر گروه A و B است (۱-۳). این ویروس برای اولین بار در سال ۱۹۸۶ از یک بیمار مبتلا به نقص سیستم ایمنی اکتسابی انسان (HIV) که از دیگر بیماری‌های لنفوپرولیفراتیو رنج می برد جدا شد و امروزه درصد بالایی از جمعیت جهان (نزدیک به ۱۰۰ درصد)، در طول عمر خود حداقل یک بار به آن مبتلا شده‌اند (۴). در سال ۱۹۸۸ یمینشی و همکاران، دریافتند که عامل اتیولوژیک اگزانتهم سوبیتوم در کودکان HHV-6 است که از جمله علایم ابتلا به این عفونت می‌توان به تب بالا، اسهال و راش‌های جلدی خفیف در ناحیه صورت و گردن اشاره کرد (۵). مطالعات سرولوژیک نشان می دهد که بیش از ۹۰ درصد کودکان تا سن دو سالگی عفونت با HHV-6B را تجربه می‌کنند (۶). همچنین HHV-6A نیز در بزرگسالان عامل بسیاری از مشکلات است. برای نمونه این ویروس کوفاکتوری برای گسترش و پیشرفت بیماری ایدز و همچنین بسیاری از بیماری‌های عصبی مانند انسفالیت، صرع، آتاکسی و سندرم خستگی مزمن می‌باشد که البته ارتباط مستقیم این عفونت با بیماری‌های انسانی هنوز بطور کامل شناسایی نشده است (۷-۱۱). هر دو واریانت ویروس HHV-6 یعنی HHV-6A و HHV-6B بعد از عفونت اولیه در بدن میزبان به صورت

تبیین چگونگی وقوع فرایند ایتگره شدن این ویروس، بررسی پیامدهای احتمالی ابتلا به آن در ایجاد بیماری‌های مختلف یا علائم بالینی خاص، بررسی میزان فراوانی این فرم از ژنوم ویروس HHV-6 در مناطق مختلف جغرافیایی و معرفی روش قطعی تشخیصی آن است.

روش کار

برای نگارش این مطالعه مروری-روایتی، با جستجوی کلمات کلیدی HHV-6، Integrated genome، Telomeric regions و Integrated HHV-6 به صورت ترکیبی و مجزا در پایگاه‌های علمی معتبر مانند Scopus، PubMed و Google scholar بدون اعمال محدودیت زمانی، مقالات مناسب انتخاب و بررسی شدند. معیار ورود این مقالات به مطالعه مروری انجام شده، بر اساس پژوهش روی فرم ایتگره شده از ژنوم ویروس هرپس انسانی تیپ ۶ بود. در انتها، نتیجه‌گیری کلی بر اساس اطلاعات موجود در مقالات مختلف بررسی شده، انجام شد.

یافته‌ها

میزان فراوانی ciHHV-6:

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که حدود یک درصد از جمعیت جهان (یعنی حدود ۷۵ میلیون نفر)، حامل فرم به ارث رسیده از ویروس HHV-6 که به اختصار iciHHV-6 خوانده می‌شود، هستند. از میان نمونه‌های بررسی شده میزان شیوع iciHHV-6 در مناطق مختلف جغرافیایی از ۱۰ تا ۴۰ درصد متغیر بوده است (۳۳، ۳۴). به شکلی که شیوع iciHHV-6 در ژاپن حدود ۰/۲ درصد، در کانادا حدود ۰/۶ درصد و در اروپا حدود یک تا سه درصد گزارش شده است (۳۱، ۳۴-۳۷). همچنین ciHHV-6 در ۸۵ درصد از جمعیت انگلستان و آمریکا وجود داشته و میزان شیوع آن در افراد بستری در بیمارستان‌ها تا ۳/۳ درصد افزایش می‌یابد (۲۲، ۳۸). ابتلا به فرم ایتگره شده عفونت HHV-6، می‌تواند زمینه‌ساز رد پیوند عضو باشد. میزان شیوع این ویروس در دریافت کنندگان پیوند کلیه، بالاتر از جمعیت سالم است (۳۹). در مطالعه‌ای که در ایتالیا انجام شد، مشخص شد که ۰/۹ درصد از موارد پیوند بافت های توپر (SOT) و پیوندهای آلورژیک

نهفته و پایدار تا آخر عمر خواهند ماند که در این حالت ژنوم ویروس به صورت حلقوی در هسته سلول میزبان قرار خواهد گرفت (۱۲-۱۵). این ویروس قابلیت این را داشته که در افراد سالم از نظر سیستم ایمنی و بیشتر در افراد دارای نقص سیستم ایمنی، دوباره فعال شود که این فعالیت مجدد می‌تواند با صرع، انسفالیت و رد پیوند آلوگراف (GvHD) در میزبان همراه باشد (۳، ۸، ۱۶-۱۹). همچنین HHV-6 می‌تواند لنفوسیت‌های T از نوع CD4⁺ را آلوده کرده و با کاهش تعداد این سلول‌ها، به عنوان کوفاکتوری برای پیشرفت بیماری ایدز عمل کند (۱۱، ۲۰). فعالیت مجدد HHV-6 می‌تواند در درصدی از کودکان، منجر به اگزانتهم سوبیتوم (یا روزئولا اینفنتوم) و یا تشنج ناشی از تب شود. فعالیت مجدد ویروس در افراد با سنین بالاتر خطرات بالینی بیشتری خواهد داشت (۲۱-۲۳).

هرپس ویروس‌ها همان‌گونه که گفته شد با ایجاد ژنوم حلقوی، به صورت اپیزومال در هسته سلول‌های میزبان به صورت نهفته در می‌آیند. با این حال برخی هرپس ویروس‌ها مثل HHV-6A و HHV-6B می‌توانند متعاقب عفونت حاد، ژنوم خود را در ژنوم سلول‌های میزبان ایتگره کنند. لازم به ذکر است که این یافته‌ها با استفاده از مطالعات هیبریدیزاسیون فلوئورسنت نقطه‌ای (FISH) بدست آمده است (۲۴-۳۰). همچنین این ژنوم ایتگره شده حتی می‌تواند به صورت عمودی از طریق سلول‌های جنسی فرد مبتلا، به نسل بعد نیز انتقال یابد (۳۱).

از میان هرپس ویروس‌های حیوانی نیز آلفا هرپس ویروس لنفوتروپ بیماری مارک (MDV)، توانایی ایتگره کردن ژنوم خود در نواحی تلومریک کروموزم سلول‌های پرنده‌گان بعد از عفونت اولیه را دارد (۳۲). این فرم از ویروس HHV-6 را که فرم ایتگره شده هرپس ویروس ۶ (ciHHV-6) نام دارد اولین بار لوپی و همکاران در سال ۱۹۹۳ در سه مورد از بیماران معرفی کردند (۲۸). ویژگی اصلی فرم ایتگره شده از ویروس ciHHV-6 این است که ژنوم ایتگره شده ویروس، در بیشتر سلول‌های خون محیطی افراد وجود دارد. در سال ۱۹۹۸ دیاباتا و همکاران، فرضیه‌ای مبنی بر ارثی بودن ciHHV-6 مطرح کردند که امروزه، این فرم به ارث رسیده از ژنوم ایتگره شده ویروس، iciHHV-6 نام دارد (۳۰، ۳۱). با توجه به اهمیت ciHHV-6، هدف از انجام این مطالعه

سلول‌های بنیادی (alloSCT) از نظر ابتلا به ciHHV-6 مثبت هستند (۳۵). از آنجا که ایتگره شدن ژنوم HHV-6 در نواحی تلومریک کروموزوم میزبان انجام شده و این نواحی عملکرد تنظیمی برای تکثیر سلول را بر عهده دارند، ciHHV-6 می‌تواند با انواع بدخیمی‌ها مرتبط باشد (۴۰، ۴۱). در مطالعه‌ای که در جمهوری چک، روی ۸۱۲ بیمار مبتلا به انواع بدخیمی از نظر وجود عفونت HHV-6 انجام شد مشخص شد که ۸۶ نفر از این بیماران از نظر این عفونت ویروسی مثبت بوده که از این میان ۹ نفر مبتلا به فرم ایتگره شده ویروس بودند (۳۶). در انگلستان نیز از میان ۵۰۰ نفر از اهدا کنندگان خون، ۴ مورد (۰/۸ درصد) ابتلا به ciHHV-6 گزارش شد که از این میان هیچ یک دارای علائم بالینی نبودند (۲۲).

در بیشتر مطالعات انجام شده، شیوع HHV-6B از HHV-6A (چه در حالت عفونت حاد و چه در حالت ایتگره شده ژنوم)، بیشتر بوده است. با این حال، این میزان با توجه به منطقه جغرافیایی بررسی و آنالیز جمعیت بیماران می‌تواند متفاوت باشد (۳۱، ۳۳، ۳۸، ۴۲، ۴۳). لازم به ذکر است که HHV-6A در یک سوم جمعیت حاملان ciHHV-6 وجود دارد. اما تنها ۱ تا ۳ درصد فعالیت‌های مجدد این ویروس در دریافت کنندگان پیوند عضو یا بیماران مثبت از نظر ciHHV-6 ناشی از HHV-6A است (۲۲، ۴۴).

ایتگره شدن ژنوم ویروس HHV-6:

ایتگره شدن ژنوم ویروس HHV-6 می‌تواند در سلول‌های جنسی یا غیرجنسی میزبان انجام شود و احتمال اینکه فرزندان، در تمام سلول‌های خود حامل ژنوم ویروس باشند، ۵۰ درصد است (۴۰). ایتگره شدن ژنوم HHV-6 در سلول‌های جنسی بیشتر در پیشسازهای تخمک یا اسپرم رخ داده که در نتیجه آن، ژنوم ویروس به جنین منتقل می‌شود. در مطالعات هولسبرگ و همکاران، مشخص شده که HHV-6 می‌تواند در اسپرم افراد سالم وجود داشته باشد (به این صورت که ویروس به سلول‌های اسپرم متصل شده باشد). این اتصال موجب شده تا ویروس همراه با اسپرم به داخل تخمک حمل شود (۴۵). نتایج مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ به چاپ رسید حاکی از این بود که ۱۳/۵ درصد از

اسپرم‌های اهدایی در دانمارک حامل ویروس HHV-6 بوده‌اند که امکان ایتگره شدن ویروس در این حالت، وجود دارد (۴۵). راه دیگر این انتقال به این صورت است که HHV-6 می‌تواند از اسپرم عفونی حامل ژنوم این ویروس، مجدداً فعال شده و پروژنی‌های جدید تولید شده، به سلول تخم بارور، وارد شوند (۴۶). در حالت ایتگره شده فعالیت مجدد ویروس می‌تواند اتفاق افتد و این ایتگره شدن ویروس HHV-6 می‌تواند در ارتباط با بیماری‌های مختلفی در بدن انسان باشد (۴۲). ایتگره شدن کروموزومی HHV-6 بیشتر در کروموزوم ۱۷ و در بازوی P اتفاق می‌افتد. در مطالعه‌ای از میان ۴۴ مورد ژنوتایپ‌های مختلف ciHHV-6 مشخص شد که کروموزوم ۱۷ به عنوان دارنده کوتاهترین ناحیه تلومر کروموزومی، محل مورد علاقه ویروس برای ایتگره شدن است (۴۲). سازوکار ایتگره شدن ژنوم ویروس HHV-6 در ژنوم سلول میزبان هنوز به طور کامل مشخص نشده است. به نظر می‌آید پروتئین U94 ویروس در این امر نقش داشته باشد (۴۷). این پروتئین مختص ویروس HHV-6 بوده و هیچ مشابهی در دیگر هرپس ویروس‌های انسانی ندارد. اما شباهت زیادی به ایتگره Rep68 از ویروس مرتبط با آدنو ۲ (AAV-2) دارد. به طوری که ۲۴ درصد از اسید آمینه‌های آن‌ها مشابه هستند (۴۸، ۴۹). جالب است که این پروتئین تمام عملکردهای لازم برای ایتگره کردن ژنوم ویروس HHV-6 در کروموزم میزبان را انجام می‌دهد: این پروتئین می‌تواند به توالی‌های DNA متصل شده، ATP را هیدرولیز کند و دارای فعالیت هلیکازی و اگزونوکلازی است (۴۹). با این حال یافته‌های جدید نشان می‌دهد که ایتگره شدن ژنوم HHV-6 حتی در عدم وجود این پروتئین هم رخ می‌دهد. به شکلی که موتانت‌هایی از ویروس که دارای جهش حذفی در ناحیه U94 هستند نیز مانند ویروس وحشی HHV-6 توانایی ایتگره شدن را دارند (۵۰). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فرایند ایتگره شدن ژنوم این ویروس در کروموزم میزبان فرآیندی پیچیده بوده و نیازمند مطالعات بیشتری برای درک این فرایند است (۵۱).

محل اصلی ایتگره شدن ژنوم ویروس در تلومرهای کروموزم میزبان است. این نواحی محافظت کننده‌های اصلی کروموزم بوده و ایتگره شدن ژنوم ویروس در آن‌ها، می‌تواند یکپارچگی آن‌ها

را دچار اشکال کند. همچنین ایتگره شدن ژنوم ویروس در برخی کروموزمها، موجب کوتاه شدن طول تلومرها می شود که این پدیده بیشتر در سلول های سوماتیک دیده میشود. در مقابل، بیشتر، ایتگره شدن در سلول های اسپرم موجب کوتاهی طول تلومر نشده و دلیل این اختلاف بین سلول های مختلف، هنوز مشخص نیست. یک فرضیه در این باره توضیح می دهد که ممکن است ایتگره شدن HHV-6 موجب تحریک رو نویسی از ژن های Subtelomeric مثل TERRA شود. از طرفی این موضوع ثابت شده است که تحریک رونویسی TERRA می تواند منجر به کوتاهی تلومرها شود (۵۲-۵۴). نتیجه طولانی مدت کوتاه شدن تلومرها، می تواند آپوپتوز سلول ها باشد (۵۵).

لازم به ذکر است که فعالیت مجدد HHV-6 می تواند منجر به علائم تحت بالینی در بیمارانی چون دریافت کنندگان پیوند عضو و در مبتلایان به بیماری های خود ایمنی شود (۵۶). به گونه ای که فعال سازی مجدد HHV-6 با ایجاد بیماری حاد پیوند در مقابل میزبان (GvHD) و پیامد ضعیف هنگام پیوند سلول های بنیادی خونساز آلوتژیک همراه بوده است (۵۷).

معرفی تلومرها:

تلومرها چندین کیلو جفت باز از تکرارهای هشت نوکلئوتیدی هستند که دارای دو نقش اصلی در زمینه محافظت از کروموزمها هستند. اول اینکه آنها از گم شدن اطلاعات ژنتیکی جلوگیری می کنند. در طول تقسیمات سلولی، طول تلومرها و تعداد تکرارهای هشت تایی آنها کاهش می یابد. هنگامی که تعداد این تکرارها به زیر ۱۳ برسد، سلول تکثیر خود را متوقف کرده و دچار آپوپتوز می شود. نقش دیگر این نواحی ژنومی، محافظت از کروموزمها در برابر پاسخها علیه آسیب های وارد به DNA (DDR) است که این پاسخها موجب ناپایداری کروموزم می شوند (۵۸، ۵۹).

چرخه تکثیر هرپس ویروسها:

در طول تکثیر هرپس ویروسها، ابتدا ویروس به گیرنده های سطح سلول میزبان متصل شده و به دنبال درهم کردن پوشش ویروس با غشای سیتوپلاسمی سلول میزبان، کپسید ویروس به سیتوپلاسم آزاد و تجزیه می شود. سپس DNA ویروسی به سمت هسته سلول حمل شده و وارد آن می شود (۶۰). در هسته، DNA

ویروسی به صورت حلقوی در آمده و ژن های اولیه فوری (IEGs) را بیان می کند. در ادامه، پروتئین های IE موجب بیان ژن های اولیه (E) می شوند که مرتبط با تکثیر ژنوم ویروسی هستند. هنگامی که تکثیر ژنوم ویروس آغاز شد، بیان ژن های L آغاز می شود که این ژن ها، پروتئین های ساختاری دخیل در سر هم بندی ویروئید های جدید را بیان می کنند. در نهایت، بعد از مرحله سر هم بندی ویروس، پروژنی از سلول آلوده میزبان، رها می شود (۶۱، ۶۲). البته لازم به ذکر است که تمام عفونت های هرپس ویروسی منجر به تولید ویروئید های جدید عفونی نمی شوند. بلکه در برخی مواقع، ویروس وارد سلول شده و فاز نهفته تکثیر خود را پیش می گیرد (۵۵). به طور کلی، عفونت سلول هایی مانند لنفوسیت های T که سلول های مجاز برای ایجاد عفونت توسط HHV-6 هستند، منجر به ایجاد فرم لیتیک عفونت شده و ویروس عموماً وارد فاز نهفته نمی شود (۶۳). در مقابل، هنگامی که عفونت HHV-6 در سلول های نیمه مجاز یا غیر مجاز اتفاق افتاد، تکثیر DNA ویروسی انجام نشده و عفونت به صورت غیرزایا، یا ایتگره شدن کروموزم ویروس ایجاد می شود (۶۴).

همان گونه که گفته شد، پروتئین های مرتبط با ایتگره شدن HHV-6 هنوز به طور کامل شناسایی نشده اند. رونوشت های پروتئین U94 که در سلول های تک هسته ای افراد سالم حامل فرم نهفته عفونت HHV-6 (ciHHV-6) وجود دارد، نشان از این فرضیه دارد که احتمالاً این پروتئین در ایتگره شدن ویروس در کروموزوم میزبان نقش داشته باشد (۴۷).

ژنوم HHV-6 و فرم ایتگره شده آن:

ژنوم HHV-6 طولی حدود ۱۶۰ کیلو جفت باز داشته و دارای مناطقی به نام U است که بیش از ۱۰۰ قالب باز خواندنی دارد و در طول سیکل لیتیک ویروس بیش از ۹۷ پروتئین کد می کند. همچنین ژنوم ویروس در هنگام آلودگی سلول، به حالت خطی وجود دارد و به محض ورود به هسته، به حالت حلقوی در آمده و فرم اپیزومال را تشکیل می دهد (۲، ۶۵، ۶۶). دو انتهای ژنوم دارای توالی های تکراری مستقیم به نام DR_L و DR_R هستند که طول آنها حدود ۸ تا ۹ کیلو جفت باز است. انتهای ۵ از هر ناحیه DR دارای توالی Pac1 (به اندازه ۵۶ جفت باز) و انتهای ۳ آن دارای توالی Pac2 (به اندازه ۸۰ جفت باز) هستند که این

نواحی در برش و بسته بندی ژنوم ویروسی نقش دارند. در مجاورت ناحیه Pac2 تکرارهای تلومریک با توالی TTAGGG به نام TMR قرار دارند که مشابه توالی تکرارهای تلومریک ژنوم انسان هستند (۲، ۲۴). آنالیز سلول‌های آلوده به HHV-6 نشان می‌دهد که این ویروس‌ها بیشتر به وسیله ادغام شدن ناحیه TMR ژنوم آن‌ها با کروموزم میزبان به حالت ایتگره در می‌آیند (۶۷). البته سازوکار اصلی منجر شونده به ایتگره شدن ژنوم HHV-6 در کروموزم‌های سلول میزبان هنوز به طور کامل مشخص نشده است. آنالیز توالی‌های ژنوم ایتگره شده HHV-6 نشان می‌دهد که ایتگره شدن در مناطقی بسیار نزدیک به نواحی ساب تلومریک انجام می‌شود که تعداد کمی از تکرارهای تلومریک بین ژنوم ویروسی و کروموزم میزبان وجود خواهد داشت (۶۸). لازم به ذکر است که در برخی افراد چندین کپی از ژنوم ویروس در ناحیه تلومریک از کروموزم سلول‌هایشان ایتگره می‌شود که با تخمین تعداد نواحی DR می‌توان تعداد ژنوم‌های کامل ایتگره شده در کروموزم میزبان را مشخص نمود (۵۵). لازم به ذکر است که استفاده از برخی داروها مانند آنتی بیوتیک‌ها (آموکسی سیلین)، داروهای ضد التهابی، داروهای ضد آریتمی، داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی و بسیاری دیگر از داروها می‌توانند موجب فعال شدن مجدد ویروس HHV-6 یا افزایش تکثیر آن شود (۶۹). همچنین پژوهشگران علام کرده‌اند که عفونت باکتریایی کلامیدیا تراکومایتیس در مدل کشت سلولی، می‌تواند منجر به افزایش فعال شدن مجدد HHV-6 و در نتیجه، ایجاد فرم خارج کروموزمی از سکانس‌های ژنوم این ویروس شود (۷۰، ۷۱).

بیماری‌های مرتبط با ایتگره شدن ژنوم ویروس HHV-6:

در واقع شیوع پایین ciHHV-6 باعث شده تا یافتن ارتباط بین حاملان و انواع بیماری‌ها کار مشکلی باشد (۷۲). مطالعات قبلی فراوانی مشابهی از ciHHV-6 را در گروه کنترل سالم و کودکان مبتلا به سرطان خون لنفوبلاستیک حاد (ALL)، بیماران مبتلا به لنفوم هوچکین کلاسیک و بیماران مبتلا به سرطان پستان کشف کرده‌اند (۷۳). با این حال هنگام یک مطالعه کوهورت مشخص شد که ciHHV-6 یک عامل خطر برای توسعه آنژین است (۷۴). به طور کلی چندین راه وجود دارد که ciHHV-6 سلامتی انسان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. از جمله آن‌ها ایجاد اختلال در

عملکردهای تلومریک به دلیل اندازه بزرگ ژنوم وارد شده به این ناحیه، عواقب بیان ژن‌های ویروسی ناشی از ژنوم ایتگره شده ویروس و همچنین فعالیت کامل و مجدد ویروس هستند (۳۷). لازم به ذکر است که میزان بروز ciHHV-6 در بیماران بستری در بیمارستان‌ها در جمعیت عمومی بیشتر است (۶۹). همان گونه که گفته شد تقریباً یک درصد از جمعیت جهان آلوده به ciHHV-6 بوده که البته این مقدار در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت است. پاسخ به این سوال که آیا این جمعیت آلوده به ویروس در معرض ابتلا به بیماری خاصی هستند یا خیر نیاز مطالعات اپیدمیولوژیک وسیع دارد. اولین آنالیز با مقیاس وسیع به تازگی انجام شده و در آن مشخص شده که ciHHV-6 به عنوان ریسک فاکتوری برای ابتلا به آنژین شناخته می‌شود. در این مطالعه DNA از تقریباً ۲۰ هزار فرد ۴۰ تا ۶۹ سال در کشور کانادا (استان کبک) جمع‌آوری شد و تحت آزمایش RCR کمی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بودند که ابتلا به آنژین در افراد حامل ciHHV-6 سه برابر بیشتر از دیگر افراد است. همچنین در این مطالعه میزان شیوع ciHHV-6B، ۵۷ درصد و میزان شیوع ciHHV-6A، ۴۳ درصد گزارش شده است (۳۳). لازم به ذکر است هرچند

ciHHV-6 در تلومرها ایتگره می‌شود اما ایتگره شدن آن می‌تواند در کروموزم‌های مختلف انجام شود و به همین علت، پاتولوژی و بیماری‌های مرتبط با این پدیده می‌تواند شامل طیف وسیعی از بیماری‌ها شود. ژنوم ویروس HHV-6 در نواحی تلومریک از کروموزم‌های ۱۹، ۱۸، ۱۷، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۹، ۷، ۱، و ۲۲ ایتگره می‌شود (۲۶-۲۸، ۳۰، ۳۱، ۴۴، ۶۷، ۶۸، ۷۵-۸۵). البته در بین مناطق یاد شده، کروموزم ۱۷ به عنوان محل اصلی ایتگره شدن ویروس شناخته شده است و این پدیده می‌تواند مرتبط با چندین بیماری ژنتیکی باشد. چرا که این کروموزم، ژن‌هایی از جمله BRCA1، TP53 و RDM1 را کد می‌کند که مسئول پاسخ به آسیب‌های وارد به DNA هستند و موجب توقف سیکل سلولی در هنگام وارد آمدن آسیب می‌شوند. علاوه بر این، در نتیجه از بین رفتن بازوی کوتاه کروموزم شماره ۱۷ که شامل نواحی تلومریک هم هست، معمولاً بیماری‌های نادری مانند سندرم میلر-دیگر (Miller-Dieker syndrome) ایجاد می‌شود (۵۵). در مطالعه دیگری که توسط دس و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شده بود

سازی شده بیماران مثبت از نظر HHV-6 گزارش شده است (۹۱). علاوه بر مورد یاد شده در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۷ روی اهدا کنندگان یا دریافت کنندگان سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک عضو حامل ciHHV-6 انجام شد، مشخص شد که رد حاد پیوند آلگرافت در این افراد بیشتر مشاهده می‌شود (۹۲). در گروه خاصی از بیماران مبتلا به ciHHV-6 که از عوارض عصبی رنج می‌بردند mRNAهای مرحله تاخیری تکثیر ویروس با استفاده از RT-PCR تشخیص داده شد (۹۳).

اما به تازگی مشخص شده است که ویروس ایتگره شده می‌تواند در بیماران مبتلا به بیماری‌های نقص ایمنی و همچنین در زنان باردار حامل ciHHV-6 فعال شود (۹۴، ۹۵). در نهایت به طور کلی می‌توان گفت که آثار ciHHV-6 روی سلامتی افراد هنوز به طور کامل شناخته نشده است.

تشخیص ciHHV-6:

همان‌گونه که پیشتر گفته شد ژنوم HHV-6 در افراد مبتلا به ciHHV-6 در نواحی تلوامریک کروموزم‌های تمام سلول‌های بدن میزبان از جمله سلول‌های سوماتیک و جنسی وجود دارد (۳۷، ۶۹، ۹۶). همین مساله موجب دشواری در تفسیر نتایج Real-time PCR می‌شود که روی نمونه‌های مختلف جمع‌آوری شده از میزبان از جمله پلاسما، سرم، یا خون کامل انجام می‌شود. چرا که روش آزمایش ذکر شده توانایی تشخیص فرم ایتگره شده HHV-6 در DNA سلولی را دارد و فرد مبتلا به ciHHV-6 ممکن است به اشتباه مبتلا به فرم فعال HHV-6 گزارش شود. لازم به ذکر است که جدایی فرم فعال عفونت HHV-6 از ciHHV-6 حائز اهمیت است. چرا که درمان ضد ویروسی برای HHV-6 شامل داروهای گان سیکلوویر، فوسکارنت و سیدوفوویر است که استفاده از آن‌ها هزینه بر بوده و دارای عوارض جانبی نیز هست (۹۷). بیمارانی که لود HHV-6 در آن‌ها بالاتر از 1×10^6 کپی در هر میلی لیتر خون کامل یا 1×10^4 کپی در هر میلی لیتر پلاسما باشد، احتمالاً به ciHHV-6 مبتلا هستند (۹۸، ۹۹). با این حال مطالعات جدید نشان می‌دهد که استفاده از PCR کمی یا کیفی برای جدایی فرم فعال عفونت HHV-6 از ciHHV-6 کافی نیست (۱۰۰). گزارش مروری از ۲۱ فرد مبتلا به ciHHV-6 نشان داد که پنج نفر از این بیماران به اشتباه مبتلا به فرم فعال عفونت HHV-

موردی از نارسایی قلبی حاد در نوزادی گزارش شد که علت آن با وجود انجام آزمایش‌های مختلف بالینی و آزمایشگاهی از جمله عفونت‌های ویروسی سایتومگالوویروس (CMV) و ایشیتین بار ویروس (EBV)، مشخص نشد. تنها آزمایش مثبت در مورد این نوزاد وجود یک کپی از ژنوم ویروس HHV-6 در تمام سلول‌های وی بود که نشان دهنده ciHHV-6 بود. متأسفانه این نوزاد پس از ۱۶ روز بستری در بیمارستان، فوت کرد (۸۶). مشخص شده است که ciHHV-6 با افزایش خطر میوکاردیت مرتبط است و می‌تواند در کاردیومیوسیت‌ها و دیگر سلول‌ها، تکثیر کند و فعالیت مجدد این ویروس موجب ایجاد علائم بیماری قلبی از جمله آنژین حاد، افزایش آنزیم‌های قلبی و تغییرات ECG در بیماران شود (۸۷). البته تا به امروز، اثر ایتگره شدن ژنوم ویروس

HHV-6 بر ایجاد انواع خاصی از بیماری‌ها، خود به تنهایی به اثبات نرسیده و نیاز به مطالعات بیشتری دارد. در این خصوص پژوهش‌ها نشان می‌دهند که بین طول تلوامریک و ایجاد بیماری قلبی ارتباط موثر وجود داشته و هرچه طول تلوامریک در نتیجه عفونت ciHHV-6 کوتاه‌تر باشد، شانس ابتلا به انواع بیماری‌ها، بیشتر خواهد بود (۵۵، ۸۸، ۸۹). همچنین فعالیت مجدد HHV-6 در حاملان ciHHV-6 می‌تواند منجر به القا پاسخ همورال و سلولار در میزبان شود. (۷۳، ۹۰). بنابراین، ممکن است پاسخ‌های ایمنی میزبان به سلول‌های بیان کننده آنتی ژنهای ویروسی حمله کرده و باعث ایجاد بیماری‌های خود ایمنی شوند (۷۲).

از آنجا که افراد حامل ciHHV-6 دارای حداقل یک کپی از ژنوم ویروس در هر سلول خود هستند، ممکن است آنتی ژن‌های ویروسی در سلول‌های این افراد گاهی بیان شوند و از آنجا که بیشتر افراد نسبت به HHV-6 ایمن بوده و دارای آنتی‌بادی علیه این ویروس هستند، بیان این آنتی ژن‌های ویروسی ممکن است منجر به فعال شدن سیستم ایمنی و آسیب بافتی شود. این آسیب‌های وارد شده، مشابه بیماری‌های خود ایمنی هستند. به ویژه هنگامی که سلول‌های اندوتلیال، آنتی ژن‌های ویروسی را بیان می‌کنند، آسیب به این سلول‌ها می‌تواند منجر به آسیب عروق خونی شده و با گذشت زمان، التهاب مزمن، پلاک و تنگی عروق ایجاد می‌شود (۵۵). در مطالعه استرنجر و همکاران، بیان خود به خودی mRNAها و پروتئین‌های HHV-6 در لوکوسیت‌های جدا

گزارش شده بودند و درمان‌های ضد ویروسی دریافت کرده بودند. در حالیکه علایم بالینی در آن‌ها مشاهده نشده بود. تشخیص غلط اتفاق افتاده به این علت بود که این افراد لود بالایی از ژنوم HHV-6 در نمونه‌های خود که با Real-time PCR آزمایش شده بود نشان داده بودند (۳۹). امروزه تشخیص ciHHV-6 نیاز به تکنیک فلورسنت هیبریدیزیشن (دارد که البته روشی زمان بر بوده و دسترسی به آن آسان نیست. همچنین می‌توان از PCR ژنوم HHV-6 در نمونه‌های فولیکول مو یا ناخن بیماران استفاده کرد (۲۵). همچنین بر اساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ انجام شد، می‌توان از روش Droplet Digital PCR برای تشخیص ciHHV-6 در نمونه‌های سرم استفاده کرد که حساسیت آن ۱۰۰ درصد و اختصاص آن 82 ± 12 است (۹۷).

درمان:

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که درمان‌های ضد ویروسی مانند گان سیکلوویر و فوسکارنت می‌توانند موجب کاهش میزان رونوشت‌های ویروس HHV-6 و کاهش علائم نارسایی قلبی در بیماران حامل ciHHV-6 شود (۸۷). در آینده، با مطالعات بیشتر روی ارتباط بالین و فرم ایتنگره شده از ژنوم ویروس HHV-6، لازم است تا بررسی‌هایی نیز در رابطه با استفاده از ترکیبات ضد ویروسی در کاهش علائم مختلف بیماران یا درمان ciHHV-6 صورت پذیرد (۱۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

همان‌گونه که گفته شد میزان شیوع HHV-6 در جهان بالا بوده و تقریباً ۱۰۰ درصد جمعیت جهان در طول عمر خود حداقل یک بار به این عفونت ویروسی مبتلا می‌شوند. این عفونت ویروسی می‌تواند به حالت عفونت حاد اتفاق افتاد که به دنبال آن، با ایجاد فرم حلقوی از ژنوم ویروس، عفونت وارد فاز نهفته شده و ویروس می‌تواند تا آخر عمر در سلول‌های لنفوسیتی از بدن میزبان باقی بماند. در مطالعات سال‌های اخیر، فرم جدیدی از ژنوم ویروس با نام ciHHV-6 کشف شد که در آن، ژنوم ویروس به حالت ایتنگره شده در نواحی تلومریک از کروموزم‌های مختلف سلول‌های بدن میزبان در می‌آید. شیوع این حالت از ژنوم ایتنگره شده ویروس HHV-6 در جهان حدود یک درصد (یعنی ۵۰ تا ۷۰

میلیون نفر) است. ciHHV-6، بسته به کروموزومی که در آن، پدیده ایتنگره شدن اتفاق افتاده، می‌تواند زمینه‌ساز بیماری‌های مختلفی از جمله بیماری‌های قلبی عروقی باشد. همچنین فعال شدن مجدد این ویروس بعد از ایتنگره شدن در کروموزوم میزبان، می‌تواند موجب ایجاد بیماری‌هایی مشابه بیماری‌های خود ایمنی شود. علاوه بر این مورد، این پدیده تاثیر قابل توجهی بر رد پیوند حاد دارد. ciHHV-6 قابلیت به ارث رسیدن به نسل بعد را نیز داشته که در این صورت ciHHV-6 خوانده می‌شود. برای تشخیص فرم ایتنگره شده از ویروس HHV-6 از فرم حاد عفونت، می‌توان از آزمایش Real-time PCR استفاده نمود. لود ویروس در زمان وجود ciHHV-6 بالاتر از لود ویروس در هنگام ابتلا به فرم حاد عفونت می‌باشد. البته همان طور که گفته شد، این آزمایش به تنهایی نمی‌تواند جهت تایید ابتلا به ciHHV-6 مورد استفاده قرار گیرد. بلکه آزمایش تایید کننده آن، نمونه برداری از فولیکول‌های مو یا ناخن بیماران و جستجوی ژنوم ایتنگره شده ویروس در کروموزوم این نمونه‌ها است که در صورت مثبت بودن جواب، ابتلا به ciHHV-6 مورد تایید قرار خواهد گرفت. در حال حاضر استفاده از درمان‌های ضد ویروسی علیه ciHHV-6 در مبتلایان به بیماری‌های قلبی حامل ciHHV-6، در مواردی می‌تواند موجب کاهش علایم بیماری شود. اما مطالعات بیشتری برای بررسی آثار ترکیبات و داروهای ضد ویروسی روی ciHHV-6 نیاز است تا انجام پذیرد.

تقدیر و تشکر

از کلیه نویسندگان مقالاتی که در این مطالعه از نتایج پژوهش‌های و پژوهش‌های آن‌ها استفاده شد تقدیر و تشکر به عمل می‌آوریم.

منابع

1. Gompels UA, Nicholas J, Lawrence G, Jones M, Thomson BJ, Martin ME, et al. The DNA sequence of human herpesvirus-6: structure, coding content, and genome evolution. *Virology*. 1995;209(1):29-51.
2. Dominguez G, Dambaugh TR, Stamey FR, Dewhurst S, Inoue N, Pellett PE. Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A. *Journal of virology*. 1999;73(10):8040-52.
3. Ablashi D, Agut H, Berneman Z, Campadelli-Fiume G, Carrigan D, Ceccerini-Nelli L, et al. Human

17. Donati D, Akhyani N, Fogdell-Hahn A, Cermelli C, Cassiani-Ingoni R, Vortmeyer A, et al. Detection of human herpesvirus-6 in mesial temporal lobe epilepsy surgical brain resections. *Neurology*. 2003;61(10):1405-11.
18. Jones CM, Dunn HG, Thomas EE, Cone RW, Weber JM. Acute encephalopathy and status epilepticus associated with human herpes virus 6 infection. *Developmental medicine and child neurology*. 1994;36(7):646-50.
19. Dockrell DH, Paya CV. Human herpesvirus-6 and -7 in transplantation. *Reviews in medical virology*. 2001;11(1):23-36.
20. Lusso P, Ensoli B, Markham PD, Ablashi DV, Salahuddin SZ, Tschachler E, et al. Productive dual infection of human CD4+ T lymphocytes by HIV-1 and HHV-6. *Nature*. 1989;337(6205):370-3.
21. Morissette G, Flamand L. Herpesviruses and chromosomal integration. *Journal of virology*. 2010;84(23):12100-9.
22. 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. *Journal of medical virology*. 2007;79(1):45-51.
23. 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*. 2008;122(3):513-20.
24. Gompels UA, Macaulay HA. Characterization of human telomeric repeat sequences from human herpesvirus 6 and relationship to replication. *The Journal of general virology*. 1995;76 (Pt 2):451-8.
25. Ward KN, Leong HN, Nacheva EP, Howard J, Atkinson CE, Davies NW, 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*. 2006;44(4):1571-4.
26. 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. *Journal of medical virology*. 1995;46(3):178-88.
27. 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. *Journal of medical virology*. 2008;80(11):1952-8.
28. 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. *Journal of medical virology*. 1993;40(1):44-52.
29. 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 herpesvirus-6 strain groups: a nomenclature. Springer; 1993.
4. Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science (New York, NY)*. 1986;234(4776):596-601.
5. Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, Takahashi M, Kondo T, Asano Y, et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet (London, England)*. 1988;1(8594):1065-7.
6. Okuno T, Takahashi K, Balachandra K, Shiraki K, Yamanishi K, Takahashi M, et al. Seroepidemiology of human herpesvirus 6 infection in normal children and adults. *Journal of clinical microbiology*. 1989;27(4):651-3.
7. Cameron B, Flamand L, Juwana H, Middeldorp J, Naing Z, Rawlinson W, et al. Serological and virological investigation of the role of the herpesviruses EBV, CMV and HHV-6 in post-infective fatigue syndrome. *Journal of medical virology*. 2010;82(10):1684-8.
8. De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. *Clinical microbiology reviews*. 2005;18(1):217-45.
9. Ablashi DV, Devin CL, Yoshikawa T, Lautenschlager I, Luppi M, Kuhl U, et al. Review Part 3: Human herpesvirus-6 in multiple non-neurological diseases. *Journal of medical virology*. 2010;82(11):1903-10.
10. Yao K, Crawford JR, Komaroff AL, Ablashi DV, Jacobson S. Review part 2: Human herpesvirus-6 in central nervous system diseases. *Journal of medical virology*. 2010;82(10):1669-78.
11. Lusso P, Crowley RW, Malnati MS, Di Serio C, Ponzoni M, Biancotto A, et al. Human herpesvirus 6A accelerates AIDS progression in macaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(12):5067-72.
12. Poffenberger KL, Roizman B. A noninverting genome of a viable herpes simplex virus 1: presence of head-to-tail linkages in packaged genomes and requirements for circularization after infection. *Journal of virology*. 1985;53(2):587-95.
13. Jacob RJ, Morse LS, Roizman B. Anatomy of herpes simplex virus DNA. XII. Accumulation of head-to-tail concatemers in nuclei of infected cells and their role in the generation of the four isomeric arrangements of viral DNA. *Journal of virology*. 1979;29(2):448-57.
14. Takahashi K, Sonoda S, Higashi K, Kondo T, Takahashi H, Takahashi M, et al. Predominant CD4 T-lymphocyte tropism of human herpesvirus 6-related virus. *Journal of virology*. 1989;63(7):3161-3.
15. Lusso P, Malnati M, De Maria A, Balotta C, DeRocco SE, Markham PD, et al. Productive infection of CD4+ and CD8+ mature human T cell populations and clones by human herpesvirus 6. Transcriptional down-regulation of CD3. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1991;147(2):685-91.
16. Yamashita N, Morishima T. HHV-6 and seizures. *Herpes : the journal of the IHMF*. 2005;12(2):46-9.

- integrated human herpesvirus 6A and B genomes indicate emergent infection and new inflammatory mediators. *The Journal of general virology*. 2015;96(Pt 2):370-89.
43. 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*. 2007;45(4):1298-304.
44. Arbuckle JH, Medveczky MM, Luka J, Hadley SH, Luegmayer 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;107(12):5563-8.
45. Kaspersen MD, Larsen PB, Kofod-Olsen E, Fedder J, Bonde J, Hollsberg P. Human herpesvirus-6A/B binds to spermatozoa acrosome and is the most prevalent herpesvirus in semen from sperm donors. *PloS one*. 2012;7(11):e48810.
46. Kaufer BB, Flamand L. Chromosomally integrated HHV-6: impact on virus, cell and organismal biology. *Curr Opin Virol*. 2014;9:111-8.
47. Rotola A, Ravaioli T, Gonelli A, Dewhurst S, Cassai E, Di Luca D. U94 of human herpesvirus 6 is expressed in latently infected peripheral blood mononuclear cells and blocks viral gene expression in transformed lymphocytes in culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(23):13911-6.
48. Thomson BJ, Efstathiou S, Honess RW. Acquisition of the human adeno-associated virus type-2 rep gene by human herpesvirus type-6. *Nature*. 1991;351(6321):78-80.
49. Trempe F, Gravel A, Dubuc I, Wallaschek N, Collin V, Gilbert-Girard S, et al. Characterization of human herpesvirus 6A/B U94 as ATPase, helicase, exonuclease and DNA-binding proteins. *Nucleic acids research*. 2015;43(12):6084-98.
50. Wallaschek N, Gravel A, Flamand L, Kaufer BB. The putative U94 integrase is dispensable for human herpesvirus 6 (HHV-6) chromosomal integration. *The Journal of general virology*. 2016;97(8):1899-903.
51. Engdahl E, Dunn N, Niehusmann P, Wideman S, Wipfler P, Becker AJ, et al. Human herpesvirus 6B induces hypomethylation on chromosome 17p13. 3, correlating with increased gene expression and virus integration. *Journal of virology*. 2017;91(11).
52. Kreilmeier T, Mejri D, Hauck M, Kleiter M, Holzmann K. Telomere transcripts target telomerase in human cancer cells. *Genes*. 2016;7(8):46.
53. Wang C, Zhao L, Lu S. Role of TERRA in the regulation of telomere length. *International journal of biological sciences*. 2015;11(3):316-23.
54. Reig-Viader R, Garcia-Caldes M, Ruiz-Herrera A. Telomere homeostasis in mammalian germ cells: a review. *Chromosoma*. 2016;125(2):337-51.
55. Collin V, Flamand L. HHV-6A/B Integration and the Pathogenesis Associated with the Reactivation of human herpesvirus 6 infection. *Pediatrics*. 2008;122(3):513-20.
30. Daibata M, Taguchi T, Taguchi H, Miyoshi I. Integration of human herpesvirus 6 in a Burkitt's lymphoma cell line. *British journal of haematology*. 1998;102(5):1307-13.
31. 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. *Journal of medical virology*. 2004;73(3):465-73.
32. Osterrieder N, Wallaschek N, Kaufer BB. Herpesvirus Genome Integration into Telomeric Repeats of Host Cell Chromosomes. *Annual review of virology*. 2014;1(1):215-35.
33. Gravel A, Dubuc I, Morissette G, Sedlak RH, Jerome KR, Flamand L. Inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 as a predisposing risk factor for the development of angina pectoris. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112(26):8058-63.
34. Jarrett R, editor. *IciHHV-6 prevalence and disease associations in the generation scotland study*. *Proceedings of the 9th International Conference on HHV-6 and HHV-7*, Boston, MA, USA; 2015.
35. 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 : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2009;9(7):1690-7.
36. Hubacek P, Hrdlickova A, Spacek M, Zajac M, Muzikova K, Sedlacek P, et al. Prevalence of chromosomally integrated HHV-6 in patients with malignant disease and healthy donors in the Czech Republic. *Folia microbiologica*. 2013;58(1):87-90.
37. Leong HN, 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. *Journal of medical virology*. 2007;79(1):45-51.
38. 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. *Journal of medical virology*. 2005;76(4):563-70.
39. Lee SO, Brown RA, Razonable RR. Chromosomally integrated human herpesvirus-6 in transplant recipients. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2012;14(4):346-54.
40. Morissette G, Flamand L. Herpesviruses and chromosomal integration. *Journal of virology*. 2010;84(23):12100-9.
41. Martínez P, Blasco MA. Telomeric and extra-telomeric roles for telomerase and the telomere-binding proteins. *Nature Reviews Cancer*. 2011;11(3):161-76.
42. Tweedy J, Spyrou MA, Hubacek P, Kuhl U, Lassner D, Gompels UA. Analyses of germline, chromosomally

- human herpesvirus 6: questions and answers. Reviews in medical virology. 2012;22(3):144-55.
70. Prusty BK, Krohne G, Rudel T. Reactivation of chromosomally integrated human herpesvirus-6 by telomeric circle formation. PLoS genetics. 2013;9(12):e1004033.
71. Prusty BK, Siegl C, Hauck P, Hain J, Korhonen SJ, Hiltunen-Back E, et al. Chlamydia trachomatis infection induces replication of latent HHV-6. PLoS one. 2013;8(4):e61400.
72. Kawamura Y, Hashimoto T, Miura H, Kozawa K, Yoshikawa A, Ikeda N, et al. Inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 and autoimmune connective tissue diseases. Journal of Clinical Virology. 2020;132:104656.
73. Miura H, Kawamura Y, Hattori F, Kozawa K, Ihira M, Ohye T, et al. Chromosomally integrated human herpesvirus 6 in the Japanese population. Journal of medical virology. 2018;90(10):1636-42.
74. Gravel A, Dubuc I, Morissette G, Sedlak RH, Jerome KR, Flamand L. Inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 as a predisposing risk factor for the development of angina pectoris. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2015;112(26):8058-63.
75. Daibata M, Taguchi T, Nemoto Y, Taguchi H, Miyoshi I. Inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 DNA. Blood. 1999;94(5):1545-9.
76. Clark DA, Nacheva EP, Leong HN, Brazma D, Li YT, Tsao EH, et al. Transmission of integrated human herpesvirus 6 through stem cell transplantation: implications for laboratory diagnosis. The Journal of infectious diseases. 2006;193(7):912-6.
77. Daibata M, Taguchi T, Kubonishi I, Taguchi H, Miyoshi I. Lymphoblastoid cell lines with integrated human herpesvirus type 6. Journal of human virology. 1998;1(7):475-81.
78. Daibata M, Taguchi T, Sawada T, Taguchi H, Miyoshi I. Chromosomal transmission of human herpesvirus 6 DNA in acute lymphoblastic leukaemia. Lancet (London, England). 1998;352(9127):543-4.
79. Watanabe H, Daibata M, Tohyama M, Batchelor J, Hashimoto K, Iijima M. Chromosomal integration of human herpesvirus 6 DNA in anticonvulsant hypersensitivity syndrome. The British journal of dermatology. 2008;158(3):640-2.
80. Troy SB, Blackburn BG, Yeom K, Caulfield AK, 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 : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2008;47(12):e93-6.
81. Barozzi P, Riva G, Vallerini D, Quadrelli C, Lagreca I, Eccheli R, et al. Circulating functional T cells specific to human herpes virus 6 (HHV6) antigens in individuals with chromosomally integrated HHV6. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Chromosomally Integrated HHV-6A/B. Viruses. 2017;9(7).
56. Lautenschlager I, Razonable RR. Human herpesvirus-6 infections in kidney, liver, lung, and heart transplantation. Transplant International. 2012;25(5):493-502.
57. Aoki J, Numata A, Yamamoto E, Fujii E, Tanaka M, Kanamori H. Impact of human herpesvirus-6 reactivation on outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2015;21(11):2017-22.
58. de Lange T. How telomeres solve the end-protection problem. Science (New York, NY). 2009;326(5955):948-52.
59. Sfeir A, de Lange T. Removal of shelterin reveals the telomere end-protection problem. Science (New York, NY). 2012;336(6081):593-7.
60. Henaff D, Radtke K, Lippe R. Herpesviruses exploit several host compartments for envelopment. Traffic (Copenhagen, Denmark). 2012;13(11):1443-9.
61. Gruffat H, Marchione R, Manet E. Herpesvirus Late Gene Expression: A Viral-Specific Pre-initiation Complex Is Key. Frontiers in microbiology. 2016;7:869.
62. Deng H, Dewhurst S. Functional identification and analysis of cis-acting sequences which mediate genome cleavage and packaging in human herpesvirus 6. Journal of virology. 1998;72(1):320-9.
63. Kondo K, Kondo T, Okuno T, Takahashi M, Yamanishi K. Latent human herpesvirus 6 infection of human monocytes/macrophages. The Journal of general virology. 1991;72 (Pt 6):1401-8.
64. Gilbert-Girard S, Gravel A, Artusi S, Richter SN, Wallaschek N, Kaufer BB, et al. Stabilization of Telomere G-Quadruplexes Interferes with Human Herpesvirus 6A Chromosomal Integration. Journal of virology. 2017;91(14).
65. Isegawa Y, Mukai T, Nakano K, Kagawa M, Chen J, Mori Y, et al. Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B. Journal of virology. 1999;73(10):8053-63.
66. Martin ME, Thomson BJ, Honess RW, Craxton MA, Gompels UA, Liu MY, et al. The genome of human herpesvirus 6: maps of unit-length and concatemeric genomes for nine restriction endonucleases. The Journal of general virology. 1991;72 (Pt 1):157-68.
67. Tweedy J, Spyrou MA, Pearson M, Lassner D, Kuhl U, Gompels UA. Complete genome sequence of germline chromosomally integrated human herpesvirus 6A and analyses integration sites define a new human endogenous virus with potential to reactivate as an emerging infection. Viruses. 2016;8(1):19.
68. Thomson BJ, Dewhurst S, Gray D. Structure and heterogeneity of the a sequences of human herpesvirus 6 strain variants U1102 and Z29 and identification of human telomeric repeat sequences at the genomic termini. Journal of virology. 1994;68(5):3007-14.
69. Pellett PE, Ablashi DV, Ambros PF, Agut H, Caserta MT, Descamps V, et al. Chromosomally integrated

- publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2014;20(10):1027-32.
92. Hill JA, Magaret AS, Hall-Sedlak R, Mikhaylova A, Huang M-L, Sandmaier BM, et al. Outcomes of hematopoietic cell transplantation using donors or recipients with inherited chromosomally integrated HHV-6. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2017;130(8):1062-9.
93. Pantry SN, Medveczky MM, Arbuckle JH, Luka J, Montoya JG, Hu J, et al. Persistent human herpesvirus-6 infection in patients with an inherited form of the virus. *Journal of medical virology*. 2013;85(11):1940-6.
94. Endo A, Watanabe K, Ohye T, Suzuki K, Matsubara T, Shimizu N, et al. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency. *Clinical Infectious Diseases*. 2014;59(4):545-8.
95. Gravel A, Hall CB, Flamand L. Sequence analysis of transplacentally acquired human herpesvirus 6 DNA is consistent with transmission of a chromosomally integrated reactivated virus. *The Journal of infectious diseases*. 2013;207(10):1585-9.
96. Ward KN. The natural history and laboratory diagnosis of human herpesviruses-6 and -7 infections in the immunocompetent. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2005;32(3):183-93.
97. Sedlak RH, Cook L, Huang ML, Magaret A, Zerr DM, Boeckh M, et al. Identification of chromosomally integrated human herpesvirus 6 by droplet digital PCR. *Clinical chemistry*. 2014;60(5):765-72.
98. Potenza L, Barozzi P, Torelli G, Luppi M. Translational challenges of human herpesvirus 6 chromosomal integration. *Future microbiology*. 2010;5(7):993-5.
99. Flamand L, Komaroff AL, Arbuckle JH, Medveczky PG, Ablashi DV. Review, part 1: Human herpesvirus-6-basic biology, diagnostic testing, and antiviral efficacy. *Journal of medical virology*. 2010;82(9):1560-8.
100. 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). *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2010;48(1):55-7.
101. Clark D. Clinical and laboratory features of human herpesvirus 6 chromosomal integration. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016;22(4):333-9.
- Microbiology and Infectious Diseases. 2016;22(10):893-5.
82. Morris C, Luppi M, McDonald M, Barozzi P, Torelli G. Fine mapping of an apparently targeted latent human herpesvirus type 6 integration site in chromosome band 17p13.3. *Journal of medical virology*. 1999;58(1):69-75.
83. Ohye T, Kawamura Y, Inagaki H, Yoshikawa A, Ihira M, Yoshikawa T, et al. A simple cytogenetic method to detect chromosomally integrated human herpesvirus-6. *Journal of virological methods*. 2016;228:74-8.
84. Strenger V, Kayser S, Witte K-E, Lassner D, Schwinger W, Jahn G, et al. Individuals with inherited chromosomally integrated human herpes virus 6 (ciHHV-6) have functionally active HHV-6 specific T-cell immunity. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016;22(2):209. e5-. e8.
85. Yagasaki H, Shichino H, Shimizu N, Ohye T, Kurahashi H, Yoshikawa T, et al. Nine-year follow-up in a child with chromosomal integration of human herpesvirus 6 transmitted from an unrelated donor through the Japan Marrow Donor Program. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2015;17(1):160-1.
86. Das BB. A Neonate with Acute Heart Failure: Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6-Associated Dilated Cardiomyopathy. *The Journal of pediatrics*. 2015;167(1):188-92.e1.
87. Kühl U, Lassner D, Wallaschek N, Gross UM, Krueger GR, Seeberg B, et al. Chromosomally integrated human herpesvirus 6 in heart failure: prevalence and treatment. *European journal of heart failure*. 2015;17(1):9-19.
88. Saliques S, Zeller M, Lorin J, Lorgis L, Teyssier JR, Cottin Y, et al. Telomere length and cardiovascular disease. *Archives of cardiovascular diseases*. 2010;103(8-9):454-9.
89. Butt HZ, Atturu G, London NJ, Sayers RD, Bown MJ. Telomere length dynamics in vascular disease: a review. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2010;40(1):17-26.
90. Peddu V, Dubuc I, Gravel A, Xie H, Huang M-L, Tenenbaum D, et al. Inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 demonstrates tissue-specific RNA expression in vivo that correlates with an increased antibody immune response. *Journal of virology*. 2019;94(1).
91. Strenger V, Caselli E, Lautenschlager I, Schwinger W, Aberle SW, Loginov R, et al. Detection of HHV-6-specific mRNA and antigens in PBMCs of individuals with chromosomally integrated HHV-6 (ciHHV-6). *Clinical microbiology and infection : the official*