

Titel proefschrift: Pathogenesis of Rotavirus Infection  
Promotiedatum: 8 Juni 2005

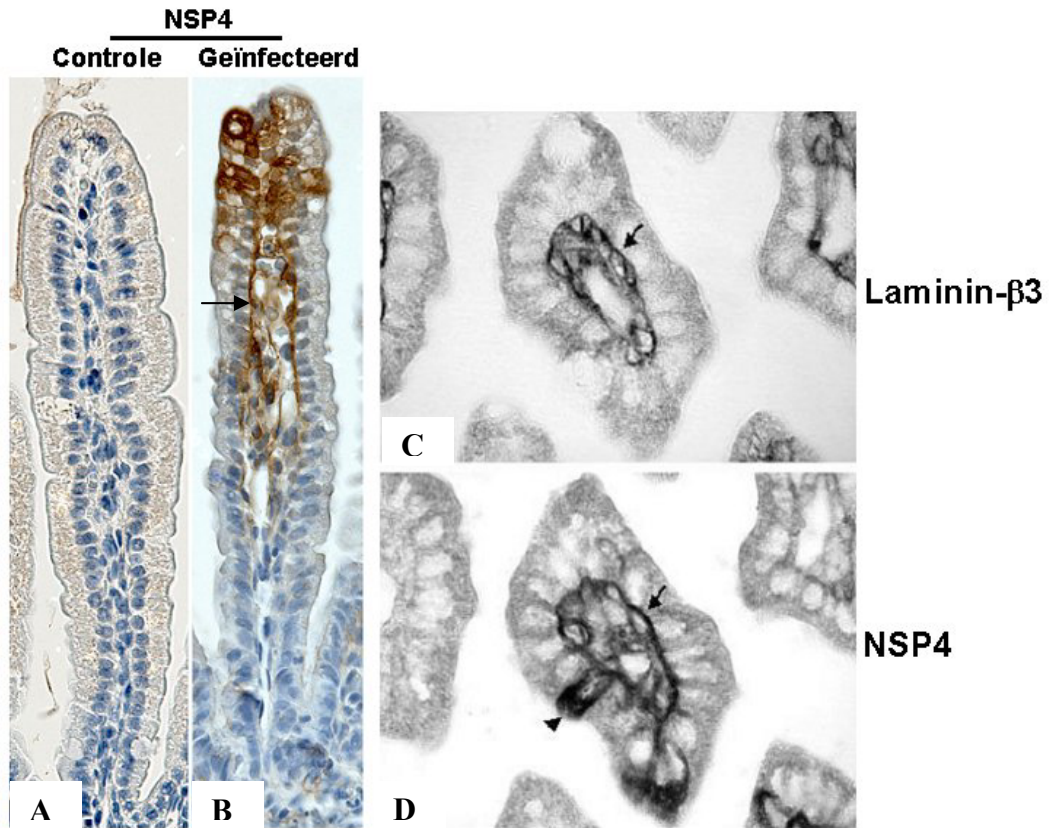
Rotavirussen zijn de belangrijkste veroorzakers van ernstige virale gastro-enteritis en diarree bij de mens. De sterke ziektegerelateerde morbiditeit en mortaliteit maakt het noodzakelijk een beter inzicht te krijgen in het ontstaan van symptomen en het ziekteverloop tijdens een rotavirus infectie. Het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven richt zich met name op verschillende factoren die leiden tot rotavirus geïnduceerde ziekte en symptomen.

Het onderzoek wees uit dat rotavirus voornamelijk de meer gedifferentieerde enterocyten (type darmcel dat betrokken is bij de opname en transport van voedingsstoffen) in de dunne darm infecteert. Tijdens infectie in muizen neemt het aantal apoptotische- en delende enterocyten toe. In enterocyten werd er een sterke afname in expressie gevonden van eiwitten die betrokken zijn bij de opname en het transport van suikers, zouten, vetten en water. De uitschakeling van genexpressie samen met het verlies van gedifferentieerde enterocyten door apoptose, zijn waarschijnlijk verantwoordelijk voor een gebrekkige opname functie van het darmepitheel. Deze gebrekkige opname functie levert vervolgens een belangrijke bijdrage aan het ontstaan van diarree tijdens een rotavirus infectie.

Mucines zijn de belangrijkste component van de slijmlaag die het darmepitheel beschermt. Deze moleculen worden geproduceerd door slijmbekercellen die niet door het rotavirus worden geïnficeerd. In tegenstelling tot de enterocyt-specifieke eiwitten wees het onderzoek uit dat de expressie van mucines toeneemt tijdens infectie en dat de slijmbekercellen, in tegenstelling tot enterocyten, niet massaal in apoptose gaan. De inductie van mucines tijdens infectie bleek ten dele het gevolg zijn van door rotavirus verhoogde niveaus van cyclooxygenase 2 en prostaglandines. Er werd tevens gevonden dat de mucines tijdens infectie posttranslationele veranderingen in de glycosylering en sialylering ondergaan waardoor hun beschermende capaciteit verandert.

Het rotavirus eiwit NSP4 is geïdentificeerd als het eerste virale enterotoxine. NSP4 induceert diarree als het in de buikholte of in de darm van jonge dieren wordt ingespoten. De inductie van diarree door NSP4 is leeftijdsafhankelijk en lijkt in die zin op de leeftijdsafhankelijke diarree veroorzaakt door een rotavirus infectie. In dit promotieonderzoek is onderzocht met welke cellulaire eiwitten NSP4 een interactie aangaat. Die eiwitten spelen mogelijk een rol bij het ontstaan van diarree. Met behulp van de two-hybrid techniek in gist cellen werden twee extracellulaire matrix eiwitten, laminine- $\beta$ 3 en fibronectine gevonden. De interactie van deze twee eiwitten met NSP4 werd bevestigd door co-immunoprecipitatie en co-localisatie in de basale membraan van het darmepitheel in geïnficeerde muizen. De binding van NSP4 aan extracellulaire matrix eiwitten in de basale membraan duidt er op dat NSP4 vrijkomt vanuit de basale kant van geïnficeerde cellen. De beschreven bevindingen wijzen mogelijk op een nieuwe mechanisme waarop rotavirus diarree en ziekte ontstaat.

*Jos Boshuizen*



**Figuur.** Met behulp van de two-hybrid techniek werden twee extracellulaire matrix eiwitten (laminine-beta3 en fibronectine) gevonden die een interactie aangaan met het rotavirus enterotoxine NSP4. Tijdens rotavirus infectie in neonatale muizen werd het NSP4 eiwit met behulp van een specifiek NSP4 antilichaam gedetecteerd in enterocyten op de toppen van de villi (B). NSP4 bevond zich echter niet alleen in geïnfecteerde cellen, maar ook in de basale membraan aan de onderzijde van zowel geïnfecteerde als niet geïnfecteerde epitheelcellen lager op de villi (B, pijl). De interactie van NSP4 met laminine-beta3 werd bevestigd door co-localisatie in de basale membraan van het darmepitheel in geïnfecteerde muizen (C en D).