

TPA로 분화된 U937 세포에서 사람 세포거대바이러스에 의한 *c-jun* Promoter 활성도의 변화

서울대학교 의과대학 미생물학교실 및 의학연구원 감염병연구소,
성균관대학교 의과대학 미생물학 및 면역학교실¹

박정규* · 김대중 · 김진희 · 한태희¹ · 황응수 · 최명식 · 국운호 · 최성배 · 차창룡

=Abstract=

The Change of *c-jun* Promoter Activity in TPA-Induced U937 Cells Infected with Human Cytomegalovirus (HCMV)

Chung-Gyu Park*, Dae-Joong Kim, Jin-Hee Kim, Tae-Hee Han¹, Eung-Soo Hwang,
Myong-Sik Choi, Yoon-Hoh Kook, Sung-Bae Choi and Chang-Yong Cha

*Department of Microbiology, College of Medicine and Institute of Endemic Diseases,
Medical Research Center, Seoul National University, Seoul 110-799, Korea,
Department of Microbiology and Immunology, Sung Kyun Kwan University
College of Medicine, Suwon 440-746, Korea¹*

Transient transfection assay has been done to evaluate whether the *c-jun* activation would be prerequisite to the induction of permissiveness against human cytomegalovirus using in vitro cell model in which U937 has been induced to express CD11b and CD14 to become potential monocyte/macrophage cells by TPA treatment.

U937 cells were treated with 10 μ M, 50 μ M or 100 μ M of TPA. The cell morphology change was observed and the expression of the CD11b and CD14 was confirmed by FACS. Differentiated cells were transfected with pJLuc reporter vector which contained the wild type murine *c-jun* promoter spanning the SP1, CTF, ATF/CREB and MEF-2 binding sites upstream of the firefly luciferase gene. After 48 hrs of transfection, the cells were infected with HCMV Towne strain and the luciferase activity was assessed at 1 h and 4 h pi.

The transfection assay showed no activation of the *c-jun* promoter at 1 h pi, instead, it showed 2 times increase of the its activity at 4 h pi. There was no difference of the *c-jun* promoter activation between TPA treated and untreated U937 cells, implying that *c-jun* activation might not be prerequisite for allowing cells to be permissive to HCMV, although HCMV infection itself could activate *c-jun* promoter.

Key Words: Human cytomegalovirus, *c-jun* promoter, Macrophage, Permissiveness

접수 : 1999년 5월 13일

*Corresponding author: Chung-Gyu Park, Department of Microbiology, Seoul National University College of Medicine, Seoul 110-799, Korea. TEL: (02) 740-8308, FAX: (02) 743-0881, e-mail: chgpark@plaza.snu.ac.kr

서 론

사람 세포거대바이러스 (Human cytomegalovirus, 이하 'HCMV'라 함)에 의한 인체감염은 대부분 불현감염이지만 면역계가 미숙하거나 억제되어 있는 환자에서 심각하고 치명적인 질병을 초래할 수 있다. 태아와 신생아에서 사산, 정신지체, 청각장애 등을 유발할 수 있으며 신장이식이나 골수이식 환자에서 폐렴, 이식장기의 거부반응 등이 일어날 수 있고 후천성면역결핍증 환자에서도 망막염증 및 전신 감염증이 발생할 수 있다. 특히 이 바이러스는 면역 기능을 억제시키는데 바이러스에 감염된 환자의 혈액에서는 활성화 물질에 대한 반응이 저하 [5,13,17] 된 T 세포가 발견되거나 자연살해세포의 숫자가 줄어들거나 [10,18] 시험관내에서의 세포독성 T 세포의 기능이 저하되어 있는 것이 관찰된다 [17]. 그러나 이런 T 세포들은 바이러스에 직접 감염되어 바이러스를 생산하지 않은 상태에서도 면역 기능이 저하되어 있는데 이는 바로 HCMV 감염에 의해서 여러 종류의 단핵구 accessory cell의 기능이 저하되어 있다는 것을 시사한다 [9,15,16].

HCMV로 인한 인체의 질병을 이해하고 예방과 치료를 하기 위해서는 HCMV의 생물학적 특성과 조절 기전을 규명하는 것이 기초가 된다. 특히 HCMV는 다른 바이러스와는 달리 감염시킨 숙주세포의 여러 가지 유전자를 활성화시킨다. 여기에는 대부분 다른 유전자 발현의 조절에 관여하며 특히 세포 주기의 조절에 관련된다고 알려져 있는 [8] 여러 가지 전사조절 인자인 NFκB와 *c-fos*, *c-myc*, *c-jun* 등과 같은 암유전자와 *hsp70* 등이 포함된다 [2,6]. 특히 *c-jun*은 AP-1 complex의 핵심 단백질로 *c-fos*와 heterodimer를 이룬다. AP-1은 여러 세포 유전자의 promoter에 작용하여 그 유전자를 활성화시키는데 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다 [12].

사람 세포거대바이러스는 숙주세포 특이성이 매우 높아 시험관에서는 human embryonal lung cell (HEL cell)에서만 productive infection을 일으키는 것으로 알려져 왔으나 최근의 연구 결과 실제 인체 내에서 단핵구 및 B 세포도 감염을 일으킨다는 사실이 알려졌으며 [20,22] 이러한 세포들이 latent infection의 reservoir 역할을 할 것으로 생각하고 있다 [19,23]. 시험관내에서 단핵구나 B 세포에 감염을

일으켰을 때 세포주에 따라 permissive infection 혹은 abortive infection을 일으킨다. 세포주에 따라 productive infection의 진행을 막는 기전을 밝히는 것은 사람 세포거대바이러스의 초도 감염 및 재발 감염을 막는데 결정적인 단서를 제공할 것이다. 일단 세포내로 침입한 바이러스가 productive infection으로 진행되느냐 abortive infection으로 진행되는냐하는 것은 숙주세포의 세포내 환경과 밀접한 관계가 있을 것이고 이는 직접적으로 세포내의 활성도를 조절하는 기전과 관계가 깊을 것이다.

본 연구자 등은 HCMV에 대해 semi-permissive 하다고 알려진 U937 세포를 TPA를 이용하여 거식세포로 분화시킨 모델에서 HCMV 감염에 의한 *c-jun* promoter 활성화의 변화를 바이러스 감염 후 immediate early, early stage에서 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 세포 배양

Permissive cell line으로 human fetal lung fibroblast, U-373 neuronal oligodendrocytoma를 사용하였다.

Human fetal lung fibroblast는 15~20주된 사태아로부터 폐를 얻어 cold 0.25% Crude-Trypsin을 이용하여 분리한 후 37°C, CO₂ 배양기에서 배양하였다. 이후 세포의 증식을 관찰하여 1/2씩 반분하여 액체질소통에 보관하며 사용하였다.

U-373 cell line은 10% 우태아혈청이 함유된 MEM 배지에 배양하고 U937 cell line은 10% 우태아혈청이 함유된 RPMI 1640 배지에 배양하였다.

2. 바이러스 배양 및 역가 결정

직경 100 mm 평판에 숙주세포를 배양한 후 HCMV Town strain을 접종하고 특징적인 HCMV에 의한 세포병변 효과 (cytopathic effect, 이하 'CPE'라 약함)를 확인하였다. CPE가 확인된 것은 disposable cell scraper (Costar Co., Cambridge, MA)로 세포를 긁어 모아서 Potter Elvehjem Homogenizer (Tri-R Co., Rockville Centre, NY)로 분쇄한 후 -70°C에 보관하였다.

바이러스의 역가 결정은 이미 확인된 단세포균향체를 이용한 플라크 측정법으로 시행하였다. 24 well 배양판에 배양된 태아폐섬유아세포에 준비된 바이러스 배양액을 10계단 계단배 희석하여 접종한 후 상청액을 제거하고 0.8% Gum Tragaca-

nth (Sigma Co., St. Louis, MO)-RPMI 용액을 넣어 주고 2주째 상층을 제거 후 immunoperoxidase법으로 염색하여 염색된 세포수를 측정하였다.

3. TPA induction

배양된 U937 세포를 TPA 처리 24시간 전에 새로운 배지로 교환하고 TPA의 최종 농도가 10 μ M, 50 μ M, 100 μ M이 되게 가하고 37 $^{\circ}$ C, CO₂ 배양기에서 배양하였다. 세포 모양의 변화를 관찰하고 세포 모양이 변형된 경우 새로운 10% 우태아혈청이 함유된 RPMI 1640 배지로 교환하고 계속 배양하였다.

4. 플라스미드

c-jun promoter reporter gene인 pJLuc의 제작을 위해 pJC6 [7]을 사용하였다. pJC6은 *c-jun* promoter의 -225으로부터 +150까지의 sequence가 bacterial chloramphenicol acetyltransferase gene coding sequence와 접합되어 있으며 본 교실에서 보유하고 있다. 실험에 사용된 report plasmid인 pJLuc은 luciferase 유전자의 위쪽에 설치류 *c-jun* promoter의 -225에서 +150이 포함되어 있고 pOFluc은 luciferase 유전자의 위쪽에 -53에서 +42의 *c-fos* basal promoter가 포함되어 있다. Plasmid의 구조는 Figure 1에 표시하였다.

5. Transfection

배양된 U937 세포와 TPA로 분화된 U937 세포를 transfection 하루 전날 새로운 배지로 지름 60 mm 플라스크에 5x10⁵ cells/plate로 맞추었다. 2 μ g의 reporter plasmid, 2 μ g의 internal plasmid를 0.3 ml의 OPTI-MEM으로 부유하고 8 μ l의 Lipofectamine (Gibco BRL, Grand Island, NY)을 동량의 OPTI-MEM으로 부유한 후 두 희석액을 혼합한 후 상온에서 15분간 방치하였다. 세포를 우태아혈청이 포함되지 않은 OPTI-MEM (Gibco BRL) 3 ml로 1회 세척하고 liposome-DNA 혼합액을 최종 부피가 3 ml이 되게 OPTI-MEM으로 희석시키고 세포에 접종하였다. 37 $^{\circ}$ C에서 5시간 배양한 후 최종 농도가 0.2%가 되게 우태아혈청을 가하고 24시간 후 0.2% 우태아혈청이 포함된 MEM으로 배지를 교환하였다. 48시간 후 배지를 제거하고 PBS로 2회 세척한 후 HCMV 바이러스액 및 mock을 가하고 일정한 시간이 지난 후 reporter lysis buffer를 이용하여 세포를 추출하였다. 추출액은 12,500 rpm, 4 $^{\circ}$ C에서

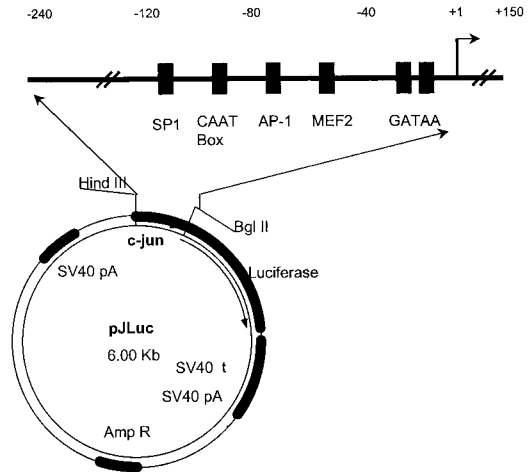


Figure 1. *c-jun* promoter constructs. The positions of binding sites for the transcription factors SP1, CTF, AP-1 like (ATF/CREB), and MEF2 at -117, -92, -72, and -59, respectively, in the *c-jun* promoter are indicated. Two GATAA elements are indicated at -33 and -11. Plasmid pJLuc contains -225 to +150 of the murine *c-jun* promoter upstream of a luciferase gene.

2분간 원침하고 상청액을 취하여 -80 $^{\circ}$ C에 얼려서 보관하며 세포추출액으로 사용하였다.

6. Beta-galactosidase assay

세포추출액 50 μ l당 800 μ l의 Z buffer (0.1 M Tris-Cl, pH 8.0, 100 mM KCl, 1 mM MgSO₄, 0.35% beta-mercaptoethanol)와 160 μ l의 ONPG (4 mg/ml in 0.1 M Tris-Cl, pH 8.0)를 가하였다. Z buffer-ONPG mixture를 가한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 노란색이 나타날 때까지 반응시켰다. 400 μ l의 1 M Na₂CO₃를 가하여 반응을 중지시킨 후 spectrophotometer에서 420 nm 흡광치를 측정하였다.

7. Luciferase assay

세포추출액 20 μ l와 Luciferase reagent (Promega) 100 μ l를 혼합한 후 5초 후 Luminometer (TD-20/20, Turner Designs, Sunnyvale, CA)에서 발광량을 측정하였다.

결 과

1. TPA induction

U937 세포를 10 μ M, 50 μ M, 100 μ M의 TPA로

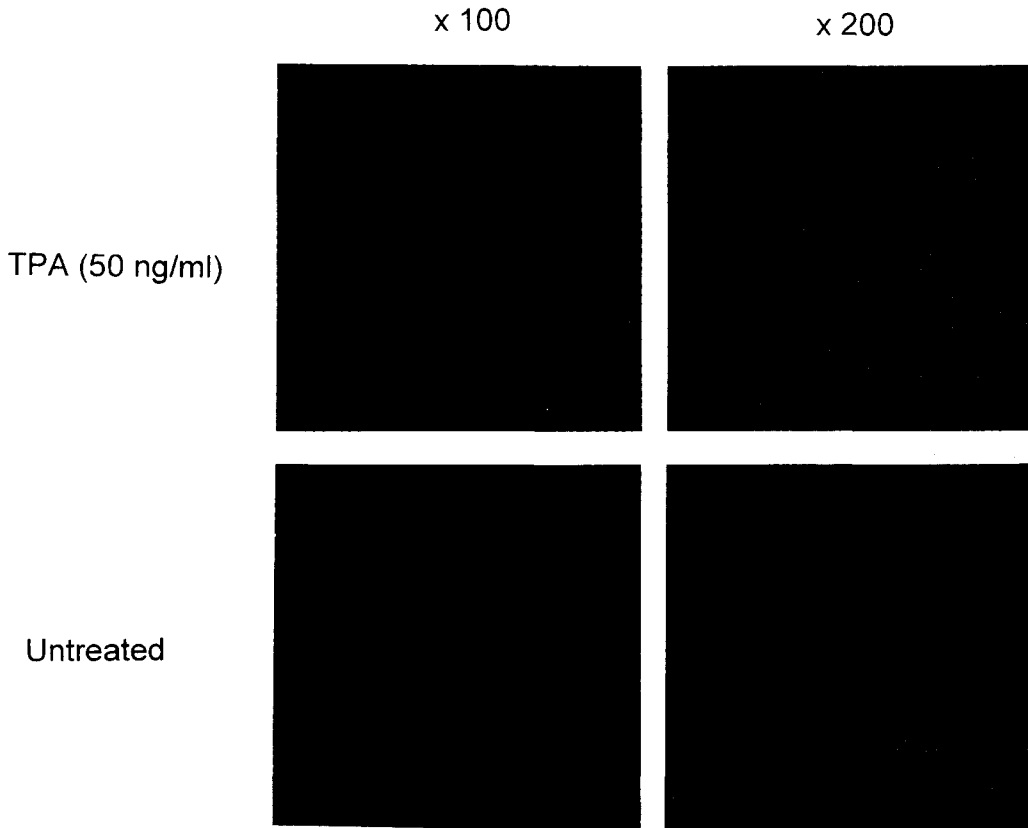


Figure 2. Morphological changes of U937 cells treated with TPA. U937 cells were treated with 10 nM and 50 nM of TPA for 3 days and were observed under the inverted phase contrast microscope on day 7 with the media change on day 3. The arrow indicate the cells showing morphological changes. They showed the characteristics of adherent cells such as low refractileness, rectangular or triangular in shape.

처리했을 때 TPA의 농도에 관계없이 모두 세포 모양의 변형을 보였다. TPA로 처리한 세포와 처리하지 않은 세포의 모양을 위상차 현미경으로 관찰하였다 (Figure 2). TPA로 처리하지 않은 세포들은 5일이 지나도 계속 부유해서 자라며 둥근 모양의 high refractileness (부유 세포의 전형적인 위상차 현미경적 소견)를 보였으나 TPA로 처리한 세포들은 5일이 지난 후부터 플라스크 바닥에 붙어 자라며 길쭉한 모양의 돌기를 보이며 refractileness가 감소되었다. 이는 TPA를 제거해도 계속 모양의 변화를 보여 비가역적인 변화임을 알 수 있었다. 세포 모양의 변화는 transfection assay를 시행하기 전까지 관찰하였다.

세포의 모양 변형이 실제로 분화에 의한 것인지를 알아보기 위해 세포 표면 항원의 변화를 알아보았다. TPA로 처리한 세포를 5일이 지난 후

새로운 10% 우태아혈청이 함유된 RPMI 배지로 교환하고 다시 3일 배양 후 PE labeled anti-CD11b (MAC-1) 및 PE labeled anti-CD14을 이용하여 염색을 시행한 후 FACS 분석을 시행하였다. Figure 3은 FACS 분석 결과인데 TPA로 처리하지 않은 U937 세포들을 같은 농도의 PE labeled anti-CD11b (MAC-1) 및 PE labeled anti-CD14로 염색하여 나타난 비특이적 반응 및 autofluorescence를 제거한 결과이다. 일부의 세포가 높은 intensity로 염색되는 double peak 현상을 보여 TPA 처리에 의하여 CD11b 및 CD14 표면 항원이 유도되었음을 알 수 있었다.

2. *c-jun* promoter 활성도의 변화 관찰

TPA 처리에 의해 세포 모양 및 표면 항원의 변화가 관찰된 세포들을 수거하여 새로운 배지 (10% 우태아혈청이 포함된 RPMI 1640)로 교환하고 2일

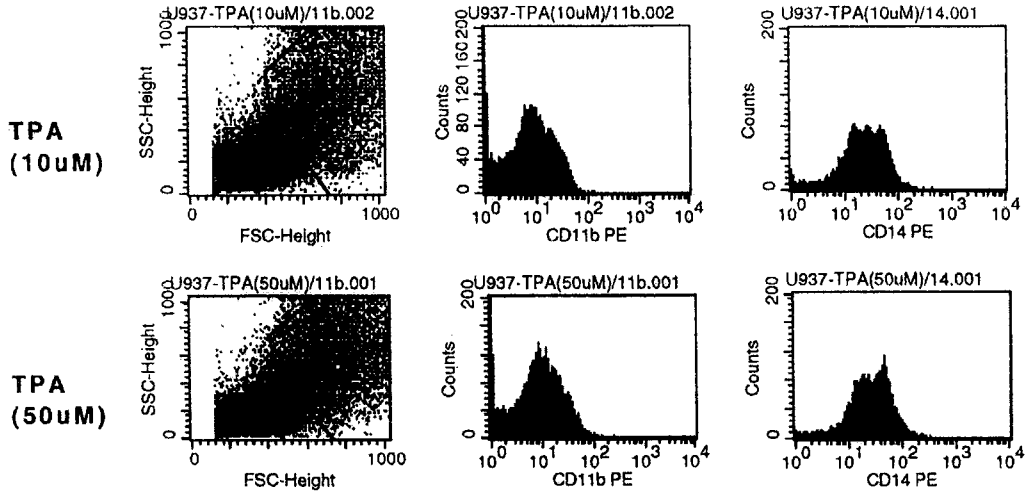


Figure 3. FACS analysis of U937 cells treated with TPA. U937 cells were treated with 10 nM and 50 nM of TPA for 3 days and were subjected to FACS analysis on day 7 with the PE-antiCD11b and PE-antiCD14 antibody as a probe. The intensity level represented the value in which non-specific binding and autofluorescence were already subtracted. 20 to 30% of the cells showed right shift, implying that given percentage of the cells expressed CD11b or CD14 molecules.

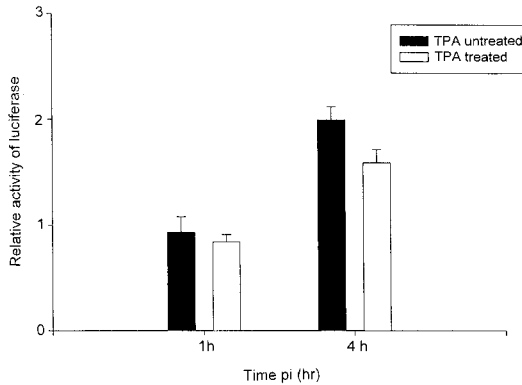


Figure 4. Relative *c-jun* promoter activity in the TPA treated and untreated U937 cells. TPA treated and untreated U937 cells were transfected with pJLuc and pCMV-beta-gal as described in the Materials and Methods. The cells were infected with HCMV Towne strain or mock on 48 hrs after transfection and cell lysates were prepared on 1 and 4 hr pi. The HCMV infection itself could activate the *c-jun* promoter two times higher than the mock infection at 4 hr pi and no difference was found in their relative activity between TPA treated and untreated U937 cells at 1 and 4 hr pi.

배양한 후 transfection 1일 전 다시 새로운 배지로 교환하였다. Transfection은 Lipofectamine을 이용하여 시행하였다. Transfection 48시간 후에 HCMV

Towne주 및 mock을 가하고 1시간, 4시간 후에 세포를 추출하여 beta-galactosidase 및 luciferase assay를 시행하였다. beta-galactosidase assay는 transfection efficiency를 측정하기 위해서 시행하였으며 luciferase assay에서 얻어진 활성도 값은 beta-galactosidase assay에서 얻어진 흡광도 값으로 나누어 transfection efficiency에 따른 값의 차이를 보정하였다.

Figure 4는 TPA를 처리하여 분화를 유도한 U937과 TPA를 처리하지 않은 세포에서 *c-jun* promoter를 transfection시킨 후 HCMV 및 mock을 감염시키고 각각 1시간, 4시간 후에 mock infection과 비교하여 HCMV를 infection시켰을 때 상대적인 luciferase 활성도의 변화를 나타내었다. 감염 후 1시간 후에는 감염 전에 비교하여 luciferase 활성도의 변화가 없었다. 감염 후 4시간 후에는 luciferase 활성도가 2배 정도 증가하였으며 TPA 처리한 세포와 TPA를 처리하지 않은 세포와의 사이에 유의한 차이는 관찰할 수 없었다.

고찰

HCMV에 의한 질환에서 발견되는 세포 변화의 가장 큰 특징 중의 하나는 엄격하게 조절되던 인체 세포의 유전자가 활성화되어 여러 가지 단백질이 계속적으로 생산되어 세포가 커지는 것이

다 [3,4]. 여기에는 여러 가지 세포 유전자를 동시에 활성화시킬 수 있는 transcriptional factor의 하나인 AP-1의 증가가 포함된다 [1]. AP-1은 *c-jun*의 homodimer 혹은 *c-jun*과 *c-fos*의 heterodimer로 구성된다 [11]. 따라서 AP-1 생산의 조절은 *c-jun* 생산의 조절과 밀접한 관계가 있다 [14]. *c-jun* 생산의 조절은 두 가지 기전에 의해 이루어진다. 첫째는 signal transduction pathway를 통하여 JUNK를 활성화시킴으로써 이루어지고 다른 하나는 직접 *c-jun* promoter를 활성화하여 이루어진다. 그 과정에 관계없이 결과적으로 *c-jun* promoter의 활성화가 이루어진다.

U937 세포주는 HCMV에 semi-permissive하다고 알려져 있다. 그러나 이 세포를 TPA로 분화시킨 거식세포 모양 (macrophage like) 세포에서는 바이러스의 progeny 생산이 이루어진다고 알려져 있다 [21]. 즉 permissiveness를 획득한다고 알려져 있다. U937 세포를 10 μ M의 TPA로 처리했을 때 5일이 지난 후 세포 모양의 변화가 관찰되었으며 변화는 거식세포로의 변화와 유사하였다. 이 변화는 비가역적인 것으로 transfection assay 시행까지 10일 이상을 관찰한 경우에도 계속 모양 변화를 유지하였다. 모양의 변화가 세포 표면 항원의 변화와 동반되는지를 anti-CD11b (Mac-1) 항체와 anti-CD14 항체를 이용하여 염색을 시행하였다. TPA를 10 μ M 혹은 50 μ M로 처리한 세포 모두에서 non-specific binding 및 autofluorescence에 의한 형광을 제거하였을 때 약 20~30% 세포가 각각의 항체에 강하게 염색되는 양상을 보였다. 이는 모양 변화가 관찰된 세포 (위상차 현미경상에서 10% 미만) 보다는 %가 조금 높은 것인데 이는 TPA에 의해 표면 항원이 유도된 세포의 일부에서 모양 변화를 보인다는 것을 시사한다. CD11b 및 CD14은 monocyte에서 표현되는 표면 항원으로 위의 결과는 TPA 처리에 의해 적어도 단핵구 형태 혹은 거식세포 형태로 분화되었다는 것을 의미한다. 분화가 유도된 세포들이 실제 거식세포의 기능을 가지는지는 알아보지 않았다.

본 연구는 TPA를 이용하여 분화가 유도되어 permissiveness가 변화된 세포 모델에서 HCMV 감염에 의하여 일어나는 세포 변화, 그 중에서도 핵심이 되는 *c-jun*의 활성화에 차이가 있는지를 transient transfection assay를 통하여 알아본 것이다. 분화가 유도된 세포들을 수거하여 firefly luciferase gene의 upstream에 wild type *c-jun* promoter가 클로

닝되어 있는 reporter vector pLuc을 Lipofectamine을 이용하여 transfection시켰다. Transfection 48시간 후에 moi=1이 되게 HCMV Towne주를 감염시키고 1시간, 4시간 후에 *c-jun* promoter 활성화 정도를 같은 조건에서 mock infection시킨 군과 비교하였다. 대표적인 바이러스 허용세포인 human lung embryonal (HEL) cell에서는 바이러스 감염 후 1시간내에 *c-jun*, *c-fos*, *hsp70*이 활성화되고 이는 감염 후 60분 정도에서 최고치를 나타내며 90분이 지나면 정상치로 회복된다고 알려져 있으며 이는 signal transduction pathway를 통하여 이루어진다고 알려져 있다 [3]. 본 실험에서도 감염 후 immediate early stage인 1시간 후와 signal pathway를 통한 활성화가 정상화되고 난 후인 4시간 후에 바이러스에 semi-permissive한 U937과 potentially permissive한 TPA treated U937 세포에서 바이러스 감염이 *c-jun* promoter를 활성화시킬 수 있는지에 대해 알아 보았다. Mock infection시킨 세포에서의 luciferase activity를 1로 했을 때 상대적인 luciferase activity를 Figure 4에 나타내었다. TPA를 처리하지 않은 세포에서의 *c-jun* promoter activity는 감염 1시간 후에도 변화하지 않았으며 TPA로 처리한 세포에서는 통계적으로 유의하지는 않으나 약간 줄어드는 경향이 있었다. HEL cell에서와 달리 오히려 감염 후 4시간에 *c-jun* promoter activity가 2배 정도 증가했으며 이 증가는 TPA 분화와는 관계가 없었다. 이 사실은 첫째, 적어도 U937 세포와 TPA로 분화된 세포에서는 HEL cell에서와 같은 signal pathway를 통한 활성화는 관찰되지 않으며 둘째, TPA 분화에 의한 permissiveness 변화에 *c-jun*의 활성화가 관여하지 않는다는 사실을 시사한다. 저자 등은 HEL cell에서의 *c-jun* 활성화의 기전에 관한 연구도 진행 중에 있는데 *c-jun* 활성화에는 signal pathway를 통한 활성화 뿐 아니라 de novo synthesized viral protein에 의한 second tier activation이 존재한다는 사실을 확인하였다. 본 연구 결과에서도 *c-jun* promoter activity의 증가가 immediate early stage가 지난 감염 4시간 후에 증가하는 것으로 보아 de novo synthesized viral protein에 의한 증가를 의심해 볼 수 있다.

본 연구를 통하여 HCMV의 permissiveness를 연구할 수 있는 1) U937-TPA 분화 모델을 확립하였으며, 2) U937 세포와 U937-TPA 분화 세포 모두에서 바이러스 감염 후 immediate early stage의 *c-jun* 활성화는 관찰할 수 없었고, 3) 대표적인 per-

missive cell인 HEL cell에서와는 달리 감염 4시간 후에 c-jun promoter의 활성화를 관찰할 수 있었고, 4) TPA 분화에 의한 permissiveness의 변화에 c-jun 활성화가 필요하지 않다는 사실을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 과학재단 특장기초연구 생명과학 (96-0403-03-01-3)의 일부 지원과 1997년도 서울대학교 병원 지정진료연구비 (0219972290)의 일부 지원으로 수행되었음.

참 고 문 헌

- 1) Angel P, Karin M: The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochim Biophys Acta* **1072**: 129-157, 1991.
- 2) Boldogh I, AbuBakar S, Albrecht T: Activation of proto-oncogenes: an immediate early event in human cytomegalovirus infection. *Science* **247**: 561-564, 1990.
- 3) Boldogh I, AbuBakar S, Deng CZ, Albrecht T: Transcriptional activation of cellular oncogenes fos, jun, and myc by human cytomegalovirus. *J Virol* **65**: 1568-1571, 1991.
- 4) Boldogh I, Fons MP, Albrecht T: Increased levels of sequence-specific DNA-binding proteins in human cytomegalovirus-infected cells. *Biochem Biophys Res Commun* **197**: 1505-1510, 1993.
- 5) Carney WP, Hirsch MS: Mechanisms of immunosuppression in cytomegalovirus mononucleosis. II. Virus-monocyte interactions. *J Infect Dis* **144**: 47-54, 1981.
- 6) Hagemeyer C, Walker SM, Sissons PJ, Sinclair JH: The 72K IE1 and 80K IE2 proteins of human cytomegalovirus independently transactivate the c-fos, c-myc and hsp70 promoters via basal promoter elements. *J Gen Virol* **73**: 2385-2393, 1992.
- 7) Han TH, Lamph WW, Prywes R: Mapping of epidermal growth factor-, serum-, and phorbol ester-responsive sequence elements in the c-jun promoter. *Mol Cell Biol* **12**: 4472-4477, 1992.
- 8) Herschman HR: Primary response genes induced by growth factors and tumor promoters. *Annu*

Rev Biochem **60**: 281-319, 1991.

- 9) Kapasi K, Rice GP: Cytomegalovirus infection of peripheral blood mononuclear cells: effects on interleukin-1 and -2 production and responsiveness. *J Virol* **62**: 3603-3607, 1988.
- 10) Kapasi K, Rice GP: Role of the monocyte in cytomegalovirus-mediated immunosuppression in vitro. *J Infect Dis* **154**: 881-884, 1986.
- 11) Karin M, Liu Z, Zandi E: AP-1 function and regulation. *Curr Opin Cell Biol* **9**: 240-246, 1997.
- 12) Karin M: The regulation of AP-1 activity by mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* **270**: 16483-16486, 1995.
- 13) Levin MJ, Rinaldo, Jr. CR, Leary PL, Zaia JA, Hirsch MS: Immune response to herpesvirus antigens in adults with acute cytomegaloviral mononucleosis. *J Infect Dis* **140**: 851-857, 1979.
- 14) Minden A, Lin A, Claret FX, Abo A, Karin M: Selective activation of the JNK signaling cascade and c-Jun transcriptional activity by the small GTPases Rac and Cdc42Hs. *Cell* **81**: 1147-1157, 1995.
- 15) Moses AV, Garnett HM: The effect of human cytomegalovirus on the production and biologic action of interleukin-1. *J Infect Dis* **162**: 381-388, 1990.
- 16) Rodgers BC, Scott DM, Munding J, Sissons JG: Monocyte-derived inhibitor of interleukin 1 induced by human cytomegalovirus. *J Virol* **55**: 527-532, 1985.
- 17) Schrier RD, Oldstone MB: Recent clinical isolates of cytomegalovirus suppress human cytomegalovirus-specific human leukocyte antigen-restricted cytotoxic T-lymphocyte activity. *J Virol* **59**: 127-131, 1986.
- 18) Schrier RD, Rice GP, Oldstone MB: Suppression of natural killer cell activity and T cell proliferation by fresh isolates of human cytomegalovirus. *J Infect Dis* **153**: 1084-1091, 1986.
- 19) Soderberg C, Larsson S, Bergstedt Lindqvist S, Moller E: Definition of a subset of human peripheral blood mononuclear cells that are permissive to human cytomegalovirus infection. *J*

- Virol* **67**: 3166-3175, 1993.
- 20) **Stoddart CA, Cardin RD, Boname JM, Manning WC, Abenes GB, Mocarski ES**: Peripheral blood mononuclear phagocytes mediate dissemination of murine cytomegalovirus. *J Virol* **68**: 6243-6253, 1994.
- 21) **Turtinen LW, Seufzer BJ**: Selective permissiveness of TPA differentiated THP-1 myelomonocytic cells for human cytomegalovirus strains AD169 and Towne. *Microb Pathog* **16**: 373-378, 1994.
- 22) **von Laer D, Serr A, Meyer Konig U, Kirste G, Hufert FT, Haller O**: Human cytomegalovirus immediate early and late transcripts are expressed in all major leukocyte populations in vivo. *J Infect Dis* **172**: 365-370, 1995.
- 23) **Waldman WJ, Knight DA, Huang EH, Sedmak DD**: Bidirectional transmission of infectious cytomegalovirus between monocytes and vascular endothelial cells: an in vitro model. *J Infect Dis* **171**: 263-272, 1995.
-