

Kan Yoluyla Bulaşan Farklı Bir Viral Etken; İnsan Pegivirüs

A Different Blood Borne Viral Agent; Human Pegivirus

Ferhat Gürkan Aslan¹, Havva Ünal¹, Mustafa Altındış¹

¹ Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

Özet

İnsan pegivirüsü (HPgV; eskiden GB virus C/hepatitis G virus olarak adlandırılmıştır) Flaviviridae ailesi içerisinde sınıflandırılan bir RNA virüsüdür. HPgV, Hepatit C virüsüne (HCV) benzer şekilde tek sarmal pozitif iplikçikli RNA genomuna sahiptir. Dünya genelinde 750 milyon kişinin aktif olarak enfekte olduğu, 750 milyon-1.5 milyar arasında kişinin ise enfeksiyondan etkilenmiş olduğu tahmin edilmektedir. Karaciğer biyopsilerinde HPgV RNA'sı saptanmış olmakla birlikte hepatitle ilişkisi bulunmamıştır. Dalak, kemik iliği, serebraspinal sıvısı (CSF), PBMC, T ve B lenfositlerde de virüs saptanmıştır. Persistan enfeksiyonların %25'i kalıcı hale gelmekte, %75'inde ise enfeksiyonun 2 yılı içinde viremi sonlanmaktadır. Ayrıca HPgV viremisinin oranı, kanla ya da cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlara sahip insanlar arasında daha yüksektir. HPgV bulaşı, enfekte kana maruziyet, cinsel maruziyet veya anneden bebeğe geçiş ile olmaktadır. HPgV'nin herhangi bir insan hastalığı nedeni olduğu kanıtlanmamış olmasına rağmen; bazı çalışmalarda HPgV viremi ile non-Hodgkin lenfoma riskinin artışı arasında bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Bu derlemede HPgV ile ilgili mevcut verilerin gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Pegivirus, Hepatit, GBV-C

Abstract

Human pegivirus (HPgV) is classified in the Flaviviridae family of RNA viruses and it was previously named as GB virus C/hepatitis G virus. HPgV has single-stranded positive strand RNA genome similar to Hepatit C virus (HCV). It is estimated that 750 million people are infected throughout the world and 750 million-1.5 billion people are affected. HPgV RNA is detected in liver biopsies whereas it is not associated with hepatitis. There is also no virus detected in Spleen, bone marrow, cerebrospinal fluid (CSF), PBMC, T and B lymphocytes. Almost 25% of the persistent infections become permanent and viremia is terminated in 75% of them. Furthermore, the HPgV viremia is higher in individuals who have blood or sexually transmitted infections. HPgV infection occurs through exposure to infected blood or transmission from mother to the baby. Even though HPgV has not yet been shown as a cause for a human disease, the relationship between HPgV viremia and non-Hodgkin lymphoma has been shown in some studies. In this study, we aim to review the literature about HPgV viremia.

Keywords: Pegivirus, Hepatitis, GBV-C

Giriş

İnsanları enfekte ettiği bilinen Hepatit C virüs (HCV) ve insan pegivirüs (HPgV, önceden GB virüs C/GBV-C olarak bilinirdi) Hepacivirus ve Pegivirus ailesindedir. HCV dünya nüfusunun yaklaşık olarak %3'ünü enfekte etmekte olup siroz, hepatoselüler karsinom ve transplantasyon gerektirecek şekilde karaciğer hasarına yol açmaktadır¹. HCV'nin aksine HPgV enfeksiyonunun patojenik olmadığı düşünülmele birlikte kan yoluyla bulaşan ajanlara maruziyet riski yüksek toplumlardaki prevalansı %40'ın üstünde olabilmektedir².

Yeni hayvan hepacivirüsleri ve pegivirüsleri daha önce birçok hayvanda (yarasalar, kemirgenler, inekler ve atlar) bulunmuştur. HCV ve GBV-B gibi Hepacivirüsler'in hepatit ajanları oldukları belirlenirken, pegivirüsler gibi virüslerin sınıflandırılması için belirlenen geleneksel kriterler filogenetik akrabalık, konakçıda persistan enfeksiyon ve belirgin bir patojeniteye neden olmamayı içermektedir. Buna karşın, Theiler hastalığı ile ilişkili virüsün (EPgV-TDAV) keşfi (atlarda akut hepatit salgını ile ilişkilendirilen yeni bir pegivirüs) bu genel sınıflandırmaya ters düşmektedir ve en az bir Pegivirus cinsinin konakçı hayvanda hepatite neden olabileceğini göstermektedir³.

Virolojik Özellikler

İnsan Pegivirüsü (HPgV) Flaviviridae ailesi⁴ içerisinde sınıflandırılan bir RNA virüsüdür. Virüs aslen hepatit G virüsü (HGV) ya da GB virüs tip C (GBV-C) olarak adlandırılmıştır. "GB" harfleri, akut hepatit geçiren ve serumunun yeni dünya maymunlarında (ipek maymunu) hepatite neden olduğu bildirilen cerrahın adının baş harflerini temsil etmektedir⁵. Sonraki çalışmalarda bu virüsün hepatite neden olmadığı belirlenmiş ve cerrahın (G.B.) da HPgV ile enfekte olduğuna dair direkt bir kanıt bulunamamıştır. Bu nedenle virüs (HGV yada GBV-C) bazı primat ve yarasa virüsleri ile birlikte (GBV-A, GBV-Cczp, GBV-D), yeni bir cinse (Pegivirus) dahil edilmiş ve İnsan Pegivirusu (HPgV) olarak yeniden adlandırılmıştır⁴. HPgV, Hepatit C virüsüne (HCV) benzer şekilde düzenlenmiş, 9.4 kb tek sarmal pozitif iplikçik RNA genomuna sahiptir. HPgV ve HCV, RNA virüslerinde alışılmışın dışında olarak, immünokompetan kişilerde genellikle persistan enfeksiyona neden olurlar⁶.

Patogenez ve Hücresel Tropizm

HCV ile genom organizasyonu ve amino asit homolojisindeki benzerliklere dayanarak çoklu tutunma ve giriş reseptörlerinin HPgV

girişi ile ilgili olması muhtemeldir. HCV düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü (LDLr), radikal temizleyici reseptör B sınıfı tip I, CD81, claudin-1, occludin, dendritik hücreye özgü hücreler arası adhezyon molekül-3, sinyal dönüştürücü Harvey fare sarkoma viral onkojen homologu, Niemann-Pick C1-like 1 ve transferrin reseptör 1 dahil birçok in vitro reseptör kullanır⁷. HPgV girişi hakkında bilinenlerin az olmasına rağmen, önceki çalışmalar LDLr'nin HPgV ve HCV girişi ile ilişkili olduğunu desteklemektedir^{8,9}. Bununla uyumlu olarak, plazmadaki HPgV RNA, eksozomların özelliklerini ortaya koyan lipid bağlantılı mikroveziküller dahil lipitlerle ilişkilidir¹⁰. İnsan hücreleri üzerindeki LDLr'nin genel dağılımı göz önünde bulundurulduğunda, lipid bağlantılı virüs ve/veya serum mikrovezikülleri alımı LDLr'ünü gerektirebilir¹¹. Etkili in vitro replikasyon sistemleri bulunmadığından dolayı HPgV yaşam döngüsü üzerinde detaylı çalışmalar gerçekleştirilememiştir. Bununla beraber, HCV ile ilgili bilgilere dayanarak, viral ve hücrel membranların füzyonu ile endozomal vezikülün girişi sonrasında asidifikasyonu viriondaki üç boyutlu yapı değişikliğine yol açtığı tahmin edilmektedir⁶.

HPgV, başlangıçta A, B, C dışı hepatiti olan insanlarda tanımlanmasına bağlı olarak hepatotropik olarak düşünülmüş ve erken dönem çalışmalarda karaciğer biyopsilerinde HPgV RNA'sına rastlanmıştır. Ancak devam eden epidemiyolojik çalışmalar akut ya da kronik hepatit ile nihai bir ilişki bulmak konusunda başarısız olmuş, bununla birlikte dalak, kemik iliği, serebraspinal sıvısı (CSF), PBMC, T ve B lenfositlerde de virüs saptanmıştır¹².

Virüsün karaciğer dokusundaki replikasyonunu kanıtlamaya yönelik çalışmalar yapılmış ve HPgV RNA karaciğer dokusunda gösterilmiş olsa da hepatositlerde viral replikasyonun olduğuna dair kanıtlar ya yetersiz ya da sonuçsuz kalmıştır. Üstelik, HPgV RNA'sının ortalama karaciğer/serum oranı <1.0 olup karaciğer dokusunun serum kontaminasyonu ile bağlantılıdır¹²⁻¹⁵.

GBV-A, GBV-A-benzeri ajanlar ve GBV-C/HGV virüsleri enfekte konakçıların karaciğerinde düşük ya da saptanamayacak düzeylerde. Virüslerin daha çok dolaşımdaki lenfositlerde saptanmış olması GBV-A ve GBV-C'nin hepatotropik değil, lenfotropik olduğunu desteklemektedir. HCV ve GBV-B replikasyonu hepatosit orijinli kültüre edilmiş hücrelerde daha optimal şekilde gerçekleşirken, GBV-C/HGV replikasyonu CD4 ve CD8 pozitif T lenfositler ve B lenfositleri içeren PBMC'lerde daha sıklıkla gerçekleşmektedir. Hücre kültüründe GBV-A veya GBV-D replikasyonu gösterilmemiş-

tir. Bu virüslerin tropizmleri ile uyumlu olarak, hem HCV hem de GBV-B'nin her ikisi de hepatit ile ilişkilidir fakat GBV-A ve GBV-C/HGV'nin klinikte ve deneysel çalışmalarda hepatit ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. GBV-D ile ilgili deneysel çalışma mevcut değildir, fakat GBV-D virüsü ile enfekte olan yarasaların serumlarında karaciğer enzim değerlerinde farklılık gözlenmemiştir⁵.

HPgV RNA'sının serumda yüksek konsantrasyonlarda ve karaciğerde orta düzeyde olmasına rağmen, özellikle HCV-HPgV koenfeksiyonu olan kişilerin karaciğer dokularında HCV RNA seviyeleri tutarlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Karaciğer transplantasyonunu takiben, HPgV serum RNA seviyeleri HCV RNA seviyelerinden farklı olarak anlamlı düzeyde azalmamıştır. Benzer olarak, aktif virüs replikasyonunun göstergesi olan HPgV negatif iplikli RNA karaciğer örneklerinde rastlanmamıştır ve bazı kişilerin kemik iliği ve splenik dokularında saptanmıştır¹⁶.

Lenfotropizme uygun olarak, HPgV RNA, HPgV enfekte kişilerin PKMH'lerinde saptanmış ve virüs replikasyonu sağlıklı verici PKMH'lerinin enfeksiyonunu takiben ve ex vivo kültürde HPgV enfekte insanlardan elde edilen PKMH'lerde gözlenmiştir¹⁷. Yakın zamanda yapılmış çalışmalar, HPgV/HIV ile enfekte olan kişilerde HIV enfekte olmayan kişilerle karşılaştırıldığında T hücre aktivasyonunda ve proliferasyon belirteçlerinde azalma olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar HPgV'nin tercihen naif T hücrelerinde replike olabileceğini desteklemektedir. Buna ilaveten, NK hücrelerinin ve B hücrelerinin üzerindeki aktivasyon belirteçleri HPgV/HIV enfekte kişilerde azalmıştır ve HPgV büyük olasılıkla in vivo koşullarda ilave diğer immün hücre tiplerinin aktivasyonunu değiştirmektedir^{17,18}.

Epidemiyoloji

HPgV, persistan enfeksiyon gelişiminde HCV kadar etkili olmasa da tahminen enfeksiyonların %25'i kalıcı hale gelmekte, diğer %75'inde ise enfeksiyonun 2 yılı içinde viremi sonlanmaktadır. Gelişmiş ülkelerdeki sağlıklı kan donörlerinin kesitsel serum araştırmalarında HPgV viremisinin yaygınlığı %1 ila %5 arasında iken gelişmekte olan ülkelerdeki kan donörlerinin %20'si aktif enfeksiyona sahiptir. Ayrıca HPgV viremisinin oranı, kanla ya da cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlara sahip insanlar arasında daha yüksektir. Kesitsel prevalans verilerine dayanarak, dünya çapında HPgV viremisine sahip yaklaşık 750 milyon insan bulunmaktadır. Anti-HPgV antikorları aktif enfeksiyon sırasında genellikle saptanmaz, ancak viral klirensini takiben zarf glikoprotein E2'ye karşı antikorlar

meydana gelir ve enfeksiyona karşı kısmi koruma sağlarlar. Bu E2 antikorları önceki enfeksiyonun göstergesi olmakla birlikte, zaman içerisinde antikor seviyeleri düşerek saptanamaz seviyelere gelebilir. Sağlıklı kan donörlerinin, gelişmiş ülkelerde %12-20 oranında, gelişmekte olan ülkelerde ise daha yüksek oranlarda HPgV E2 antikoruna sahip olması 1.5-2.5 milyon kişinin enfekte olduğunu ya da enfeksiyonu geçirmiş olduğunu göstermektedir^{6,20}. Bu durum bu virüsü insan viromuna büyük katılımcı yapar. Dolayısıyla HPgV, enfeksiyon oranlarını, sağlıklı bireylerde sıklıkla bulunan papillomaviruslar, herpesviruslar ve Torque teno virüsleri (TTV) dahil olmak üzere bir çok virüsle paylaşır²¹.

HPgV bulaşı, enfekte kana maruziyet, cinsel maruziyet veya aneden bebeğe geçiş ile olmaktadır²¹. HPgV'nin herhangi bir insan hastalığına neden olduğu kesin olarak gösterilememiş olmasına rağmen; bazı çalışmalarda HPgV viremi ile non-Hodgkin lenfoma riskinin artışı arasında bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir^{19,22-25}. Buna karşılık HPgV HIV enfeksiyonunda yararlı etkiler ile ilişkilendirilmektedir. Çok sayıda çalışma ve bir meta-analiz, HIV enfekte bireylerin sağ kalımının HPgV viremi olanlarda HPgV viremi olmayanlara göre uzadığını bulmuştur^{26,27}. Son bir çalışmada HIV enfekte kişilerde transfüzyon ile ilgili HPgV enfeksiyonunun, bu kişilerde hayatta kalıma yararı olduğu doğrulanmıştır²⁸.

Kronik diyaliz hastalarında viral hepatitle oldukça sık karşılaşıldığı önceden beri bilinmektedir. HPgV olarak isimlendirilmeden önce yapılan çalışmalarda, HGV riskinin hemodiyaliz (HD) hastalarında artmış olduğu, buna karşın sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) hastalarının hepatitler açısından hemodiyaliz (HD) hastalarına göre daha düşük risk altında oldukları bildirilmiştir²⁹⁻³¹. Bununla birlikte HIV taşıyıcılarında, hemofili ve talesemi hastalarında, böbrek, karaciğer ve kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalarda da HGV görülme sıklığının daha fazla olduğu gösterilmiştir^{32,33}. Yapılan araştırmalarda HGV RNA pozitif hemodiyaliz hastalarının daha uzun zamandır tedavi almakta oldukları ve çoğunda kan transfüzyonu öyküsü olduğu tespit edilmiştir³⁴.

Kalıcı ve Humoral Bağışıklık

HPgV'un in vitro üretiminin zayıf olmasından dolayı, viral persistans ve virüsün konakçı ile nasıl etkileşeceği hakkında birçok cevaplanmamış soru bulunmaktadır. Birçok akut viral enfeksiyon, enfeksiyonu temizleyen ve tekrarlayan enfeksiyona karşı konakçı direnci bırakan immünojenik bellek ile sonuçlanan sterilize edici T

ve B hücre immün yanıtlarına neden olur. Hepatit C ve HPgV gibi sitoplazmik RNA virüslerinin immün klirensden nasıl kurtulduğu tam bilinmemektedir. HCV için; zarf (E2) proteini üzerindeki iki çok değişken bölgenin varlığı, immünobaskın T hücre epitoplarnın mutasyonu, kalıtsal ve adaptif immün yanıtlarda azalmaya yol açan hücre içi sinyal yolları ile bazı HCV proteinlerinin etkileşimi ve T hücre tükenmişliğine yol açan T hücrelerinin kronik uyarımı gibi immün kaçışa katkıda bulunan bazı viral mekanizmalar ileri sürülmüştür. Buna karşılık HPgV kapsid proteinleri çok değişken bölgeye sahip değildir, virüs persistan enfeksiyonu olan konakçılarda, T hücre epitoplarnı olduğu tahmin edilen protein bölgelerinde, sınırlı sekans değişkenliği sergiler ve T hücre aktivasyonunda azalma ve tükenmişlik ile ilişkilendirilmektedir^{6,35-37}.

GBV-C/HGV ile enfekte immünkompetan kişilerin çoğunluğunda enfeksiyon 2 yıl içinde temizlenmektedir. Genellikle enfeksiyon süresince devam eden ve viremi boyunca farklı viral proteinler için antikorların elde edilmesini sağlayan HCV'den farklı olarak, GBV-C/HGV antikorları genel olarak viremi sırasında saptanmazlar⁵. Bununla birlikte bazı çalışmalarda anti-GBV-C/HGV peptid reaktivitesi tayini rapor edilmiştir^{38,39}. GBV-C/HGV viremi temizlendikten sonra, çoğu kişide zarf glikoproteini E2'ye karşı konformasyon bağımlı antikor gelişir ve böylece E2 antikorunu önceki enfeksiyonun göstergesidir. Anti-GBV-C/HGV antikorların tayini viremiden temizlenme sırasında tesadüfen olur ve E2'ye sınırlı olduğu görülmektedir. Bu sonuç insanda E2 antijenik bölgesinin immüdominant olduğunu desteklemektedir⁴⁰. Ayrıca, HCV ve GBV-C/HGV partikülleri yüksek konsantrasyonda lipid içerdiklerinden çok düşük yoğunluğa sahiptirler. Bu virüs ilişkili lipidler HCV ve GBV-C/HGV nötralizasyon epitoplarnını maskelerler ve viral sürekliliğe katkıda bulunurlar. Fakat bu durum, insanların GBV-C/HGV enfeksiyonlarında mevcutken yapısal olmayan (NS) proteinlere karşı antikor geliştirme yetersizliğini açıklamaz ve virüslerin hümmoral immün yanıt ile etkileşimde olduğunu gösterir⁵.

Konakçı Çeşitliliği

Genom organizasyonundaki benzerlikler ve homolog proteinlerin varlığına rağmen, HCV, GBV-A, GBV-B, GBV-C/HGV ve GBV-D arasında spesifik konakçı farklılıkları mevcuttur. GBV-A ve GBV-B Yeni Dünya primatlarını enfekte ederken HCV ve GBV-C/HGV Eski Dünya primatlarını enfekte eder. Şempanzelerdeki deneysel enfeksiyon modelleri iyi raporlanmış olmasına karşın, özellikle doğal HCV enfeksiyonu insanlarla sınırlıdır⁴¹. İnsanlar ve şempanzelerde-

ki GBV-C/HGV ile olan doğal enfeksiyon ya da bağışıklık iyi dokümanite edilmiştir ve şempanzelerden (GBV-Ccpz ya da GBV-Ctro) elde edilen izolatların sekansları insan GBV-C/HGV'lerinden farklı bir filogenetik grup meydana getirmiştir⁴². Az sayıda çalışmada HCV ve GBV-C/HGV'nin Eski Dünya maymunlarının bazılarını enfekte edebildiği gösterilmiş olsa da, HCV deneysel enfeksiyonu için ve insan GBV-C/HGV enfeksiyonu için olan konakçı aralığı insanlar ve şempanzelerle kısıtlıdır. Bu sonuç tartışmalı olup başka hiçbir laboratuvarında makakların ne HCV ne de GBV-C/HGV ile enfekte olabildiği gösterilmemiştir. Bu nedenle, insanlar ve şempanzeler dışındaki başka organizmaların HCV ya da GBV-C/HGV enfeksiyonuna yatkın olup olmadığı netleştirilmiş bir konu değildir⁴³⁻⁴⁵.

Tersine, GBV-A ve GBV-B benzeri varyantların doğal konakçıları en az altı Yeni Dünya maymun türünü içerir. Bunlar; Saguinus türleri (Saguinuslabiatus, Saguinusmystax, Saguinusnigricollis and Saguinusoedipus), Callithrix türleri (Callithrix jacchus) ve Aotus türlerinden (Aotustrivirgatus) oluşmaktadır. Farklı konak türlerinden izole edilen GBV-A'nın, 5' translyona uğramayan bölgesinin (NTR) ve NS3 helikaz sekanslarının farklı gruplarda toplandığı görülmüştür ve bu durum virüslerin normal konakçılarına özel olduğunu göstermektedir⁴⁶. Buna karşın, GBV-B için spesifik doğal bir konakçı tespit edilmemiştir. Tamarinlerde ve aotus maymunlarında deneysel GBV-B enfeksiyonu gerçekleştirilmiştir fakat şempanzelerde deneysel inokülasyon viral replikasyonla sonuçlanmamıştır⁴⁷. GBV-B'nin doğal konakçısının belirlenmesi, kısa süreli viremi ve geçirilmiş enfeksiyonların saptanması için güvenilir serolojik metodların olmamasından dolayı karmaşık bir olaydır. Alternatif olarak, tamarinler GBV-B'nin doğal konakçısı olmayabilir ve virüs gerçekten de alternatif doğal bir konakçıda kalıcı enfeksiyon oluşturabilme yetisine sahip olabilir. GBV-D sadece bir yarasa türünde gösterilmiştir⁴⁸.

Sonuç

HPgV ve bununla yakın ilişkili HCV, immünkompetan bireylerde genellikle persistan enfeksiyona neden olduklarından sıradışı RNA virüslerindedir. Bu virüsler sırasıyla, konakçı immün yanıtını baskılayarak engellenmiş antiviral işlevsellik durumunu uzatan, dolayısıyla viral persistansa olanak sağlayan mekanizmalara sahiptirler. Viral persistansa katkıda bulunabilen konakçı genetik faktörleri bilinmemektedir ve daha ileri çalışmaları gerektirmektedir. HPgV'un diğer virüslerle birlikte immün hücreler üzerindeki etkilerinin anlaşılması diğer virüslerin konakçı immün yanıtından kaçmada kullandıkları mekanizmalarda yeni veriler sağlayabilir. Sonuç olarak,

insanlarda hastalığa neden olmayan, kemik iliği ve dalakta replike olarak persistan enfeksiyonlara neden olan nonsitopatik etkili HPgV gen tedavisinde yeni yaklaşımlar sağlayabilir.

Kaynaklar

- Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014; 61(1): 45-57.
- Mohr EL, Stapleton JT. GB virus type C interactions with HIV: the role of envelope glycoproteins. *J Viral Hepat* 2009; 16(11): 757-68.
- Berg MG, Lee D, Coller K, Frankel M, Aronsohn A, Cheng K, et al. Discovery of a Novel Human Pegivirus in Blood Associated with Hepatitis C Virus Co-Infection. *PLoS Pathog* 2015; 11(12): e1005325. doi: 10.1371/journal.ppat.1005325.
- Adams MJ, King AMQ, Carstens EB. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2013). *Archives of virology* 2013; 158: 2023-2030.
- Stapleton JT, Fong S, Muerhoff AS, Bukh J, Simmonds P. The GB viruses: a review and proposed classification of GBV-A, GBV-C (HGV), and GBV-D in genus Pegivirus within the family Flaviviridae. *J Gen Virol* 2011; 92(2): 233-46.
- Chivero ET, Stapleton JT. Tropism of human pegivirus (formerly known as GB virus C/hepatitis G virus) and host immunomodulation: insights into a highly successful viral infection. *J Gen Virol* 2015; 96(7): 1521-32.
- Zeisel MB, Felmler DJ, Baumert TF. Hepatitis C virus entry. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013; 369: 87-112.
- Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1999; 96: 12766-12771.
- Wunschmann S, Medh JD, Klinzmann D, Schmidt WN, Stapleton JT. Characterization of hepatitis C virus (HCV) and HCV E2 interactions with CD81 and the low-density lipoprotein receptor. *Journal of virology* 2000; 74: 10055-10062.
- Bhattarai N, McLinden JH, Xiang JH, Landay AL, Chivero ET, Stapleton JT. GB Virus C Particles Inhibit T Cell Activation via Envelope E2 Protein-Mediated Inhibition of TCR Signaling. *Journal of immunology* 2013; 190: 6351-6359.
- Wunschmann S, Muller HM, Stipp CS, Hemler ME, Stapleton JT. In vitro interaction between hepatitis C virus (HCV) envelope glycoprotein E2 and serum lipoproteins (LPs) results in enhanced cellular binding of both HCV E2 and LPs. *Journal of Infectious Diseases* 2006; 194: 1058-1067.
- Chivero ET, Bhattarai N, Rydze RT, Winters MA, Holodniy M, Stapleton JT. Human pegivirus RNA is found in multiple blood mononuclear cells in vivo and serum-derived viral RNA-containing particles are infectious in vitro. *J Gen Virol* 2014; 95(6): 1307-19.
- Fan X, Xu Y, Solomon H, Ramrakhiani S, Neuschwander-Tetri BA, Di Bisceglie AM. Is hepatitis G/GB virus-C virus hepatotropic? Detection of hepatitis G/GB virus-C viral RNA in liver and serum. *Journal of medical virology* 1999; 58: 160-164.
- Berg T, Muller AR, Platz KP, Hohne M, Bechstein WO, Hopf U, et al. Dynamics of GB virus C viremia early after orthotopic liver transplantation indicates extrahepatic tissues as the predominant site of GB virus C replication. *Hepatology* 1999; 29: 245-249.
- Laskus, T., Radkowski, M., Wang, L. F., Vargas, H. & Rakela, J. (1997). Lack of evidence for hepatitis G virus replication in the livers of patients coinfecting with hepatitis C and G viruses. *J Virol* 1997; 71: 7804- 7806.
- Kisiel E, Cortez KC, Pawelczyk A, Os ko IB, Kubisa N, et al. Hepatitis G virus/GBV-C in serum, peripheral blood mononuclear cells and bone marrow in patients with hematological malignancies. *Infect Genet Evol* 2013; 19: 195-199.
- Rydze RT, Bhattarai N. & Stapleton JT. GB virus C infection is associated with a reduced rate of reactivation of latent HIV and protection against activation-induced T-cell death. *Antivir Ther* 2012; 17: 1271-1279.
- Bhattarai N, McLinden JH, Xiang J, Landay AL, Chivero ET & Stapleton JT. GB virus C particles inhibit T cell activation via envelope E2 protein-mediated inhibition of TCR signaling. *J Immunol* 2013; 190: 6351-6359.
- Mohr EL, Stapleton JT. GB virus type C interactions with HIV: the role of envelope glycoproteins. *Journal of viral hepatitis* 2009; 16: 757-768.
- Okamoto H. History of Discoveries and Pathogenicity of TT Viruses. *Tt Viruses - the Still Elusive Human Pathogens* 2009; 331: 1-20.
- Supapol WB, Remis RS, Raboud J, Millson M, Tappero J, Kaul R, et al. Mother-to-Child Transmission of GB Virus C in a Cohort of Women Coinfected with GB Virus C and HIV in Bangkok, Thailand. *Journal of Infectious Diseases* 2009; 200: 227-235.
- Bhattarai N, Stapleton JT. GB virus C: the good boy virus? *Trends Microbiol* 2012; 20: 124-130.
- Giannoulis E, Economopoulos T, Mandraveli K, Giannoulis K, Nikolaidis C, Zervou E, et al. The prevalence of hepatitis C and hepatitis G virus infection in patients with B cell non-Hodgkin lymphomas in Greece: a Hellenic Cooperative Oncology Group Study. *Acta haematologica* 2004; 112:189-193.
- Krajden M, Yu A, Braybrook H, Lai AS, Mak A, Chow R, et al. GBV-C/hepatitis G virus infection and non-Hodgkin lymphoma: a case control study. *International journal of cancer* 2010; 126: 2885-2892.
- Chang C, Stapleton JT, Klinzman D, McLinden J, Purdue MP, Katki HA, et al. GBV-C infection and risk of NHL among U.S. adults. *Cancer research* 2014.
- Nunnari G, Nigro L, Palermo F, Attanasio M, Berger A, Doerr HW, et al. Slower progression of HIV-1 infection in persons with GB virus C co-infection correlates with an intact T-Helper 1 cytokine profile. *Annals of internal medicine* 2003; 139: 26-30.
- Williams CF, Klinzman D, Yamashita TE, Xiang J, Polgreen PM, Rinaldo C, Liu C, Phair J, Margolick JB, Zdunek D, Hess G, Stapleton JT. Persistent GB virus C infection and survival in HIV-infected men. *The New England journal of medicine* 2004; 350: 981-990.
- Vahidnia F, Petersen M, Stapleton JT, Rutherford GW, Busch M, Custer B. Acquisition of GB virus type C and lower mortality in patients with advanced HIV disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2012; 55:1012-1019.
- Kallinowski B, Ahmedi R, Seipp S, Bommcr J, Stremmel W. Clinical impact of GB-C virus in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 93-98.
- Sheng L, Widyastati K, Kosala H et al. High prevalence of a hepatitis virus infection compared with hepatitis C virus in patients undergoing chronic hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 218-223.
- Yavuz M, Ersoy A, Güllülü M ve ark. Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi (SAPD) Hastalarında Hepatit B ve Hepatit C Prevalansı ve Risk Faktörleri: Bir SAPD Ünitesinin 6 Yıllık Verileri. *Bursa Devlet Hastanesi Bülteni* 2000; 16(1): 43-46.
- Tacke M, Kiyosawa K, Strak K, et al. Detection of antibodies to a putative hepatitis G virus envelope protein. *Lancet* 1997; 349: 318-20.
- Stark K, Bienzie U, Hess G, Engel AM, Hegenscheid B, Schlüter V. Detection of hepatitis G virus genome among injecting drug users, homosexual and bisexual men, and blood donors. *J Infect Dis* 1996; 174:1320-3.

34. Tribl B, Oesterreicher C, Pohanka E et al. GBV-C/HGV in hemodialysis patients: Anti-E2 antibodies and GBV-C/RNA in serum and peripheral blood mononuclear cells. *Kidney Int* 1998; 53: 212-216.
35. Keck ZY, Angus AG, Wang W, Lau P, Wang Y, Gatherer D, et al. Non-random escape pathways from a broadly neutralizing human monoclonal antibody map to a highly conserved region on the hepatitis C virus E2 glycoprotein encompassing amino acids. *Plos Pathog* 2014; 412-423.
36. Burke KP, Cox AL. Hepatitis C virus evasion of adaptive immune responses: a model for viral persistence. *Immunologic research* 2010; 47: 216-227.
37. Stapleton JT, Chaloner K, Martenson JA, Zhang JY, Klinzman D, Xiang JH, et al. GB Virus C Infection Is Associated with Altered Lymphocyte Subset Distribution and Reduced T Cell Activation and Proliferation in HIV-Infected Individuals. *Plos One* 7. 2012.
38. Gomara MJ, Fernandez L, Perez T, Ercilla G, Haro I. Assessment of synthetic chimeric multiple antigenic peptides for diagnosis of GB virus C infection. *Anal Biochem* 2010; 396: 51-58.
39. Schwarze-Zander C, Blackard JT, Zheng H, Addo MM, Lin W, Robbins GK, et al. GB virus C (GBV-C) infection in hepatitis C virus (HCV)/ HIV-coinfected patients receiving HCV treatment: importance of the GBV-C genotype. *J Infect Dis* 2006; 194: 410-419.
40. McLinden JH, Kaufman TM, Xiang J, Chang Q, Klinzman D, Engel AM, et al. Characterization of an immunodominant antigenic site on GB virus C glycoprotein E2 that is involved in cell binding. *J Virol* 2006; 80: 12131-12140.
41. Farci P, Alter HJ, Govindarajan S, Wong D, Engle R, Lesniewski RR, et al. Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. *Science* 1992; 258: 135-140.
42. Adams NJ, Prescott LE, Jarvis LM, Lewis JCM, McClure MO, Smith DB et al. Detection in chimpanzees of a novel flavivirus related to GB virus-C/hepatitis G virus. *J Gen Virol* 1998; 79: 1871-1877.
43. Bukh J, Kim JP, Govindarajan S, Apgar CL, Fong SK, Wages J, et al. Experimental infection of chimpanzees with hepatitis G virus and genetic analysis of the virus. *J Infect Dis* 1998; 177: 855-862.
44. Bukh J, Apgar CL, Govindarajan S, Emerson SU, Purcell RH. Failure to infect rhesus monkeys with hepatitis C virus strains of genotypes 1a, 2a or 3a. *J Viral Hepat* 2001; 8: 228-231.
45. Bukh J, Engle RE, Govindarajan S, Purcell RH. Immunity against the GBV-B hepatitis virus in tamarins can prevent productive infection following rechallenge and is long-lived. *J Med Virol* 2008; 80: 87-94.
46. Bukh, J, Apgar CL. Five new or recently discovered (GBV- A) virus species are indigenous to New World monkeys and may constitute a separate genus of the Flaviviridae. *Virology* 1997; 229: 429-436.
47. Bukh J, Apgar CL, Govindarajan S, Purcell RH. Host range studies of GB virus-B hepatitis agent, the closest relative of hepatitis C virus, in New World monkeys and chimpanzees. *J Med Virol* 2001a; 65: 694-697.
48. Epstein JH, Quan PL, Briese T, Street C, Jabado O, Conlan S, et al. Identification of GBV-D, a novel GB-like flavivirus from old world frugivorous bats (*Pteropus giganteus*) in Bangladesh. 2010; *PLoS Pathog* 6, e1000972.