

### **Abschlussbericht Teilprojekt 12.3**

**Projekttitlel:** Mechanismen der Krankheitsprogression – Resistenz bei chronischer Hepatitis B und HBV-/HCV-Koinfektion

**Projektleiter:** Prof. Dr. med. Christian Trautwein  
Ltd. OA der Abteilung f. Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie  
Medizinische Hochschule Hannover  
30625 Hannover

**Telefon:** +49-(0)511-532 6620

**Fax:** +49-(0)511-532 4896

**E-Mail:** [trautwein.christian@mh-hannover.de](mailto:trautwein.christian@mh-hannover.de)

**Berichtszeitraum:** 01.02.2002 – 31.01.2005

## **I. Kurze Darstellung**

### **1. Aufgabenstellung**

Innerhalb des Projekts sollen HBV Kombinationsmutanten auf Ihre Replikationskompetenz hin untersucht werden. Zusätzlich ist geplant, die Interaktion zwischen HBV und HCV in Bezug auf die Beeinflussung der HBV-Replikation genauer zu untersuchen. Klinisch sollte eine Studie zur Therapie der HBV/HCV-Infektion initiiert werden.

### **2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde**

Zur Durchführung der dargestellten Experimente waren alle experimentellen Voraussetzungen in der Abteilung Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) vorhanden. Daher konnte mit dem experimentellen Teil des Projekts unmittelbar begonnen werden.

Die Durchführung einer HBV/HCV-Koinfektionsstudie erschien nur im Rahmen des Hep-Net sinnvoll, da die Patienten eines Zentrums nicht ausreichen, um eine entsprechende Studie zu starten.

### **3. Planung und Ablauf des Vorhabens**

Mit dem experimentellen Teil des Projekts wurde unmittelbar begonnen. Es erfolgte die Klonierung der unterschiedlichen HBV-Kombinationsmutanten in einen Replikations-kompetenten Vektor. Die weitere Testung und Veröffentlichung dieses ersten Teils des Projekts konnten innerhalb der ersten Antragsperiode erfolgreich abgeschlossen werden (Tacke et al J. Virol. 2004).

Zusätzlich wurde in der ersten Antragsperiode die Methode der hydrodynamischen Injektion etabliert durch die jetzt eine Analyse der HBV-Replikation in vivo möglich ist (Klein et al 2003).

Mit dem zweiten experimentellen Projekt (HBV/HCV-Interaktion) wurde innerhalb der ersten Antragsperiode begonnen. Hierbei konnte methodisch ein geeignetes System etabliert werden, um den Einfluss der HBV/HCV-Koinfektion in Bezug auf die Interaktion näher zu analysieren.

Die klinische Studie wurde gestartet und die Rekrutierungsphase nach Genehmigung durch die Ethikkommission begonnen. Erwartungsgemäß verläuft die Rekrutierung der Patienten langsam, da nur wenige Patienten mit HBV/HCV-Koinfektion bei den verschiedenen HepNet-Partnern in Betreuung sind.

#### **4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde**

Die verschiedenen Verfahren zur Untersuchung der HBV-Replikation waren im Labor bereits etabliert und die Verfahren sind durch die eigene Arbeitsgruppe publiziert. Zusätzlich standen alle HBV-Konstrukte für die notwendigen Klonierungen zur Verfügung.

Die benötigte Fachliteratur wurde Internet-basiert gesucht und konnte in der Regel über die lokale Bibliothek der MHH bezogen werden.

#### **5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen**

Für die Studien in Bezug auf die HBV-Replikation waren die Methoden im Labor etabliert. Daher konnten diese Experimente selbstständig durchgeführt werden.

Die klinische HBV/HCV-Studie konnte nur im Rahmen des HepNet über die Interaktion mit den verschiedenen Partner etabliert und realisiert werden.

## **II. Eingehende Darstellung**

### **1. Erzielte Ergebnisse**

Der erste Teil des Projekts wurde abgeschlossen. Hierbei wurden HBV YMDD-Mutanten in Kombination mit Mutanten im Bereich der PreC-Region (sog. Stopmutante vermittelte HbeAg-negative HBV-Replikation) oder des Core-Promoters (reduziert die HbeAg-Expression) in Replikations-kompetente HBV-Vektoren kloniert. Es zeigte sich, dass die reduzierte Replikation der YMDD Mutanten durch das Vorliegen einer Kombinationsmutante revertiert werden konnte. Dies bedeutet, dass die Kombinationsmutanten replikationseffizienter sind als die einfachen YMDD-

Mutanten. Zusätzlich vermitteln die YMDD-Kombinationsmutanten unverändert Resistenz gegenüber Lamivudin, jedoch nicht gegen Adefovir (Tacke et al 2004).

Zusätzlich wurde das Modell der hydrodynamischen Injektion zum Studium der HBV-Replikation etabliert (Klein et al 2003).

Zur Untersuchung der Interaktion zwischen HBV und HCV wurde das bereits beschriebene in vivo System der hydrodynamischen Injektion genutzt. Hier gelingt die Analyse der HBV/HCV-Interaktion. Erste Untersuchungen deuten daraufhin, dass HCV in diesem System die HBV-Replikation inhibiert. Durch weitere Analysen soll jetzt der Mechanismus genauer untersucht werden.

Die HBV/HCV-Studie wurde etabliert und bisher sind über 10 Patienten eingeschlossen. Es wird erwartet, dass bis zum Ende der zweiten Laufzeit 20-25 Patienten eingeschlossen sind und dadurch eine Aussage bezüglich der Effektivität der Therapie gemacht werden kann.

## **2. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit des Ergebnisses**

Das Projekt soll zum Verständnis der HBV/HCV-Koinfektion und zur Etablierung eines Therapieregimes bei HBV/HCV-Koinfektion beitragen.

Das Ergebnis ist von großer Bedeutung für alle Kollegen, die Patienten mit einer Hepatitisvirusinfektion therapieren. Zusätzlich können aus dem Projekt Rückschlüsse auf die Pathogenese der HBV/HCV-Koinfektion geschlossen werden. Der Nutzen des Projekts liegt in einem hoffentlich dann möglichen Therapiestandard der HBV/HCV-Koinfektion. Zusätzlich kann eine Aussage getroffen werden, ob bestimmte Mutationen im Bereich des Genoms des Hepatitis C Virus einen negativen Einfluss auf die HBV-Replikation und damit die Pathogenese der HBV/HCV-Koinfektion haben.

## **3. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen**

Die Etablierung der hydrodynamischen Injektion zur Analyse der HBV-Replikation in vivo wird von verschiedenen anderen Labors mittlerweile genutzt. Zusätzlich ist dieses Verfahren jetzt von großer Bedeutung, um die HBV/HCV-Interaktion genauer zu untersuchen. Daher konnte durch dieses Projekt ein wesentlicher Beitrag geleistet

werden, um die HBV-Replikation in vivo besser charakterisieren zu können.

#### **4. Veröffentlichungen des Ergebnisses**

Klein C, Bock CTB, Wedemeyer H., Wustefeld T., Locarnini S, Dienes HP, Kubicka S, Manns MP, **Trautwein C**. Inhibition of hepatitis B virus replication in vivo by nucleoside analogues and siRNA. Gastroenterology 2003; 125: 9-18.

Tacke F, Gehrke C, Luedde T, Heim A, Manns MP, **Trautwein C**. Basal core promoter and precore mutations in the hepatitis B virus genome enhance replication efficacy of Lamivudine-resistant mutants. J Virol. 2004; 78: 8524-35.