

Andreas Daniel Hartkopf  
Dr. med.

## **Onkolytische H-1-Parvoviren in Kombination mit ionisierender Strahlung: Untersuchung zytotoxischer Effekte in Zellkulturen humaner Glioblastome**

Geboren am 31.12.1979 in Heidelberg

3. Staatsexamen am 07.05.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. J.R. Schlehofer

Das Glioblastom ist der häufigste aller primären Hirntumoren des Erwachsenen. Eine kurative Therapie existiert bislang nicht und die mittlere Lebenserwartung nach Diagnosestellung liegt nach wie vor unter einem Jahr. Ein vielversprechender neuartiger Ansatz zur Behandlung von Glioblastomen ist die onkolytische Virustherapie mit dem Parvovirus H-1: die *In-vitro*-Infektion von Kurzzeitkulturen und etablierten Zelllinien humaner Glioblastome führt zu effizientem Zellsterben und zu einer vollständigen parvoviralen Replikation.

Zielsetzung: Gegenstand dieser Dissertation war die Kombination von H-1 mit ionisierender Strahlung in Zellkulturen humaner Glioblastome, um die Wirksamkeit einer Kombinationsbehandlung mit der alleinigen Strahlen- oder Virusapplikation zu vergleichen und die Möglichkeit einer Virustherapie von Glioblastomrezidiven nach bereits vollzogener Strahlentherapie zu untersuchen.

Methoden & Ergebnisse: Es wurden drei Kurzzeitkulturen humaner Glioblastome (NCH-37, NCH-82, NCH-89) in unterschiedlichen Dosen bestrahlt und/oder zu verschiedenen Zeitpunkten mit H1 infiziert. Im Anschluss an die verschiedenen Behandlungskombinationen wurde das Wachstumsverhalten der Zellen untersucht. Während Kulturen bestrahlter *oder* infizierter Glioblastomzellen nach anfänglichem Wachstumsarrest/Zellsterben wieder heranwuchsen, starben in Kulturen bestrahlter *und* 24 h später infizierter Glioblastomzellen alle Tumorzellen ab. Es wurden intrazelluläre virale RNA durch RT-PCR, intrazelluläres virales Protein (NS1) nach immunologischer Färbung per Durchflusszytometrie und die Neusynthese infektiöser Viruspartikel nachgewiesen; d. h., H-1 durchlief einen vollständigen viralen Lebenszyklus in bestrahlten Zellen. Somit könnte sich das Virus innerhalb neoplastischer Läsionen ausbreiten. Wurden die Zellen 24 h nach der Bestrahlung infiziert, so waren der Anteil an Zellen in der S-Phase und der intrazelluläre Gehalt an NS1, welches S-Phase-abhängig exprimiert wird, erhöht. Dies deutet auf einen synergistischen Effekt zwischen Bestrahlung und H-1-Infektion hin.

Um der Frage nachzugehen, ob die Virustherapie bereits bestrahlter Tumorrezidive möglich ist, wurden neun Tage zuvor bestrahlte Zellen sowie die Zelllinie eines bereits *in vivo* bestrahlten Glioblastomrezidivs (NCH-307) mit H1 infiziert. Auch hier führte die Infektion zu Zellsterben und einer vollständigen parvoviralen Replikation. Somit scheint die Möglichkeit einer onkolytischen Virustherapie von Rezidivtumoren zu bestehen.

Schlussfolgerung: Die vorliegenden Ergebnisse lassen die Behandlung von Glioblastompatienten mit dem Parvovirus H-1 als eine vielversprechende Alternative zu konventionellen Therapieverfahren erscheinen. Der synergistische Effekt zwischen

Bestrahlung und Parvovirus(H-1)-Infektion könnte die Effizienz der einzelnen therapeutischen Verfahren steigern bzw. eine Therapieoption bei Glioblastomrezidiven darstellen.