

Franziska Voigt

Dr. med.

Induktion zellulärer und humoraler Immunantworten durch Dendritische Zellen auf die E1 und E2 Hüllproteine des Hepatitis C Virus im Mausmodell

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. J. Encke

Das Hepatitis C Virus ist weltweit einer der führenden Erreger einer Hepatitis. Durch den oftmals chronischen Verlauf stellt das Virus heute eine der häufigsten Indikationen zur Lebertransplantation dar, zumeist wegen einer Leberzirrhose mit progredientem Leberzellversagen. Im Gegensatz zum Hepatitis B Virus gibt es für das Hepatitis C Virus noch immer keinen suffizienten Impfstoff.

Nachdem erfolgreich gezeigt wurde, dass sich mit inaktivierten HI-Viren Dendritische Zellen *in vitro* aktivieren ließen und *in vivo* in HIV-positiven Patienten zur Viruslastreduktion führte, untersuchten wir in der vorliegenden Arbeit, ob nicht ähnliches auch für das HCV zutreffen könnte. Dendritische Zellen spielen eine sehr zentrale Rolle im Immunsystem, da sie Antigene z.B. von Viren Lymphozyten präsentieren und so die spezifische Immunantwort in Form von T-Zellabwehr, NK-Zellen oder die Produktion spezifischer Antikörper induzieren. Trotz z.T. widersprüchlicher Literatur gibt es einige Arbeiten, die eine Reduktion der Anzahl sowie der Immunfunktion Dendritischer Zellen im Rahmen einer chronischen HCV-Infektion zeigen.

Um nicht mit infektiösen Viren experimentieren zu müssen nutzen wir die 2003 erstmals beschriebenen HCVpp. Auf diese Weise konnten wir auf das dreidimensionale Heterodimer des E1 und E2 Protein an der Oberfläche der Pseudopartikel zurückgreifen, ohne durch den Prozess der Inaktivierung infektiöser HCV möglicherweise die Struktur zu zerstören. Die Produktion der HCVpp konnte erfolgreich in unserem Labor implementiert werden, die Ausbeute wurde durch Ultrafiltration auf $7,5 \text{ TU} \times 10^5/\text{ml}$ gesteigert. Die Dendritischen Zellen stellen wir aus den Femurknochen von BALB/c Mäusen her. Nach Verimpfung der aktivierten Dendritischen Zellen sowie einem Booster nach 14 Tagen gewannen wir das Serum der Tiere um dann Antikörper in einem ELISA nachzuweisen sowie die Lymphozyten der Milzen,

welche sodann in einen ELISPOT eingesetzt wurden. Unsere Ergebnisse des ELISPOT zeigten spezifische T-Zellantworten v.a. in der Gruppe der HCVpp und LPS aktivierten DCs, hier wiederum die meisten Spots bei Pool 3, entsprechend der Aminosäuresequenz 121-188 des E1-Proteins, bei Pool 7, welcher vom E2-Protein die Aminosäuren 161-228 umfasst sowie bei Einsetzten der HCVpp als Antigen. Im Vergleich dazu lieferte der ELISA keine spezifischen Ergebnisse was die Polypeptide angeht. Bei Testung der HCVpp konnte die höchste Antikörperantwort in den HCVpp geimpften Mäusen erzielt werden, sowie die nur mit HCVpp stimulierte DC-Vakzine. Möglicherweise hat unsere HCVpp/DC-Vakzine nur sogenannte konformationale Epitope induziert, die mit den linearen Polypeptiden nicht nachzuweisen waren.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich BMdDCs aus der Maus mit HCVpp in vitro aktivieren lassen und als Vakzine in vivo spezifischen T-Zellantworten induzieren. Möglicherweise auch spezifische Antikörper gegen konformationale Epitope der Oberflächenproteine des HCV. Durch die fehlende Infektiosität und die Möglichkeit, HCVpp jedweden Genotyps herzustellen ist dieser Ansatz für Personal und Patient sicher und spezifisch. Weitere Schritte wären die klinische Testung der Vakzine an chronisch HCV-Infizierten, Endpunkt könnte auch hier wie bei der HIV-DC-Vakzine die Reduktion der Viruslast sein.