



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung**

Expression des Hepatitis B Virus X-Antigen in Lebergewebe

Autor: Barbara Jacobi
Institut / Klinik: Pathologisches Institut
Doktorvater: Prof. Dr. med. R. Grobholz

Das Hepatitis B Virus (HBV) hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Weltweit besteht bei mehr als 350 Millionen Menschen eine chronische HBV Infektion – ca. 1 Million Menschen versterben jährlich daran. Es wird geschätzt das 5-8 % der deutschen Bevölkerung bereits eine HBV Infektion durchgemacht haben. Patienten, bei denen eine chronische oder okkulte Hepatitis B besteht, haben langfristig gesehen ein höheres Risiko die schweren Folgeerkrankungen wie eine Leberzirrhose oder ein hepatozelluläres Karzinom zu entwickeln.

Besondere Bedeutung hat hierbei das X-Protein. Die HBx-Region ist ein bei den Hepadna-Viren hoch konserviertes Gen. Es ist der kleinste Genabschnitt im Hepatitis B Virus. Als multifunktionales Gen hat es Einfluss auf die Virusreplikation, die Apoptose und insbesondere auf die Onkogenese. Womit das Risiko ein hepatozelluläres Karzinom zu entwickeln erhöht ist.

Ziel dieser vorliegenden Arbeit war es, das X-Protein in Leberbiopsien von chronischen und okkulten Hepatitis B Patienten nachzuweisen und aufzuzeigen in welchem Zusammenhang die HBx Replikation mit dem Krankheitsstadium, der Genotypisierung, dem Fibrosegrad und dem Aktivitätsgrad steht und ob es eine Kohärenz zu den klassischen serologischen Markern HBc und HBs gibt. Da das HBx sowohl bei der Replikation als auch bei der Tumorentstehung eine Rolle spielt, galten die abschließenden Versuche der Fragestellung wann das X-Protein in vitro zum ersten Mal detektierbar ist.

Verwendet wurden 82 Leberbiopsien von Patienten mit chronischer Hepatitis B Infektion. Diese wurden immunhistochemisch mit einem monoklonalen und einem polyklonalen Antikörper auf das HBx-Protein getestet. Als Negativkontrollen wurden HCV Patienten getestet, die durchweg negativ waren. Die quantitative Auswertung der HBx-Expression erfolgte anhand des prozentualen Anteils positiver Hepatozyten im Azinus. Die Expression von HBx fand sich in den Zonen 1 und 3 des Rappaportschen Leberläppchens (periportal und perivenulär).

Nach der Auswertung der Ergebnisse zeigte sich, daß der Fibrosegrad, der Aktivitätsgrad, die Genotypisierung, sowie HBc und HBs keinen Einfluss auf die quantitative oder qualitative Expression von HBx in den Biopsien hatten. Jedoch zeigte sich die Stärke der Expression signifikant abhängig von der Höhe der Virusreplikation.

Darüber hinaus wurde eine kleine Serie von Patienten (n=29) mit durchgemachter HBV-Infektion untersucht, darunter waren 20 Patienten die als ausgeheilt gelten und 9 Patienten mit einer okkulten Hepatitis B Infektion. Insgesamt waren über die Hälfte dieser Patienten positiv für das X-Protein. Im Mittel waren jedoch weniger Zellen für HBx positiv als bei den Patienten mit einer chronischen HBV-Infektion.

Ein weiterer Schritt war die Visualisierung des X-Proteins in HepaRG Zellen an frühen Infektionstagen. Die Antikörper waren mit denen aus der Immunhistochemie identisch. Sowohl im Western Blot, als auch in der Tricin-Gelelektrophorese konnte das HBx nicht detektiert werden. Vermutet wurde hier eine zu geringe Expression des X-Proteins. An diesen Versuch anknüpfend wurden infizierte HepaRG Zellen in einem Zeitraum von 8 Tagen beobachtet, um die Entwicklung der frühen Infektion zu verfolgen. Als Antigen fungierte hier HBc. Es konnte gezeigt werden, daß eine kontinuierliche Zunahme der Infektion von Tag 0 bis Tag 8 stattfand.

Abschließend lässt sich sagen, dass die Stärke der Expression signifikant abhängig ist von der Höhe der Virusreplikation. Das HBx-Protein wird bei über 90% der Patienten mit chronischer Hepatitis B Virusinfektion exprimiert. Trotz der Ausbildung von anti-HBs, der als Marker der Rekonvaleszenz gilt, findet sich HBx weiter in Hepatozyten und stellt damit ein Risiko für eine Mutagenese und eine Tumorentstehung dar. Deshalb ist es wichtig, noch genauer die verschiedenen Stoffwechselwege auf die das HBx wirkt zu untersuchen um die Expression therapeutisch zu reduzieren oder gar zu verhindern, gerade im Hinblick auf die Entstehung eines hepatozellulären Karzinoms.