



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Fakultät für Klinische Medizin Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Induktion proinflammatorischer Zytokine in peripheren mononukleären Blutzellen durch Hepatitis-C-Virusproteine: Etablierung einer quantitativen Polymerase-Kettenreaktion und Nachweis spezifischer Zytokin-Transkripte**

Autor: Karin Yvonne Haseroth  
Einrichtung: IV. Medizinische Klinik  
Doktorvater: Prof. Dr. M. V. Singer

Die Pathogenese der Hepatitis C Virus (HCV) Infektion und insbesondere die Bedeutung von immunologischen Mechanismen ist noch unzureichend verstanden. Die Wirkung des HCV auf immunkompetente Zellen und deren Zytokinrepertoire ist von großem Interesse, da das Virus neben der Leber auch extrahepatisch periphere Blutzellen infiziert.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, an einem Modell nativer peripherer Blutzellen (PBMC) den Einfluß von rekombinanten HCV Proteinen auf das Zytokinmuster dieser immunkompetenten Zellen zu untersuchen. Die frühe Phase der Genaktivierung sollte anschließend mit einer zu etablierenden quantitativen reversen Polymerase-Ketten-Reaktion (RT-PCR) näher charakterisiert werden.

Im methodologischen Teil wurde von 15 gesunden Probanden Vollblut entnommen und PBMC isoliert.

Aus jeweils  $4 \times 10^6$  PBMC wurde nach Stimulation (unstimulierte Kontrolle, HCV Proteine (1-83, 1-141, core, NS3 und NS4), HBV Protein PräS1 und bakterielle Induzenten als Positiv-Kontrollen für 24 Stunden) die Gesamt RNA revers transkribiert. In der qualitativen PCR wurde für die proinflammatorischen Zytokine IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  und seine Rezeptoren p-55, p-75, die T Helfer-Zytokine IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 und IL-10 und IL-12p40 der mRNA-Nachweis durchgeführt. Im Anschluß wurde eine quantitative RT-PCR unter Verwendung von internen synthetischen DNA Fragmenten etabliert. Diese Fragmente wurden genutzt, um in bekannten Konzentrationen eingesetzt, zusammen mit der unbekannt Konzentration an Zytokin-mRNA amplifiziert zu werden. Die Auswertung erfolgte nach Gelelektrophorese densitometrisch durch Extrapolation der bekannten Fragment-Konzentration auf die unbekannte Menge Zytokin-mRNA.

Es zeigte sich, daß die HCV-Proteine in unterschiedlichem Maße die Expression von TNF- $\alpha$  und seinen beiden Rezeptoren, IL-1 $\alpha$ , -6, -8, -10 und -12p40 stimulierten. Von allen getesteten HCV-Proteinen stimulierte HCV 1-83 die Zytokin-Synthese am stärksten, mit Ausnahme der TNFR-p55-Expression, die am stärksten von HCV NS4 stimuliert wurde. Die IL-10-mRNA konnte von den viralen Proteinen nur durch HCV 1-83 stimuliert werden. HCV NS4 und HCV core regten die mRNA-Synthese von allen proinflammatorischen Zytokinen und von IL-12p40 an. Im Vergleich dazu induzierte das HBV-Protein PräS1 für kein einziges Zytokin die de novo Synthese.

Die vorgelegte Arbeit deutet darauf hin, daß der initiale Kontakt des HCV mit dem Wirt, eine starke immunologische Reaktion bewirkt. In der Therapie der HCV Infektion sollten deshalb neben Interferon- $\alpha$  auch antiinflammatorische Substanzen, wie z.B. TNF-bindene Proteine diskutiert werden. Die Ergebnisse der gezeigten unterschiedlichen Immunogenität der verschiedenen Virus-Proteine ließe sich bei der Suche nach geeigneten Impfstoffen verwenden.