

Philipp Nikolaus Wilhelm Kurz

Dr. med.

In vivo-Anwendung Vesicular-Stomatitis-Virus-G-Protein-pseudotypisierter lentiviraler Vektoren für den leberspezifischen Gentransfer in Mäusen

Geboren am 04.11.1973 in Freiburg im Breisgau

3. Staatsexamen am 30.04.2001 an der Universität Freiburg

Promotionsfach: DKFZ

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. H. zur Hausen

Die Leber ist als Synthese- und Entgiftungsorgan Ort vielfältiger StoffwechsellLeistungen, aber auch Ursprung häufiger, hereditärer Stoffwechselstörungen. Als ruhendes, teilungsinaktives Gewebe ist die Leber für einen Lentivirus-vermittelten Gentransport geeignet. Nachdem in der vorliegenden Arbeit die Zellspezies-übergreifende Infektiosität eines mit dem Glykoprotein G des Vesicular-Stomatitis-Virus pseudotypisierten lentiviralen Vektorsystems an humanen und murinen Zelllinien bestätigt wurde, kamen für den leberspezifischen Gentransfer in Mäusen zwei unterschiedliche Applikationsverfahren lentiviraler Vektoren zur Anwendung und wurden auf ihre Wirksamkeit überprüft.

Zur Applikation der lentiviralen Vektoren wurden die intraparenchymale Leberinjektion und die intraportale Injektion erfolgreich etabliert. Beide Verfahren waren mit einer geringen operativen Letalität behaftet. Zur Steigerung der Transduktionseffizienz wurden diese Operationsverfahren um eine der Injektion vorausgehende 1/3- oder 2/3-Teilhepatektomie erweitert. Auch das zweizeitige Vorgehen blieb mit einer geringen operativen Mortalität verbunden. Die 2/3-Teilhepatektomie war mit einer ca. 30%igen Mortalität der kritischste Eingriff. Obwohl gezeigt werden konnte, daß die angewendeten Operationsverfahren die Leberphysiologie der Kontrolltiergruppe nicht beeinträchtigten, ist aufgrund des letalen Ausgangs einer intraportalen Virusinjektion sowie aufgrund von einmalig aufgetretenen Lebernekrosen nach intraportaler Virusinjektion von einer schlechteren Prognose der intraportal virusinjizierten Tiere auszugehen.

In allen virusinjizierten Tieren gelang der molekularbiologische Nachweis des Vektorgenoms. Darüber hinaus konnte zur Spezifizierung der von den Vektoren erreichten Zellart sowie ihrer Lokalisation ein immunhistochemischer Nachweis des Transgenprodukts geführt werden. Das

Auftreten des Transgenproduktes ausschließlich in Nicht-Parenchymzellen verdeutlicht die zur Überwindung der Kupffer- und Sinusendothelzell-Barriere entscheidende Bedeutung sehr hoher Virustiter bei niedriger Suszeptibilität muriner Hepatozyten für die lentivirale Transduktion.