

Evelyn Ernst
Dr.sc.hum.

Charakterisierung eines tetrazyklin-induzierbaren, HCV-transgenen Mausmodells

Geboren am 24.12.1972 in Stuttgart
Diplomarbeit der Fachrichtung Biologie am 19.9.2000 an der Universität Tübingen

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Jens Encke

Das Hepatitis C Virus (HCV) verursacht weltweit die meisten Fälle von Hepatitis, Leberzirrhose und Hepatozellulärem Karzinom. In der Grundlagenforschung von Hepatitis C und in der klinischen Entwicklung neuer Therapiestrategien fehlt vor allem ein Kleintiermodell, welches die Simulation einer natürlichen HCV-Infektion zulässt. Entscheidend für diese Zielvorstellung ist, dass ein immunkompetentes Modell gewählt wird. Eine konstitutiv exprimierende Maus, wie sie von vielen HCV-transgenen Mausmodellen repräsentiert wird, scheidet im Hinblick auf deren HCV-Immuntoleranz aus. Eine neue Perspektive bieten die in dieser Arbeit beschriebenen konditionalen HCV-transgenen Mäuse. Die Mäuse erlauben eine externe zeitliche Kontrolle der leberspezifischen Expression von HCV core oder HCV ORF (gesamtes Polyprotein) über das tetrazyklin-regulierte Genexpressionssystem (Tet-System). Auf diese Weise soll die ektopische Expression in der Embryonalentwicklung unterdrückt werden und eine Immunkompetenz gegen HCV-Proteine erhalten bleiben. Expression und Regulationseigenschaften konnten anhand der Koexpression von entsprechenden HCV-Proteinen und Luziferase hochsensitiv und quantitativ analysiert werden. Im Western Blot und in der Immunpräzipitation wurde mit dem Nachweis von HCV core und HCV NS5B und Luziferase die Koexpression von HCV-Proteinen und dem Reporter-Protein Luziferase gezeigt. Im Luziferase-Assay konnte eine stringente und hohe ektopische Expressionsregulation über eine Spanne von fünf Größenordnungen gemessen werden. Zudem ermöglichte eine *in vivo*-Biolumineszenz-Bildgebung die Möglichkeit gezielt hochexprimierende Mäuse für die Züchtung und für Versuche auszuwählen.

In mehrwöchigen Langzeitinduktionen über den Induktor Tetrazyklin wurden die transgenen Mäuse auf Leberschädigungen aufgrund von HCV-Proteinexpression hin untersucht. Zusätzlich wurden in den Langzeitinduktionsversuchen prime/boost-Vakzinierungsstrategien gegen HCV-Proteine an Mäusen getestet. Die Vakzine sollte die Immunreaktion gegen die

permanente Expression von HCV-Proteinen und potentielle immunreaktive Schädigungen an Hepatozyten unterstützen. Anhand der ALT-Werte konnte bei Mäusen während der Langzeitinduktionen Leberschädigung nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurden bei diesen Mäusen in der Leber-Histologie Steatose, nekroinflammatorische Areale und Fibrose beobachtet. Das wichtigste Charakteristikum der tetrazyklin-induzierbaren, HCV-transgenen Mäuse ist das Auftreten von Leber-Pathogenese in Verbindung mit Entzündungsmerkmalen durch eine Langzeitinduktion. Ähnliche Symptome können auch in der humanen Hepatitis C-Pathogenese beobachtet werden.