

Mathias Felix Leber
Dr. med.

Assessment of the Genomic Stability and Mutational Burden of Serially Passaged Oncolytic Measles Virus

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. (apl.) Dr. med. Dr. rer. nat. Guy Ungerechts

Virus-basierte onkolytische Immuntherapie ist eine neuartige Therapieform für Patienten mit Krebserkrankungen und wird zurzeit präklinisch und klinisch evaluiert. Im Jahr 2015 wurde das erste Medikament dieser Klasse, *Talimogene laherparepvec*, von den amerikanischen und europäischen Gesundheitsbehörden für die Therapie des malignen Melanoms zugelassen.

Das Impfstamm-basierte Masernvirus ist ein aussichtsreicher Virotherapie-Kandidat. Kürzlich publizierte klinische Studiendaten waren positiv, und zeigten ein vielversprechendes Toxizitätsprofil mit ersten Anzeichen antitumorale Wirkung. Im Gegensatz zur regulären Impfung, werden bei der Virotherapie hohe Virusdosen immunsupprimierten Patienten verabreicht. Dies kann zur verlängerten Replikation viraler Quasispezies *in vivo*, und zu Sicherheitsbedenken bezüglich der Entstehung pathogener Mutanten führen. Um diese Frage zu adressieren, zielt die vorliegende Studie darauf ab, die genomische Stabilität des Masernvirus während multipler Replikationszyklen in Tumorzellen zu untersuchen.

Impfstamm-basierte Masernviren wurden auf drei immortalisierten (Tumor-) Zelllinien mit unterschiedlicher Suszeptibilität für Masernviren seriell passagiert. Nach 35, 80 und 120 Passagen wurde die virale, genomische RNA isoliert und sequenziert. Aufgrund der gewählten Sequenziermethode wurden nur Mutationen detektiert, welche im Großteil der viralen Genome vorhanden waren. Insgesamt wurden 36 Mutationen gefunden, 15 in auf Vero Zellen (Nierenzellen der Grünen Meerkatze) passagierten Viren, 8 in auf HNO97 Zellen (Kopf-Hals-Plattenepitheltumor) passagierten Viren, und 13 in auf BxPC-3 Zellen (Pankreaskarzinom) passagierten Viren. Der Großteil der Mutationen entsprach Transitionen (~86 %) und resultierte in Aminosäureaustauschen (~58 %), wobei die Verteilung der Mutationen im Genom nicht zufällig erfolgte. Mutationen in proximalen Genen (*enhanced green fluorescent protein*-Gen, Nukleokapsid-Gen) waren überrepräsentiert, Mutationen im distalen *large*-Gen (kodierend für die virale Polymerase) unterrepräsentiert (verglichen mit einer zufälligen Verteilung). Die Infektivität, Replikationskinetik und zytotoxische Aktivität der seriell passagierten Viren auf Produktionszellen war ähnlich bis leicht reduziert verglichen mit dem parentalen Virus.

Die überraschend geringe Anzahl akkumulierter Mutationen über 120 Passagen (= 360 Tage) auf humanen Tumorzellen unterstützt die Annahme der genomischen Stabilität und unterstreicht das positive Sicherheitsprofil onkolytischer Masernviren. Die hier gewonnenen Daten komplementieren unser Verständnis über die Sicherheit und genomische Stabilität onkolytischer Masernviren und rechtfertigen die weitere klinische Translation.