

Julius Hollnberger
Dr. med.

Viral Resistance Testing of Chronic Hepatitis D Patients with Virological Non-Response to Bulevirtide Treatment

Fach/Einrichtung: Translationale Virologie / Infektiologie
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Stephan Urban

Das Hepatitis-D-Virus (HDV) verursacht die schwerste Form der chronischen Virushepatitis. Im Jahr 2020 wurde das erste spezifische antivirale Medikament für die Behandlung der chronischen Hepatitis D zugelassen. Das Peptid Bulevirtide (BLV) bindet an den Gallensalztransporter NTCP, den Rezeptor für HDV, und blockiert so den Eintritt des Virus. Die meisten Patienten ($> 60\%$), die 24 Wochen lang mit BLV behandelt werden, zeigen eine virologische Reaktion in Form einer Reduktion der HDV-RNA um $> 2 \log_{10}$ (virale Responder). In seltenen Fällen ($< 10\%$) zeigen die Patienten jedoch kein virologisches Ansprechen (HDV-RNA-Reduktion $< 1 \log_{10}$) oder einen Wiederanstieg der HDV-RNA. Ziel dieses Projekts war es, diese Patienten mit virologischer Non-Response oder viralem Durchbruch auf eine mögliche HDV-Resistenzentwicklung zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurde eine neuartige Methode zur In-vitro-Resistenztestung charakterisiert und im Rahmen klinischer Studien angewendet.

Bei dieser Methode handelt es sich um ein hausintern entwickeltes Infektionshemmungsassay, bei dem Huh7-NTCP-Zellen mit Plasmaproben von Patienten infiziert und mit ansteigenden Konzentrationen von BLV behandelt werden. Die Bestimmung der Infektionsrate wurde erfolgreich für die Immunfluoreszenzmikroskopie und den In-Cell-ELISA validiert. Die Quantifizierung der Wirksamkeit von BLV erfolgte durch statistische Berechnung der mittleren wirksamen Konzentration (EC_{50}). Die Charakterisierung der Methode zeigte, dass weder physiologische humane Albumin-Konzentrationen noch Nukleos(t)ide-Analoga (Tenofovir und Entecavir) die antivirale Aktivität von BLV *in vitro* beeinflussten. Darüber hinaus erwiesen sich Huh7-NTCP-Zellen als geeignete Zelllinie für die Messung der In-vitro-BLV-Sensitivität von Patientenplasmaproben. Schließlich wurde dieses Assay verwendet, um eine mögliche Resistenzentwicklung bei chronischen Hepatitis-D-Patienten zu bewerten, die an einer Phase-II- und Phase-III-Studie mit BLV teilnahmen.

Hier zeigten alle getesteten Patientenproben eine Sensitivität gegenüber BLV *in vitro*. Die EC_{50} von virologischen Non-Respondern und Patienten mit viralem Durchbruch zu Studienbeginn ($EC_{50} = 0,2 \text{ nM}$) und in Woche 24 ($EC_{50} = 0,3 \text{ nM}$) unterschied sich nicht von viralen Respondern ($EC_{50} = 0,4 \text{ nM}$). Es wurde auch gezeigt, dass die verschiedenen Behandlungsregime der Studien keinen Einfluss auf die In-vitro-Empfindlichkeit gegenüber BLV hatten. In Zusammenarbeit mit Gilead Science wurden diese Ergebnisse in primären humanen Hepatozyten bestätigt und durch genotypische Analysen ergänzt. Die Sequenzierung der preS1-Domäne des Hepatitis-B-Oberflächenantigens, des Hepatitis-D-Antigens und des NTCP-Rezeptors ergab keine Mutationen, die mit virologischer Non-Response in Zusammenhang stehen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass diese Arbeit eine neuartige Methode zur Resistenzprüfung von HDV für den Einsatz in klinischen Studien charakterisiert. Darüber hinaus ist dies der größte Datensatz, der eine Resistenzentwicklung von HDV als Ursache für ein virologisches Nichtansprechen auf die BLV-Therapie ausschließt. Auf der Grundlage dieser Arbeit kann BLV eine hohe Resistenzbarriere zugeschrieben werden. Daher kann es für den umfassenden klinischen Einsatz bei Patienten mit chronischer Hepatitis D empfohlen werden.