

Ann-Kathrin Friedrich

Dr. med. dent.

In-vitro-Analyse der Replikation pathogener und non-pathogener Hantaviren in humanen Nierenzellen und renalen Wirtstierzellen

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktormutter: PD Dr. rer. nat. Ellen Krautkrämer

Verschiedene pathogene Altwelt-Hantaviren verursachen hämorrhagisches Fieber mit renalem Syndrom. Mit jährlich zwischen wenigen 100 bis hin zu 2000 Fällen pro Jahr stellt die Hantavirusinfektion des Menschen auch in Deutschland ein ernstzunehmendes Problem dar. Die Schwere des Krankheitsbildes hängt erheblich von der auslösenden Virusspezies ab. Die Infektion verläuft über Nagetiere, die chronisch, aber asymptomatisch infiziert sind und den Erreger ausscheiden, sodass er über Aerosole wiederum vom Menschen aufgenommen werden kann. Die Pathogenese der Erkrankung, insbesondere die organspezifische Manifestation in der Niere und die Virulenzfaktoren der einzelnen Vertreter, gelten als weitgehend ungeklärt. Durch das Fehlen eines Kleintiermodells kommt der Forschung in relevanten Zellkulturmodellen eine zentrale Rolle bei der Untersuchung der Pathogenese der Hantavirusinfektion zu. In der vorliegenden Arbeit wurden daher die Infizierbarkeit und die Replikation verschiedener Hantavirusspezies in Nierenzellen des Menschen sowie von Wirtstieren untersucht.

Diese Arbeit zeigt erstmals, dass das non-pathogene Tula-Virus in epithelialen Zellen des proximalen Tubulus der menschlichen Niere nicht repliziert. In der Vergangenheit konnte einigen humanen Nierenzelltypen ebenfalls keine oder nur eine geringe Replikation des Tula-Virus nachgewiesen werden. Daraus lässt sich schließen, dass menschliche Nierenzellen nicht als Zielzellen des Tula-Virus gelten, was die Non-Pathogenität des Virus erklären könnte. Ein Vergleich der Replikation des Tula-Virus in primären Zellen des proximalen Tubulus sowie in der Zelllinie HK-2 (*Human kidney 2*), die aus dem proximalen Tubulus der menschlichen Niere abgeleitet ist, zeigt gleiche Ergebnisse. Dies spricht dafür, dass die HK-2 Zelllinie ein geeignetes Zellkulturmodell für eine Infektion mit Hantaviren darstellt.

Beim Seoul-Virus handelt es sich um eine zwar pathogene, aber dennoch eher mildere Krankheitsverläufe verursachende Hantavirus-Spezies. Das Seoul-Virus zeigte in dieser Arbeit ebenfalls vergleichbare Replikationsraten in primären Tubulusepithelzellen und der HK-2 Zelllinie, was die Eignung der HK-2 Zelllinie als Zellkulturmodell für die Hantavirusforschung unterstreicht. Die HK-2 Zelllinie als repräsentatives Zellkulturmodell für die Hantavirusinfektion ist kostengünstiger als die Forschung an primären Zellsystemen und weist gleichzeitig keine donorspezifischen Effekte auf, was zukünftige Forschungsergebnisse repräsentativer macht. Im Allgemeinen fielen die Replikationsraten des Seoul-Virus in den Zellen des proximalen Tubulus moderat aus, während Zellen glomerulären Ursprungs beinahe gar nicht infizierbar waren. Dies könnte die im Vergleich zu Infektionen mit pathogeneren Hantaviruspezies geringer ausgeprägte Proteinurie rechtfertigen. Weiterhin war in humanen Zellen des proximalen Tubulus eine im zeitlichen Verlauf abnehmende Infektionsrate erkennbar, was den selbstlimitierenden Charakter des Krankheitsbildes einer Seoul-Virus Infektion widerspiegelt, welche weiterhin eine reversible Proteinurie zeigt. Darüber hinaus zeigt diese Arbeit, dass das Seoul-Virus auch in Zellen seines Wirtstieres, nämlich in primären Rattenzellen des proximalen Tubulus, repliziert. Hier zeigte sich eine stetige Zunahme der Infektion. Da *in vivo* das Immunsystem an der Replikationskontrolle beteiligt ist, lässt sich die eigentlich chronische aber asymptomatisch verlaufende Infektion des Wirtstieres dennoch erklären. Die Zelllinie NRK (*Normal rat kidney*) aus dem proximalen Tubulus der Ratte hat sich als für die Hantavirusforschung ungeeignetes Zellkulturmodell herausgestellt, da die Ergebnisse der Replikationskinetik nicht mit denen in den Primärzellen übereingestimmt haben. Dieses Ergebnis zeigt, wie wichtig es ist, bei hochdifferenzierten und -spezialisierten Zelltypen wie Nierenzellen, zunächst Primärzellen als Modell zu testen.

Schlussendlich wurde in dieser Arbeit der Einfluss des Restriktionsfaktors Mx1 (Myxovirus-Resistenz-Protein 1) auf die Replikationsraten der unterschiedlich pathogenen Hantavirus-Spezies in ihren Zielzellen untersucht. Mx1 gilt als potenziell pathogenitätsbeeinflussender Faktor bei Hantavirusinfektionen, indem er mittels antiviraler Mechanismen die Replikationsraten von Viren beeinflusst. Es ließen sich zwar Unterschiede der Mx1-Expression und der Infektionsrate in den verschiedenen verwendeten Zellen bei Infektion mit unterschiedlich pathogenen Hantaviren aufzeigen, allerdings lassen sich diese Unterschiede nicht klar zu bestimmten Zell- und Virustypen zuordnen. Somit hat die Mx1-Expression zwar möglicherweise einen

Einfluss auf Replikationskompetenz verschiedener Hantaviren in humanen Nierenzellen und somit auch auf deren Pathogenität, kann jedoch kaum isoliert dafür verantwortlich sein. Welche Rolle Mx1 während der Hantavirus-Infektion der Ratte spielen könnte, ließ sich durch das Fehlen eines funktionierenden nagerspezifischen Mx1 Antikörpers nicht untersuchen. Der Vergleich von humanen Zellen mit Rattenzellen kann aber in zukünftigen Untersuchungen helfen, wirtsspezifische Unterschiede zu identifizieren, die die Replikation des Hantavirus beeinflussen.