

Huanting Chi

Dr.sc.hum.

An hepatitis D virus infection model using human pluripotent stem cell-derived hepatocytes for virus-host interactions and antiviral evaluation

Fach/Einrichtung: Virologie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. Oliver T. Fackler

Weltweit leiden schätzungsweise 12 Millionen Menschen an einer chronischen Infektion mit dem Hepatitis D Virus (HDV), das bei einer Koinfektion mit dem Hepatitis-B-Virus (HBV) die aggressivste Form der Virushepatitis auslösen kann, was zu einem beschleunigten Prozess der Leberdysfunktion hin zu Leberfibrose, Zirrhose und Leberzellkarzinomen führt. HDV ist ein Satellitenvirus, da es vom Helfervirus HBV abhängt, welches das HBV-Oberflächenantigen (HBsAg) für die Assemblierung der viralen Komponenten und die anschließende Sekretion bereitstellt. Das einzige antivirale Medikament, das derzeit von der Europäischen Arzneimittelagentur speziell für die Behandlung von HDV zugelassen ist, ist der Eintrittsinhibitor Bulevirtide, der jedoch nur in bestimmten europäischen Ländern erhältlich ist. Zusätzlich dazu, ist das molekularbiologische Wissen über HDV sehr beschränkt, was die Entwicklung gezielter antiviraler Therapien behindert. Dies ist zum Teil darauf zurückzuführen, dass es keine zuverlässigen HDV-Zellkultursysteme gibt, die den physiologischen Zustand der Hepatozyten in vivo nachahmen.

In dieser Arbeit habe ich die Verwendung von aus Stammzellen abgeleiteten hepatozyten-ähnlichen Zellen (HLCs) als neuartiges Zellkulturmodell für die Untersuchung von HDV demonstriert. HLCs sind für eine HDV-Infektion mit verschiedenen Genotypen suszeptibel. Sie exprimieren endogen den Zelleintrittsrezeptor, das Natriumtaurocholat-Kotransportpolypeptid, in ausreichender Menge, um den Eintritt von HBV/HDV zu vermitteln. Bei Koinfektion mit HBV oder ektopischer Expression von HBsAg durch adeno-assoziierte Virustransduktion (HLCs^{HBsAg}) sind HLCs in der Lage, infektiöse Nachkommen-Virionen zu produzieren und freizusetzen und damit den gesamten HDV-Lebenszyklus zu rekapitulieren.

Mit dem HLCs^{HBsAg} System konnte ich auch zeigen, dass das System die extrazelluläre Ausbreitung von HDV unterstützt, die *in vivo* auftritt, aber bisher nur schwer *in vitro* zu replizieren war. Dies ermöglichte es mir, verfügbare Anti-HDV-Therapien zu testen, die auf die Ausbreitung von HDV abzielen, was den Nutzen von HLCs als Plattform für die Bewertung von Arzneimittelkandidaten unterstreicht.

Indem ich die Zellen während der Differenzierung mit einer HDV-Infektion infizierte, konnte ich eine erhöhte Anfälligkeit für HDV-Infektionen in voll ausgereiften HLCs beobachten. Unter anderem mit Hilfe von Transkriptomanalysen konnte ich CD63 als einen neuen HDV-Eintritts-Kofaktor identifizieren, der sich als limitierend für die HDV-Infektion in unreifen Hepatozyten erwies. Diese Ergebnisse erweitern nicht nur unser Verständnis der HBV/HDV-Infektion, sondern liefern auch einen Leitfaden für die Verwendung von Stammzellendifferenzierungs- und Stammzellkulturmodellen für die Identifizierung von Wirtsfaktoren, die für andere Viren eine wichtige Rolle spielen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass meine Studie eine umfassende und quantitative Bewertung der HDV-Infektion ermöglicht. Sie zeigt, dass HLCs den gesamten HDV-Lebenszyklus rekapitulieren und die extrazelluläre Ausbreitung unterstützen können und dass neue Wirts-Cofaktoren, wie der Eintritts-Cofaktor CD63, identifiziert werden konnten. Als Alternative zu Hepatomazellen und primären menschlichen Hepatozyten stellen HLCs ein erneuerbares, physiologisch relevantes und genetisch vertretbares System für HDV-Wirt-Interaktionsstudien und die Bewertung antiviraler Arzneimittel dar.