

Journal für
**Gastroenterologische und
Hepatologische Erkrankungen**

Fachzeitschrift für Erkrankungen des Verdauungstraktes

**Zellkultursysteme als Basis der
Therapieentwicklung für chronische
Hepatitis C**

Bühler S, Bartenschlager R

*Journal für Gastroenterologische
und Hepatologische Erkrankungen*

2011; 9 (4), 14-20

Österreichische Gesellschaft
für Gastroenterologie und
Hepatologie

www.oeggh.at



ÖGGH

Österreichische Gesellschaft
für Chirurgische Onkologie

www.aco-asso.at

acoasso
Österreichische Gesellschaft für Chirurgische Onkologie
Austrian Society of Surgical Oncology

Homepage:

**[www.kup.at/
gastroenterologie](http://www.kup.at/gastroenterologie)**

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

Indexed in EMBASE/Compendex, Geobase
and Scopus

www.kup.at/gastroenterologie

Member of the



Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P.b.b. 032035263M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

Zellkultursysteme als Basis der Therapieentwicklung für die chronische Hepatitis C

S. Bühler, R. Bartenschlager

Kurzfassung: Infektionen mit dem Hepatitis-C-Virus (HCV) führen überwiegend zu Persistenz. Obwohl die Primärinfektion zumeist asymptomatisch abläuft oder nur mit milden Symptomen assoziiert ist, stellt die persistente HCV-Infektion einen hohen Risikofaktor für die Entstehung schwerer Leberschäden, wie etwa Steatose, Fibrose, Leberzirrhose und das hepatozelluläre Karzinom, dar. Seit der ersten Klonierung des HCV-Genoms im Jahr 1989 wurden intensive Bemühungen unternommen, selektive Wirkstoffe für die antivirale Therapie zu entwickeln, was jedoch wegen des Fehlens adäquater Zellkultursysteme nur sehr langsam vorankam. Ein entscheidender Durchbruch war deshalb die Entwicklung des so genannten Replikonsystems, das auf der autonomen Vermehrung genetisch veränderter HCV-Minigenome in humanen Leberzellen beruht. Dieses System rekapituliert alle intrazellulären Schritte der Virusvermehrung und war deshalb ein entscheidendes Werkzeug für die Entwicklung HCV-spezifischer Wirkstoffe. Dazu gehören die Inhibitoren der NS3/4A-Protease, des NS5A-Replikationsfaktors und der NS5B-RNA-abhängigen RNA-Polymerase. Allerdings unterstützen Replikons keine Virusproduktion. Das wurde erst mit der molekularen Klonierung eines speziellen HCV-Isolats möglich, das sich mit hoher Effizienz in kultivierten humanen Hepatomazellen vermehrt und dabei infektiöse Viren produziert. Mithilfe dieser Kultursysteme konnten wichtige Einblicke in den HCV-Vermehrungszyklus gewonnen und weitere Angriffspunkte für die antivirale Therapie definiert werden. Dazu zählen auch zelluläre Faktoren, die das Virus für seine Vermehrung benötigt, wie etwa das Cyclophilin A oder die Micro-RNA-122. Am weitesten entwickelt sind

die beiden NS3/4A-Proteaseinhibitoren Telaprevir und Boceprevir, die erstmalig im Mai 2011 in den USA zur Behandlung von Infektionen mit Genotyp-1-Viren zugelassen wurden. Zum ersten Mal ist damit eine gezielte antivirale Therapie der chronischen Hepatitis C („specifically targeted antiviral therapy for hepatitis C“ [STAT-C], siehe Anhang) möglich. Diese Wirkstoffe, die in einer Dreifachkombination mit pegyliertem Interferon- α und Ribavirin gegeben werden, werden die Heilungsraten auf ca. 75 % steigern. Diese Therapie ist aber immer noch mit zahlreichen Nebenwirkungen assoziiert.

Schlüsselwörter: chronische Hepatitis C, Hepatitis-C-Virus, HCV-Zellkultursysteme, subgenomische Replikons, Stat-C, NS3-Proteaseinhibitoren

Abstract: Cell Culture Systems for the Hepatitis C Virus and Their Use for the Development of Antiviral Therapies for Chronic Hepatitis C. A hallmark of the hepatitis C virus (HCV) is its high propensity to establish persistence. Although acute infection is mild and most often asymptomatic, persistently infected individuals have a high risk to develop serious liver disease including fibrosis, steatosis, liver cirrhosis, and, eventually, hepatocellular carcinoma. Since the first molecular cloning of the HCV genome in 1989, attempts have been undertaken to develop a selective and potent antiviral therapy, but progress has been slow due to the lack of adequate cell culture systems to propagate the virus in the laboratory. In 1999, an important breakthrough was the generation of the replicon system that is based on genetically modified viral mini-genomes that replicate with high effi-

ciency in the human hepatoma cell line Huh7. This system mimics the intracellular steps of the viral replication cycle and thus has been used extensively to develop inhibitors of the HCV replicase, most notably the NS3/4A protease, the NS5B RNA-dependent RNA polymerase, and the NS5A replicase factor. However, replicons do not support production of infectious virus. This hurdle has only been overcome by the molecular cloning of a particular HCV isolate designated JFH-1 that is infectious for Huh7 cells, replicates to very high levels and produces infectious virus particles. By using these culture systems, important novel insights into the HCV replication cycle have been gained, culminating in an impressive number of drug candidates targeting viral, and more recently, also host cell factors such as cyclophilin A or microRNA-122 that are currently tested in clinical trials. Most advanced are 2 inhibitors of the NS3/4A protease (telaprevir and boceprevir) that were approved in May 2011 for combination therapy with pegylated interferon- α and ribavirin for chronic hepatitis C caused by infections with genotype-1 viruses. Thus, for the first time, specifically targeted antiviral therapy for hepatitis C (STAT-C) is available. These new armors in our arsenal to combat HCV infections will certainly increase the rate of therapy success, but there is still a long way to go until therapeutic modalities with low side-effects and high success rates will become available. **J Gastroenterol Hepatol Erkr 2011; 9 (4): 14–20.**

Key words: chronic hepatitis C, hepatitis C virus, HCV cell culture systems, subgenomic replicons, Stat-C, NS3 protease inhibitors

■ Einleitung

Die chronische Hepatitis C, verursacht durch eine persistente Infektion mit dem Hepatitis-C-Virus (HCV), stellt nach wie vor ein wichtiges und weltweit bedeutendes medizinisches Problem dar. Den Angaben des Robert-Koch-Instituts zufolge leben in Deutschland bis zu 500.000 Personen, die chronisch mit dem HCV infiziert sind. Diese haben ein hohes Risiko für die Entwicklung schwerer Leberschäden, insbesondere einer Leberzirrhose oder eines hepatozellulären Karzinoms (HCC).

Die aktuelle Therapie beruht auf der Kombination von pegyliertem Interferon- α und Ribavirin („standard of care“ [SOC]). Allerdings hängt der Therapieerfolg von 2 wesentlichen Faktoren ab: Da ist zum einen der Genotyp des infizierenden HCV zu nennen. Aufgrund der hohen Genomvariabilität unterscheidet man 7 verschiedene Genotypen, die sich in ihrer Ansprechraten auf die SOC deutlich unterscheiden. So erreichen die Ausheilungsraten („sustained viral response“ [SVR]) bei Infektionen mit Genotyp-2- oder -3-Viren bis zu 90 %, wohingegen die SVR bei Infektionen mit Genotyp-1- oder -4-Viren bei nur etwa 50 % liegt [1]. Dabei ist anzumerken, dass die Genotypen 1 und zunehmend auch 4 in Westeuropa am häufigsten vorkommen. Der zweite, prognostisch bedeutsame Marker für die SVR ist ein genetischer Polymorphismus im Interleukin-28-B-Genlocus, der für das Interferon lambda kodiert [2–5]. Personen mit einem homozygoten „CC“-Genotyp erreichen eine SVR von bis zu ca. 80 %, während Infizierte mit einem homozygoten TT-Genotyp eine Heilungsrate von nur ca. 20–30 % aufweisen. Bemerkenswert ist, dass dieser Polymorphismus

Eingelangt am 23. Mai 2011; angenommen nach Revision am 6. September 2011; Pre-Publishing Online am 20. Oktober 2011

Aus dem Department für Infektiologie, Molekulare Virologie, Universitätsklinikum Heidelberg, Deutschland

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. rer. nat. Ralf Bartenschlager, Department für Infektiologie, Molekulare Virologie, Universitätsklinikum Heidelberg, D-69120 Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 345; E-Mail: ralf_bartenschlager@med.uni-heidelberg.de

nicht nur positiv prädiktiv für die SVR ist, sondern auch mit der Ausheilungsrate nach einer Akutinfektion korreliert. Wichtig ist außerdem, dass der Genotyp, der mit einer erhöhten Ausheilungsrate korreliert, in der europäischen Bevölkerung häufiger vorkommt als in der afrikanischen, was die unterschiedlichen Ansprechraten in diesen Bevölkerungsgruppen zumindest teilweise erklärt.

■ Der HCV-Replikationszyklus

Eine Besonderheit des HCV-Partikels ist die intensive Assoziation mit Komponenten des VLDL- („Very low-density lipoprotein“) Systems (Abb. 1). Das sind in hohem Maße Lipide, wie etwa Cholesterine und Triacylglycerole, sowie mehrere Apolipoproteine, insbesondere das ApoE [7–9]. Diese Beschaffenheit des Viruspartikels könnte die Rolle einiger der insgesamt 6 Oberflächenmoleküle erklären, die für die erfolgreiche HCV-Infektion benötigt werden [10]. Das Virus wird vermutlich durch primäre Bindung an Glykosaminoglykane sowie den LDL-Rezeptor an der Zelloberfläche gebunden, gefolgt von Interaktionen mit dem Scavenger-Rezeptor B1 und CD81. Anschließend erfolgen weitere Interaktionen, möglicherweise an den „tight junctions“, mit Claudin-1 und Occludin, vermutlich unter Ausbildung eines Rezeptorkomplexes. Die Ausbildung dieses Komplexes sowie die Fusion der Virushülle mit der Endosomenmembran scheint durch eine Signalkaskade beschleunigt zu werden, die durch Aktivierung des Rezeptors für den epidermalen Wachstumsfaktor ausgelöst wird [11].

Nach anschließender rezeptorvermittelter Endozytose wird das virale Genom in das Zytoplasma entlassen und am rauen endoplasmatischen Retikulum translatiert. Hierfür ist eine interne Ribosomeneintrittsstelle (IRES) in der 5'-nicht-translatierten Region (NTR) wichtig, die ebenso wie die 3'-NTR wichtige Signale für die RNA-Replikation enthält [12, 13]. Da das HCV-Genom nur ein Gen besitzt, wird initial ein so genanntes Polyprotein gebildet, das ko- und posttranslational durch virale und zelluläre Proteasen in mindestens 10 Proteine gespalten wird (zur Übersicht [14]). Das Kapsidprotein (Core) bildet zusammen mit den beiden Hüllproteinen E1 und E2 die Hauptbestandteile der HCV-Partikel. Das Protein p7, das zur Familie der Viroporine gehört, und das Nicht-Strukturprotein (NS) 2 sind für die Virusmontage („assembly“) essenziell [15–19]. NS2 fungiert auch als Protease, deren aktives Zentrum durch Homodimerisierung gebildet wird [16] und die die Spaltung zwischen NS2 und NS3 katalysiert. NS3 ist eine Serinprotease, die im Zusammenspiel mit ihrem Kofaktor NS4A als NS3/4A-Proteasekomplex ganz wesentlich an der Prozessierung des Polyproteins beteiligt ist. Des Weiteren verfügt NS3 über RNA-Helikase und NTPase-Aktivitäten. Das Membranprotein NS4B induziert in der infizierten Zelle massive Membranveränderungen, die als „membranous web“ bezeichnet werden [20–22] (Abb. 1). Diese Membranvesikel sind vermutlich der Ort der RNA-Replikation. Das Phosphoprotein NS5A hat vermutlich eine duale Funktion und wird sowohl für die RNA-Replikation als auch für die Virusmontage benötigt, was vermutlich durch den Phosphorylierungsstatus von NS5A reguliert wird [14]. NS5B ist die RNA-abhängige RNA-Polymerase und katalysiert die Amplifikation des viralen Genoms. Von dieser wird zunächst eine Minusstrang-RNA-Kopie erzeugt, die ihrerseits

als Matrize für die Herstellung zahlreicher (Plusstrang-) Genomkopien dient. Diese werden entweder für die Synthese neuer Polyproteine verwendet oder in neue Nachkommenviren eingebaut, deren Bildung vermutlich an der Oberfläche von Lipidtröpfchen beginnt [23]. Deren weitere Reifung ist eng an den VLDL-Synthese- und Sekretionsweg gekoppelt, wobei die Nachkommenviren sehr wahrscheinlich über den konstitutiven Sekretionsweg aus der Zelle ausgeschleust werden (Abb. 1).

■ HCV-Zellkultursysteme

Die Identifikation von HCV als ätiologisches Agens der chronischen Hepatitis C gelang erstmalig 1989 [24]. Dessen Vermehrung in Zellkulturen, eine unabdingbare Voraussetzung für die Entwicklung antiviraler Wirkstoffe, gelang jedoch erst 10 Jahre später und basierte auf der Nutzung genetisch modifizierter HCV-Minigenome, so genannter „subgenomischer Replikons“.

HCV-Replikationssystem

Unter einem Replikon versteht man *per definitionem* ein genetisches Element, das zur autonomen Vermehrung befähigt ist.

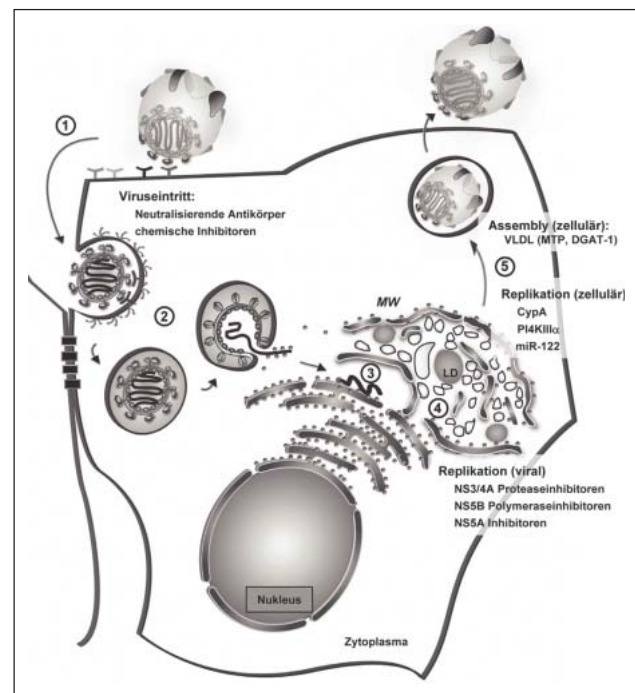


Abbildung 1: Die verschiedenen Stadien des HCV-Replikationszyklus. **1**) Anheftung des Virus an die Oberfläche der Zielzelle. Die HCV-Lipovirionpartikel binden mit den viralen Glykoproteinen E1 und E2 sowie den inkorporierten zellulären Apolipoproteinen an die verschiedenen Oberflächenrezeptoren. **2**) Rezeptorvermittelte Endozytose führt zur Clathrin-abhängigen Aufnahme von HCV. Der niedrige pH-Wert innerhalb des Endosoms (angedeutet durch die Dunkelfärbung) führt sehr wahrscheinlich zur Fusion der endosomalen Membran mit der Virushülle und damit zur Freisetzung des viralen RNA-Genoms in das Zytoplasma. **3**) Die Translation der viralen RNA erfolgt am rauen endoplasmatischen Retikulum. Das entstehende Polyprotein wird ko- und posttranslational gespalten. Daran beteiligt ist auch die NS3/4A-Protease. **4**) Die HCV-Replikation findet in so genannten „membranous webs“ (MW) statt, die aus Ansammlungen virusinduzierter Membranvesikel, ER-Membranen und Lipidtröpfchen (LD) bestehen. An der Oberfläche der Lipidtröpfchen beginnt vermutlich auch die Montage des Nukleokapsids, das durch Knospung in das ER-Lumen die Virushülle akquiriert. Dieser Prozess ist eng an den VLDL-Syntheseweg gekoppelt. **5**) Die Freisetzung neuer Viruspartikel findet in enger Assoziation mit dem VLDL-Sekretionsweg statt. Angriffspunkte selektiver antiviraler Therapien sind entsprechend vermerkt und im Text genauer beschrieben. Modifizierter Nachdruck mit Genehmigung aus [6].

Dafür genügen im Fall von HCV die Proteine NS3, 4A, 4B, 5A und 5B sowie die 5'- und 3'-NTRs, während die übrigen viralen Proteine entbehrlich sind. Bei den ursprünglichen Replikons wurde die Region, die für die Proteine Core, E1, E2, p7 und NS2 kodiert, durch ein Gen ersetzt, das Resistenz gegen das Zellgift G418 verleiht. Diese selektionierbaren und subgenomischen HCV-Replikons wurden in Zellen der humanen Hepatomalinie Huh7 eingeschleust und in Anwesenheit von G418 kultiviert. Unter diesen Bedingungen konnten nur jene Zellen überleben, in denen das Replikon effizient replizierte, da nur diese Zellen das G418-Gen enthielten und das Zellgift abbauen konnten [25]. Auf diese Weise konnten Zelllinien hergestellt werden, in denen sich HCV-RNAs effizient vermehren. Da deren Vermehrung alle viralen Replikationsfaktoren benötigt, u. a. die NS3/4A-Protease, das NS5A-Protein und die NS5B-Polymerase, war damit die Grundlage für die Entwicklung selektiver Wirkstoffe geschaffen (zur Übersicht [26]).

Obwohl hocheffiziente Replikons unterschiedlicher Virusisolate und Genotypen entwickelt wurden, war es in keinem Fall möglich, infektiöse HCV-Partikel herzustellen, und zwar auch dann nicht, wenn vollständige HCV-Genome in die Zelle eingeschleust wurden. Dies ist durch die Akkumulation von „adaptiven“ Mutationen bedingt, die sich in selektionierbaren Replikons ansammeln und die RNA-Replikation zwar deutlich erhöhen, gleichzeitig aber die Virusmontage stören [27]. Verwendet man HCV-Isolate ohne diese adaptiven Mutationen, kann man zwar infektiöses HCV in Zellkulturen produzieren, deren Vermehrungspotenzial ist jedoch so gering, dass sie für Detailstudien nicht geeignet sind.

HCV-Pseudopartikelsystem (HCVpp)

Da die Infektion einer Zelle durch das HCV mit Replikons nicht studiert werden kann, dies aber z. B. für die Messung neutralisierender Antikörper essenziell ist, haben 2 Arbeitsgruppen unabhängig voneinander das so genannte HCV-Pseudopartikel- (HCVpp-) System entwickelt [28, 29]. Dabei handelt es sich um retrovirale Partikel, in deren Membranhülle die funktionalen HCV-Hüllproteine E1 und E2 eingebaut sind. Da die Spezifität der Infektion ganz wesentlich durch diese Hüllproteine vermittelt wird, eignet sich das System zur Untersuchung der Partikelbindung an und für die Aufnahme in die Zielzelle. Durch Insertion eines Markergens (z. B. „green fluorescent protein“ oder Luziferase) in den HCVpp-Vektor kann die Infektion der Zielzelle quantifiziert werden. Das HCVpp-System war von großer Bedeutung u. a. für die Entdeckung der HCV-Rezeptoren Claudin und Occludin [30, 31] sowie für die Charakterisierung neutralisierender Antikörper [32].

HCV-Zellkultursystem (HCVcc)

Die Entwicklung eines Kultursystems, mit dem alle Stadien der Virusvermehrung im Labor adressierbar sind, gelang erst mit der molekularen Klonierung eines speziellen Virusisolats, genannt JFH-1, da es aus dem Serum eines japanischen Patienten mit fulminanter Hepatitis C gewonnen wurde. Dieses JFH-1-Genom ist in der Lage, sich mit hoher Effizienz in menschlichen Hepatomazellen zu vermehren, ohne dass hierfür die Replikation steigende Mutationen erforderlich sind [33]. Darüber hinaus unterstützt dieses Isolat die Produktion infektiöser HCV-Partikel [34]. Diese Eigenschaften sind bis heute einzigartig, da es trotz großer Bemühungen bisher nicht ge-

lungen ist, ein HCV-Isolat mit analogen Eigenschaften molekular zu klonen, und zwar auch dann nicht, wenn man als Ausgangsmaterial das Serum von Patienten mit fulminanter Hepatitis C verwendet. Die molekularen Ursachen für die hocheffiziente Replikation von JFH-1 sind noch nicht genau bekannt, es gibt aber Hinweise, dass bestimmte Eigenschaften der RNA-abhängigen RNA-Polymerase (das NS5B-Protein) eine wichtige Rolle spielen [35].

Um Viruspartikel anderer Genotypen in Zellkulturen produzieren zu können, wurden chimäre, von JFH-1 abgeleitete HCV-Genome entwickelt [36]. Dabei wurde die Genomregion in JFH-1, die für die Proteine Core bis NS2 kodiert, gegen die analoge Region anderer Virusgenome, die den Genotypen 1a, 1b, 2a, 3a, 4a oder 5a entsprechen, ausgetauscht [37–39]. Das effizienteste Genom, mit dem die größten Mengen infektiöser HCV-Partikel in Zellkulturen hergestellt werden können, nennt sich JC1 (abgeleitet von „Japanese chimera 1“) und es entspricht einer intragenotypischen Chimäre, mit der deutlich mehr Viruspartikel des Genotyps 2a hergestellt werden können als mit dem authentischen JFH-1-Genom selbst. Des Weiteren wurde von Yi et al. ein auf dem Genotyp 1a beruhendes Zellkultursystem entwickelt [40]. Allerdings ist die spezifische Infektiosität dieser Viren > 100-fach geringer als bei Genotyp-2a-Viren.

Neben dem HCV-Isolat ist auch die Zelle von entscheidender Bedeutung für die Etablierung von HCV-Zellkultursystemen. So gibt es eine Reihe von Huh7-Zellklonen, die auf effiziente HCV-RNA-Replikation selektioniert wurden, wie z. B. Huh7-LUNET [41] oder Huh7.5 [42]. Letztere eignen sich aufgrund der hohen Oberflächenexpression des HCV-Rezeptors CD81 besonders gut für die Kultivierung des HCV. Obwohl mit der Verfügbarkeit des JFH-1-Systems ein Studium des vollständigen HCV-Vermehrungszyklus im Zelllabor möglich ist, bleibt zu berücksichtigen, dass es sich um ein außergewöhnliches Virusisolat handelt, das zwar auch in vivo infektiös ist [34], dessen biologische Eigenschaften sich aber von denen anderer HCV-Genotypen durchaus unterscheiden können.

■ Antivirale Wirkstoffe zur spezifischen Blockade viraler Proteine

Mithilfe des Replikonsystems wurden in den vergangenen Jahren antivirale Wirksubstanzen identifiziert, die i. w. gegen 3 virale Zielstrukturen gerichtet sind: die NS3/4A-Protease, die NS5B-RNA-abhängige RNA-Polymerase und das NS5A. Diese Wirkstoffe ermöglichen ein direktes und gezieltes Eingreifen in den HCV-Replikationszyklus, da sie unmittelbar an der Biogenese der viralen Replikationsmaschinerie bzw. deren enzymatischer Aktivität angreifen und somit die Virusvermehrung unmittelbar zum Erliegen bringen. Dies steht im Gegensatz zur bisherigen Standardtherapie, die an keiner spezifischen viralen Zielstruktur angreift, sondern i. w. eine generalisierte Stärkung der Immunantwort des Infizierten hervorruft. So induziert das Interferon ganz wesentlich ein genetisches Programm, das die Zelle in einen antiviralen Status versetzt, der vor einer produktiven Infektion mit dem HCV schützt. Ob das Ribavirin diesen Effekt noch verstärkt oder auf andere Weise zum Therapieerfolg beiträgt, wird kontrovers diskutiert (Übersicht [43]).

Eine ausführliche Diskussion der Wirkprinzipien sowie der Vor- und Nachteile der verschiedenen Wirkstoffe ist hier aus Platzgründen nicht möglich. Dazu wurden zahlreiche Übersichtsartikel veröffentlicht, auf die wir die Leser verweisen [44–46]:

1. Inhibitoren der viralen Protease NS3/4A, wie etwa Telaprevir oder Boceprevir, inhibieren die Prozessierung des HCV-Polypeptids an den Spaltstellen NS3-4A, NS4A-4B, NS4B-5A und NS5A-5B. Die Proteasehemmer wirken nicht auf schon etablierte Replikationsstrukturen, da hier die proteolytische Spaltung schon stattgefunden hat, sondern hemmen deren Neubildung, die von dem ungespaltenen Polyprotein nicht vermittelt werden kann. Darüber hinaus restaurieren die Proteasehemmer vermutlich die Signaltransduktionskaskade, die für die Synthese von Typ-1-Interferon verantwortlich ist [47, 48]. Es ist denkbar, dass diese Rekonstitution einen zusätzlichen Beitrag zur Elimination des Virus leistet. Die neue Therapie, zugelassen für Infektionen mit Genotyp-1-Viren, ist eine Dreifachkombination aus einem der beiden Proteasehemmer, pegyliertem Interferon und Ribavirin. Die SVR bei Genotyp-1-Patienten kann dadurch auf ca. 70 % gesteigert werden [49].
2. Bei NS5B-Inhibitoren unterscheidet man nukleosidische und nicht-nukleosidische Inhibitoren. Nukleosidische Polymeraseinhibitoren binden im aktiven Zentrum der Polymerase, werden in die wachsende RNA eingebaut und blockieren so die RNA-Neusynthese durch Abbruch der RNA-Kette (Kettenabbruch; „chain termination“). Diese Inhibitoren haben eine extrem hohe genetische Barriere, weshalb man quasi keine Resistenzen im Replikationssystem oder in klinischen Studien gefunden hat. Man geht davon aus, dass die resistenzvermittelnden Mutationen die virale Fitness, d. h. die Replikationskompetenz, zu stark mindern. Demgegenüber zeigen die nicht nukleosidischen Polymeraseinhibitoren eine sehr niedrige Resistenzbarriere. Substanzen dieser Klasse binden an unterschiedliche (allosterische) Regionen der NS5B-Polymerase und führen zu deren Hemmung. Aufgrund der limitierten antiviralen Potenz und der schnellen Resistenzselektion werden Inhibitoren dieser Substanzklasse zukünftig vermutlich eine weniger wichtige Rolle spielen.
3. Inhibitoren gegen NS5A, dem bis heute keine enzymatische Aktivität zugeschrieben werden konnte, zeichnen sich durch eine enorm hohe antivirale Potenz aus. So genügt vermutlich ein Wirkstoffmolekül, um ca. 10–100 NS5A-Moleküle zu „neutralisieren“, weshalb man von einem dominant negativen Effekt dieser Inhibitoren spricht. Der Wirkmechanismus ist unbekannt, man nimmt jedoch an, dass es zu einer Hemmung von NS5A-Polymeren in der Zelle kommt. Der in der klinischen Erprobung am meisten fortgeschrittene Wirkstoff ist BMS-790052. Eine einmalige Gabe dieser Substanz war ausreichend, um die Viruslast innerhalb von 24 Stunden um mehr als den Faktor 1000 zu reduzieren [50].

Ein Problem bei fast allen o. g. Inhibitoren ist die schnelle Selektion auf therapieresistente Viren. Diese sind durch die hohe Virusproduktion bedingt (ca. 10^{12} HCV-Partikel/Tag) sowie die hohe Fehlerrate der NS5B-Polymerase (bis zu 10^{-5}). Rein rechnerisch werden pro Tag mehr als 10^{10} HCV-Genomvarianten generiert und es verwundert nicht, dass darunter auch solche sind, die *a priori* gegen antivirale Wirkstoffe resistent sind. Diese werden, ausreichende Replikationskompetenz voraus-

gesetzt, sehr schnell die Wildviruspopulation ersetzen, was sich klinisch als Anstieg der Virämie unter der Therapie („break-through“) manifestiert. Die Resistenzbarriere differiert zwischen den Wirkstoffklassen und ist bei den Proteaseinhibitoren der ersten Generation sehr niedrig, bei den nukleosidischen NS5B-Inhibitoren hingegen sehr hoch.

Ein weiteres Problem ist das Auftreten von Kreuzresistenzen. So führen beispielsweise die Mutationen R155K/T/Q oder A156S/T/V in der NS3/4A-Protease zu einer Resistenz gegen Telaprevir, Boceprevir und zahlreiche andere Proteaseinhibitoren. Initial haben diese Resistenzvarianten eine eingeschränkte Replikationskompetenz, unter andauernder Therapie kommt es jedoch zur Selektion von sekundären und tertiären Resistenzmutationen, die den Replikationsdefekt ausgleichen. Solche adaptierten Resistenzvarianten können sich dann vermutlich sehr lange im Körper halten, auch wenn die Therapie abgesetzt wird. Deshalb wird bei der zukünftigen Dreifachtherapie die engmaschige Bestimmung der Viruslast unter der Therapie eine wichtige Rolle spielen, um bei Therapieversagen die Selektion von angepassten Resistenzvarianten zu verhindern.

Aufgrund der hohen Nebenwirkungen von Interferon und Ribavirin und der zahlreichen Kontraindikationen wird die Interferon-freie Therapie der chronischen Hepatitis C der angestrebte Goldstandard sein. Dass dies grundsätzlich möglich sein kann, haben erste klinische Studien gezeigt. So führten Gane et al. [51] die erste Interferon-freie orale Kombinationstherapie bestehend aus den selektiven HCV-Inhibitoren RG7128, einem nukleosidischen Polymeraseinhibitor mit hoher Resistenzbarriere, und Danoprevir, einem Proteaseinhibitor mit niedriger Resistenzbarriere, bei Patienten mit chronischer HCV-Genotyp-1-Infektion durch (INFORM-1). Während der 14-tägigen Therapie zeigten fast alle Patienten eine deutliche Reduktion der Viruslast und es wurde kein „break-through“ beobachtet. Die Kombination beider Wirkstoffe war gut verträglich und kein Patient musste die Therapie abbrechen. Neuere Studien mit Kombinationen anderer selektiver Wirkstoffe lassen vermuten, dass eine Interferon-freie Therapie der chronischen Hepatitis C keine Fiktion, sondern eine realistische Möglichkeit ist.

■ Antivirale Wirksubstanzen gegen Wirtszellproteine

Die rasche Selektion von Therapieresistenzen ist ein großes Problem. Eine Alternative hierzu sind selektive Therapien, bei denen der Wirkstoff gegen ein Wirtszellprotein gerichtet ist, das für die HCV-Vermehrung essenziell ist. Hier ist die genetische Barriere besonders hoch, da sich unter dieser Therapie nur solche Virusvarianten entwickeln können, deren Replikation weniger abhängig vom jeweiligen zellulären Faktor ist. Auch diese Strategie wird bei der Entwicklung HCV-spezifischer Therapiestrategien verfolgt. Um den Eintritt der Viruspartikel in die Zielzelle zu verhindern, werden neutralisierende Antikörper sowie kleine organische Moleküle entwickelt, die die Interaktion der viralen Hüllproteine (E1/E2) mit den Wirtszellrezeptoren blockieren. Eine weitere Möglichkeit ist der Eingriff in den Prozess der Montage neuer Virionen, beispielsweise durch Hemmung des VLDL-Synthesewegs [52,

53]. Auch Statine zeigen in Zellkulturen eine antivirale Wirkung, die sich jedoch in Metaanalysen klinisch nicht bestätigt [54, 55].

Ein für die HCV-Replikation essenzielles Wirtszellprotein ist das Cyclophilin A (CypA) [56–60]. Dabei handelt es sich um ein Chaperon, das für die korrekte Faltung von Proteinen wichtig ist, indem es bestimmte Peptidbindungen isomerisiert. Es ist bekannt, dass Cyclosporin A, ein selektiver Inhibitor der Cyclophiline, die HCV-Replikation effizient inhibiert [61]. Man nimmt an, dass CypA an das NS5A bindet und auf diese Weise die Aktivität der viralen Replikase steigert. Durch konsequente Weiterentwicklung wurden Cyclosporinderivate entwickelt, die nicht mehr immunsuppressiv sind, sehr wohl aber CypA binden und damit die HCV-Replikation inhibieren [62]. Auch in klinischen Studien wurde gezeigt, dass die Zugabe von CypA-Inhibitoren zur SOC die Ansprechrate signifikant steigert, was CypA als Angriffsziel für die Therapie der chronischen Hepatitis C validiert [63, 64].

Neben CypA ist auch die zelluläre Kinase PI4KIII- α (Phosphatidylinositol-4-Kinase III- α) essenziell für die HCV-Replikation [65–71]. Dieses Enzym wird durch Bindung an NS5A in der Zelle zum Ort der Virusvermehrung rekrutiert und aktiviert. Es kommt zur übermäßigen Synthese von PI4-Phosphat, das für die Integrität des HCV-Replikationskomplexes essenziell ist [65]. Inhibitoren der PI4KIII- α führen demzufolge zu einer massiven Hemmung der HCV-Replikation.

Der dritte zelluläre Faktor, der für die HCV-Replikation essenziell ist, ist die Mikro- (mi-) RNA-122 [72]. Deren Expression ist leberspezifisch und sie steigert sowohl die Translation als auch die Replikation des HCV-Genoms [73]. Studien in Zellkulturen und in Schimpansen zeigen, dass die künstliche Reduktion der miRNA-122-Menge durch synthetische Oligonukleotide, die an diese miRNA binden und damit quasi kompetitiv hemmen, zu einer drastischen Hemmung der HCV-Replikation führt [72, 74]. Diese Studien belegen, dass sich zelluläre Faktoren, die für die Replikation eines Pathogens essenziell sind, als Angriffsstrukturen für eine Therapie nutzen lassen.

■ Relevanz für die Praxis und Fragen

Die chronische Hepatitis C ist ein bedeutsames medizinisches Problem. Die gegenwärtige Standardtherapie besteht aus pegyliertem Interferon α und Ribavirin, deren Erfolg jedoch in hohem Maße vom Genotyp des infizierenden Virus und bestimmten Polymorphismen des Patienten abhängt. Außerdem ist diese Therapie mit starken Nebenwirkungen verbunden, teuer und beinhaltet zahlreiche Kontraindikationen. Aufgrund dieser Limitationen wurden selektive Wirkstoffe entwickelt, wofür die Etablierung adäquater Zellkultursysteme für das HCV eine unabdingbare Voraussetzung war. Von großer Bedeutung war das Replikonsystem, das als erstes verfügbar wurde und das die intrazellulären Schritte der Virusvermehrung rekapituliert. Mithilfe dieses Systems wurden zahlreiche Wirkstoffe gegen die 3 Hauptangriffsziele, die NS3/4A-Protease, das NS5A und

die NS5B-RNA-Polymerase, entwickelt. Am weitesten fortgeschritten sind die NS3/4A-Proteaseinhibitoren Telaprevir und Boceprevir, die im Mai 2011 in den USA zugelassen wurden. Ein weiterer wichtiger Schritt war die Entwicklung eines Zellkultursystems, das die Produktion infektiöser HCV-Partikel im Labor erlaubt und das alle Schritte der Virusvermehrung rekapituliert. Mithilfe dieses Systems konnten wichtige Einblicke insbesondere in die frühen und späten Stadien der Virusvermehrung gewonnen und neue Angriffsziele für die Therapie der Hepatitis C definiert werden.

1. Was ist eines der Hauptangriffsziele selektiver Wirkstoffe gegen das Hepatitis-C-Virus?

- Core Protein
- NS5A
- E1-Protein
- 3'-NTR

2. Wie wirken die NS3/4A-Proteaseinhibitoren?

- Sie blockieren die Assoziation von NS3 mit NS4A.
- Sie beschleunigen die Assoziation von NS3 mit NS4A.
- Sie blockieren die Spaltung des Polyproteins und unterbinden somit die Neubildung von Replikationskomplexen.
- Sie blockieren die Spaltung des Polyproteins und unterbinden die Virusreifung.

3. Welche Aussage über nicht-nukleosidische Inhibitoren für die Hepatitis-C-Therapie trifft zu?

- Nicht-nukleosidische Inhibitoren hemmen die NS5B-Polymerase nicht, sondern werden in die replizierende RNA eingebaut und führen zum Kettenabbruch.
- Nicht-nukleosidische Inhibitoren binden direkt an die NS5B-Polymerase und führen zu deren allosterischer Hemmung.
- Nicht-Nukleoside binden direkt an das NS5A und führen zu dessen allosterischer Hemmung.
- Boceprevir gehört zur Klasse der nicht-nukleosidischen Inhibitoren.

4. Welche Aussage zur Entstehung der HCV-Resistenz trifft nicht zu?

- Die tägliche Virusproduktion ist enorm hoch und beträgt ca. 10^{12} Partikel pro Tag.
- Die Fehlerrate der NS5B-RNA-Polymerase ist sehr hoch und beträgt ca. 10^{-5} .
- Viele Resistenzvarianten sind schon vor der Therapie existent.
- Resistenzvarianten entstehen erst während der Therapie.

Lösung

- Marcellin P. Hepatitis B and hepatitis C in 2009. *Liver Int* 2009; 29 (Suppl): 11–8.
- Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461: 399–401.
- Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with

response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41: 1105–9.

4. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41: 1100–4.

5. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009; 461: 798–801.
6. Alvisi G, Madan V, Bartenschlager R. Hepatitis C virus and host cell lipids: an intimate connection. *RNA Biology* 2011; 8: 258–69.
7. Jiang J, Luo G. Apolipoprotein E but not B is required for the formation of infectious hepatitis C virus particles. *J Virol* 2009; 83: 12680–91.
8. Merz A, Long G, Hiet MS, et al. Biochemical and morphological properties of hepatitis C virus particles and determination of their lipidome. *J Biol Chem* 2011; 286: 3018–32.
9. Bartenschlager R, Penin F, Lohmann V, et al. Assembly of infectious hepatitis C virus particles. *Trends Microbiol* 2011; 19: 95–103.
10. Burlone ME, Budkowska A. Hepatitis C virus cell entry: role of lipoproteins and cellular receptors. *J Gen Virol* 2009; 90: 1055–70.
11. Lupberger J, Zeisel MB, Xiao F, et al. EGFR and EphA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy. *Nat Med* 2011; 17: 589–95.
12. Friebe P, Lohmann V, Krieger N, et al. Sequences in the 5' nontranslated region of hepatitis C virus required for RNA replication. *J Virol* 2001; 75: 12047–57.
13. Friebe P, Bartenschlager R. Genetic analysis of sequences in the 3' nontranslated region of hepatitis C virus that are important for RNA replication. *J Virol* 2002; 76: 5326–38.
14. Poenisch M, Bartenschlager R. New insights into structure and replication of the hepatitis C virus and clinical implications. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 333–47.
15. Steinmann E, Penin F, Kallis S, et al. Hepatitis C virus p7 protein is crucial for assembly and release of infectious virions. *PLoS Pathog* 2007; 3: e103.
16. Lorenz IC, Marcotrigiano J, Dentzer TG, et al. Structure of the catalytic domain of the hepatitis C virus NS2-3 protease. *Nature* 2006; 442: 831–5.
17. Jones CT, Murray CL, Eastman DK, et al. Hepatitis C virus p7 and NS2 proteins are essential for production of infectious virus. *J Virol* 2007; 81: 8374–83.
18. Jirasko V, Montserret R, Appel N, et al. Structural and functional characterization of nonstructural protein 2 for its role in hepatitis C virus assembly. *J Biol Chem* 2008; 283: 28546–62.
19. Jirasko V, Montserret R, Lee JY, et al. Structural and functional studies of nonstructural protein 2 of the hepatitis C virus reveal its key role as organizer of virion assembly. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1001233.
20. Egger D, Wolk B, Gosert R, et al. Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. *J Virol* 2002; 76: 5974–84.
21. Gosert R, Egger D, Lohmann V, et al. Identification of the hepatitis C virus RNA replication complex in huh-7 cells harboring subgenomic replicons. *J Virol* 2003; 77: 5487–92.
22. Paul D, Romero-Brey I, Gouttenoire J, et al. NS4B self-interaction through conserved C-terminal elements is required for the establishment of functional HCV replication complexes. *J Virol* 2011; 85: 6963–76.
23. Miyanari Y, Aizawa K, Usuda N, et al. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 1089–97.
24. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359–62.
25. Lohmann V, Körner F, Koch JO, et al. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999; 285: 110–3.
26. Bartenschlager R, Sparacio S. Hepatitis C virus molecular clones and their replication capacity in vivo and in cell culture. *Virus Res* 2007; 127: 195–207.
27. Pietschmann T, Zayas M, Meuleman P, et al. Production of infectious genotype 1b virus particles in cell culture and impairment by replication enhancing mutations. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000475.
28. Bartosch B, Dubuisson J, Cosset FL. Infectious hepatitis C virus pseudo-particles containing functional E1-E2 envelope protein complexes. *J Exp Med* 2003; 197: 633–42.
29. Hsu M, Zhang J, Flint M, et al. Hepatitis C virus glycoproteins mediate pH-dependent cell entry of pseudotyped retroviral particles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 7271–6.
30. Evans MJ, von Hahn T, Tschernie DM, et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus receptor required for a late step in entry. *Nature* 2007; 446: 801–5.
31. Ploss A, Evans MJ, Gaysinskaya VA, et al. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature* 2009; 457: 882–6.
32. von Hahn T, Yoon JC, Alter H, et al. Hepatitis C virus continuously escapes from neutralizing antibody and T-cell responses during chronic infection in vivo. *Gastroenterology* 2007; 132: 667–78.
33. Kato T, Furusaka A, Miyamoto M, et al. Sequence analysis of hepatitis C virus isolated from a fulminant hepatitis patient. *J Med Virol* 2001; 64: 334–9.
34. Wakita T, Pietschmann T, Kato T, et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med* 2005; 11: 791–6.
35. Schmitt M, Scriba N, Radujkovic D, et al. A comprehensive structure-function comparison of hepatitis C virus strain JFH1 and J6 polymerases reveals a key residue stimulating replication in cell culture across genotypes. *J Virol* 2011; 85: 2565–81.
36. Pietschmann T, Kaul A, Koutsoudakis G, et al. Construction and characterization of infectious intragenotypic and intergenotypic hepatitis C virus chimeras. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 7408–13.
37. Gottwein JM, Bukh J. Cutting the gordian knot – development and biological relevance of hepatitis C virus cell culture systems. *Adv Virus Res* 2008; 71: 51–133.
38. Scheel TK, Gottwein JM, Jensen TB, et al. Development of JFH1-based cell culture systems for hepatitis C virus genotype 4a and evidence for cross-genotype neutralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 997–1002.
39. Jensen TB, Gottwein JM, Scheel TK, et al. Highly efficient JFH1-based cell culture system for hepatitis C virus genotype 5a: failure of homologous neutralizing-antibody treatment to control infection. *J Infect Dis* 2008; 198: 1756–65.
40. Yi M, Villanueva RA, Thomas DL, et al. Production of infectious genotype 1a hepatitis C virus (Hutchinson strain) in cultured human hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 2310–5.
41. Friebe P, Boudet J, Simorre JP, et al. Kissing-loop interaction in the 3' end of the hepatitis C virus genome essential for RNA replication. *J Virol* 2005; 79: 380–92.
42. Blight KJ, McKeating JA, Rice CM. Highly permissive cell lines for subgenomic and genomic hepatitis C virus RNA replication. *J Virol* 2002; 76: 13001–14.
43. Feld JJ, Hoofnagle JH. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature* 2005; 436: 967–72.
44. Lemon SM, McKeating JA, Pietschmann T, et al. Development of novel therapies for hepatitis C. *Antiviral Res* 2010; 86: 79–92.
45. Sarrazin C, Zeuzem S. Resistance to direct antiviral agents in patients with hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2010; 138: 447–62.
46. Bihl F, Negro F. Treatment of chronic hepatitis C. *Minerva Med* 2009; 100: 459–65.
47. Bellecave P, Sarasin-Filipowicz M, Donze O, et al. Cleavage of mitochondrial antiviral signaling protein in the liver of patients with chronic hepatitis C correlates with a reduced activation of the endogenous interferon system. *Hepatology* 2010; 51: 1127–36.
48. Meylan E, Curran J, Hofmann K, et al. Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature* 2005; 437: 1167–72.
49. Asselah T, Marcellin P. New direct-acting antivirals' combination for the treatment of chronic hepatitis C. *Liver Int* 2011; 31 (Suppl 1): 68–77.
50. Gao M, Nettles RE, Belema M, et al. Chemical genetics strategy identifies an HCV NS5A inhibitor with a potent clinical effect. *Nature* 2010; 465: 96–100.
51. Gane EJ, Roberts SK, Stedman CA, et al. Oral combination therapy with a nucleoside polymerase inhibitor (RG7128) and danoprevir for chronic hepatitis C genotype 1 infection (INFORM-1): a randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Lancet* 2010; 376: 1467–75.
52. Herker E, Harris C, Hernandez C, et al. Efficient hepatitis C virus particle formation requires diacylglycerol acyltransferase-1. *Nat Med* 2010; 16: 1295–8.
53. Gastaminza P, Cheng G, Wieland S, et al. Cellular determinants of hepatitis C virus assembly, maturation, degradation, and secretion. *J Virol* 2008; 82: 2120–9.
54. Delang L, Paeshuyse J, Vliegen I, et al. Statins potentiate the in vitro anti-hepatitis C virus activity of selective hepatitis C virus inhibitors and delay or prevent resistance development. *Hepatology* 2009; 50: 6–16.
55. Forde KA, Law C, O'Flynn R, et al. Do statins reduce hepatitis C RNA titers during routine clinical use? *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5020–7.
56. Kaul A, Stauffer S, Berger C, et al. Essential role of cyclophilin A for hepatitis C virus replication and virus production and possible link to polyprotein cleavage kinetics. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000546.
57. Yang F, Robotham JM, Nelson HB, et al. Cyclophilin A is an essential cofactor for hepatitis C virus infection and the principal mediator of cyclosporine resistance in vitro. *J Virol* 2008; 82: 5269–78.
58. Chatterji U, Bobardt M, Selvarajah S, et al. The isomerase active site of cyclophilin A is critical for hepatitis C virus replication. *J Biol Chem* 2009; 284: 16998–7005.
59. Hanoulle X, Badillo A, Wieruszkeski JM, et al. Hepatitis C virus NS5A protein is a substrate for the peptidyl-prolyl cis/trans isomerase activity of cyclophilins A and B. *J Biol Chem* 2009; 284: 13589–601.
60. Ciesek S, Steinmann E, Wedemeyer H, et al. Cyclosporine A inhibits hepatitis C virus nonstructural protein 2 through cyclophilin A. *Hepatology* 2009; 50: 1638–45.
61. Watahi K, Hijikata M, Hosaka M, et al. Cyclosporin A suppresses replication of hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes. *Hepatology* 2003; 38: 1282–8.
62. Fischer G, Gallay P, Hopkins S. Cyclophilin inhibitors for the treatment of HCV infection. *Curr Opin Investig Drugs* 2010; 11: 911–8.
63. Flisiak R, Horban A, Gallay P, et al. The cyclophilin inhibitor Debio-025 shows potent anti-hepatitis C effect in patients coinfecting with hepatitis C and human immunodeficiency virus. *Hepatology* 2008; 47: 817–26.
64. Lawitz E, Godofsky E, Rouzier R, et al. Safety, pharmacokinetics, and antiviral activity of the cyclophilin inhibitor NIM811 alone or in combination with pegylated interferon in HCV-infected patients receiving 14 days of therapy. *Antiviral Res* 2011; 89: 238–45.
65. Reiss S, Rebhan I, Backes P, et al. Recruitment and activation of a lipid kinase by hepatitis C virus NS5A is essential for integrity of the membranous replication compartment. *Cell Host Microbe* 2011; 9: 32–45.
66. Tai AW, Benita Y, Peng LF, et al. A functional genomic screen identifies cellular cofactors of hepatitis C virus replication. *Cell Host Microbe* 2009; 5: 298–307.
67. Vaillancourt FH, Pilote L, Cartier M, et al. Identification of a lipid kinase as a host factor involved in hepatitis C virus RNA replication. *Virology* 2009; 387: 5–10.
68. Borawski J, Troke P, Puyang X, et al. Class III phosphatidylinositol 4-kinase α and β are novel host factor regulators of hepatitis C virus replication. *J Virol* 2009; 83: 10058–74.
69. Trotard M, Lepere-Douard C, Regeard M, et al. Kinases required in hepatitis C virus entry and replication highlighted by small interference RNA screening. *FASEB J* 2009; 23: 3780–9.
70. Berger KL, Cooper JD, Heaton NS, et al. Roles for endocytic trafficking and phosphatidylinositol 4-kinase III α in hepatitis C virus replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 7577–82.
71. Li Q, Brass AL, Ng A, et al. A genome-wide genetic screen for host factors required for hepatitis C virus propagation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 16410–5.
72. Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, et al. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science* 2005; 309: 1577–81.

73. Henke JI, Goergen D, Zheng J, et al. microRNA-122 stimulates translation of hepatitis C virus RNA. *EMBO J* 2008; 27: 3300–10.

74. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science* 2010; 327: 198–201.

75. Lamarre D, Anderson PC, Bailey M, et al. An NS3 protease inhibitor with antiviral effects in humans infected with hepatitis C virus. *Nature* 2003; 426: 186–9.

76. Lin K, Perni RB, Kwong AD, et al. VX-950, a novel hepatitis C virus (HCV) NS3-4A protease inhibitor, exhibits potent antiviral activities in HCV replicon cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1813–22.

77. Malcolm BA, Liu R, Lahser F, et al. SCH 503034, a mechanism-based inhibitor of hepatitis C virus NS3 protease, suppresses polyprotein maturation and enhances the antiviral activity of alpha interferon in replicon cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1013–20.

78. Afdhal NH, Curry M. Technology evaluation: a critical step in the clinical utilization of novel diagnostic tests for liver fibrosis. *J Hepatol* 2007; 46: 543–5.

79. Cooper C, Lawitz EJ, Ghali P, et al. Antiviral activity of the non-nucleoside polymerase inhibitor, VCH-759, in chronic hepatitis C patients: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending multiple dose study. *Hepatology* 2007; 46 (Suppl 1): 864A.

Prof. Dr. Ralf Bartenschlager

Geboren 1958. Biologiestudium an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg. 1990 Promotion. 1991–1993 Post-doc bei der Hoffmann-La Roche AG, Basel, Schweiz. 1994–2000 Arbeitsgruppenleiter am Institut für Virologie, Universität Mainz. 1999 Habilitation an der Universität Mainz. 2000–2002 Professur für Molekulare Virologie am Institut für Virologie, Universität Mainz. Seit 2002 Professur für Molekulare Virologie an der Medizinischen Fakultät der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg.

Forschungsschwerpunkt: Biologie der Flaviviridae mit besonderem Fokus auf Hepatitis-C- und Dengue-Virus.



Anhang: Entwicklung der STAT-C („specifically targeted antiviral therapy for HCV“)

1999 Etablierung des ersten Zellkultursystems (das HCV-„Replikonsystem“), in dem die intrazellulären Schritte der HCV-RNA-Replikation *in cellulo* dargestellt werden können [25]. Dieses System erlaubte erstmalig die Testung HCV-spezifischer Inhibitoren, die an der intrazellulären Virusvermehrung angreifen (NS3-Protease; NS5A-Replikationsfaktor; NS5B-RNA-abhängige RNA-Polymerase).

2003 Erste Testung eines HCV-spezifischen antiviralen Wirkstoffes (NS3-Proteaseinhibitor) in einer klinischen Studie [75].

2005 Etablierung eines Zellkultursystems, in dem der vollständige HCV-Replikationszyklus *in cellulo* dargestellt werden kann [34]. Damit konnten erstmalig auch die frühen und späten Schritte der Virusvermehrung (der Viruseintritt, die Produktion infektiöser Viruspartikel und deren Ausschleusung aus der Zelle) untersucht werden. Entsprechende Inhibitoren sind in der (prä-) klinischen Entwicklung.

2006 Erste Beschreibung von VX-950 (Telaprevir) und SCH503034 (Boceprevir) als HCV-NS3-Proteaseinhibitoren [76, 77].

2007 Testung der ersten nukleosidischen und nicht-nukleosidischen NS5B-Inhibitoren in Patienten mit chronischer Hepatitis C [78, 79].

2010 Erste klinische Studie (INFORM-1) einer Interferon-/Ribavirin-freien Therapie, basierend auf der Kombination zweier HCV-spezifischer Inhibitoren: einem nukleosidischen Polymeraseinhibitor (RG7128) und einem Proteaseinhibitor (Danoprevir) [51].

2010 Erstbeschreibung der Entwicklung eines hocheffizienten NS5A-Inhibitors und dessen klinische Testung [50].

2011 Zulassung der Proteaseinhibitoren Telaprevir und Boceprevir in den USA.

Lösung von S. 18: 1b; 2c; 3b; 4d

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

☒ [Bilddatenbank](#)

☒ [Artikeldatenbank](#)

☒ [Fallberichte](#)

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ [Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)