

Fred Wang, Elliott Kieff

Medizinische Virologie

Für die deutsche Ausgabe Sarah Steinbrecher und Norbert Suttrop

DEFINITION EINES VIRUS

Viren sind obligate intrazelluläre Parasiten. Sie bestehen aus einem DNS- oder RNS-Genom, das von einem oder mehreren Proteinen umgeben ist. Einige Viren besitzen außerdem eine äußere Lipoproteinhülle (outer-membrane lipoprotein). Viren können sich nur innerhalb von Wirtszellen vermehren, da ihre Nukleinsäuren für viele Enzyme zur Synthese energiereicher Phosphate und des Protein-, Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels nicht kodieren. Typischerweise kodieren die viralen Nukleinsäuren für Messenger-RNS (mRNA) und Proteine, die zur Replikation, Verpackung und Freisetzung neuer Viren aus infizierten Zellen notwendig sind.

Viren unterscheiden sich von Viroiden, Prionen und Virusoiden. *Virusoiden* sind Nukleinsäuren, die Zellen und Helferviren benötigen, um ihre Nukleinsäuren in virusähnliche Partikel zu verpacken. *Viroiden* bestehen aus nackter, ringförmiger, meist doppelsträngiger und kleiner RNS. Sie scheinen auf Pflanzen beschränkt zu sein, in denen sie sich von Zelle zu Zelle verbreiten und mithilfe der zellulären RNS-Polymerase II vermehren. *Prionen* (Kap. 430) sind abnorme Proteine, die sich ausbreiten und Erkrankungen auslösen können, indem sie die Struktur der normalen Proteine der Zelle verändern. Prionen verursachen neurodegenerative Erkrankungen, wie die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom, Kuru und die humane oder bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE, „Rinderwahnsinn“).

VIRUSSTRUKTUR

Das virale Genom besteht aus einer Einzel- oder Doppelstrang-DNS, einer Einzel- oder Doppelstrang-RNS, einer Einzelstrang- oder segmentierten Antisense-RNS oder einer segmentierten Doppelstrang-RNS. Die viralen Nukleinsäuren können für nur einige wenige Gene kodieren oder für mehr als 100. Ein Genom aus Sense-RNS kann direkt in Proteine übersetzt werden, während Antisense-RNS erst in ablesbare (translatierbare) RNS kopiert werden muss. Sense- und Antisense-Genome werden auch als *positiv-* und *negativ-strängige* Genome bezeichnet. Die viralen Nukleinsäuren sind meistens mit einem oder mehreren viruskodierten Nukleoproteinen im Kern des Viruspartikels assoziiert und mit diesen nahezu immer von einer Proteinkapsel, dem *Kapsid*, umschlossen. Wegen der begrenzten genetischen Komplexität der Viren besteht ihr Kapsid in der Regel aus Multimeren identischer *Kapsomere*. Kapsomere bestehen wiederum aus einem oder nur wenigen Proteinen. Kapside weisen eine ikosaedrische oder helikale Symmetrie auf. Ikosaedrische Strukturen nähern sich einer Kugel an und haben zwei-, drei- oder fünffache Symmetrieachsen, während helikale Strukturen nur eine zweifache Symmetrieachse aufweisen. Der gesamte Komplex aus Nukleinsäuren, Nukleoproteinen und Kapsid wird als *Nukleokapsid* bezeichnet.

Zahlreiche Viren bestehen nur aus Kern und Kapsid. Bei diesen Viren stellt die Oberfläche des Nukleokapsids den Kontakt zur Plasmamembran nicht infizierter Zellen her. Andere Viren sind komplexer aufgebaut und verfügen über eine äußere Hülle aus Phospholipiden, Cholesterol, Glykoproteinen und Glykolipiden, die sich von der vom Virus modifizierten Membran infizierter Zellen ableitet. Membranen des Zellkerns, des endoplasmatischen Retikulums, des Golgi-Apparats oder der äußeren Plasmamembran, die Teil der Virus-hülle werden, wurden in der Regel während der Infektion durch Einbau viral kodierter Glykoproteine modifiziert. Viruskodierte Glykoproteine vermitteln den Kontakt der über eine Hülle verfügenden Viren mit der Oberfläche nicht infizierter Zellen. Matrix- oder Tegumentproteine füllen den Raum zwischen der äußeren Hülle und dem Nukleokapsid aus.

In der Regel sind Viren mit Hüllen empfindlich gegenüber Lösungsmitteln für Fett und nicht ionischen Detergenzien, welche die Hülle

zerstören können. Viren hingegen, die nur aus einer Protein-Nukleokapsid-Oberfläche bestehen, sind etwas widerstandsfähiger gegen Detergenzien. Abb. 185-1 zeigt eine schematische Zeichnung der großen und komplexen Herpesviren. Strukturen typischer humanpathogener Viren sind in Tab. 185-1 aufgelistet. Die relative Größe und Struktur typischer humanpathogener Viren finden sich in Abb. 185-2.

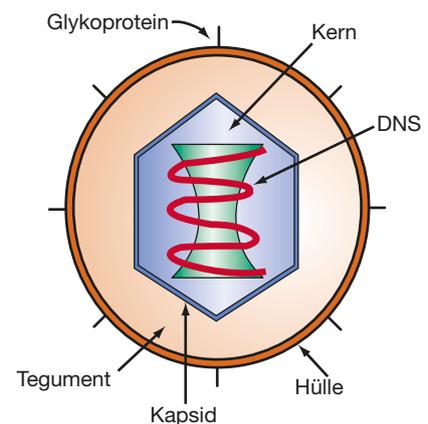


Abbildung 185-1 Schematische Darstellung eines behüllten Herpesvirus mit einem ikosaedrischen Nukleokapsid. Die Größe des Nukleokapsids beträgt etwa 110 nm, die der behüllten Partikel 180 nm. Das Kapsid besteht aus 162 Kapsomeren: 150 mit einer sechsfachen und zwölf mit einer fünffachen Symmetrie.

TABELLE 185-1 Humanpathogene Virusfamilien

Familie	Typische Viren	Art der Nukleinsäure	Lipidhülle
RNS-Viren			
Picornaviridae	Poliovirus Coxsackievirus Echovirus Enterovirus Rhinovirus Hepatitis-A-Virus	(+) RNS	Nein
Caliciviridae	Norwalk-Virus („Noroviren“) Hepatitis-E-Virus	(+) RNS	Nein
Togaviridae	Rötelnvirus Östliches Pferdeenzephalitis-Virus Westliches Pferdeenzephalitis-Virus	(+) RNS	Ja
Flaviviridae	Gelbfieberevirus Denguevirus St.-Louis-Enzephalitis-Virus West-Nil-Virus Zika-Virus Hepatitis-C-Virus Hepatitis-G-Virus	(+) RNS	Ja
Coronaviridae	Coronaviren ^a	(+) RNS	Ja

Tabelle 185-1 (Fortsetzung)

Familie	Typische Viren	Art der Nukleinsäure	Lipidhülle
Rhabdoviridae	Rabiesvirus Vesikuläre-Stomatitis-Virus	(-) RNS	Ja
Filoviridae	Marburgvirus Ebolavirus	(-) RNS	Ja
Paramyxo- viridae	Parainfluenzavirus Respiratory-syncytial-Virus Newcastle-Virus Mumpsvirus Masernvirus	(-) RNS	Ja
Orthomyxo- viridae	Influenza-A-, -B-, -C-Viren	(-) RNS, 8 Segmente	Ja
Bunyaviridae	Hantavirus Kalifornisches Enzephalitisvirus Sandfliegenfieber-Virus	(-) RNS, 3 zirku- läre Segmente	Ja
Arenaviridae	Lymphozytäre-Choriomeningitis-Virus Lassafieber-Virus Südamerikanisches-hämorrhagi- sches-Fieber-Virus	(-) RNS, 2 zirku- läre Segmente	Ja
Reoviridae	Rotavirus Reovirus Colorado-Zeckenfieber-Virus	dsRNS, 10–12 Segmente	Nein
Retroviridae	Humanes T-lymphotropes-Virus I/II Humanes Immundefizienz-Virus I/II	(+) RNS, 2 iden- tische Segmente	Ja
DNS-Viren			
Hepadna- viridae	Hepatitis-B-Virus	dsDNS (mit ss- Abschnitten)	Ja
Parvoviridae	Parvovirus B19	ssDNS	Nein
Papilloma- viridae	Humane Papillomaviren	dsDNS	Nein
Polyoma- viridae	JC-Virus BK-Virus Merkel-Zell-Polyomavirus	dsDNS	
Adenoviridae	Humane Adenoviren	dsDNS	Nein
Herpesviridae	Herpes-simplex-Virus 1/2 ^b Varicella-Zoster-Virus ^c Epstein-Barr-Virus ^d Zytomegalievirus ^e Humanes Herpesvirus 6 Humanes Herpesvirus 7 Kaposi-Sarkom-assoziiertes Herpesvirus ^f	dsDNS	Ja
Poxviridae	Variola-Virus (Pockenvirus) Orf-Virus Molluscum-contagiosum-Virus	dsDNS	Ja

^a Auch die Coronaviren, die das schwere akute respiratorische Syndrom (SARS) und das Middle Eastern Respiratory Syndrome (MERS) verursachen.

^b Auch als humanes Herpesvirus (HHV) Typ 1 und 2 bezeichnet.

^c Auch HHV-3.

^d Auch HHV-4.

^e Auch HHV-5.

^f Auch HHV-8.

Abkürzungen: ds = doppelsträngig; ss = einzelsträngig.

TAXONOMIE HUMANPATHOGENER VIREN

Wie aus Tab. 185-1 und Abb. 185-2 ersichtlich ist, basiert die Klassifikation von Viren in Ordnungen und Familien auf der Zusammensetzung der Nukleinsäuren, der Größe und Symmetrie des Nukleokapsids und dem Vorhandensein einer Hülle. Viren einer Familie haben eine ähnliche Struktur und sind oft morphologisch im Elektronenmikroskop nicht unterscheidbar. Weitere Unterklassifizierungen in Gattungen ergeben sich aus Ähnlichkeiten in der Epidemiologie und den biologischen Effekten sowie aus der Nukleinsäuresequenz.

Die meisten humanpathogenen Viren haben einen allgemein-gebräuchlichen Namen, der sich aus den pathologischen Effekten oder den Umständen der Entdeckung herleitet. Darüber hinaus wurden formale Speziesbezeichnungen durch das Internationale Komitee für Virustaxonomie festgelegt. Letztere Bezeichnung besteht aus dem Wirtsnamen, gefolgt von der Familie oder dem Genus des Virus und einer Nummer. Diese doppelte Terminologie kann zur Verwirrung führen, wenn das gleiche Virus mit unterschiedlichen Bezeichnungen angegeben wird, zum Beispiel Varizella-Zoster-Virus (VZV) und humanes Herpesvirus (HHV) 3.

VIRALE INFESTIONEN IN VITRO

STADIEN DER INFESTION AUF ZELLULÄRER EBENE

Virale Interaktionen auf der Zelloberfläche und das Eindringen in die Zelle

Alle Viren müssen die Barriere der Zellmembran überwinden, um ihre Nukleinsäure in das Zytoplasma oder Kernplasma einzubringen. Die virale Infektion wird häufig durch schwache elektrostatische oder hydrophobe Wechselwirkungen mit der Zelloberfläche eingeleitet. Danach ermöglicht die stärkere, spezifischere Anheftung an Proteine der Zellmembran, Kohlenhydrate, Glykolipide, Heparansulfatproteoglykane oder Sialinsäuren eine stabilere Bindung an einen spezifischen „Rezeptor“ der Zelloberfläche, der die Fusion mit der Zellmembran ermöglicht (Tab. 116-1). Die Rezeptorbindung wird oft durch Interaktionen von viralen Oberflächenproteinen mit anderen Zelloberflächenproteinen – den Korezeptoren – verstärkt. Rezeptoren und Korezeptoren sind zelltypspezifisch und speziesspezifisch und legen fest, wen ein Virus infizieren kann. So bindet das HIV-Hüll-Glykoprotein an das T-Zell-Oberflächenprotein CD4 und belegt dann einen Chemokinrezeptor, der der definitive Korezeptor für das Virus ist und den Übertritt ins Zytoplasma vermittelt. Das gp350-Glykoprotein des Epstein-Barr-Virus (EBV) bindet erst an den Komplementrezeptor CD21 von B-Lymphozyten, um dann ein MHC-Klasse-II-Molekül als Korezeptor und ein Integrin für den endgültigen Übertritt ins Plasma der infizierten Zelle zu benutzen.

Viren haben ein breites Spektrum an Strategien entwickelt, um in eine Zelle einzudringen. Beim Influenzavirus bindet dessen Hämagglutinin (ein Glykoprotein der äußeren Membran) an Sialinsäuremoleküle der Zellmembran des respiratorischen Epithels von Zellen. Dieses Hämagglutinin vermittelt die Adsorption an die Zellmembran, Aggregation mit dem Rezeptor und anschließliche Endozytose. Mit abnehmendem pH-Wert des Endosoms im Zytoplasma verändert sich die Konformation des Hämagglutinins und ermöglicht hydrophoben helikalen Strukturen, die ursprünglich an der Basis des Hämagglutinins gelegen waren, sich auszudehnen, mit der Membran des Endosoms zu interagieren und zu fusionieren, sodass das Virusgenom in die Zelle freigesetzt wird. Das M2-Membrankanalanprotein des Influenzavirus spielt eine Schlüsselrolle bei der Verminderung des Endosomen-pH-Werts sowie der Fusion von Virus und Zellmembran.

Nicht umhüllte Viren (z. B. das humane Papillomavirus [HPV]) sowie einige behüllte Viren fusionieren nur teilweise mit Rezeptoren der Zellplasmamembran und werden als Endosomen aufgenommen. Der niedrige pH-Wert des Endosoms triggert dann die Fusion der Virusmembran oder des Viruskapsids mit der Endosomenmembran, und die Virus-DNS wird als erster Schritt der Infektion in das Zytoplasma freigesetzt.

Die für die Fusion erforderlichen hydrophoben Wechselwirkungen lassen sich oft chemisch inhibieren oder blockieren. Das HIV-Hüllprotein Glykoprotein gp120 ist mit gp41 auf der Virusoberfläche assoziiert. Die Bindung von HIV-gp120 an CD4 und dann an spezifische Chemokinrezeptoren führt zu einer Konformationsänderung, aufgrund derer gp41 die Zellmembranfusion initiiert. Die gegen HIV gerichtete Substanz Enfuvirtid ist ein kleines Peptid, das von gp41 angeleitet wurde, an gp41 bindet und die für die Fusion notwendige

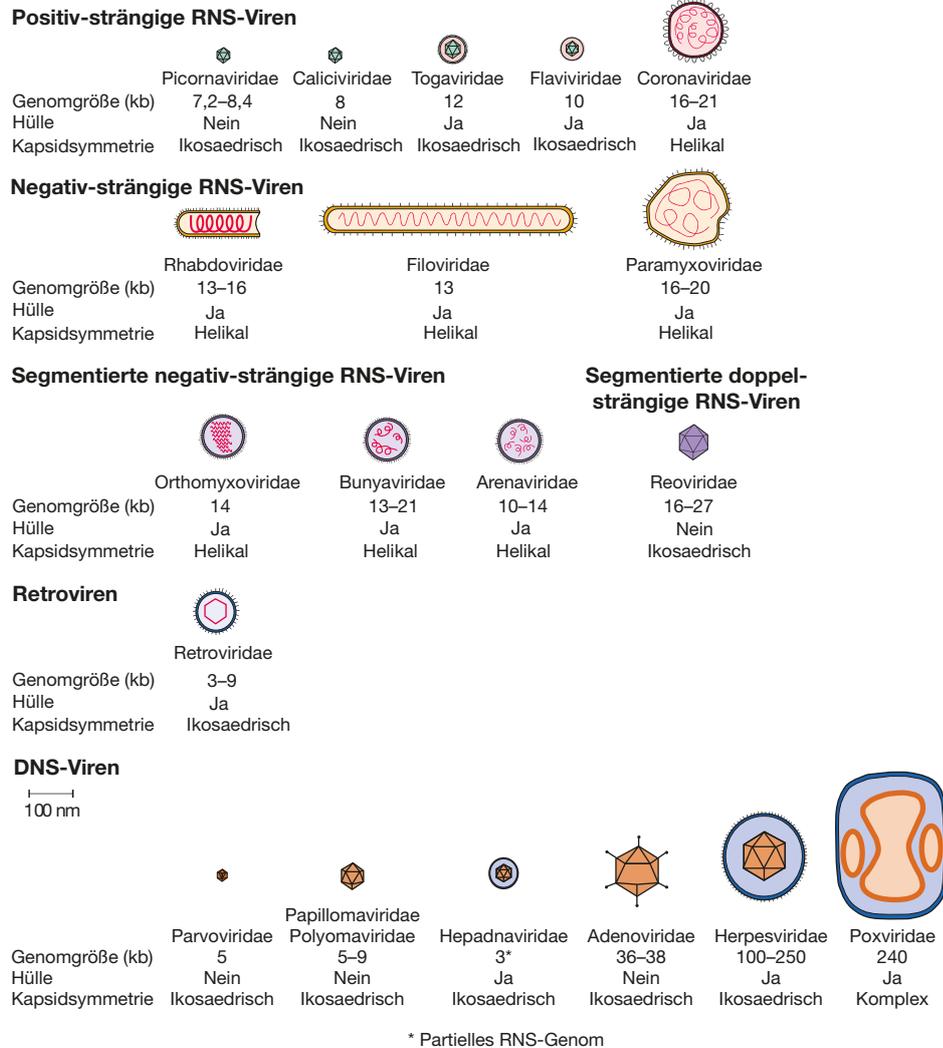


Abbildung 185-2 Schematische Darstellung der wichtigsten Virusfamilien, unter anderem der humanpathogenen Viren. Die Viren sind nach der Art ihres Genoms geordnet, die Zeichnung entspricht in etwa ihrem Größenverhältnis. Prototypische humanpathogene Viren jeder Familie finden sich in [Tab. 185-1](#).

Konformationsänderung verhindert. Maraviroc verhindert dagegen das Eindringen des Virus durch Bindung an CCR5-Rezeptor, blockiert so die Bindung von gp120 an CCR5 und verhindert die Fusion von gp120 mit CCR5.

Expression und Replikation viraler Gene

Nach dem Uncoating und der Freisetzung viraler Nukleoproteine in das Zytoplasma wird das Virusgenom an einen geeigneten Ort für seine Expression und Replikation gebracht. Um infektiöse neue Partikel zu produzieren, müssen Viren Proteine herstellen, die ihre Nukleinsäuren replizieren, die Strukturproteine zur Umhüllung der Nukleinsäuren produzieren und sie in neuen Viruspartikeln zusammenführen.

Die jeweiligen Viren nutzen unterschiedliche Strategien und genetische Repertoires, um diese Ziele zu erreichen. Abgesehen vom Pockenvirus replizieren DNS-Viren ihre DNS im Zellkern und führen dort auch ihre Nukleokapside zusammen. Die RNS-Viren, außer dem Influenzavirus, transkribieren und replizieren ihre Nukleinsäuren im Zytoplasma und führen dort auch den Zusammenbau aus, bevor an der Zellmembran die Umhüllung stattfindet. Deshalb werden die Replikationsstrategien von DNS- und RNS-Viren im Folgenden separat besprochen. Auch positiv- und negativ-strängige RNS-Viren werden getrennt diskutiert. Dabei werden medizinisch bedeutsame Viren jeder Gruppe zur Veranschaulichung herangezogen.

Positiv-strängige RNS-Viren Zu den medizinisch bedeutsamen positiv-strängigen RNS-Viren gehören Picornaviren, Flaviviren, Togaviren, Caliciviren und Coronaviren. Die Genom-RNS der positiv-strängigen RNS-Viren wird ohne assoziierte Enzyme in das Zytoplasma freigesetzt. Zelluläre Ribosomen erkennen eine interne Ribosomen-Eintrittssequenz der genomischen Virus-RNS, assoziieren mit ihr und

translatieren ein vom Virus kodiertes Polyprotein. Die virale RNS-Polymerase und andere für die Replikation wichtige virale Proteine werden von Proteasekomponenten des Polyproteins herausgeschnitten. Anschließend wird antigenomische RNS von der genomischen RNS-Vorlage abgelesen. Von dieser antigenomischen RNS werden nun positiv-strängige Genome und mRNS durch die virale RNS-Polymerase transkribiert und in Kapsidproteine translatiert. Daraufhin wird die genomische RNS im Zytoplasma verpackt und anschließend freigesetzt, während die infizierte Zelle lysiert.

Negativ-strängige RNS-Viren Zu den medizinisch bedeutsamen negativ-strängigen RNS-Viren gehören Rhabdoviren, Filoviren, Paramyxoviren, Myxoviren und Bunyaviren. Das Genom negativ-strängiger RNS-Viren ist oft segmentiert. Negativ-strängige RNS-Virusgenome werden gemeinsam mit einer RNS-Polymerase und einem oder mehreren assoziierten Proteinen ins Zytoplasma freigesetzt. Die virale RNS-Polymerase transkribiert sowohl Boten-RNS (mRNS) als auch vollständige antigenomische RNS, die als Vorlage für die Replikation des Genoms dient. Diese mRNS kodiert für die virale RNS-Polymerase, weitere Faktoren und virale Strukturproteine. Abgesehen vom Influenzavirus, das seine mRNS und antigenomische RNS im Nukleus transkribiert, replizieren diese Viren vollständig im Zytoplasma. Alle negativ-strängigen RNS-Viren, auch das Influenzavirus, werden im Zytoplasma zusammengefügt.

Doppelsträngige segmentierte RNS-Viren Doppelsträngige RNS-Viren gehören taxonomisch zu den Reoviren. Die medizinisch wichtigen Viren dieser Gruppe sind die Rotaviren und die Colorado-Zeckenfieber-Viren. Das Reovirus-Genom enthält 10–12 RNS-Segmente. Reoviren enthalten einen RNS-Polymerasekomplex. Replikation und Synthese laufen im Zytoplasma ab.

DNS-Viren Zu den medizinisch bedeutsamen DNS-Viren gehören Parvoviren, mit einer kleinen Einzelstrang-DNS, die z. B. eine vorübergehende Arthritis verursachen können, und Polyomaviren, darunter die kleineren Polyomaviren wie das JC-Virus, das bei immunkompromittierten Patienten zu einer progressiven multifokalen Leukoencephalopathie führen kann, das BK-Virus und das Merkel-Zell-Polyomavirus. Die größeren humanen Papillomaviren (HPV) verursachen Warzen und darüber hinaus Karzinome von Zervix, Penis und Oropharynx. Größenmäßig folgen die Adenoviren, die meist vorübergehende Atemwegsinfektionen und Augenentzündungen hervorrufen. Die Gruppe der Herpesviren umfasst acht Viren, die beim Menschen verschiedene inflammatorische und maligne Erkrankungen auslösen können. Das EBV ist sowohl bei immunkompetenten als auch bei immunkompromittierten Patienten eine bedeutsame Ursache von Non-Hodgkin- und Hodgkin-Lymphomen; außerdem sind sie im südlichen China und nördlichen Afrika Ursache von Nasopharynxkarzinomen. Das Zytomegalievirus (CMV) ist ein wichtiger Erreger diaplazentarer Infektionen von Feten und neurologischer Störungen des Neugeborenen. Pockenviren, die größten DNS-Viren und die größten humanpathogenen Viren überhaupt (knapp lichtmikroskopisch sichtbar), verursachen Pocken, Affenpocken und Molluscum contagiosum. Außer den Pockenviren gelangen andere DNS-Virusgenome in den Zellkern und werden von der zellulären RNS-Polymerase II transkribiert.

So wird das Nukleokapsid der Herpesviren nach Rezeptorbindung und Fusion mit der Plasmamembran oder der Membran endozytärer Vesikel zusammen mit den Tegumentproteinen in das Zytoplasma freigesetzt. Anschließend wird dieser Komplex entlang den Mikrotubuli zu den Kernporen transportiert und die DNS in den Zellkern freigesetzt.

Die transkriptionelle Regulation und die Prozessierung der mRNA von DNS-Viren benötigen virale und zelluläre Proteine. Die Tegumentproteine von Herpes-simplex-Viren (HSV) dringen in den Nukleus ein und aktivieren die Transkription viraler Sofortgene, die direkt nach der Infektion exprimiert werden. Die Transkription dieser Sofortgene erfordert die viralen Tegumentproteine und bereits vorliegende zelluläre Transkriptionsfaktoren. Später repliziert sich HSV nicht weiter in den Neuronen und wird latent, da die für die Expression von Sofortgenen (Immediate Early Genes) des Virus erforderlichen essenziellen Transkriptionsfaktoren im Zytoplasma der Neuronen gebunden sind. Durch große Hitze oder andere Zellbelastungen können diese Zellfaktoren in den Nukleus eindringen, dort die Expression viraler Gene aktivieren und die Replikation initiieren. Dies erklärt die HSV-1-Latenz in Neuronen und die Aktivierung durch replikative Infektionen.

Bei Adenoviren und Herpesviren führt die Transkription von Sofortgenen zur Expression von Sofortproteinen, die für eine sofortige Replikation der viralen DNS erforderlich sind. Die Synthese der viralen DNS ist für die spätere Genexpression und Produktion viraler Strukturkomponenten entscheidend. Bei HPV, Polyomaviren und Parvoviren erfolgt die Transkription früher Gene unabhängig von Transaktivatoren, für die das virale Genom kodiert. Stattdessen besitzen ihre frühen Gene Upstream-enhancing-Elemente, die Zelltranskriptionsfaktoren binden. Die frühen Gene kodieren für Proteine, die für die Synthese viraler DNS und die Transkription später Gene entscheidend sind. Die späten Gene von DNS-Viren kodieren für Strukturproteine der Viren oder Proteine, die für die Synthese und Ausschleusung der Viruspartikel aus der infizierten Zelle benötigt werden. Die Translation später Gene erfordert eine kontinuierliche DNS-Replikation. Deshalb können Inhibitoren der DNS-Replikation auch die Transkription der späten Gene hemmen.

Jede Familie von DNS-Viren verwendet einen eigenen Mechanismus zur DNS-Replikation. Die DNS von Herpesviren und Adenoviren ist im Virion linear. Die Adenovirus-DNS bleibt in der infizierten Zelle linear und wird durch einen Initiator Protein-DNS-Komplex in komplementäre lineare Kopien repliziert. Im Gegensatz dazu ist die DNS der Herpesviren im infizierten Zytoplasma zirkulär und durch den Mechanismus des „rollenden Kreises“ (*rolling circle*) in Form linearer RNS-Ketten repliziert. Die DNS-Genome werden gespalten und in Viren verpackt. Herpesviren kodieren für eine DNS-Polymerase und mindestens sechs weitere virale Proteine, die für die Replikation der Virus-DNS notwendig sind. Aciclovir und Ganciclovir verhindern die Synthese der Virus-DNS, wenn sie phosphoryliert und dann durch die Viruspolymerase in die DNS inkorporiert werden. Herpes-

viren kodieren auch für Enzyme, die die Menge an vorhandenen Desoxyribonukleotid-Triphosphaten erhöhen. Die DNS von HPV und Polyomaviren ist sowohl im Virus als auch in der infizierten Zelle linear zirkulär. Diese Genome werden von den zellulären Replikationsenzymen in zirkuläre Tochter-DNS-Moleküle repliziert. Die Frühproteine von HPV und Polyomaviren sind für die DNS-Replikation sowohl in der latenten als auch in der viralen replikativen Phase erforderlich. Außerdem stimulieren sie die Zellen, im Zellzyklus fortzuschreiten, sodass die Viren leichter replizieren können.

Parvoviren besitzen ein negativ-strängiges Genom aus Einzelstrang-DNS und sind die kleinsten Viren. Ihr Genom ist nur halb so groß wie das der HPV-Viren und umfasst nur zwei Gene. Die Replikation autonomer Parvoviren, etwa von B19, hängt von der zellulären DNS-Replikation ab und erfordert das viral kodierte Rep-Protein. Andere Parvoviren, wie das adenoassoziierte Virus (AAV), sind nicht autonom und benötigen Helferviren der Adenovirus- oder Herpesvirusfamilie für ihre Replikation. AAV wird als potenziell sicherer humaner Vektor für die Gentherapie verwendet, da sein Replikationsprotein die Integration an einer einzigen Stelle der Chromosomen bewirkt. Sein kleines Genom beschränkt die Anzahl der Proteine, die von AAV-Vektoren exprimiert werden können.

Wie gesagt, sind Pockenviren die größten DNS-Viren und führen ihre Replikation und Synthese als einzige DNS-Viren im Zytoplasma durch. Pockenviren kodieren Transkriptionsfaktoren, ein RNS-Polymerase-II-Orthologon und Enzyme für das RNS-Capping, die RNS-Polyadenylierung und die DNS-Synthese. Auch die DNS der Pockenviren besitzt eine einzigartige Struktur. Beide Stränge der doppelsträngigen linearen DNS sind an ihren Enden kovalent miteinander verbunden, sodass sie zugleich ein doppelsträngiges zirkuläres Molekül darstellen. Zu Beginn der Replikation wird das Genom innerhalb von invertierten terminalen Wiederholungen geschnitten. Diese terminalen Wiederholungen initiieren nun selbst die Synthese eines komplementären Stranges durch die viral kodierte DNS-Polymerase. Pockenviren kodieren, wie Herpesviren, für eine Vielzahl von Enzymen, um Vorläuferstufen der Desoxynukleotid-Triphosphate zu produzieren und so die DNS-Synthese zu fördern.

Viren mit RNS- und DNS-Genom Retroviren, wie HIV, sind RNS-Viren, die zur Replikation ihres Genoms eine intermediäre DNS verwenden. Im Gegensatz dazu sind Hepatitis-B-Viren (HBV) DNS-Viren, die zur Replikation ihres Genoms eine intermediäre RNS verwenden. Somit handelt es sich um keine eindeutigen RNS- oder DNS-Viren. Retroviren verfügen über eine Hülle und sind RNS-Viren mit zwei identischen positiv-strängigen Genomen und assoziierten reversen Transkriptasen und Integrasen. Sie unterscheiden sich von allen anderen Viren dadurch, dass sie sich selbst revers in teilweise duplizierte doppelsträngige DNS transkribieren und als Teil ihrer Replikationsstrategie und Persistenz routinemäßig in das Wirtsgenom integrieren. Inhibitoren der Reversen Transkriptase (z. B. Zidovudin) oder der Integrase (z. B. Raltegravir) werden mittlerweile häufig im Rahmen der antiretroviralen Therapie bei HIV-Infektion eingesetzt. Durch die Integration von Überresten und sogar vollständige Kopien der einfachen retroviralen DNS in das humane Genom entsteht die Möglichkeit, dass einfache, replikationsfähige humane Retroviren entstehen. Allerdings wurde eine solche endogene Retrovirus-Replikation beim Menschen bisher nie beschrieben oder mit einer Erkrankung in Verbindung gebracht. Integrierte retrovirale DNS kommt auch bei anderen Spezies vor, beispielsweise bei Schweinen. Diese porcinen Retroviren sind ein möglicher Grund für Bedenken bei der Xenotransplantation, da eine retrovirale Replikation zu Erkrankungen des Menschen führen könnte.

Die zelluläre RNS-Polymerase II und Transkriptionsfaktoren regulieren die Transkription des integrierten Provirusgenoms. Einige Retroviren kodieren für Regulatoren der Transkription und der RNS-Prozessierung, wie Tax und Rex bei Typ I und Typ II der humanen T-lymphotropen Viren (HTLV) und Tat und Rev bei HIV-1 und HIV-2. Das HIV-Genom kodiert noch zusätzlich für die Proteine Vpr, Vpu und Vif, die für eine effiziente Infektion und ein Entkommen der Immunabwehr wichtig sind. Von einem Promotor in den terminalen Wiederholungssequenzen (*repeats*) werden vollständige provirale Transkripte erstellt, die als unterschiedlich gespaltene genomische RNS in das Nukleokapsid verpackt werden, aber auch als mRNA für das virale Gag-Protein, für das Polymerase/Integrase-Protein und für das Hüllen-Glykoprotein dienen. Das Gag-Protein enthält eine Pro-

tease, die es in mehrere Bestandteile aufspaltet, beispielsweise in ein Matrixprotein, das die virale RNS bedeckt. Die virale RNS-Polymerase/Integrase, Matrixproteine und zelluläre tRNS sind Hauptbestandteile des Nukleokapsids. Protease-Inhibitoren wurden als wirksame Medikamente zur Behandlung einer Infektion durch HIV (z. B. Saquinavir) oder Hepatitis-C-Virus (z. B. Telaprevir) entwickelt.

Die Replikation von HBV ist in mehrfacher Hinsicht einzigartig. HBV besitzt eine partiell doppelsträngige DNS, die nach dem Eintritt in der infizierten Zelle durch eine virale Polymerase repariert wird, sodass eine komplett doppelsträngige DNS entsteht. Die zelluläre RNS-Polymerase II transkribiert nun virale mRNS vom geschlossenen zirkulären Episom des Virus, durch deren Translation Virusproteine entstehen, wie das Kernprotein, das Oberflächenantigen und die Polymerase. Außerdem wird die mRNS mit voller Genomlänge im Zytoplasma der infizierten Zelle in Viruskernpartikel verpackt und dient als Intermediat für die virale DNS-Replikation. Diese RNS assoziiert mit der viralen Polymerase, die auch eine Reverse-Transkriptase-Aktivität besitzt und das vollständige RNS-Genom im Viruskern nun in partiell doppelsträngige DNS konvertiert. Daher werden Nukleosid- oder Nukleotidanaloga, die die reverse Transkription inhibieren (z. B. Tenofovir), häufig bei der Behandlung der Hepatitis B eingesetzt. Man nimmt an, dass HBV beim Durchtritt durch die zelluläre Plasmamembran reift, die durch Einfügung viraler Oberflächenantigene modifiziert wurde.

Virussynthese und -ausschleusung

Bei den meisten Viren ist die Synthese von Nucleinsäuren und Strukturproteinen von dem Zusammenbau der Protein- und Nucleinsäurenkomplexe begleitet. Der Zusammenbau und die Ausschleusung der reifen Viruspartikel markieren das Ende der ekliptischen Infektionsphase, während derer kein infektiöses Virus aus der infizierten Zelle gewonnen werden kann. Nucleinsäuren von RNS- und Pockenviren fügen sich im Zytoplasma zum Nucleokapsid zusammen. Alle DNS-Viren, bis auf die Pockenviren, werden im Nucleus zusammengebaut. Im Allgemeinen können sich die Kapsidproteine von Viren mit ikosaedrischem Nucleokapsid selbst zu einer eng gepackten und ausgesprochen geordneten Struktur zusammenfinden. Herpesviren benötigen das Assemblin-Protein als Gerüst für die Kapsidsynthese. Die viralen Nucleinsäuren rollen sich dann in das fertige Kapsid ein. Bei Herpesviren wird so ein vollständiges DNS-Genom im Kapsid verpackt und eine Kapsid-assoziierte Nuclelease spaltet die virale DNS an beiden Enden ab. Bei Viren mit helikalem Nucleokapsid scheint sich die Proteinkomponente um die Nucleinsäure zu sammeln, die so zur Kapsidorganisation beiträgt.

Die Viren müssen aus der infizierten Zelle ausgeschleust werden, ohne wieder an ihre Rezeptoren an der Plasmamembran zu binden. Viren können ihre Hülle aus zytoplasmatischen Membranen oder durch Knospung aus der Plasmamembran erhalten. Um die zellulären Rezeptoren abzusättigen und so die Ablösung der Viren zu vereinfachen, wird ein Überschuss an viralen Glykoproteinen produziert. Einige Viren kodieren auch für Membranproteine mit enzymatischer Aktivität, um die zellulären Rezeptoren zu zerstören. Das Influenzavirus kodiert zum Beispiel für ein Glykoprotein mit Neuraminidaseaktivität, das die Sialinsäure in der Plasmamembran der infizierten Zelle abbaut, sodass die neu freigesetzten Viren nicht an den sterbenden Zellen festkleben. Oseltamivir und Zanamivir sind Neuraminidasehemmer, die zur Behandlung oder Prophylaxe einer Influenza-Virus-Infektion eingesetzt werden. Das Nucleokapsid der Herpesviren erwirbt seine ursprüngliche Hülle nach dem Zusammenbau im Nucleus durch eine Knospung durch die Kernmembran in das endoplasmatische Retikulum. Das behüllte Herpesvirus verlässt die Zelle nun entweder durch Reifung in zytoplasmatischen Vesikeln, die mit der Golgi- oder Plasmamembran verschmelzen und das Virus per Exozytose freisetzen, oder durch „Enthüllung“ in das Zytoplasma und erneutes „Einhüllen“ durch die Plasmamembran. In den meisten Fällen scheinen Viren ohne Hülle für ihre Freisetzung auf den Tod und die Ablösung der infizierten Zelle angewiesen zu sein.

■ ZUVERLÄSSIGKEIT DER VIRALEN REPLIKATION

Eine virusinfizierte Zelle kann mehrere hundert oder tausend Tochterzellen haben. Viele dieser Partikel werden jedoch nur unvollständig zusammengebaut und reifen nie zu einem Virus. Viele reif erscheinende Partikel sind unvollständig und haben nur inkomplette oder nicht funktionierende Genome. Trotz der Ineffizienz des Zusammen-

baus kann eine typische infizierte Zelle 10–1000 infektiöse Viren produzieren. Einige dieser Tochterviren können ein Genom enthalten, das sich von dem ursprünglich die Zelle infizierenden Virus unterscheidet. Kleinere defekte Viren wurden bei der Replikation vieler RNS- und DNS-Viren beobachtet. Viruspartikel mit defektem Genom können in großer Menge durch die Verpackung unvollständiger Nucleinsäuren entstehen. Die Verpackung von Adenoviren ist notorisch ineffizient und eine hohe Partikel-zu-infektiösem-Virus-Ratio kann die Menge rekombinanter Adenoviren für die Gentherapie limitieren, da die Immunogenität der defekten Partikel zu Nebenwirkungen beitragen kann.

Auch mutierte Virusgenome werden produziert und können von medizinischer Relevanz sein. Die virale Nucleinsäurenreplikation hat im Allgemeinen eine höhere Fehlerhäufigkeit als die zelluläre. Die RNS-Polymerase und die reverse Transkriptase sind signifikant fehleranfälliger als die DNS-Polymerase. Durch APOBEC 3G, ein zelluläres Protein, das in die Viruspartikel gepackt wird, können Mutationen in das HIV-Genom eingebracht werden. APOBEC 3G deaminiert Cytidin im RNS-Viruspartikel zu Uridin. Wenn die reverse Transkriptase anschließend in der infizierten Zelle die veränderte Viruspartikel-RNS als Vorlage verwendet, wird eine Guanosin-zu-Adenosin-Mutation in die provirale DNS eingetragen. Mutationen, die zu einem weniger effizienten Viruswachstum führen oder die Fitness des Virus reduzieren, können für das Virus verheerend sein. Die HIV-kodierte Vif blockiert die APOBEC 3G-Aktivität im Viruspartikel und hemmt die nachteiligen Effekte der Hypermutation auf die genetische Integrität. Dennoch werden derzeit bei den Patienten bevorzugt Mutationen selektiert, die eine Umgehung der Wirtsabwehr oder eine Resistenz gegen Virustatika bedeuten, sodass die Infektion sich selbst unterhält. Mutationen der viralen Nucleinsäuren können auch durch eine gemeinsame Infektion und gegenseitige Rekombination bzw. gegenseitigen Austausch zweier verwandter Viren in einer Zelle entstehen. Zwar ist dieses Ereignis bei den meisten natürlichen Infektionen unwahrscheinlich, es kann jedoch zu signifikanten Änderungen in der Virulenz oder Epidemiologie führen. Die Rekombination des Hämagglutinins eines vogel- oder säugetierpathogenen Influenza-A-Virus in einen menschenpathogenen Influenzastamm soll für das Auftreten neuer epidemischer Influenza-A-Stämme verantwortlich sein.

■ NICHT FÜR DIE REPLIKATION NOTWENDIGE VIRALE GENE

Viren kodieren oft für Proteine, die nicht direkt an Replikation, Verpackung der Nucleinsäuren, Viruszusammenbau oder Transkriptionsregulierung eben dieser Prozesse beteiligt sind. Die meisten dieser Proteine fallen in eine von fünf Klassen: (1) Proteine, die direkt oder indirekt das Zellwachstum steuern; (2) Proteine, welche die zelluläre RNS- oder Proteinsynthese hemmen, sodass die virale mRNS effizient transkribiert oder translatiert werden kann; (3) Proteine, die das Zellüberleben fördern oder die Apoptose hemmen, sodass die Tochterviren reifen und von der infizierten Zelle freigesetzt werden können; (4) Proteine, welche die Interferonantwort des Wirts hemmen, und (5) Proteine, welche die Entzündungs- oder Immunantwort des Wirts beeinträchtigen, sodass die Virusinfektion bei einer infizierten Person zur maximalen Ausprägung kommen kann, die für das Überleben des Virus und seine effiziente Weitergabe an einen neuen Wirt sinnvoll ist. Komplexere Viren aus der Familie der Pocken- oder Herpesviren kodieren für viele dieser Proteine. Einige dieser Virusproteine haben Ähnlichkeiten zu Motiven zellulärer Proteine, andere sind gänzlich neu. Die Virologie beschäftigt sich zunehmend mit den „ausgeklügelten“ Strategien, die von den Viren entwickelt wurden, um eine lang andauernde Infektion in Menschen oder Tieren zu etablieren. Diese Strategien bieten oft einzigartige Einblicke in die Kontrolle des Zellwachstums und Überlebens, die Synthese von Makromolekülen, die proteolytische Prozessierung, die Immun- und Entzündungsunterdrückung, die Immunresistenz, die Zytokinortauschung und die Zytokinblockade.

MikroRNS (miRNS) ist eine kleine, nicht kodierende RNS, die auf posttranslativaler Ebene die Genexpression reguliert, indem sie an der mRNS angreift und diese normalerweise ausschaltet. miRNS wurde erstmals bei Pflanzen und Pflanzenviren nachgewiesen, bei denen sie die Expression von Zelldefensinen verändert. Herpesviren enthalten besonders viel miRNS; so wurden im Epstein-Barr-Virus (EBV) mindestens 23 miRNS nachgewiesen und 11 im Zytomegalievirus (CMV). Auch das Adenovirus und das Polyomavirus besitzen miRNS. Immer mehr Daten weisen darauf hin, dass Tierviren miRNS

kodieren, mit der sie das Wachstum und das Überleben der Wirtszellen sowie die angeborene und die erworbene Immunität beeinflussen.

■ WIRTSSPEKTRUM

Das Konzept des Wirtsspektrums basierte ursprünglich auf den Zelltypen, in denen das Virus in Gewebekultur replizieren konnte. Meistens ist das Wirtsspektrum durch ein spezifisches Oberflächenmolekül limitiert, das für die Adsorption oder Penetration des Virus notwendig ist, d. h., die Zellen müssen einen Rezeptor oder Korezeptor des spezifischen Virus exprimieren. Eine weitere häufige Begrenzung des Wirtsspektrums ist die transkriptionelle Aktivität des jeweiligen viralen Promotors in verschiedenen Zelltypen. Die meisten DNS-Viren hängen nicht nur von der zellulären RNS-Polymerase II und basalen Komponenten des zellulären Transkriptionskomplexes ab. Sie benötigen auch aktivierte Komponenten und zusätzliche Faktoren, die für die Transkription notwendig sind, aber zwischen unterschiedlichen Zelltypen und verschiedenen Phasen des Zellzyklus, zwischen ruhenden und sich teilenden Zellen variieren.

Die Bedeutung des Wirtsspektrums einer Virusinfektion wird durch die Entdeckung spezifischer Faktoren illustriert, welche die Replikation des Influenzavirus mit aviären oder porcinen Hämagglutininen beim Menschen einschränken. Diese Virusproteine haben sich auf die Bindung an aviären oder porcinen Sialinsäuren spezialisiert, sodass sich die aviären und porcinen Influenzaviren beim Menschen nur begrenzt verbreiten, weil sie seine Zellen nur schwer infizieren können.

■ VIRALE ZYTOPATHISCHE EFFEKTE UND APOPTOSEINHIBITOREN

Bei fast allen Viren hat die Replikation eine Zellschädigung zur Folge, da sie durch die effiziente Konkurrenz um Schlüsselsubstrate und wichtige enzymatische Prozesse die DNS-, RNS- und Proteinsynthese hemmt. Dieser unspezifische inhibitorische Effekt entspringt möglicherweise der Notwendigkeit für das Virus, die unspezifischen und angeborenen Resistenzfaktoren des Wirts, darunter auch die Interferon(IFN)-Produktion, zu begrenzen. Viren können die Proteinsynthese des Wirts durch einen Angriff auf eine Komponente des translationsinitiiierenden Komplexes hemmen, der nicht für eine effiziente Translation viraler RNS benötigt wird. So spaltet die Protease 2A des Poliovirus eine zelluläre Komponente des Komplexes, der normalerweise die Translation zellulärer mRNS vereinfacht, indem sie an die Kappe an seinem Ende bindet. Poliovirus-RNS kann effizient ohne Kappe translatiert werden, da sie über eine interne Ribosomeneintrittsequenz (IRES) verfügt. Das Influenzavirus hemmt die mRNS-Prozessierung durch Benutzung der Kappe reifender zellulärer mRNS als Primer für die Synthese viraler mRNS. Das HSV besitzt ein virales Tegumentprotein, das die zelluläre mRNS-Translation inhibiert.

Eine Apoptose ist die zu erwartende Konsequenz aus der Hemmung der zellulären Makromolekülsynthese und der viralen Nukleinsäurenreplikation. Während eine Apoptoseinduktion für die Freisetzung einiger, insbesondere nicht hüllentragender Viren wichtig sein mag, haben viele andere Viren Gene oder Genabschnitte erworben, durch welche sie der Wirtszellapoptose zuvorkommen können. Dieser Aufschub kann vorteilhaft sein, da er die Vervollendung der Virusreplikation erlaubt. Adeno- und Herpesviren kodieren für Homologe des zellulären Bcl2-Proteins, das die mitochondriale Promotion proapoptischer Stimuli hemmt. Pockenviren und einige Herpesviren kodieren für Caspaseinhibitoren. Viele Viren, etwa HPV und Adenoviren, kodieren für Proteine, die p53 oder dahinterliegende proapoptische Effekte blockieren.

VIRALE INFESTIONEN IN VIVO

■ ÜBERTRAGUNG

Das Kapsid und die Hülle eines Virus schützen sein Genom und erlauben seine effiziente Übertragung von Zelle zu Zelle und auf einen zukünftigen Wirt. Die häufigsten viralen Infektionen erfolgen durch Inhalation von Aerosolpartikeln, kontaminiertes Wasser, kontaminierte Lebensmittel oder durch direkten Kontakt. Bei all diesen Konstellationen erfolgt die Infektion an einer epithelialen oder mukosalen Oberfläche und breitet sich an ihr entlang oder von ihr ausgehend in tiefere Schichten aus. Die Infektion kann sich durch den Blutfluss, die Lymphgefäße oder über Nervenbahnen auf den gesamten Körper ausbreiten. Für das HBV, das Hepatitis-C-Virus (HCV), das humane T-

lymphotrope Virus (HTLV) und HIV hängt die Übertragung von einer parenteralen Inokulation ab.

Manche Viren werden nur zwischen Menschen übertragen. Da für die Verbreitung des Pocken- und Poliovirus eine interhumane Übertragung erforderlich ist, lassen sich diese Viren durch Massenimpfungen eliminieren. Im Gegensatz dazu überleben Herpesviren zwar auch durch Übertragung von Mensch zu Mensch, sind aber schwerer zu eliminieren, weil sie als persistierende Infektion jahrzehntelang in ihrem menschlichen Wirt überleben, bis sie schließlich reaktiviert werden und neue, naive Generationen infizieren können.

Auch Tiere sind ein wichtiges Reservoir und Vektoren von humanpathogenen Viren. Insekten als Vektoren können zur parenteralen Übertragung von Viren, die hohe Konzentrationen im menschlichen oder tierischen Wirt erreichen, beitragen. Arboviren werden parenteral durch Moskitos von Säugetierspezies auf den Menschen übertragen. Herpes B, Affenpocken und das hämorrhagische virale Fieber sind Beispiele für zoonotische Infektionen durch direkten Kontakt mit Tieren oder die Übertragung von den Tieren mittels Arthropodenvektoren.

■ PRIMÄRINFESTION

Die erste Phase einer Virusinfektion dauert meistens mehrere Tage bis Wochen. Während dieser Zeit steigt die Viruskonzentration am Ort der Infektion und fällt dann in der Regel unter die Nachweisgrenze ab. Die Geschwindigkeit, mit der die Virusintensität an einem gegebenen Ort ansteigt und wieder fällt, hängt von der lokalen Reaktion des angeborenen Immunsystems, wirksamen systemischen Antikörpern und zellulären Immuneffektoren gegen das Virus ab. Primärinfektionen mit Entero-, Mumps-, Masern-, Röteln-, Rota-, Influenza-, adenoassozierten und Adenoviren sowie mit Herpes-simplex-Virus (HSV) und Varizella-Zoster-Virus (VZV) werden typischerweise nahezu überall binnen 3–4 Wochen überwunden. Manche Viren sind besonders befähigt, die angeborene und erworbene Immunantwort zu manipulieren oder ihr zu entkommen. Daher können Erstinfektionen mit AAV, Epstein-Barr-Virus (EBV) oder Zytomegalievirus (CMV) einige Monate dauern. Charakteristischerweise dehnen sich primäre Infektionen mit Hepatitis-B-Virus (HBV), Hepatitis-C-Virus (HCV), Hepatitis-D-Virus (HDV), HIV, humanen Papillomaviren (HPV) und Molluscum-contagiosum-Virus (MCV) über mehrere Wochen aus. Bei einigen dieser Viren (z. B. HPV, HBV, HCV, HDV und MCV) ist die Primärinfektion von der Latenzphase nahezu nicht zu unterscheiden.

Die Krankheitsmanifestationen sind in der Regel eine Konsequenz der Virusreplikation und der resultierenden Immunantwort an einer spezifischen Stelle, korrelieren jedoch nicht notwendigerweise mit der jeweiligen Replikationsrate. So finden sich bei einer ausgeprägten Primärinfektion mit Polio-, Entero-, Rabies-, Masern-, Mumps- oder Herpes-simplex-Viren an Schleimhautoberflächen oft nur subklinische oder recht leichte klinische Manifestationen, während die begrenzte Replikation in Nervenzellen dramatische Folgen haben kann. Auch Röteln- und CMV-Infektionen in utero sowie neonatale HSV-Infektionen haben weitaus verheerendere Folgen als Infektionen beim Erwachsenen.

Primärinfektionen werden durch die unspezifische angeborene und die spezifische erworbene Immunantwort beseitigt. Danach ist ein immunkompetenter Wirt meistens immun gegen die Krankheitsmanifestation einer Reinfektion mit dem gleichen Virus. Diese Immunität verhindert jedoch oft weder eine transiente Oberflächenkolonisation bei Reexposition noch eine persistierende Besiedlung oder begrenzte tiefere Infektion.

■ PERSISTIERENDE UND LATENTE INFESTIONEN

Relativ wenige Viren verursachen persistierende oder latente Infektionen. HBV, HCV, HIV, HTLV, HPV, Rabies-, Masern-, Molluscum-contagiosum-, HHV und einige Pockenviren sind hier bemerkenswerte Ausnahmen. Der Mechanismus der Persistenz variiert stark. Die HCV-RNS-Polymerase und die HIV-reverse Transkriptase erzeugen mit hoher Wahrscheinlichkeit abweichende Genome. Die Genomvariation erleichtert die Immunevasion und damit die Persistenz. HIV wirkt auch direkt immunsuppressiv, depletiert CD4-positive T-Lymphozyten und beeinträchtigt die Immunantwort zytotoxischer, CD8-positiver T-Lymphozyten. Außerdem kodiert HIV für das Nef-Protein, das die MHC-Expression (Major Histocompatibility Com-

plex) herunterreguliert und die HIV-infizierten Zellen partiell gegen die CD8-Zytolyse immun macht.

DNS-Viren haben niedrigere Mutationsraten. Ihre Persistenz verdanken sie der Fähigkeit zur latenten Infektion, aus der sie sich reaktivieren und daraufhin auf Epitheloberflächen replizieren können. Latenz bezeichnet ein Infektionsstadium, in dem das Virus nicht repliziert, keine mit einer lytischen Infektion assoziierten viralen Gene exprimiert werden und kein infektiöses Virus hergestellt wird. Das vollständige Virusgenom ist vorhanden und kann von der DNS-Polymerase der Wirtszelle in Verbindung mit der zellulären Genomreplikation vermehrt werden. HPV etabliert latente Infektionen in basale Epithelzellen. Diese latent infizierten Basalzellen replizieren gemeinsam mit dem HPV-Episom durch eine zelluläre DNS-Polymerase. Einige der Tochterzellen stellen einen stabilen Nachschub an latent infizierten Basalzellen sicher, während andere zu einer squamösen Differenzierung fortschreiten und bei diesem Prozess permissiv zu einer lytischen Virusinfektion werden. Herpesviren etablieren eine latente Infektion in nicht replizierenden neuronalen Zellen (HSV und VZV) oder in replizierenden Zellen aus hämatopoetischen Linien (EBV und evtl. CMV, HHV-6, HHV-7 und das Kaposi-Sarkom-assoziierte Herpesvirus, HHV8). In der Latenzphase ist das Genom von HPV und Herpesviren weitgehend vor der normalen Immunantwort verborgen. Reaktivierte HPV und Herpesviren entgehen der sofortigen und effektiven Immunantwort bei hochimmunen Wirten durch Hemmung der angeborenen Immun- und Entzündungsreaktionen. Außerdem sind HPV, HSV und VZV durch ihre Replikation in den mittleren und oberen Schichten des squamösen Epithels geschützt, da dort normalerweise keine Immun- oder Entzündungszellen patrouillieren. HSV und CMV sind außerdem dafür bekannt, dass sie die Expression von MHC-I und antigenen Peptiden auf infizierten Zellen unterdrücken, sodass diese Zellen den zytotoxischen CD8-positiven T-Lymphozyten entkommen.

Wie andere Pockenviren auch kann das Molluscum-contagiosum-Virus keine latenten, wohl aber persistierende Infektionen in hypertrophen Läsionen hervorrufen, die für Monate oder Jahre bestehen können. Dieses Virus kodiert für ein Chemokinomolog, das möglicherweise entzündliche Reaktionen hemmt, für ein MHC-I-Homolog, das Angriffe zytotoxischer T-Lymphozyten verhindert, und für Zellostinhibitoren, die das Überleben der infizierten Zellen verlängern.

■ VIRUSPERSISTENZ UND KARZINOGENESE

Persistierende Virusinfektionen werden als Ursache für 20 % aller Malignome beim Menschen angenommen. Die Karzinogenese ist ein zufälliger und unwahrscheinlicher Effekt bzw. ein Langzeiteffekt einer Infektion mit onkogenetischen humanpathogenen Viren. Bei diesen Malignomen stellt die Virusinfektion einen kritischen und determinierenden Schritt in der Frühphase dar. Eine latente HPV-Infektion kann den Zelltod verhindern und die Zervixzellen zur Proliferation veranlassen. Eine virusinfizierte Zelle mit integriertem HPV-Genom, die E6 und E7 überexprimiert, durchläuft mehrere zelluläre genetische Veränderungen, die zu dem gesteigerten autonomen Wachstum von malignen Zellen führen.

Die meisten hepatozellulären Karzinome werden heute auf chronisch entzündliche, immune und regenerative Reaktionen auf Infektionen mit dem Hepatitis-B-Virus (HBV) und Hepatitis-C-Virus (HCV) zurückgeführt. Epidemiologische Daten verbinden HBV- und HCV-Infektionen eng mit hepatozellulären Karzinomen. Diese Infektionen führen zu sich wiederholenden Zyklen von virusinduziertem Leberschaden, Gewebereparatur und Regeneration. Im Laufe mehrerer Jahrzehnte können diese chronischen Infektionen mit repetitiver Gewebereparatur und erworbenen Chromosomenschäden zu proliferativen Knoten führen. Weitere chromosomale Mutationen können zur Degeneration der Zellen im proliferativen Knoten zu einem hepatozellulären Karzinom führen. In seltenen Fällen integriert die HBV-DNS in das zelluläre Genom, was vielleicht auch zur Entstehung einiger Tumoren beitragen kann.

Nahezu alle Zervixkarzinome werden durch die langzeitige Persistenz von genitalen Hochrisiko-Stämmen des humanen Papillomavirus (HPV16 und 18) verursacht. Während HBV- und HCV-Infektionen die Zellproliferation indirekt als Antwort auf virusinduzierten Zellschaden induzieren, zerstören die Proteine E6 und E7 von HPV Typ 16 oder 18 p53 und pRB. Der Verlust dieser beiden zellulären Schlüsselproteine mit tumorsupprimierender Funktion steigert das Zellwachstum, das Zellüberleben und die Instabilität des Zellgenoms.

Wie bei HBV und HCV reicht jedoch auch die HPV-Infektion allein nicht für die Krebsentstehung aus. Das Zervixkarzinom ist unbedingt mit einer persistierenden HPV-Infektion und einer Integration des HPV-Genoms in die DNS der Wirtszelle verbunden. Integrationen, die zu einer vermehrten Expression der Proteine E6 und E7 von HPV Typ 16 oder 18 führen, verursachen profunde Veränderungen von Zellproliferation und -überleben und ermöglichen nachfolgende chromosomale Veränderungen, die zu einem Zervixkarzinom führen.

Das EBV ist das ungewöhnlichste onkogene Virus, bei dem die Infektion normaler B-Zellen zur Latenz mit der Expression viraler Proteine führt, die zu einem unkontrollierten B-Lymphozyten-Wachstum führen. Bei fast allen Menschen verhindert eine starke Immunreaktion von CD4- und CD8-positiven T-Zellen gegen die stark antigenen Kernproteine der latenten EBV-Infektion die unkontrollierte Proliferation von B-Lymphozyten. Bei starker Immunsuppression nach Organtransplantationen, HIV-Infektion oder genetischen Immundefekten kann es zu EBV-induzierten B-Zell-Lymphomen kommen.

EBV ist an der Entwicklung bestimmter B-Zell- und epithelialer Malignome beteiligt. In ähnlicher Weise scheinen eine persistierende EBV-Infektion und die Expression des EBV-Onkogens LMP1 (latency-associated integral membrane protein) in latent infizierten Epithelzellen kritische frühe Schritte bei der Entstehung des anaplastischen Nasopharynxkarzinoms zu sein, einem in Südchina und Nordafrika häufigen Malignom. Wie bei anderen virusassoziierten Malignomen tragen genomische Instabilität und chromosomale Aberrationen auch zur Entwicklung EBV-assoziiierter nasopharyngaler Karzinome bei. EBV ist auch eine wichtige Ursache des Hodgkin-Lymphoms. Bei 50 % der Hodgkin-Lymphome findet sich eine hohe LMP1- oder LMP2-Expression in den Sternberg-Reed-Zellen. Die LMP-1-induzierte Aktivierung des Nukleären Faktors κB (NF- κB) kann das Überleben der defekten B-Lymphozyten, die normalerweise durch Apoptose eliminiert werden, verlängern. So kann es zu weiteren genetischen Veränderungen kommen, die zur Entwicklung der malignen Sternberg-Reed-Zellen führen.

Die Tax- und Rex-Proteine von HTLV-I scheinen kritisch für die Entwicklung kutaner adulter T-Zell-Lymphome zu sein, die lange nach einer primären HTLV-I-Infektion auftreten. Tax-induzierte NF- κB -Induktion kann zur Zytokinproduktion, zum Überleben infizierter Zellen und gegebenenfalls zur Entstehung maligner Zellen beitragen.

Molekularbiologische Untersuchungen bestätigen das Vorliegen von KSHV-DNS in allen Kaposi-Tumoren, auch bei HIV-Patienten, nach Transplantationen und bei familiärem Vorkommen. KSHV wird auch ursächlich mit dem Pleural-effusion-Lymphom und der multi-zentrischen Castleman-Krankheit in Verbindung gebracht, die vermehrt bei HIV-Infizierten vorkommen. KSHV hat ein viruskodiertes Cyclin, einen Interferon-regulatorischen Faktor und das latenzassoziierte nukleäre Antigen (LANA), die jeweils zur vermehrten Zellproliferation und zum verlängerten zellulären Überleben führen.

Die kausale Rolle der Virusinfektionen bei diesen Malignomen wird von (1) epidemiologischen Daten, (2) dem Vorliegen von Virus-DNS in all diesen Tumoren, (3) der Fähigkeit des Virus, Zellen in der Kultur zu transformieren, (4) den transformierenden Effekten von spezifischen viralen Genen auf das Zellwachstum und -überleben in vitro, (5) den Nachweisen einer pathologischen Expression dieser viralen Gene in prä-malignen oder malignen Zellen in vivo, (6) dem Nachweis im Tierexperiment, dass diese viralen Gene ein malignes Zellwachstum verursachen können, und (7) der Reduktion der Inzidenz virusassoziiierter Malignome durch viruspezifische Impfstoffe unterstrichen.

Virusassoziierte Malignome bieten die Gelegenheit, unser Verständnis biologischer Mechanismen der Karzinogenese zu verbessern. Zudem bietet sich hier die einmalige Chance, Impfungen oder Medikamente zur Verhinderung oder Behandlung virusassoziiierter Malignome zu entwickeln. Die umfangreiche Impfung gegen Hepatitis B hat das Auftreten HBV-assoziiierter Hepatitiden reduziert und wird wahrscheinlich die meisten HBV-assoziierten Lebermalignome verhindern. Die gegenwärtigen HPV-Impfstoffe können die Kolonisationsrate mit Hochrisiko-HPV-Stämmen und damit das Risiko für Zervixkarzinome reduzieren. Der erfolgreiche Einsatz in vitro vermehrter EBV-spezifischer T-Lymphozyten zur Vermeidung oder Behandlung EBV-assoziiierter lymphoproliferativer Erkrankungen nach Organtransplantationen zeigt das Potenzial der Immuntherapie gegen virusassoziierte Krebserkrankungen.

■ RESISTENZ GEGEN VIRUSINFESTIONEN

Eine Resistenz gegen Virusinfektionen beruht initial auf nicht virus-spezifischen Faktoren. Einen physikalischen Schutz bieten verhornte Schichten der Haut und muköses Sekret, das kontinuierlich mukosale Oberflächen reinigt. Die Infektion der ersten Zelle induziert Interferone (IFN), die zur Resistenz gegen die Vermehrung von RNS-Viren beitragen. Daneben kann eine Virusinfektion auch die Freisetzung anderer Zytokine aus der infizierten Zelle bewirken, die chemotaktisch auf Entzündungs- und Immunzellen wirken. Die Expression viraler Epitope durch MHC-Proteine der Klassen I und II des HLA-Komplexes ziehen T-Zellen mit Rezeptoren an, die die viruskodierten Peptide erkennen, die auf der Zelloberfläche durch MHC-Klasse-I-Proteine präsentiert werden. Zytokine und Antigene, die beim virusinduzierten Zelltod freigesetzt werden, locken zusätzlich Entzündungszellen, dendritische Zellen, Granulozyten, natürliche Killerzellen (NK) und B-Lymphozyten an den Entzündungsort und in ableitende Lymphknoten. Interferone und NK-Zellen sind besonders in den ersten 7 Tagen einer Virusinfektion wichtig. Granulozyten und Makrophagen sind vor allem nach der initialen Antikörperantwort für die Phagozytose und Degradierung der Viren von Bedeutung.

Etwa 7–10 Tage nach der Infektion treten eine viruspezifische Antikörperantwort, eine viruspezifische HLA-Klasse-II-gebundene Antwort CD4-positiver T-Helferzellen und eine viruspezifische HLA-Klasse-I-gebundene Antwort CD8-positiver zytotoxischer T-Lymphozyten auf. Diese in der zweiten und dritten Woche typischerweise noch zunehmenden Reaktionen sind für die frühe Erholung wichtig. Zwischen der zweiten und dritten Woche wechselt der Antikörpertyp in der Regel von IgM zu IgG; an der befallenen mukosalen Oberfläche kann eine IgG- oder IgA-Sekretion auftreten. Diese Antikörper können Viren direkt neutralisieren, indem sie an ihre Oberfläche binden und so die Adsorption und Penetration verhindern. Komplement unterstützt gewöhnlich die Antikörper-vermittelte Virusneutralisierung. Antikörper und Komplement können auch infizierte Zellen lysieren, die Virusproteine an der Oberfläche präsentieren. Eine von einem behüllten, replizierenden Virus infizierte Zelle exprimiert in der Regel Glykoproteine der Virushülle auf ihrer Oberfläche. Spezifische Antikörper können das Glykoprotein binden, Komplement rekrutieren und so die Zelle lysieren.

Die Immunreaktionen durch Antikörper sowie CD4- und CD8-positive T-Lymphozyten persistieren in der Regel auf hohem Niveau für mehrere Monate nach der Primärinfektion, klingen dann aber mit der Zeit ab. Eine kleine Zahl der Antikörper-produzierenden B-Lymphozyten und CD4- oder CD8-positive T-Lymphozyten persistiert als Gedächtniszellen und sorgt für eine rasche Immunantwort bei einer zweiten Infektion und bildet ein frühes Hindernis für eine Reinfektion mit dem gleichen Virus. Das immunologische Gedächtnis der T-Zellantwort scheint kurzlebiger zu sein. Die erneute Entwicklung einer T-Zell-vermittelten Immunität braucht mehr Zeit als die sekundäre Antikörperantwort, besonders, wenn mehrere Jahre zwischen der primären Infektion und der erneuten Exposition liegen. Persistierende oder latente und reaktivierte Infektionen können zu einer gleichbleibend starken T-Zell-Antwort führen. So induzieren EBV und CMV typischerweise starke CD4-positive und CD8-positive T-Zell-Antworten, die noch Jahrzehnte nach der Primärinfektion andauern.

Einige Viren besitzen Gene, mit denen sie die angeborene und die erworbene Immunantwort manipulieren. Adenoviren kodieren für kleine RNS-Stränge, die den IFN-induzierten, PKR-medierten Stopp der Proteinsynthese in der infizierten Zelle verhindern. Das E1-A-Protein der Adenoviren inhibiert die IFN-bedingten Änderungen der zellulären Gentranskription. Die adenoviralen E3-Proteine verhindern die TNF- α -induzierte Zytolyse und blockieren die Synthese der HLA-Klasse-I-Antigene durch die infizierte Zelle. Das HSV-ICP47 und das CMV-US 11 blockieren die Klasse-I-Antigenpräsentation. EBV kodiert für ein Interleukin(IL)-10-Homolog, das die NK- und T-Zellantwort hemmt. Das Vacciniavirus kodiert für einen löslichen Rezeptor für IFN- α und Bindeproteine für IFN- γ , IL-1, IL-18 und TNF, die die angeborene und adaptive Immunantwort des Wirtsorganismus hemmen. Zudem kodiert das Vacciniavirus für einen Caspaseinhibitor, der CD8-positiven zytotoxischen T-Zellen die Möglichkeit nimmt, virusinfizierte Zellen zu töten. Einige Pocken- und Herpesviren kodieren ebenfalls für zytokinbindende Proteine und inhibieren damit die zelluläre Entzündungsreaktion. Die Adaptation dieser Strategien durch die Viren zeigt die Bedeutung der entsprechenden Resis-

tenzfaktoren des Wirts für die Eindämmung einer Virusinfektion, aber auch die Wichtigkeit von Redundanz in der Wirtsimmunität.

Die Entzündungsreaktion und Immunantwort des Wirtsorganismus auf eine Virusinfektion haben jedoch ihren Preis: Sie tragen zur pathophysiologischen Manifestation und zu den Symptomen einer Virusinfektion bei. Die Entzündungsreaktion am Infektionsort kann eine effektive Immunantwort verhindern und zu Gewebeschäden und -dysfunktion beitragen. Zudem kann die Immunantwort gegen Virusinfektionen im Prinzip auch kreuzreaktive Epitope auf gesunden Zellen ins Visier nehmen und so zu Autoimmunität führen.

■ INTERFERONE

Alle menschlichen Zellen können bei einer Virusinfektion Interferon α (IFN- α) oder IFN- β synthetisieren. Diese Interferonantworten werden in der Regel durch das Vorliegen doppelsträngiger RNS induziert, die sowohl von RNS- als auch von DNS-Viren produziert werden kann. Diese doppelsträngige RNS wird durch spezifische Bindeproteine wie Proteinkinase R (PKR) und RIG-I im Zytoplasma erkannt. IFN- γ ist nicht eng mit IFN- α und IFN- β verwandt und wird überwiegend von NK-Zellen und T-Lymphozyten, die auf IL-12 antworten, produziert. IFN- α und IFN- β binden an den IFN- α -Rezeptor, während IFN- γ von einem anderen, aber verwandten Rezeptor erkannt wird. Beide Rezeptoren bedienen sich rezeptorassoziierter JAK-Kinasen und anderer zytoplasmatischer Faktoren, etwa der STAT-Proteine. Diese werden von der JAK-Kinase thyrosinphosphoryliert, translozieren in den Kern und aktivieren Promotoren für spezifische zelluläre Gene. Drei Typen antiviraler Effekte werden von IFN auf transkriptioneller Ebene induziert: Zunächst wird die 2'-5'-oligo(A)-Synthetase induziert, die für ihre Aktivität doppelsträngige RNS benötigt. Die aktive Synthetase polymerisiert oligo(A) und aktiviert damit die RNase L, welche einzelsträngige RNS degradiert. Der zweite Effekt erfordert die Induktion der PKR, einer Serin-Threonin-Kinase, die ebenfalls durch doppelsträngige RNS aktiviert wird. PKR phosphoryliert und hemmt damit den Translations-Initiations-Faktor eIF2- α , wodurch die Proteinsynthese der infizierten Zelle zum Erliegen kommt. Zum dritten Effekt kommt es durch die Induktion von Mx-Proteinen, einer Familie von GTPasen, die speziell für die Replikationshemmung des Influenza- und des Vesikuläre-Stomatitis-Virus (VSV) wichtig sind. Diese IFN-Effekte sind vor allem gegen die infizierten Zellen gerichtet und limitieren die virale Replikation, indem sie sowohl virale als auch zelluläre Funktionen hemmen.

■ DIAGNOSTISCHE VIROLOGIE

Eine Vielzahl an Methoden wird heute zur Diagnose viraler Infektionen herangezogen. Die Serologie und die Virusisolation aus der Gewebekultur stellen immer noch wichtige Standardverfahren dar. Sera mit steigenden Antikörpertitern gegen spezifische virale Antigene und ein Wechsel von IgM auf IgG in der Akut- und Rekonvaleszenzphase werden in der Regel als Diagnose einer akuten Virusinfektion akzeptiert. Die Serodiagnostik erfordert einen mehr als vierfachen Anstieg der IgG-Konzentration bei einer gleichzeitigen Analyse der Akut- und Rekonvaleszenzsera.

Immunfluoreszenz, Hämadsorption oder Hämagglutination zur Detektion antiviraler Antikörper sind arbeitsintensiv und wurden durch ELISAs (Enzyme-linked Immunosorbent Assays) ersetzt. Für ELISAs werden spezifische Virusproteine benutzt, die am häufigsten Ziel der Antikörperantwort sind. Diese Proteine werden in der Regel aus infizierten Zellen gereinigt oder mittels rekombinanter DNS-Technik hergestellt. Diese Virusproteine sind an eine feste Phase gebunden, an der sie mit Serum inkubiert zur Elimination unspezifischer Antikörper gewaschen und mit enzymgekoppelten Sekundärantikörpern exponiert werden können. So gelingt die Detektion humaner IgG- oder IgM-Antikörper, die spezifisch das Virusantigen erkennen. Anschließend kann die Antikörpermenge über die Intensität einer Farbreaktion, die von dem angekoppelten Enzym katalysiert wird, quantifiziert werden. ELISAs sind sensitiv und können automatisiert werden. Western Blots können gleichzeitig Antikörper gegen multiple spezifische Virusproteine detektieren. Diese Proteine werden nach ihrem Molekulargewicht aufgetrennt, auf eine inerte Membran transferiert und mit den Serumantikörpern inkubiert. Western Blots haben eine interne spezifische Kontrolle, da die Banden viraler und zellulärer Proteine aus derselben Probe verglichen werden können. Sie erfordern eine individuelle Auswertung und sind schwierig zu quantifizieren oder zu automatisieren.

Die Virusisolierung aus Gewebekulturen ist von der Infektion empfindlicher Zellen und der Amplifizierung durch Virusreplikation in diesen Zellen abhängig. Dabei kann das Viruswachstum oft durch seine lichtmikroskopisch erkennbaren Effekte auf die Zellmorphologie bestimmt werden. So produziert das HSV binnen 3 Tagen typische zytopathische Effekte in Nierenzellen von Kaninchen. Andere zytopathische Effekte von Viren sind diagnostisch nicht so wertvoll. Die Identifizierung erfordert in der Regel die Bestätigung durch Anfärbung mit virusspezifischen monoklonalen Antikörpern. Effizienz und Schnelligkeit der Virusidentifikation können durch Kombination einer Kurzzeitkultur mit der Immundetektion gesteigert werden. So kann das Viruswachstum in Zellen, die auf einem Objektträger gewachsen sind, durch Anfärbung mit einem monoklonalen Antikörper gegen ein Virusprotein nachgewiesen werden, dessen Expression früh in der Replikation auftritt. Auf diese Weise können virusinfizierte Zellen binnen Stunden oder Tagen nach der Inokulation nachgewiesen werden, lange bevor zytopathische Effekte sichtbar werden.

Die Virusisolierung in der Gewebekultur hängt auch von der korrekten Probenentnahme und einem schnellen Transport im richtigen Medium ins virologische Labor ab (Kap. S 13). Ein zügiger Transport erhält die virale Infektiosität und begrenzt das Wachstum von Bakterien und Pilzen. Viren mit Hülle sind in der Regel wesentlich empfindlicher gegen Einfrieren und Auftauen als solche ohne Hülle. Der richtige Ort zur Probenentnahme hängt von der Pathogenese des jeweiligen Virus ab.

Nasopharyngeale, tracheale oder endobronchiale Aspirate sind für die Identifizierung respiratorischer Viren geeignet. Sputumkulturen sind in der Regel weniger brauchbar, da bakterielle Kontaminationen und die Viskosität das Wachstum der Gewebekultur gefährden. Aspirate vesikulärer Flüssigkeit eignen sich zur Isolation von HSV und VZV. Nasopharyngeale Aspirate und Stuhlproben können zur Diagnose führen, wenn der Patient Fieber und Ausschlag hat und eine Enterovirusinfektion vermutet wird. Adenoviren können aus dem Urin von Patienten mit hämorrhagischer Zystitis kultiviert werden. Die Isolierung von CMV gelingt oft aus dem Urin oder dem Buffy Coat. Biopsiematerial ist zur Anzucht geeignet, wenn große Organe von den Viren infiziert sind, etwa bei der HSV-Enzephalitis oder der adenoviralen Pneumonie.

Die Isolation eines Virus bestätigt nicht automatisch seine Urheberschaft für eine Erkrankung. Viren können persistent oder intermittierend die Schleimhautoberflächen gesunder Menschen besiedeln. So finden sich Herpesviren im Speichel und normale Urinproben können CMV-positiv sein. Dagegen ermöglichen Blut-, Liquor- oder Gewebeproben oft die Diagnose signifikanter Virusinfektionen.

Eine weitere Methode, welche die Virusdiagnostik beschleunigen soll, ist die direkte Antigen- oder Zytotoxizitätstestung. Dabei werden vom Patienten gewonnene virusinfizierte Zellen mit monoklonalen Antikörpern gefärbt. So können Zellen aus einer nasopharyngealen Aspiration mit Antikörpern gegen verschiedene respiratorische Viren behandelt werden. Die direkte Antigenbestimmung und serologische Tests können in Multiplex-Plattformen erfolgen, um gleichzeitig mehrere Analyten nachzuweisen. Dabei werden Reagenzien an unterschiedlich farblich markierte Beads gekoppelt und in der Durchflusszytometrie nachgewiesen.

Amplifikationstechniken für Nukleinsäuren (NAT) steigern Schnelligkeit, Sensitivität und Spezifität der virologischen Diagnostik. Ein Synonym für die NAT ist die Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Durch die Möglichkeit, kleinste Mengen viraler Nukleinsäuren aus den Proben zu amplifizieren, erfordert die Diagnose kein intaktes Virus oder seine Replikation mehr. Beispielsweise können bei einem Patienten mit HSV-Enzephalitis die Amplifikation und Detektion der viralen Nukleinsäuren im Liquor sensitiver sein als eine Liquorkultur. Da subklinische Infektionen oder kleinste Kontaminationen zu falsch positiven Resultaten führen können, ist diese außerordentliche Sensitivität auch ein Problem. Zudem bedeutet die Detektion eines viralen Genoms nicht zwingend eine von diesem Virus verursachte Krankheit.

Die Messung viraler RNS und DNS im peripheren Blut entwickelt sich zu einem wichtigen Maß für das Risiko einer viral bedingten Erkrankung oder für den Erfolg einer antiviralen Chemotherapie. Bei AIDS-Patienten erfolgt routinemäßig eine Bestimmung der Viruslast durch eine molekularbiologische RNS-Quantifizierung, um das Ansprechen auf antivirale Medikamente zu untersuchen und Resistenzen des Virus oder Non-Compliance des Patienten zu erkennen. Die Be-

stimmung der Viruslast zur Therapieüberprüfung ist auch bei HBV- und HCV-Patienten hilfreich. Nukleinsäurediagnostik oder eine direkte Färbung mit CMV-spezifischen monoklonalen Antikörpern zur Quantifizierung von CMV-infizierten Zellen im peripheren Blut (CMV-Antigenämie) ist hilfreich, um immunsupprimierte Patienten zu erkennen, die das Risiko einer CMV-bedingten Erkrankung haben.

■ MEDIKAMENTÖSE BEHANDLUNG VIRALER INFESTIONEN

Viele Schritte des viralen Lebenszyklus können effektiv mit antiviralen Medikamenten erzielt werden (siehe auch Kap. 186 und Kap. 197). Nukleosidische und nicht nukleosidische Inhibitoren der reversen Transkriptase verhindern die Synthese des HIV-Provirus. Proteaseinhibitoren hemmen die Reifung des HCV- und HIV-Polyproteins nach der Infektion einer Zelle. Enfuvirtid ist ein kleines, von HIV gp41 abgewandeltes Peptid, das vor der Zellinfektion angreift, indem es Konformationsänderungen verhindert, die für die initiale Fusion des Virus mit der Zellmembran notwendig sind. Raltegravir ist ein Integrasehemmer, der zum kombinierten Einsatz mit anderen HIV-Medikamenten zugelassen ist. Amantadin und Rimantadin hemmen das M2-Protein von Influenza und verhindern so früh während der Infektion die Freisetzung viraler RNS. Zanamivir und Oseltamivir hemmen die virale Neuraminidase, die für die effiziente Freisetzung reifer Virionen durch die infizierten Zellen benötigt wird.

Virusgenome können gegen Medikamente durch Mutation und Selektion, durch Rekombination mit resistenten Viren und – im Falle von Influenza und anderen Multikomponenten-RNS-Genomen – durch Neuzusammensetzung (reassortment) resistent werden. Das Auftreten medikamentenresistenter Stämme kann die therapeutische Effizienz limitieren. Wie bei der antibakteriellen Therapie kann auch der exzessive und unangemessene Einsatz der antiviralen Therapie das Auftreten resistenter Stämme selektionieren. HIV-Genotypisierung stellt dabei eine schnelle Methode zur Erkennung resistenter Viren dar. Resistenzen gegen Inhibitoren der reversen Transkriptase oder der Protease sind mit spezifischen Mutationen der entsprechenden Gene assoziiert. Die Identifikation dieser Mutationen durch die Polymerase-Kettenreaktion und Nukleinsäuresequenzierung kann in der Klinik zur Bestimmung noch wirksamer Medikamente beitragen. Die Medikamentenresistenz bei Herpesviren ist ein selteneres Problem.

■ PRÄVENTIVE IMMUNISIERUNG GEGEN VIREN

Impfungen gegen Viren gehören zu den herausragendsten Errungenschaften der medizinischen Forschung. Die Pocken wurden überwunden – bis auf ihre Rolle als mögliche Waffen der biologischen Kriegsführung oder des Bioterrorismus. Die Ausrottung der Polioviren könnte bald folgen. Masern werden eingedämmt oder eliminiert. Die hohe Letalität von Influenzaepidemien kann verhindert werden, die Bedrohung durch Pandemien gegenwärtig durch Tot- oder attenuierte Lebendimpfstoffe gesenkt werden. Röteln-, Mumps- und Windpockeninfektionen werden in den Industrienationen gut durch Kleinkindimpfungen kontrolliert. Neuimpfungen Erwachsener können zur Kontrolle von Herpes-zoster-Infektionen eingesetzt werden. Neue Rotavirusimpfstoffe können sich nachhaltig auf diese führende Ursache der Gastroenteritis und von kindlichen Todesfällen weltweit auswirken. Die breite Impfung gegen HBV hat die Häufigkeit der akuten und chronischen Hepatitis dramatisch zurückgehen lassen und man erwartet, dass dies zu einer deutlich reduzierten Inzidenz des hepatozellulären Karzinoms führen wird. Der HPV-Impfstoff ist der erste, der ausdrücklich zur Prävention virusinduzierter Krebserkrankungen zugelassen ist. In Deutschland liegt bisher eine unzureichende Impfbereitschaft vor. So lag die Impfquote für eine vollständige Impfserie gegen HPV-Infektionen bei 15-jährigen Mädchen 2015 bei lediglich 31,3 %.

Aufgereinigte Proteine, genetisch erzeugte Lebendvirusimpfungen und die rekombinante DNS-Technologie werden uns die Prävention vieler schwerer Virusinfektionen ermöglichen. Die Entwicklung effektiver Impfstoffe gegen HIV und HCV wird durch die hohe Mutationsrate der RNS-Polymerase und der reversen Transkriptase, populationsbasierte und individuelle Unterschiede der HVC- und HIV-Genome und wiederholte hochgradige Expositionen mancher Populationen kompliziert. Die mögliche Verwendung von Pocken oder anderen Viren als Waffen machen es notwendig, eine Immunität gegen Erreger aufrechtzuerhalten, die natürlich gar nicht vorkommen.

■ VIREN ALS NEUE THERAPEUTIKA UND WERKZEUGE

Experimentell werden Viren zur Verabreichung von Biotherapeutika oder neuen Impfstoffen entwickelt. Fremde Gene können in die viralen Nukleinsäuren eingebaut werden, um Patienten oder ex vivo die Zellen von Patienten mit diesen rekombinanten viralen Vektoren zu infizieren. Retroviren integrieren in das zelluläre Genom. Sie wurden benutzt, um das abnorme Gen in den T-Lymphozyten von Patienten mit schwerer kombinierter Immundefizienz (SCID) funktionell zu ersetzen und die Immunfunktion wiederherzustellen. Die Verwendung von rekombinanten Adenoviren, AAV (adenoassoziierten Viren) und Retroviren wird bei monogenetischen Erkrankungen, wie der zystischen Fibrose und Hämophilie, untersucht. AAV, die das Gen für eine Lipoproteinlipase tragen, werden mittlerweile in Europa zur Behandlung einer seltenen Lipidstoffwechselstörung verwendet; es handelt sich dabei um die erste für den klinischen Einsatz zugelassene Gentherapie. Rekombinante Pockenviren, Adenoviren und Influenzaviren werden experimentell als Impfvektoren eingesetzt. Ferner versucht man, mit Viren durch Expression von Zytokinen die Immunität gegen Tumorzellen zu steigern oder durch Proteinexpression die Sensitivität von Tumorzellen für eine Chemotherapie zu erhöhen. Lebende, replikationsunfähige HSV werden eingesetzt, um selektiv Glioblastomzellen zu töten, nachdem sie in den Tumor injiziert wurden. Zur Verbesserung der Sicherheit werden in klinischen Studien oft nicht replizierende Viren eingesetzt. Mögliche unerwünschte Effekte der viralen Gentherapie können die Induktion von Entzündungsreaktionen und antiviralen Immunreaktionen sein. Durch Fälle von Retrovirus-induzierten Malignomen beim Menschen wurden Bedenken über die Sicherheit der retroviralen Gentherapie größer.

WEITERFÜHRENDE LITERATUR

- CARTER J, SAUNDERS V: *Virology, Principles and Applications*; UK; John Wiley & Sons, 2007
- CHAVALI PL et al: Neurodevelopmental protein Musashi-1 interacts with the Zika genome and promotes viral replication. *Science* 357:83, 2017. (See also commentary: GRIFFIN DE: Why are neurons susceptible to Zika virus? *Science* 357:33, 2017.)
- CULLEN BR: Viral and cellular messenger RNA targets of viral microRNAs. *Nature* 457:421, 2009
- FUTURE II STUDY GROUP: Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med* 356:1915, 2007
- HARRISON SC: Viral membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol* 15:690, 2008
- HENAO-RESTREPO AM et al: Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease: Final results from the Guinea ring vaccination, open-label, cluster-randomised trial. *Lancet* 389:505, 2017. (See also commentary: GEISBERT TW: First Ebola virus vaccine to protect human beings? *Lancet* 389:479, 2017.)
- KNIPE DM, HOWLEY PM (eds): *Fields Virology*, 6th ed. Philadelphia, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013
- KNIPE DM et al (eds): *Fields Virology*, 5th ed. New York, Lippincott Williams & Wilkins, 2006
- MALCOLM K, BRENNER MB: *Cancer Gene Therapy by Viral and Non-viral Vectors*; USA; John Wiley & Sons, 2014
- MALIM MH: APOBEC proteins and intrinsic resistance to HIV-1 infection. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364:675, 2009
- ROBERT KOCH-INSTITUT: *Epidemiologisches Bulletin*. 4. Januar 2018/ Nr. 1
- SCHULZ F et al: Giant viruses with an expanded complement of translation system components. *Science* 356:82, 2017. (See also commentary: LESLIE M: Cell-like giant viruses found. *Science* 356:15, 2017.)