

## **VORTRAG YOSHIHIRO KAWAOKA**

**Berlin, 3. November 2006, University of Tokyo, University of Wisconsin-Madison**

### **Neue Möglichkeiten der Bekämpfung der Influenza**

Es ist für mich eine große Ehre, in diesem Jahr den Robert-Koch-Preis zu erhalten. Zunächst möchte ich den Mitgliedern des Auswahlausschusses dafür danken, dass sie mich ausgewählt haben. Es versteht sich von selbst, dass an der Arbeit, die zu dieser Auszeichnung geführt hat, viele Personen in meinem Labor und in anderen Einrichtungen beteiligt waren. Ich möchte daher allen früheren und derzeitigen Mitarbeitern meines Labors für ihre harte Arbeit und denjenigen, die unsere Arbeit unterstützt haben, für ihre Hilfe danken. Einige Namen werde ich in meinem Vortrag erwähnen. Ich möchte ebenfalls meinen Mentoren danken, die mich bei meiner Ausbildung geleitet und eindeutig meine berufliche Laufbahn geprägt haben: Dr. Kida und dem verstorbenen Dr. Naiki in Japan sowie Dr. Webster in den USA. Ohne die Unterstützung und Beratung all dieser Personen und meiner Familie stünde ich heute nicht hier.

Bekanntlich verursachen aviäre H5N1-Influenzaviren seit 1996 Probleme. Dieses Virus trat erstmals in Südchina auf, verbreitete sich dann in vielen Ländern Asiens und ist inzwischen in Europa und sogar in Afrika angekommen. Bisher sind 256 Fälle von Infektionen bei Menschen bekannt, und 156 Patienten starben daran. Damit beträgt die Mortalitätsrate über 50%. Der Erreger ist ein Influenzavirus vom Typ A. Dieses Virus hat die einzigartige Eigenschaft, dass sein Genom, das aus RNA besteht, in 8 Segmente unterteilt ist, die hier als gelbe Bänder abgebildet sind.

Zur Bekämpfung von Influenza haben wir zwei Optionen: Impfstoffe und antivirale Medikamente.

Die meisten Grippeimpfstoffe werden in Eiern produziert. Das Virus wird in befruchtete Eier injiziert. Die Chorioallantoisflüssigkeit mit den neugebildeten Viren wird entnommen, deaktiviert und anschließend als Impfstoff verwendet.

Hochgradig pathogene aviäre Influenzaviren wie die H5N1-Viren können nicht als Impfstoffstämme eingesetzt werden, weil sie befruchtete Eier abtöten, so dass nur geringe Mengen von Viren gewonnen werden können.

Außerdem sind sie für den Menschen tödlich. Deshalb sind sie für die Herstellung von Impfstoffen nicht tauglich.

Was können wir dann tun?

Wir können hochgradig pathogene Viren in nicht-pathogene Viren umwandeln.

In den 70er-Jahren wiesen die deutschen Virologen Rudi Rott, Hans Klenk und Christoph Scholtissek nach, dass eines der Virusproteine, Hämagglutinin oder HA, für die Virulenz von aviären Influenzaviren eine wichtige Rolle spielt.

Die Hämagglutinine von Influenzaviren werden als einzelne Polypeptide synthetisiert und anschließend von Wirtsproteasen in zwei Einheiten gespalten.

Drs. Rott, Klenk und Scholtissek konnten ebenfalls zeigen, dass die HA-Spaltungsstellen von pathogenen Viren mehr basische Reste enthalten als nicht-pathogene aviäre Influenzaviren.

Danach haben wir 1988 einen direkten Vergleich der Aminosäuresequenzen der HA-Spaltungsstelle von pathogenen und nicht-pathogenen aviären Viren durchgeführt. Pathogene Viren wiesen eine Reihe von basischen Aminosäuren wie Arginin und Lysin auf, während nicht-pathogene Viren an dieser Stelle keine basischen Aminosäuren aufwiesen.

1994 setzten wir die von Dr. Peter Palese entwickelte erste Generation der Reverse-Genetik-Technik ein, die ein Helfervirus erfordert, und wiesen ebenfalls nach, dass die Umwandlung der HA-Spaltungsstelle von einem pathogenen Typ in einen nicht-pathogenen Typ ein pathogenes Virus zu einem nicht-pathogenen Virus macht, die Antigenität des Virus jedoch nicht verändert.

Dann entwickelten wir 1999 eine Reverse-Genetik-Technologie, die kein Helfervirus erfordert und die vollständige Synthese des Influenzavirus ermöglicht.

Kurz beschrieben, lösen wir zunächst das Influenzavirus in seine Einzelbestandteile auf, isolieren die 8 RNA-Segmente des Virus und klonen sie dann in Plasmiden. Durch Einschleusen dieser Plasmide in Zellen wird ein infektiöses Influenzavirus freigesetzt.

Dies ist eine sehr einfache und robuste Technologie, mit der man jedes gewünschte lebensfähige Influenzavirus synthetisieren kann.

Mit Hilfe dieser Technologie kann man leicht Mutationen im HA einfügen und ein pathogenes Virus in ein nicht-pathogenes Virus umwandeln.

In der Tat haben Labors der WHO mit diesen von uns entwickelten Technologien und Konzepten nicht-pathogene H5N1-Impfstoffkandidaten produziert, die in vielen Ländern getestet wurden.

Wir setzen Reverse-Genetik-Systeme auch in der Grundlagenforschung ein, um die Replikation des Influenzavirus auf der molekularen Ebene zu verstehen.

Wie bereits erwähnt, sind H5N1-Viren bei Geflügel im Umlauf. Manchmal werden diese Viren auf Menschen übertragen. Diese H5N1-Viren vermehren sich vor allem in den unteren Bereichen der menschlichen Atemwege. Über 50% der Menschen, die mit diesem Virus infiziert wurden, starben aufgrund von schweren Pneumonien. Die Übertragung von Mensch zu Mensch war jedoch selten. Während der Replikation des Virus in der Lunge könnten jedoch mutante Viren entstehen, die in der Lage sind, sich im oberen Bereich der menschlichen Atemwege zu entwickeln, was dann die Übertragung auf andere Menschen ermöglichen könnte.

Aus diesem Grund haben wir Virusveränderungen untersucht, die für eine Übertragung von Mensch zu Mensch von Bedeutung sein könnten. Bisher haben wir, mit Hilfe der reversen Genetik und der künstlichen Herstellung von mutanten Viren, Veränderungen in den Virusproteinen PB2 und HA identifiziert, die möglicherweise bei der Übertragung von Mensch zu Mensch eine wichtige Rolle spielen. Wir planen, noch weitere Mutationen zu identifizieren, die für die Übertragung von H5N1-Viren von Mensch zu Mensch wichtig sind. Die Identifizierung dieser Veränderungen ist von Bedeutung, weil sie als molekulare Marker für eine rasche Beurteilung des Pandemiepotenzials von Virusisolaten dienen können.

Als weitere Option zur Bekämpfung von Influenza wurden verschiedene antivirale Medikamente auf den Markt gebracht. Allerdings sind einige Viren inzwischen gegenüber diesen Präparaten resistent, und deshalb müssen neue Grippemedikamente entwickelt werden.

Dies ist der Replikationszyklus des Influenzavirus. Das Virus dringt in Zellen ein. Dann wird das Virusgenom in den Zellkern transportiert. Das neu synthetisierte Virusgenom sowie Proteine werden an der Zelloberfläche zusammengebaut, und dann wird das Nachkommenvirus freigesetzt.

Wir haben den Schritt untersucht, bei dem das Virusgenom in Viruspartikel verpackt wird.

Mit Hilfe der reversen Genetik haben wir diejenigen Regionen identifiziert, die für den Einbau des Virusgenoms in Viruspartikel von Bedeutung sind.

Wir haben ebenfalls nachgewiesen, dass in jedem Viruspartikel acht virale RNA-Segmente vorhanden sind.

Auf der Grundlage der durch Reverse-Genetik-Techniken und andere virologische und morphologische Untersuchungen erzielten Erkenntnisse leiteten wir folgendes Modell ab: Zum Zeitpunkt der Virusfreisetzung kommen 8 verschiedene virale RNA-Segmente in Form von Ribonukleoproteinkomplexen zusammen und bilden einen Satz von 8 verschiedenen viralen RNA-Segmenten. Diese 8 RNA-Segmente werden anschließend als ganzer Satz in ein Viruspartikel eingebaut.

Da die Interaktionen dieser 8 RNA-Segmente spezifisch sind, führt eine Störung dieser Interaktionen zur Hemmung des Viruswachstums. Damit ist dieser Replikationsschritt potenziell ein gutes Ziel für die Entwicklung von antiviralen Präparaten.

Zusammenfassend lässt sich sagen:

Die reverse Genetik ist für die Bekämpfung von Influenza von entscheidender Bedeutung, weil sie

- die effiziente Herstellung von Impfstoffen ermöglicht und
- die Grundlagenforschung unterstützt, die Informationen bereitstellt, welche für die Kontrolle von Krankheitsausbrüchen und die Entwicklung von neuen Grippemedikamenten von entscheidender Bedeutung sind.

*Nachdruck und Publikation nur mit Genehmigung der Robert-Koch-Stiftung e.V.*