

Hepatitis-B-Virus-Infektion: Gentechnologie bereichert Diagnostik

Mit gentechnologischen Methoden ist es bereits 1979 gelungen, die Nukleinsäure (DNS) des Hepatitis-B-Virus (HBV) im Bakterium *E. coli* zu vermehren. Kurze Zeit danach entdeckte man HBV-verwandte Viren bei Murmeltieren (WHV), Erdhörnchen (GSHV) und Pekingenten (DHBV), die man heute als „hepadna viridae“-Familie bezeichnet. Obwohl es nach wie vor kein *in vitro*-System gibt, um diese Viren zu kultivieren, gelang es in geradezu atemberaubendem Tempo, neue Erkenntnisse zur Genomstruktur, über die vom Virus kodierten Proteine, über den Mechanismus der Virusreplikation und zur Pathogenese bei Lebererkrankungen einschließlich der Beteiligung bei der Leberkarzinomentstehung zu gewinnen (4). Diese Fortschritte waren nur durch die Verfügbarkeit von nahezu unbegrenzten Mengen von klonierter viraler DNS und durch Vergleichsstudien an WHV, DHBV und GSHV möglich.

Die Ergebnisse dieser Forschung haben in kurzer Zeit auch zur Entwicklung neuer diagnostischer Tests geführt, und weitere sind in der Erprobung.

Genomstruktur und Virusreplikation

Bei allen Hepatitis-B-Viren besteht das virale Genom aus zirkulärer DNS, deren Struktur sich aber von der aller anderen Animalviren dadurch unterscheidet, daß sie zum Teil einzelsträngig und zum Teil doppelsträngig ist. Der Grund

hierfür liegt, wie man heute weiß, im ungewöhnlichen Replikationsmechanismus. Viele Experimente weisen darauf hin, daß nach Eintritt des Virus in die Zelle das virale DNS-Genom zunächst in eine doppelsträngige zirkuläre Form verwandelt wird. Von diesem Intermediat wird nun eine einzelsträngige RNS-Kopie hergestellt und diese von einem Enzym, der sogenannten reversen Transkriptase, in die DNA-Form zurückübersetzt. Diese Art der Replikation kannte man bisher nur von sogenannten Retroviren, deren Genom aus RNS besteht. Zur Klasse der Retroviren gehören zum Beispiel viele kreberzeugende Viren wie auch AIDS-Viren.

Integration von HBV-DNA in Wirtschromosomen

Neben der oben beschriebenen extrachromosomalen Form der Virusreplikation kann HBV auch kochromosomal persistieren. In der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten Lebergewebe von chronischen HBV-Trägern und in Leberkarzinomzellen hat man HBV-DNS gefunden, die in Wirtschromosomen integriert ist. Selbst bei Patienten ohne jegliche serologischen HBV-Marker hat man integrierte HBV-DNS gefunden (1). Der Nachweis, in welcher Form die HBV-DNS in Leberzellen vorliegt, wird bereits in mehreren Speziallabors routinemäßig durchgeführt. Häufig fand man in diesen Gewebeproben mehrere HBV-DNA-Integrate, die auf verschiedene Chromosomen verteilt wa-

ren. Die Integrate umfassen in der Regel nur Teilsequenzen des HBV-Genoms, die zum Teil interne Deletionen, Inversionen und sonstige Mutationen aufweisen. Es häufen sich aber Hinweise dafür, daß HBV primär relativ spezifisch bezüglich des viralen Genoms integriert, dann aber sekundär Sequenzinformation verliert, wobei die HBV-DNS sogar auf andere Chromosomen übertragen werden kann. Inwieweit die Integration Voraussetzung für die Leberkrebsentstehung ist, steht noch nicht mit Sicherheit fest. Dafür spricht aber, daß, im Gegensatz zu HBV und WHV, bei DHBV und GSHV bisher weder Integration der viralen DNA in Wirtschromosomen, noch eine Assoziation von chronischer Infektion und Lebertumorentstehung beobachtet wurde.

Neue virale Genprodukte und Möglichkeiten der Diagnostik

Grundlage der Routine-HBV-Diagnostik sind der Nachweis des viralen Oberflächenantigens (HBsAg), eines Derivates des Nukleokapsidantigens (HBcAg), das mit HBeAg bezeichnet wird, und der Nachweis der entsprechenden Antikörper. Auf Grund der bekannten Sequenz der HBV-DNS hatte man bereits 1979 Vermutungen angestellt, daß es neben HBsAg, HBcAg und HBeAg weitere HBV-kodierte Proteine geben müßte. In den letzten zwei Jahren konnte man in der Tat mehrere neue HBV-Proteine und die entsprechenden Antikörper nachweisen. Neben dem HBsAg gibt es demnach mindestens zwei weitere Oberflächenproteine, die sogenannten Pre-S-1- und Pre-S-2-Proteine (2). Beide scheinen bevorzugt in die Virusoberfläche eingelagert zu werden und kommen in glykosylierter und nichtglykosylier-

ter Form vor. Bei Pre-S-1 vermutet man, daß es eine Rolle bei der Virusadsorption an die Zielzellen spielt, die möglicherweise durch polymerisiertes Humanalbumin und dessen Rezeptor vermittelt wird. Beide Proteine führen während einer Infektion zur Produktion von Antikörpern. Es ist zu erwarten, daß der Nachweis dieser Pre-S-Proteine und -Antikörper in absehbarer Zeit Eingang in die Routinediagnostik finden. Dies könnte insoweit eine echte Bereicherung der Diagnostik bedeuten, da gemäß vorläufigen Daten Pre-S-Antikörper noch vor Auftreten des HBsAg-Markers gemessen wurden. Gleichzeitig hofft man mit Pre-S-Proteinen, die man gentechnisch bereits hergestellt hat, ein zusätzliches potentiell Impfstoffprodukt in der Hand zu haben, mit der auch Patienten erfolgreich immunisiert werden können, bei denen mit dem konventionellen HBsAg-Impfstoff keine Immunität erreicht wird.

Weitere, bisher nicht bekannte HBV-kodierte Proteine hat man in Lebertumoren gefunden. Eines dieser Proteine hat man mit X bezeichnet (3), ein weiteres mit C-Pol (unveröffentlichte eigene Daten). Die genaue Struktur und Funktionen dieser Proteine ist bisher nicht bekannt, eine Beteiligung bei der Tumorgenese wird vermutet. Der Nachweis von Antikörpern gegen das X-Protein auch bei akuten HBV-Infektionen weist zudem auf eine funktionelle Bedeutung im normalen Lebenszyklus von HBV hin und stellt daher ebenfalls eine potentielle Erweiterung der HBV-Diagnostik der Zukunft dar. Sowohl der Nachweis der X- als auch der C-pol-Proteine und entsprechender Antikörper im Lebergewebe und Serum von Pa-

tienten könnte neue Wege insbesondere im Hinblick auf die Leberkarzinomdiagnostik eröffnen.

Die Technik der molekularen Hybridisierung mit klonierter HBV-DNS ermöglicht es heute, den Infektiositätsgrad von Patientenserum direkt über die Konzentrationsbestimmung der HBV-DNS zu bestimmen. In diesen Studien konnten Titer bis 10^8 Viruspartikel pro Milliliter gemessen werden. Die Bestimmung der HBV-DNS im Serum ist ein direkter Marker für die Beurteilung der Infektiosität und ist in dieser Hinsicht der HBeAg/anti-HBeAg-Bestimmung überlegen. Der Umgang mit klonierter HBV-DNS scheint mit keinem Risiko verbunden zu sein (5).

Literatur

- (1) Brechot, C.; Degos, F.; Lugassy, C., et al.: Hepatitis B virus DNA in patients with chronic liver disease and negative tests for hepatitis B surface antigen. *N. Engl. J. Med.* **312** (1985) 270-276 - (2) Heermann, K. H.; Goldmann, U.; Schwartz, W.; Seyfarth, T.; Baumgarten, H.; Gerlich, W. H.: Large surface proteins of hepatitis B virus containing the Pre-S sequence. *J. Virol.* **52** (1984) 396-402 - (3) Moriarty, A. M.; Alexander, H.; Lerner, R. A.: Antibodies to peptides detect new hepatitis B antigen: Serological correlation with hepatocellular carcinoma. *Science* **227** (1984) 429-433 - (4) Abstrakte zur Cold Spring Harbour Konferenz über „The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses“, Varmus, H.; Summers, J. (Hrsg): Cold Spring Harbour Laboratory, Cold Spring Harbour, New York (1985) 1-85 - (5) Will, H.; Cattaneo, R.; Darai, G.; Deinhardt, F.; Schellekens, H.; Schaller, H.: Infectious hepatitis B virus from cloned DNA of known nucleotide sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82** (1985) 891-895

Dr. med. Lorenz Theilmann
Abteilung Innere Medizin IV
Med. Universitätsklinik
Bergheimer Straße 58
6900 Heidelberg

Dr. rer. nat. habil. Hans Will
Mikrobiologie
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 230
6900 Heidelberg

Magendoppelkontrast oder Gastroskopie: Eine vergleichende Studie

Nur wenige prospektive Studien, die sich mit Spezifität und Sensitivität moderner Magendiagnostik befassen, sind so sorgfältig angelegt worden wie diese Studie aus Los Angeles.

Bei 100 konsekutiven Patienten wurde die Aussagekraft des Röntgendoppelkontrastverfahrens mit dem der Gastroskopie verglichen. Beide Untersuchungsverfahren erhielten dieselben Informationen, die Röntgenbilder wurden von einem zweiten Radiologen erneut beurteilt, und die endgültige Diagnose schließlich in einer Konferenz von an der Studie Unbeteiligten festgelegt.

Die Gastroskopie führte bei 96 Prozent der Patienten zu einer korrekten Diagnose, das Röntgenverfahren in 70 Prozent. Die initiale klinische Diagnose war bei 60 Prozent der Patienten inkorrekt, bei 52 Prozent mußte die anfängliche Behandlung aufgrund der Untersuchungsergebnisse korrigiert werden. Rund 30 Prozent der radiologischen Fehldiagnosen gingen auf eine mangelnde Kooperation des Patienten, 20 Prozent auf technische Probleme, 20 Prozent auf eine Fehlinterpretation und 17 Prozent auf eine Kombination von technischen Problemen und menschlichem Versagen zurück.

Für die Gastroskopie wurde eine Sensitivität von 92 Prozent und eine Spezifität von 100 Prozent, für das Röntgenverfahren eine Sensitivität von 54 Prozent und eine Spezifität von 91 Prozent ermittelt. W

Dooley, C. P.; Larson, A. W.; Stace, N. H.; Renner, I. G.; Valenzuela, J. E.; Eliasoph, L.; Colletti, P. M.; Halls, J. M.; Weiner, J. M.: Double-contrast barium meal and upper gastrointestinal endoscopy. A comparative study. *Ann. int. Med.* **101**:538-545, 1984.

Sections of Gastroenterology and Radiology, University of Southern California School of Medicine, Los Angeles