

Die Entdeckung des Hepatitis C-Virus und der Beitrag der drei Nobelpreisträger

Prof. Dr. Heiner Wedemeyer, Prof. Dr. Michael P. Manns

Die besondere Bedeutung der Arbeiten der drei Nobelpreisträger für Medizin und Physiologie 2020 steht außer jeder Frage. Die Entdeckung des Hepatitis C-Virus (HCV) und der Beweis, dass das HCV auch das ursächliche Agens für Posttransfusions-Hepatitis war, ist ein Meilenstein für die virologische Forschung, die klinische Hepatologie und die Versorgung von Millionen von Patienten.

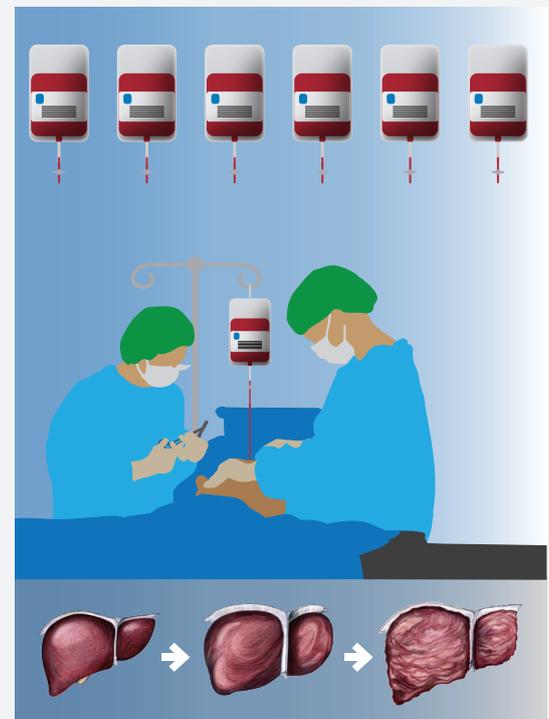
Am Anfang stand eine sorgfältige und ausgezeichnete klinische Forschung. Die Anwendung von damals modernsten Techniken und ein Screening von Millionen von Klonen waren im Anschluss erforderlich, um das HCV zu identifizieren. Zunächst waren alle bis dahin verfügbaren Techniken – wie Ouchterlony Immundiffusion, Immunfixation, Immunfluoreszenz, Radio- und Enzymimmunoassay, Elektronenmikroskopie etc. – zum Antigen-, Antikörper- und Virusnachweis erfolglos. Eine methodische Weiterentwicklung in den 1980er und 1990er Jahren und die Verwendung von dem einzigen Tiermodell für Hepatitis C (die Infektion von Schimpansen) ermöglichte dann den Beweis, dass HCV tatsächlich ursächlich für Leberentzündungen war. Die Arbeiten erlaubten schließlich die Etablierung von Zellkulturmodellen durch Ralf Bartenschlager und damit die Entwicklung von direkt antiviralen Medikamenten.

Die Hepatitis C wurde zunächst, als sie noch als „Non-A-/Non-B-Hepatitis“ bezeichnet wurde, mit natürlichem und rekombinantem Interferon alpha behandelt, dann mit langwirksamem pegyliertem Interferon alfa und schließlich über 10 Jahre mit einer Kombination aus pegyliertem Interferon alfa und Ribavirin. Diese Therapien waren langwierig, nebenwirkungsreich, teuer und nur bei einem Teil der Patienten wirksam.

Die erste beim Menschen eingesetzte direkt antiviral wirksame Substanz war dann ein HCV-Protease-Inhibitor einer deutschen Firma (Boehringer Ingelheim). Ende 2001 wurden die ersten Patienten in Studien behandelt. Die entsprechende Präsentation auf einem wissenschaftlichen Kongress erfolgte durch Holger Hinrichsen auf der amerikanischen Lebertagung (AASLD) im Herbst 2002. Die weitere Entwicklung von direkt antiviralen Substanzen zog sich aber noch über zehn Jahre hin. Die ersten HCV-Protease-Inhibitoren konnten 2011 zur Behandlung der Hepatitis C zugelassen werden. Eine Interferon-freie Therapie der chronischen Hepatitis C wurde ab 2014 möglich. Die beeindruckende Effektivität und Sicherheit der modernen Behandlung der Hepatitis C im klinischen Alltag ist in Deutschland durch das Deutsche Hepatitis C-Register der Deutschen Leberstiftung gezeigt worden, in dem inzwischen mehr als 17.500 Patienten dokumentiert sind. Schon jetzt gehen die Lebertransplantationen wegen Hepatitis C-bedingter Lebererkrankungen wie Leberzirrhose und Leberzellkarzinom zurück.

Harvey J. Alter hat Medizin an der Universität Rochester in New York studiert. Im Rahmen seiner weiteren Ausbildung hat er als klinischer *Associate* von Dezember 1961 bis Sommer 1964 an den *National Institutes of Health* (NIH) in Maryland gearbeitet. Zur weiteren klinischen Ausbildung gehörten auch Rotationen insbesondere in die Hämatologie, die er an der Georgetown Universität in Washington D. C. sowie in Seattle absolvierte. Seit 1969 ist Harvey Alter im *Department of Transfusion Medicine* am NIH, Bethesda, USA, tätig. Innerhalb dieses Departments ist er Leiter der *Infectious Diseases Section*. In seiner mehr als 50-jährigen Tätigkeit am NIH hat sich Harvey Alter insbesondere mit exzellenter klinischer Forschung im Bereich von Transfusionshepatitiden einen Namen gemacht.

Vielen ist nicht bekannt, dass Harvey Alter bereits entscheidend an der Entdeckung des Australia-Antigens in der Gruppe von Baruch Blumberg beteiligt war. Baruch Blumberg wurde 1976 für die Entdeckung des Hepatitis B-Virus mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet. Der *Fellow*, der im Ouchterlony-Test die Reaktion eines Antigens von einem Patienten mit



Harvey J. Alter

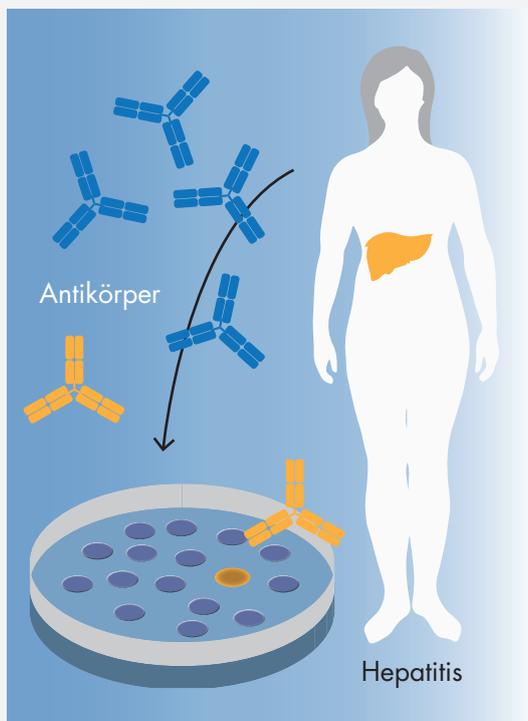
Abbildung 1: Die bahnbrechenden Entdeckungen der Preis-

einer Hämophilie und einem australischen Aborigine entdeckt hat, war Harvey Alter. Initial sollte dieses Antigen „rotes Antigen“ genannt werden, da sich in diesem Testverfahren eine dünne rote Linie nach Gegenfärbung mit Azocarmin zeigte. Harvey Alter und Baruch Blumberg konnten dann zeigen, dass das Australia-Antigen nur in 0,1 Prozent von Kontrollpopulationen, aber in 10 Prozent von Patienten mit Leukämie gefunden wurde. Die erste Veröffentlichung zum Thema Hepatitis B, bei der Harvey Alter Zweitautor war, hatte daher auch die Assoziation mit Leukämie im Titel. Im weiteren Verlauf zeigte sich jedoch, dass Patienten mit Leukämie in hohem Maße Bluttransfusionen erhielten und in diesem Zusammenhang mit dem Hepatitis B-Virus infiziert wurden.

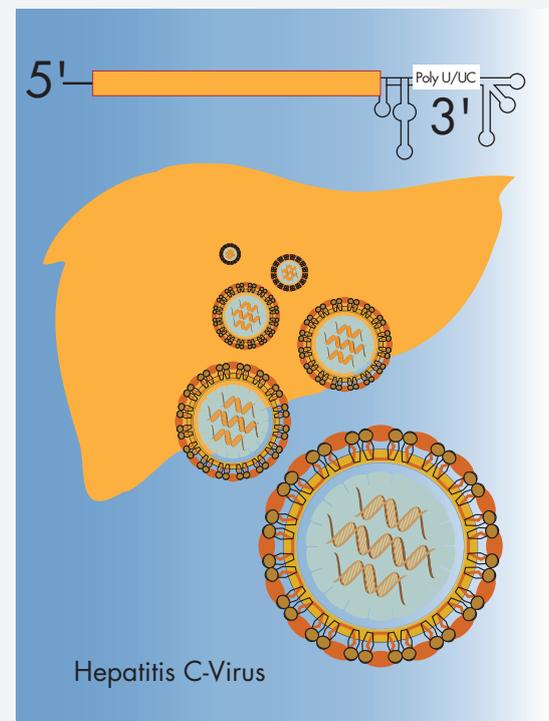
Nach dieser bahnbrechenden Entdeckung in den 1960er Jahren führte Harvey Alter seine medizinische Ausbildung in Innerer Medizin und Hämatologie weiter (Harvey Alter ist kein Gastroenterologe oder Hepatologe!) und setzte am NIH ab 1969 seine Studien im Bereich von Posttransfusions-Hepatitis fort. Ein wichtiger Kooperationspartner war von Anfang an Robert Purcell vom *National Institute for Allergy and Infectious Diseases* (NIAID), ebenfalls Bethesda, USA. Anfang der 1970er Jahre war Harvey Alter entscheidend daran beteiligt, dass bezahlte Blutspender in den USA nicht mehr akzeptiert wurden, da das Risiko insbesondere durch diese Personen für zu diesem Zeitpunkt noch nicht genau geklärte Posttransfusions-Hepatitis deutlich erhöht war. Harvey Alter konnte dann zeigen, dass die Testung von Blutprodukten auf HBsAg viele Infektionen verhindern

konnte, woraufhin das Blutspendewesen in den USA eine regelhafte Testung auf HBsAg einführte. Mit dieser Maßnahme konnte die Rate einer Hepatitis zum Beispiel nach einer offenen Herzoperation von 33 Prozent auf weniger als 10 Prozent gesenkt werden. Im weiteren Verlauf zeigte sich dann aber, dass Posttransfusions-Hepatitis, die nicht auf eine Hepatitis B-Virusinfektion zurückzuführen waren, trotzdem weiter auftraten. In Zusammenarbeit mit Stephen Feinstone und Bob Purcell konnte Harvey Alter nachweisen, dass diese Leberentzündungen auch nicht auf eine Infektion mit dem von Stephen Feinstone erstmals beschriebenen Hepatitis A-Virus zurückzuführen waren. Daraufhin setzte sich die Nomenklatur Non-A-/Non-B-Hepatitis durch.

Harvey Alter führte im Anschluss seine prospektiven Studien fort, um das Phänomen der Non-A-/Non-B-Hepatitis genauer zu definieren. Mit Bob Purcell gelang es, mit Blutproben von Patienten mit einer Posttransfusions-Hepatitis Schimpansen zu infizieren, die einen Anstieg von Leberwerten entwickelten. Von über 50 Non-A-/Non-B-Hepatitis-Patienten wählte Harvey Alter einen Patienten aus (Patient H), der einen besonders schweren Verlauf einer akuten Non-A-/Non-B-Hepatitis aufwies. Bob Purcell etablierte die Titration von Plasma des Patienten H und determinierte die minimale infektiöse Dosis, um Schimpansen zu infizieren. Mit diesem Serum konnte durch Filterexperimente auch die Größe des potenziell infektiösen Agens bestimmt werden. Es zeigte sich, dass das Agens kleiner als 30 Nanometer im Durchmesser sein musste. In Zusammenarbeit mit Patricia Farci,



Michael Houghton



Charles M. Rice

träger (modifiziert nach: MLA style: *Advanced information*. NobelPrize.org. Nobel Media AB 2020. Mon 26 Oct 2020.)

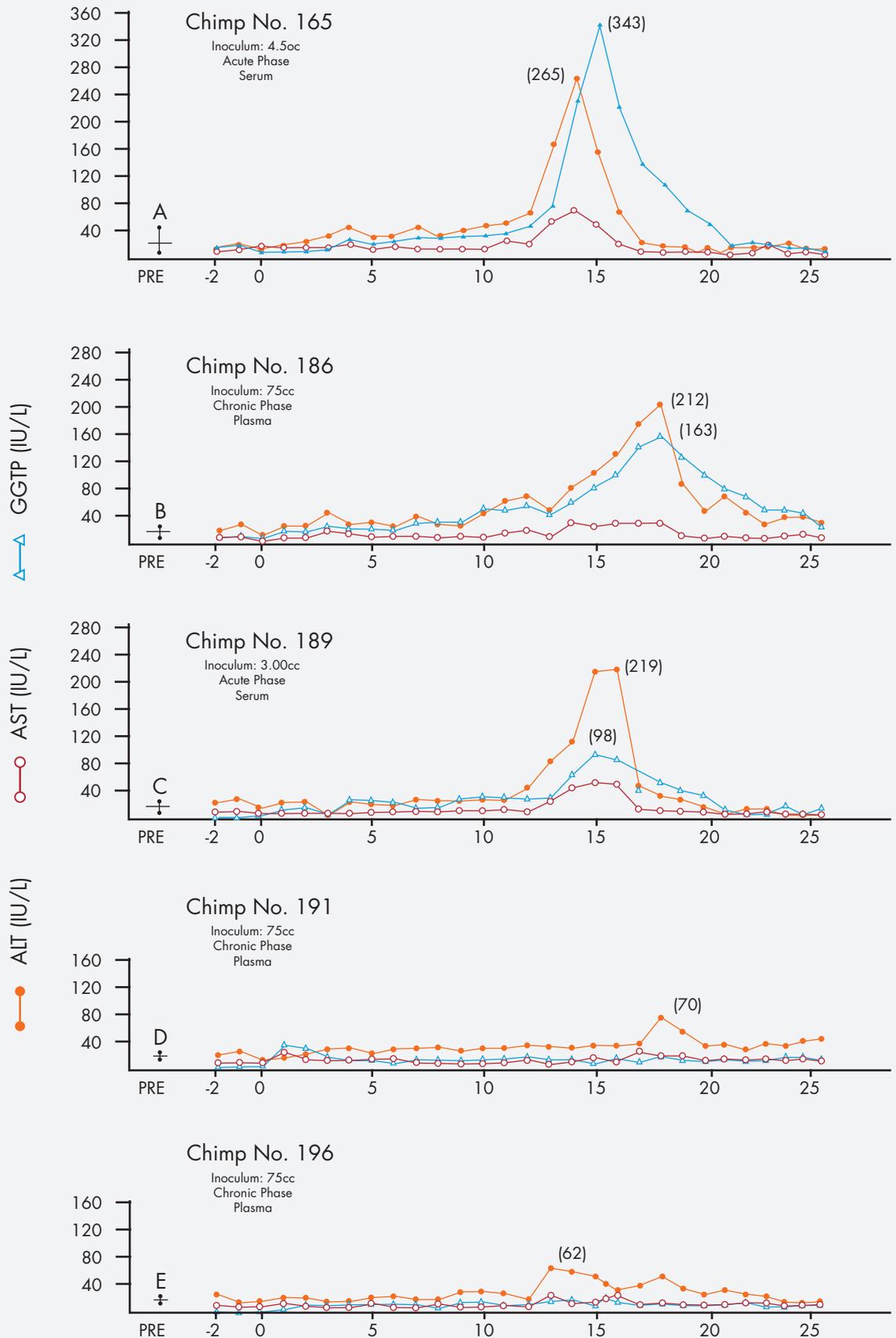


Abbildung 2: Serienmessungen von Leberenzymen, Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST) und Gamma-Glutamyl-Transpeptidase (GGTP) bei fünf Schimpansen, die mit Serum oder Plasma von Patienten mit akuter oder chronischer Non-A-/Non-B-Hepatitis infiziert wurden (modifiziert nach: Alter et al. Lancet 1978)

die als Fellow von der Universität Cagliari, Italien, in die Arbeitsgruppe von Bob Purcell wechselte, wurden im weiteren Verlauf wichtige Studien zu neutralisierenden Antikörpern gegen Hepatitis C mit dem Serum von Patient H durchgeführt.

Im Laufe der 1980er Jahre arbeitete Harvey Alter mit Jay Hoofnagle am NIH zusammen. Hier wurde unter anderem der Verlauf einer chronischen Non-A-/Non-B-Hepatitis genauer charakterisiert. Insbesondere wurde erstmals zwischen symptomatischen Trägern und Patienten mit progressiver Lebererkrankung unterschieden. An diesen Arbeiten war auch Leonard Seeff entscheidend beteiligt. Harvey Alter konnte weiterhin zeigen, dass Menschen mit Zustand nach Hepatitis B (anti-HBc-positiv) ein höheres Risiko hatten, eine Non-A-/Non-B-Hepatitis zu übertragen. Das führte dazu, dass in den USA 1987 eine Testung auf Antikörper gegen HBc sowie eine Testung auf erhöhte Leberwerte im Blutspender-Screening eingeführt wurde.

Trotz all dieser Arbeiten war bis 1988 aber weiterhin nicht das infektiöse Agens der Non-A-/Non-B-Hepatitis identifiziert. Eine entscheidende Leistung von Harvey Alter war, dass er eine Sammlung von Seren etabliert und kodiert hatte, die eine eindeutige Posttransfusions-Hepatitis aufwiesen und die auch bei Schimpansen infektiös waren. In dieses Panel von Seren inkludierte er auch solche, die potenziell negativ für das Hepatitis C-Virus waren. Bis 1988 hatten viele Labore den Anspruch erhoben, das Hepatitis C-Virus entdeckt zu haben. Jedoch war keine dieser Gruppen in der Lage gewesen, das „Alter-Panel“ aufzulösen. 20 Forschergruppen hatten die Seren bei Harvey Alter angefordert, keine einzige Gruppe war letztlich in der Lage, eine ausreichende Trefferquote zu erzielen. Erst im Jahre 1988 kam der Durchbruch, als das bis dahin unbekanntes Start-up-Unternehmen Chiron Corporation, das zum Zwecke der Entdeckung des Non A-/Non B-Hepatitis-Erregers gegründet worden war, auf einer Pressekonferenz in Los Angeles die Entdeckung des Erregers der Non A-/Non B-Hepatitis bekannt gab. Diese Mitteilung war zunächst von Skepsis begleitet, ihr folgte aber im Jahre 1989 eine überzeugende Publikation in *Science*. Es war der Gruppe von Forschern um Michael Houghton bei der Chiron Corporation tatsächlich eine direkte Zuordnung der „Alter-Proben“ gelungen. Interessanterweise waren die beiden Proben, die nicht eindeutig identifiziert wurden, Proben von Patienten mit akuter Hepatitis, die wahrscheinlich noch keine Antikörper gegen das Hepatitis C-Virus entwickelt hatten. Mit der Entwicklung eines Antikörper-Assays konnte Harvey Alter dann in den Posttransfusions-Kohorten am NIH die Häufigkeit von Hepatitis C bei Patienten mit Posttransfusions-Hepatitis genauer definieren und auch in weiteren Studien den natürlichen Verlauf klären. Die Einführung einer Testung auf anti-HCV Anfang der 1990er Jahre konnte schließlich das Risiko für Posttransfusions-Hepatitis weltweit dramatisch senken. Mit diesen Arbeiten hat Harvey Alter ganz entscheidend zur Sicherheit von Blut und Blutprodukten beigetragen. Mit einem

einfachen Antikörpertest (Anti-HCV), angewendet bei Blutspendern, konnten mit einem Schlag 40 Prozent der Neuinfektionen mit dem Hepatitis C-Virus verhindert werden.

In den weiteren Jahren war Harvey Alter an vielen Studien zum natürlichen Verlauf, aber auch zur Pathophysiologie der Hepatitis C involviert. Während seiner Zeit als *Postdoc* am NIH konnte Heiner Wedemeyer die Funktion von Hepatitis C-Virus-spezifischen T-Zellen in der Arbeitsgruppe von Barbara Rehermann genauer charakterisieren. Harvey Alter war für diese Studien ein entscheidender Partner, der ihn mit sehr gut charakterisierten Patientenproben versorgt hat. Darüber hinaus war er aber auch ein kritischer, stimulierender und amüsanter Diskussionspartner. Dass Harvey Alter in den Kreis der Nobelpreisträger für das Hepatitis C-Virus aufgenommen wurde, ist auch eine große Stimulation für klinische Forscher. Harvey Alter hat diesen Preis verdient, indem er sehr sorgfältig Proben zusammengestellt, Patienten charakterisiert und aus klinischen Beobachtungen Konsequenzen für Regularien und Abläufe in der medizinischen Praxis hergeleitet hat.

Michael Houghton wurde 1949 in England geboren und promovierte in Biochemie am *Kings College* in London. Nach einer kurzen Zwischenstation arbeitete er seit 1982 für die Chiron Corporation. Seine erste große Arbeit im Bereich der Virushepatitis betraf aber nicht die Hepatitis C. Er war 1986 Letztautor einer Studie, die in *Science* veröffentlicht wurde und erstmals die volle Sequenz des Hepatitis D-Virus beschrieb. Koautor dieser Arbeit war bereits Qui-Lim Choo, der gemeinsam mit George Kou und Daniel Bradley entscheidend an der Entdeckung des Hepatitis C-Virus beteiligt war. Die Methoden, die in den 1980er Jahren zur Verfügung standen, um ein neues Virus zu entdecken, waren selbsterklärend komplett andere als heutzutage. Ein blindes Immunoscreening wurde mit einer rekombinanten c-DNA-Library, die mit totaler RNA und DNA von einem potenziell mit HCV infizierten Schimpansen etabliert wurde, angewendet. Serum von einem Patienten mit einer Non-A-/Non-B-Hepatitis wurde benutzt als wahrscheinliche Quelle für Non-A-/Non-B-spezifische Antikörper. Ein Screening von mehr als 1 Million potenzieller c-DNAs identifizierte lediglich einen einzigen viralen c-DNA-Klon. Es wurde dann gezeigt, dass dieser Klon nicht aus dem Wirtsgenom stammte, sondern ein großes RNA-Molekül von etwa 10.000 Nucleotiden darstellte. Diese positiv-strängige RNA kodierte für Proteine, die nur von Non-A-/Non-B-Hepatitis-Patienten erkannt wurden. Es zeigte sich im Verlauf, dass das RNA-Genom für ein etwa 3.000 Aminosäuren großes Polyprotein kodierte. Das Virus selbst wurde in die Familie der Flaviviridae eingeordnet. Michael Houghton hat immer klargestellt, dass die molekulare Identifizierung des Hepatitis C-Virus eine Teamarbeit war, die sich über mehr als sieben Jahre hinzog und bei der letztlich hunderte von Millionen bakterieller c-DNA-Klone auf das mögliche Non-A-/Non-B-Hepatitis-Virus gescreent wurden. Im Jahre

2013 hat er den kanadischen Gairdner-Award abgelehnt, weil seine Mitarbeiter Qui-Lim Choo und George Kuo nicht ebenfalls ausgezeichnet wurden.

Michael Houghton war im Anschluss an die Entdeckung des Hepatitis C-Virus in sehr viele Studien involviert, die das Ziel hatten, einen Impfstoff gegen Hepatitis C zu entwickeln. Eine Impfung von Schimpansen mit rekombinanten HCV-Proteinen zeigte Einflüsse auf den Verlauf einer Hepatitis C in Schimpansen. Jedoch gelang es mit den klassischen Impfstoffansätzen nicht, einen wirklich effektiven und protektiven Impfstoff gegen Hepatitis C zu entwickeln.

In den letzten Jahren hat Michael Houghton an der Universität Edmonton in Kanada seine Arbeiten zu möglichen Impfstoffkandidaten fortgesetzt, zuletzt mit einem speziellen Fokus auf neutralisierende Antikörper. So war er im vergangenen Jahr entscheidend an einer Arbeit von Thomas Pietschmann vom Twincore-Institut in Hannover beteiligt, die im *Journal of Hepatology* publiziert wurde. In Kanada hat sich Michael Houghton auch anderen Themen gewidmet. So hat er zusammen mit Michael Manns und dessen Mitarbeitern in Hannover Cytokinmuster im Serum von Patienten mit autoimmunen Lebererkrankungen identifiziert, publiziert und patentiert. Michael Houghton

Die Leistungen von Volker Lohmann, Thomas Pietschmann und Ralf Bartenschlager

Die Arbeiten der drei Nobelpreisträger waren die Voraussetzung für bahnbrechende weitere Arbeiten zur HCV-Virologie. Hier spielten auch deutsche Wissenschaftler eine entscheidende Rolle. Sie bildeten mit ihren Leistungen die Grundlage für das Screening von sogenannten „kleinen Molekülen“ auf eine Wirksamkeit gegen die Hepatitis C-Virusvermehrung.

Nachdem das Hepatitis C-Virus (HCV) entdeckt war, zeigte sich, dass das Virus sich nicht einfach in Zellkultur vermehren ließ. Bei anderen Viren kann Patientenserum über bestimmte permissive Zellen gegeben werden, die dann eine Vermehrung der Viren in Zellkultur aufweisen. Dies funktioniert jedoch nicht so einfach beim HCV. Weder Lebertumorzellen noch primäre Hepatozyten ließen sich einfach mit HCV-positiven Seren infizieren. Daher war es nicht möglich, Substanzen auf ihre antivirale Effektivität in Zellkultur zu untersuchen. Ralf Bartenschlager hat sich mit seiner Arbeitsgruppe, die damals noch an der Universität in Mainz tätig war, dieser Frage angenommen. Volker Lohmann etablierte im Labor von Ralf Bartenschlager das HCV-Replicon-System. Hierbei wurde mittels eines eingefügten Resistenzgens ein sogenanntes subgenomisches Replicon-System etabliert, das die Nicht-Strukturproteine des HCV beinhaltete. Zellen konnten in Kultur in Anwesenheit eines toxischen Antibiotikums nur überleben, wenn das entsprechende Resistenzgen im Kontext der HCV-Vermehrung exprimiert wurde. HCV-tragende Zellen hatten damit einen Überlebensvorteil. Durch den Einbau spezifischer adaptiver Mutationen konnte die Replikation im Verlauf deutlich gesteigert werden. Dieses Zellkulturmodell produzierte keine infektiösen Viren, es konnte also auch in „einfachen Laboren“ ohne extrem hohe Sicherheitsstandards verwendet werden. Mit diesem System war es dann möglich, fundamentale Aspekte der Vermehrung des HCV zu untersuchen und auch gezielte antivirale Substanzen gegen das Hepatitis C-Virus zu testen. Initial war dieses System auf den HCV-Genotyp 2a

fokussiert. Im Laufe der Jahre gab es dann auch Replicon-Systeme, die andere Hepatitis C-Genotypen zur Grundlage hatten.

Das subgenomische Replicon-System ermöglichte es aber nicht, den kompletten Lebenszyklus des HCV in Zellkultur abzubilden. Wesentliche Fragen der HCV-Virologie wie Eintritt in die Zelle oder Verpackung von infektiösen Partikeln konnten nicht untersucht werden. Hier hat Thomas Pietschmann im Labor von Ralf Bartenschlager einen entscheidenden Beitrag geleistet. In Zusammenarbeit mit Takaji Wakita aus Japan konnte er ein komplettes HCV-Replikationssystem etablieren. Ein HCV-Genom, das auf JFH1 (Japanese Fulminant Hepatitis) basierte, replizierte in Huh7-Zellen. Die Größe der infektiösen Partikel konnte bestimmt werden, Neutralisierungen mit Antikörpern wurden nachgewiesen und eine Vermehrung in Schimpansen wurde auch gezeigt.

Literatur

Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line.

Lohmann V., Körner F., Koch J.O., Herian U., Theilmann L., and Bartenschlager R.

Science. 1999 285, 110-113.

Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutations.

Krieger N., Lohmann V., and Bartenschlager R.

J. Virol. 2001 75, 4614-4624.

Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome.

Wakita T., Pietschmann T., Kato T., Date T., Miyamoto M., Zhao Z., Murthy K., Habermann A., Krüsslich H.-G., Mizokami M., Bartenschlager R., and Liang T.J.

Nat. Med. 2005 11, 791-796.

Construction and characterization of infectious intragenotypic and intergenotypic hepatitis C virus chimeras.

Pietschmann T., Kaul A., Koutsoudakis G., Shavinskaya A., Kallis S., Steinmann E., Abid K., Negro F., Dreux M., Cosset F.L., and Bartenschlager R.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006 103, 7408-7413.

ist auch prominentes Mitglied der wissenschaftlichen Partnerschaft der Helmholtz-Gemeinschaft mit der Provinz Alberta, Kanada. Grundsätzlich sind Michael Houghtons Arbeiten der letzten Jahre von fundamentaler Bedeutung für die Entwicklung eines Impfstoffes gegen Hepatitis C.

Charles M. Rice ist Amerikaner und studierte an der University of California in Davis. Dort erhielt er 1981 auch seinen *PhD* in Biochemie. Bereits in seinen ersten Arbeiten beschäftigte er sich mit RNA-Viren im Labor von James Strauss. Charlie Rice wechselte dann 1986 an die *Washington University School of Medicine* in St. Louis. Im Jahre 2001 nahm er den Ruf auf eine Virologie-Professur an die Rockefeller-Universität in New York an, wo er bis heute tätig ist. Die Arbeiten, mit denen er für den Nobelpreis ausgezeichnet wurde, führte Charlie Rice in St. Louis durch. Hier ist insbesondere eine Publikation aus dem Jahre 1997 zu nennen, die in *Science* veröffentlicht wurde.

Nach der Entdeckung des Hepatitis C-Virus durch Michael Houghton und Mitarbeiter sowie den zahlreichen Assoziationsstudien in verschiedenen Patientenkohorten war letztlich der Beweis nicht erbracht, dass das HCV wirklich auch das kausale Agens für die Posttransfusions-Hepatitis war. Theoretisch hätte es möglich sein können, dass das HCV gemeinsam mit einem anderen ursächlichen Agens transfundiert

wurde, das bisher nicht entdeckt und charakterisiert war. In diesem Zusammenhang sind auch die Arbeiten zum Hepatitis G-Virus bzw. GBV-C-Virus zu nennen, das ebenfalls in Patienten mit Posttransfusions-Hepatitis identifiziert wurde. Im weiteren Verlauf stellte sich jedoch heraus, dass dieses Virus keine Hepatitis verursacht, sondern lediglich häufiger bei Patienten mit entsprechenden Risikofaktoren identifiziert wurde. Arbeiten unter anderem auch aus Hannover konnten sogar das Gegenteil zeigen: dass eine Infektion mit GBV-C, wenn überhaupt, einen positiven Einfluss auf den Verlauf von HIV-Infektionen hatte. Vor diesem Hintergrund war die Arbeit von Charlie Rice von entscheidender Bedeutung für die Hepatitis C-Forschung: Es gelang ihm, den ersten infektiösen RNA-Klon des Hepatitis C-Virus herzustellen. Dieser wurde letztlich in die Leber von Schimpansen injiziert, die dann im Verlauf eine persistierende Infektion und eine laborchemische Hepatitis entwickelten. Damit war der Beweis erbracht, dass HCV wirklich eine Hepatitis verursacht.

Charlie Rice hat im Anschluss virologische Forschung im Bereich der Hepatitis C auf höchstem Niveau und mit beeindruckendem Erfolg fortgesetzt. Nachdem es Ralf Bartenschlager gemeinsam mit Volker Lohmann gelang, ein Replicon-System zu etablieren, das das Screening auf antivirale Medikamente erst ermöglichte, hat Charlie Rice ein „Full-Length“-HCV-Infektionssystem entwickelt. Dieses gelang parallel

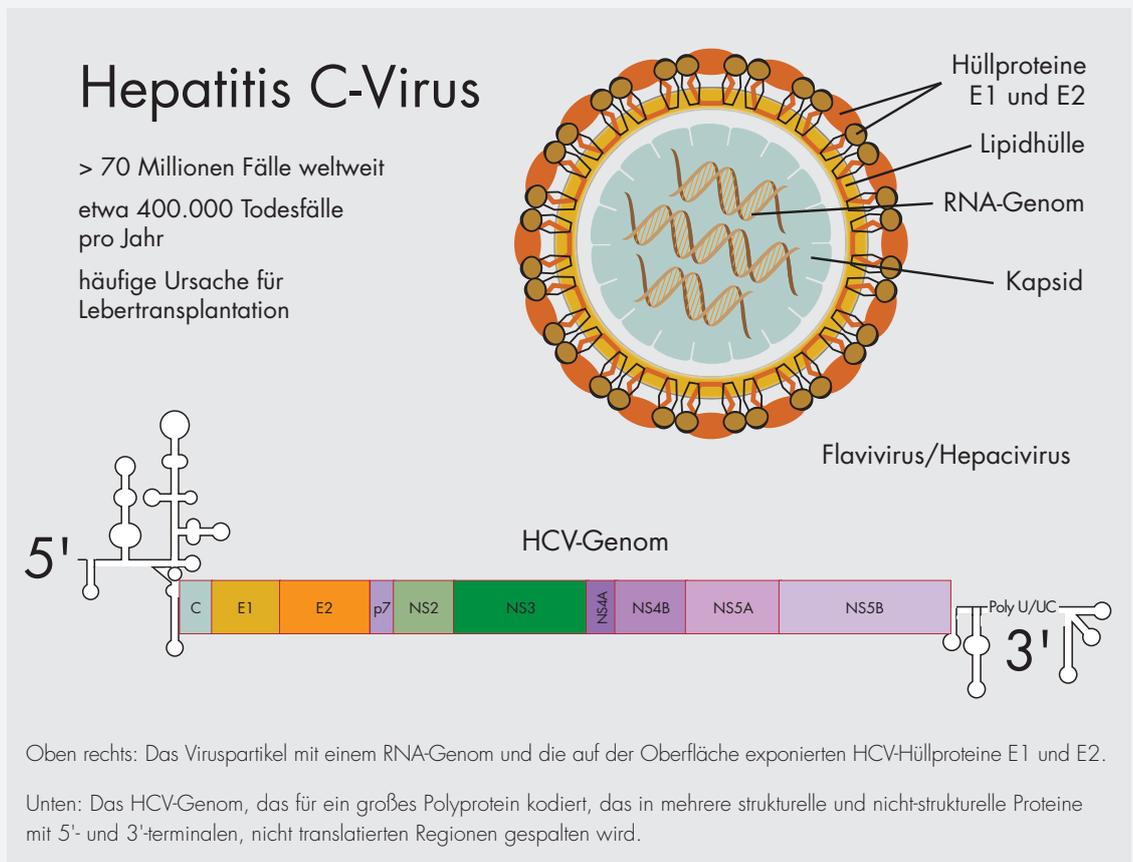


Abbildung 3: schematische Darstellung des Hepatitis C-Virus (modifiziert nach: MLA style: Advanced information. NobelPrize.org. Nobel Media AB 2020. Mon. 26 Oct 2020.)

Die klinische Entwicklung von neuen direkt antiviralen Therapien gegen Hepatitis C

Nachdem Ralf Bartenschlager mit seinen Mitarbeiter_innen das HCV-Replicon-System etabliert hatte, war es möglich, große Substanz-Libraries auf eine Aktivität gegen HCV zu testen. Viele Firmen haben HCV-spezifische Protease-Inhibitoren, aber auch nukleosidische und nicht-nukleosidische Polymerase-Inhibitoren, entwickelt. Weiterhin gelang es mit dem System, eine komplett neue Klasse von antiviralen Substanzen zu identifizieren, bei denen es sich letztlich herausstellte, dass die Zielstruktur das NS5A-Protein des Hepatitis C-Virus, ist. Es zeigte sich im weiteren Verlauf, dass dieses Protein sowohl für die Vermehrung als auch für die Verpackung des Hepatitis C-Virus eine ganz entscheidende Rolle spielt. Klinische Wissenschaftler aus Deutschland waren an vielen Therapiestudien beteiligt, die letztlich zur Zulassung erster Protease-Inhibitoren im Jahre 2011 führten. Stefan Zeuzem aus Frankfurt leitete zahlreiche Studien zu unterschiedlichen Substanzen. Christoph Sarrazin, früher Frankfurt, heute Wiesbaden, war entscheidend daran beteiligt, die Bedeutung von Resistenzmutationen genauer zu charakterisieren. Michael Manns aus Hannover war ebenfalls in mehreren Programmen als internationaler *Lead PI* beteiligt. Das Team in Hannover hat Investigator-initiierte Studien unter anderem zur akuten Hepatitis C durchgeführt.

Nachdem die ersten HCV-Protease-Inhibitoren im Jahre 2011 noch in Kombination mit PEG-Interferonen und Ribavirin zur Behandlung der Hepatitis C eingeführt wurden und diese Therapien im Alltag sehr kompliziert und nebenwirkungsreich waren, wurde ab Anfang 2014 eine sehr viel einfachere Interferon-freie Therapie der Hepatitis C möglich. In Deutschland haben wir daraufhin in Zusammenarbeit mit dem Berufsverband Niedergelassener Gastroenterologen (bng) das Deutsche Hepatitis C-Register aufgebaut, das von der Leberstiftungs-GmbH Deutschland geführt wird, in dem mittlerweile mehr als 17.500 Patienten mit Hepatitis C dokumentiert sind. Hier konnte die Effektivität, aber insbesondere auch die Sicherheit der neuen HCV-Therapien im klinischen Alltag eindrucksvoll dokumentiert werden. Wissenschaftlicher Leiter des Registers ist Dietrich Hüppe aus Herne.

Wichtige Publikationen mit deutscher Beteiligung

SCH 503034, a novel hepatitis C virus protease inhibitor, plus pegylated interferon alpha-2b for genotype 1 nonresponders. Sarrazin C, Rouzier R, Wagner F, Forestier N, Larrey D, Gupta SK, Hussain M, Shah A, Cutler D, Zhang J, Zeuzem S. *Gastroenterology*. 2007 Apr;132(4):1270-8.

Telaprevir for retreatment of HCV infection. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, Focaccia R, Younossi Z, Foster GR, Horban A, Ferenci P, Nevens F, Müllhaupt B, Pockros P, Terg R, Shouval D, van Hoek B, Weiland O, Van Heeswijk R, De Meyer S, Luo D, Boogaerts G, Polo R, Picchio G, Beumont M; REALIZE Study Team. *N Engl J Med*. 2011 Jun 23;364(25):2417-28.

Retreatment of HCV with ABT-450/rombidasvir and dasabuvir with ribavirin. Zeuzem S, Jacobson IM, Baykal T, Marinho RT, Poordad F, Bourlière M, Sulkowski MS, Wedemeyer H, Tam E, Desmond P, Jensen DM, Di Bisceglie AM, Varunok P, Hassanein T, Xiong J, Pilot-Matias T, DaSilva-Tillmann B, Larsen L, Podsadecki T, Bernstein B. *N Engl J Med*. 2014 Apr 24;370(17):1604-14.

Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. Zeuzem S, Dusheiko GM, Salupere R, Mangia A, Flisiak R, Hyland RH, Illeperuma A, Svarovskaia E, Brainard DM, Symonds WT, Subramanian GM, McHutchison JG, Weiland O, Reesink HW, Ferenci P, Hézode C, Esteban R; VALENCE Investigators. *N Engl J Med*. 2014 May 22;370(21):1993-2001.

All-oral daclatasvir plus asunaprevir for hepatitis C virus genotype 1b: a multinational, phase 3, multicohort study. Manns M, Pol S, Jacobson IM, Marcellin P, Gordon SC, Peng CY, Chang TT, Everson GT, Heo J, Gerken G, Yoffe B, Towner WJ, Bourlière M, Metivier S, Chu CJ, Sievert W, Bronowicki JP, Thabut D, Lee YJ, Kao JH, McPhee F, Kopit J, Mendez P, Linaberry M, Hughes E, Noviello S; HALLMARK-DUAL Study Team. *Lancet*. 2014 Nov 1;384(9954):1597-605.

Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection. Feld JJ, Jacobson IM, Hézode C, Asselah T, Ruane PJ, Gruener N, Abergel A, Mangia A, Lai CL, Chan HL, Mazzotta F, Moreno C, Yoshida EM, Shafran SD, Towner WJ, Tran TT, McNally J, Osinusi A, Svarovskaia E, Zhu Y, Brainard DM, McHutchison JG, Agarwal K, Zeuzem S; ASTRAL-1 Investigators. *N Engl J Med*. 2015 Dec 31;373(27):2599-607.

Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin in patients with genotype 1 or 4 hepatitis C virus infection and advanced liver disease: a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. Manns M, Samuel D, Gane EJ, Mutimer D, McCaughan G, Buti M, Prieto M, Calleja JL, Peck-Radosavljevic M, Müllhaupt B, Agarwal K, Angus P, Yoshida EM, Colombo M, Rizzetto M, Dvory-Sobol H, Denning J, Arterburn S, Pang PS, Brainard D, McHutchison JG, Dufour JF, Van Vlierberghe H, van Hoek B, Forns X; SOLAR-2 investigators. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jun;16(6):685-697.

Ledipasvir plus sofosbuvir fixed-dose combination for 6 weeks in patients with acute hepatitis C virus genotype 1 mono-infection (HepNet Acute HCV IV): an open-label, single-arm, phase 2 study. Deterding K, Spinner CD, Schott E, Welzel TM, Gerken G, Klinker H, Spengler U, Wiegand J, Schulze Zur Wiesch J, Pathil A, Cornberg M, Umgelter A, Zöllner C, Zeuzem S, Papkalla A, Weber K, Hardtke S, von der Leyen H, Koch A, von Witzendorf D, Manns MP, Wedemeyer H; HepNet Acute HCV IV Study Group. *Lancet Infect Dis*. 2017 Feb;17(2):215-222.

Glecaprevir-Pibrentasvir for 8 or 12 Weeks in HCV Genotype 1 or 3 Infection. Zeuzem S, Foster GR, Wang S, Asatryan A, Gane E, Feld JJ, Asselah T, Bourlière M, Ruane PJ, Wedemeyer H, Pol S, Flisiak R, Poordad F, Chuang VWL, Stedman CA, Flamm S, Kwo P, Dore GJ, Sepulveda-Arzola G, Roberts SK, Soto-Malave R, Kaita K, Puoti M, Vierling J, Tam E, Vargas HE, Bruck R, Fuster F, Paik SW, Felizarta F, Kort J, Fu B, Liu R, Ng TI, Pilot-Matias T, Lin CW, Trinh R, Mensa FJ. *N Engl J Med*. 2018 Jan 25;378(4):354-369.

Patterns of Resistance-Associated Substitutions in Patients With Chronic HCV Infection Following Treatment With Direct-Acting Antivirals. Dietz J, Susser S, Vermehren J, Peiffer KH, Grammatikos G, Berger A, Ferenci P, Buti M, Müllhaupt B, Hunyady B, Hinrichsen H, Mauss S, Petersen J, Buggisch P, Felten G, Hüppe D, Knecht G, Lutz T, Schott E, Berg C, Spengler U, von Hahn T, Berg T, Zeuzem S, Sarrazin C; European HCV Resistance Study Group. *Gastroenterology*. 2018 Mar;154(4):976-988.e4.

4 years of direct-acting antivirals (DAAs) in the German Hepatitis C-Registry (DHC-R). Hüppe D, Serfert Y, Buggisch P, Mauss S, Böker KHW, Müller T, Klinker H, Günther R, Berg T, Cornberg M, Niederau C, Sarrazin C, Simon KG, Zeuzem S, Manns MP, Wedemeyer H. *Z Gastroenterol*. 2019 Jan;57(1):27-36. doi: 10.1055/a-0821-7188

drei Arbeitsgruppen, neben der von Charlie Rice auch Thomas Pietschmann und Ralf Bartenschlager sowie Jake Liang am NIH, jeweils in Zusammenarbeit mit Takaji Wakita aus Japan. Dieses System ermöglichte dann die Identifizierung von essentiellen HCV-Eintrittsfaktoren in Hepatozyten, an der Charlie Rice ebenfalls entscheidend beteiligt war. In diese Arbeiten waren auch *Postdocs* aus Deutschland involviert. Thomas von Hahn publizierte 2007 mit Charlie Rice in der Zeitschrift *Nature*, dass Claudin-1 ein entscheidender viraler Korezeptor ist. Alexander Ploss beschrieb zwei Jahre später, ebenfalls in *Nature*, eine ähnliche Rolle für Occludin. Zahlreiche weitere *Postdocs* aus Deutschland konnten im Labor von Charlie Rice arbeiten. Zu erwähnen sind hier unter anderen Darius Moradpour, Benno Wölk, Gisa Gerold, Eva Billerbeck und aktuell Mohammed Kabani.

Über mehr als zwei Jahrzehnte hat Charlie Rice zahlreiche Kollaborationen mit Wissenschaftlern in Europa und insbesondere Deutschland aufgebaut. Hier sind vor allem Darius Moradpour und Ralf Bartenschlager zu nennen. Seit Gründung ist Charlie Rice im Wissenschaftlichen Beirat des Twincore-Instituts in Hannover tätig. Wissenschaftler des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig und der Medizinischen Hochschule in Hannover (MHH) hatten mit Charlie Rice über viele Jahre ein gemeinsames Projekt, das von der *Bill & Melinda Gates Foundation* gefördert wurde.

Die Hepatitis C-Virusinfektion ist mittlerweile eine gut heilbare Erkrankung. Es ist die erste chronische Virusinfektion des Menschen, die heilbar geworden ist. Somit kann die Ursache einer der bedeutendsten Tumorerkrankungen weltweit, die des HCV-bedingten Leberzellkarzinoms, besiegt werden. Dieser Erfolg ist in der modernen Medizin in dieser Form sicherlich einmalig. Es konnten viele Menschenleben aufgrund der Forschung der letzten 30 Jahre gerettet werden. Blutprodukte sind sicher, Übertragungen des Virus sind praktisch ausgeschlossen. Erfreulicherweise müssen in Deutschland nur noch sehr wenige Patienten aufgrund einer Hepatitis C-Virusinfektion lebertransplantiert werden. Diese Organe stehen somit jetzt Patienten mit anderen Lebererkrankungen zur Verfügung. Auch die Sterblichkeit von Patienten mit

dekompensierten Zirrhosen oder hepatozellulären Karzinomen ist in den letzten Jahren bereits deutlich zurückgegangen. Dieser außerordentliche Erfolg von Grundlagenforschung, klinischer Forschung und industrieller Entwicklung von Medikamenten basiert letztlich auf den Arbeiten von Harvey Alter, Michael Houghton und Charlie Rice. Was jetzt noch fehlt, ist eine Impfung gegen Hepatitis C. Patente im Zusammenhang mit der Entdeckung des Hepatitis C-Virus wurden nicht zuletzt mit dem Ziel der Entwicklung eines Impfstoffes gegen das Hepatitis C-Virus eingereicht. 30 Jahre nach Entdeckung des Virus haben wir zwar eine nahezu in 100 Prozent der Fälle effektiv heilende Hepatitis C-Therapie, aber noch keinen Impfstoff. Was die SARS-CoV-2-Forschung uns lehren wird? Zuerst Impfstoff oder doch zuerst wirksame Medikamente und dann wann?

Publikationen, die dem Nobelpreis für Medizin 2020 zugrunde liegen

Alter HJ, Holland PV, Purcell RH, Lander JJ, Feinstone SM, Morrow AG, Schmidt PJ. Posttransfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis-B antigen-positive donors. *Ann Intern Med.* 1972; 77:691-699.

Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med.* 1975; 292:767-770.

Alter HJ, Holland PV, Morrow AG, Purcell RH, Feinstone SM, Moritsugu Y. Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. *Lancet.* 1975; 2:838-841.

Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, Popper H. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet.* 1978; 1:459-463.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science.* 1989; 244:359-362.

Kuo G., Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter CE, Stevens CE, Tegtmeier GE, Bonino F, Colombo M, Lee WS, Kuo C., Berger K, Shuster JR, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science.* 1989; 244:362-364.

Kolykhalov AA, Agapov EV, Blight KJ, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM. Transmission of hepatitis C by intrahepatic inoculation with transcribed RNA. *Science.* 1997; 277:570-574.



Prof. Dr. Heiner Wedemeyer

Wedemeyer.Heiner@mh-hannover.de
Medizinische Hochschule Hannover

Prof. Dr. Michael P. Manns

Manns.Michael@mh-hannover.de
Medizinische Hochschule Hannover

