

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Die Xenotransplantation

Der erhebliche Mangel an zur Verfügung stehenden Spenderorganen [s. Tab. 1] lässt die biomedizinische Forschung seit langem nach Alternativen zu den herkömmlichen Transplantationsmethoden suchen [1]. Neben dem Tissue Engineering wird vor allem die Xenotransplantation, also die Transplantation von Zellen, Geweben oder Organen einer anderen Spezies, als hoffnungsvolle Alternative betrachtet [1-4]. Da diese Transplantate durch eine gezielte Steuerung der Zucht in ausreichenden Mengen zur Verfügung stehen könnten, wäre es nicht nur möglich, alle Patienten zu behandeln, sondern auch die Wartezeiten zu verkürzen sowie aufgrund der Möglichkeit der Planung der Operation die Vorbereitungen zu optimieren [1]. Eine Vielzahl von Krankheiten könnte auf diese Weise behandelt werden: Neben schweren Erkrankungen, bei denen ein Organersatz unbedingt erforderlich ist, wie z.B. chronischen Herzerkrankungen, Nieren- oder Leberversagen, könnten weit verbreitete Volkskrankheiten wie Diabetes und Parkinson, aber auch seltenere Erkrankungen wie Morbus Huntington oder Hämophilie, durch eine Transplantation der entsprechenden Zelltypen behandelt und dadurch die Lebensqualität der Patienten erheblich verbessert oder das Fortschreiten der Krankheit zumindest aufgehalten werden. Sogar in der Schmerztherapie könnte eine Xenotransplantation einen wertvollen Beitrag leisten: Die Transplantation chromaffiner Zellen, die analgetisch wirkende Substanzen produzieren (opioide Peptide, Katecholamine), könnte Schmerzpatienten eine erhebliche Erleichterung verschaffen [1, 5, 6].

**Tabelle 1 Organbedarf und durchgeführte Transplantationen in den Jahren 1998-2001 (nur Deutschland)**

	<u>Niere</u>		<u>Leber</u>		<u>Niere + Pancreas</u>		<u>Herz</u>		<u>Lunge</u>		<u>Herz + Lunge</u>	
	T	W	T	W	T	W	T	W	T	W	T	W
<b>1998</b>	1.997	9.067	699	354	175	109	528	581	117	136	14	47
<b>1999</b>	1.905	9.513	719	425	209	147	480	495	125	242	20	38
<b>2000</b>	1.641	9.510	692	600	232	153	407	381	147	270	11	31
<b>2001</b>	1.963	9.547	660	800	202	101	394	347	125	353	13	36

T = Zahl der durchgeführten Transplantationen (nur Totspende)

W = Zahl der Patienten auf der Warteliste (Stichtag: 31.12.)

(Quelle: Eurotransplant)

## 2.2 Auswahl der Donorspezies

Zur Zeit ist die als Donor favorisierte Spezies das Miniaturschwein [3, 6-8]. Lange Zeit wurden verschiedene Affenarten in Betracht gezogen, da sie dem Menschen am nächsten verwandt und somit ihre Organe denjenigen des Menschen mutmaßlich am ähnlichsten sind. Doch gerade dieses enge verwandtschaftliche Verhältnis, gepaart mit den kognitiven Fähigkeiten dieser Tiere, führte zu ernststen ethischen Bedenken [6, 7]. Auch lassen sich Affen nur unter hohem Aufwand züchten; sie brauchen lange bis zur Geschlechtsreife, haben in der Regel nur wenige Nachkommen und sind anspruchsvoll und kostenintensiv in der Haltung [7, 9]. Miniaturschweine dagegen sind relativ einfach zu halten, sie sind in frühem Alter geschlechtsreif (mit etwa 4-5 Monaten), ihr Zyklus dauert nur drei Wochen, die Trächtigkeit etwa 115 Tage, und die Zahl der geborenen Ferkel liegt in der Regel zwischen drei und zehn [7, 8]. Auch die Größenverhältnisse der Organe sind mit denen der Menschen vergleichbar, und sowohl die anatomische als auch physiologische Ähnlichkeit (Nierenfunktion, Blutdruck, Atmungs- und Verdauungsphysiologie, Ernährungsverhalten) zum Menschen scheint akzeptabel zu sein [8]. Trotz des seit Jahrhunderten andauernden engen Kontaktes zwischen Mensch und Schwein gibt es nur verhältnismäßig wenige Berichte über Erkrankungen der Menschen mit schweinespezifischen Pathogenen (Influenza A Virus [10, 11], Nipah Virus [12-14], Hepatitis E Virus [6]) [2]. Beim Affen dagegen bringt die evolutionäre Nähe zum Menschen eine größere Gefahr der Infektion des Patienten mit sich; zudem wird auch die Entstehung neuer Seuchen durch Adaptation der Krankheitserreger an den menschlichen Organismus als wesentlich wahrscheinlicher erachtet [3, 6, 8]. Darüber hinaus macht sich der Mensch die Schweine seit Jahrhunderten zur Fleischgewinnung zunutze, was bei der ethischen Beurteilung der Xenotransplantation eine Rolle spielt [2]. All diese Punkte machen das Schwein dem Affen als Organdonor überlegen.

## 2.3 Infektionsrisiken in der Xenotransplantation

Trotz der großen Hoffnungen, die in die Xenotransplantation gesetzt werden, darf nicht vergessen werden, dass mit einer solchen Transplantation auch erhebliche Risiken verbunden sind. Es besteht die Möglichkeit, dass mit dem transplantierten Organ Infektionserreger übertragen werden, die nicht nur den Patienten selbst, sondern auch seine Kontaktpersonen oder im schlimmsten Fall sogar die gesamte

Bevölkerung gefährden könnten [15]. Diese Erreger würden unter Umgehung aller natürlichen Barrieren wie Haut und Schleimhaut direkt ‚implantiert‘, und könnten sich in dem für die Transplantation massiv immunsupprimierten Patienten vermehren [16]. Schon in der Allotransplantation kann dies zu ernsthaften Komplikationen bis hin zum Tode des Patienten führen [15]. Neben bakteriellen (Staphylokokken, Streptokokken, E.coli, Klebsiella u.a.), fungalen (Aspergillus, Candida u.a.) und parasitären Infektionen (z.B. Toxoplasmen) ist insbesondere die Infektion des Organempfängers mit Viren (Humanes Cytomegalievirus [HCMV], Epstein-Barr-Virus [EBV], Herpes Simplex Virus [HSV], Hepatitis B und C Virus [HBV, HCV], Humanes Immundefizienz Virus [HIV]) für den Patienten mit Gefahren verbunden, da es zu fulminant verlaufenden systemischen Erkrankungen, opportunistischen Infektionen, einer Neoplasieentstehung oder auch zur Abstoßung des Organes kommen kann [1, 9].

Auch im Zusammenhang ‚Xenotransplantation‘ richtet sich die Aufmerksamkeit in erster Linie auf die Viren, und zwar vor allem auf jene, die nicht oder nur sehr schwer durch die zur Verfügung stehenden Maßnahmen (SPF-Bedingungen, Medikation, Impfungen) aus einer Herde eliminiert werden können. Dazu zählen zwei große Gruppen von Viren: Die ‚Porcinen Endogenen Retroviren‘ (PERV) aus der Familie der *Retroviridae* sind in zahlreichen Kopien in das Genom der Schweine integriert und werden über die Keimbahn an die Nachkommen weitergegeben [7]. Diese Viren sind nur durch aufwändige Knock-out-Verfahren aus dem Genom zu entfernen. Nicht alle Viruskopien liegen als potenziell infektiöses Provirus vor; häufig liegen in den Genomen Deletionen vor und die Viren sind dadurch nur eingeschränkt oder überhaupt nicht replikationsfähig [7, 17]. Allerdings konnte bereits gezeigt werden, dass einige Vertreter in der Lage sind, humane Zellen *in vitro* zu infizieren und in ihnen zu replizieren [17, 18]. Bei der Untersuchung von Probenmaterial, das von Patienten gewonnen wurde, die Kontakt zu porcinem Gewebe hatten oder haben (Xenotransplantierte), konnte allerdings bislang keine produktive Infektion mit PERV eindeutig nachgewiesen werden [19-21].

Die zweite große Virusgruppe, die im Rahmen der Xenotransplantation als potenzielles Problem betrachtet wird, umfasst all jene Vertreter, die die Fähigkeit besitzen, nach der Infektion im Wirt zu persistieren, die also vom Immunsystem des Wirtes nicht vollständig eliminiert werden. Zu dieser Gruppe zählen neben anderen Retroviren, den Adeno-, Papova- und Reoviren vor allem die Herpesviren [7, 9].

## 2.4 Die Familie der *Herpesviridae*

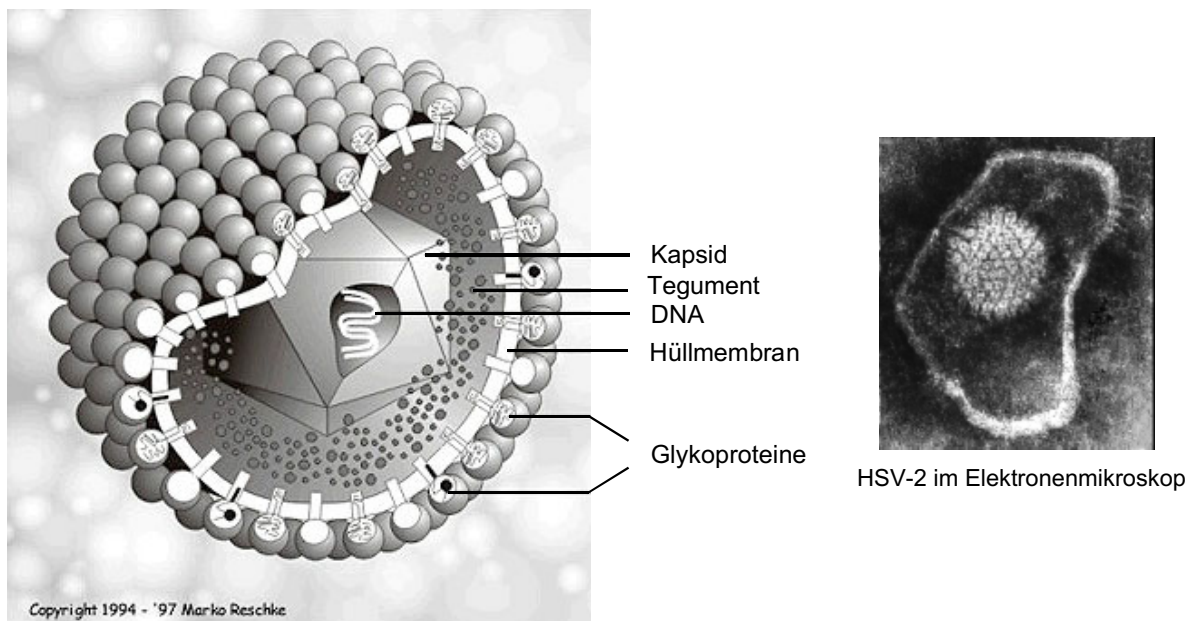
Die Familie der *Herpesviridae* gehört mit mehr als einhundert Spezies zu den größten im Reich der Viren [22]. Wichtige humanpathogene Vertreter sind die Herpes Simplex Viren Typ 1 und 2 (HSV-1 und -2), das Varizella-Zoster-Virus (VZV), das Epstein-Barr-Virus (EBV), das Humane Cytomegalievirus (HCMV) und das Kaposi Sarkom-assoziierte Herpesvirus (KSHV oder HHV-8). Auch im Tierreich gibt es zahlreiche Vertreter, die z.T. durch die schwerwiegenden Erkrankungen und damit auch wirtschaftlichen Schäden, die sie verursachen, von großer Bedeutung sind. Dazu zählen das Bovine Herpesvirus Typ 1 (BoHV-1, Verursacher der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis / Infektiösen Pustulösen Vulvovaginitis / Infektiösen Balanoposthitis), das Pseudorabies-Virus (PRV oder SuHV-1) als Erreger der Aujeszky'schen Krankheit, das Marek Disease Virus (GaHV-2) oder auch die Equinen Herpesviren Typ 1 und 4 (EHV-1 und -4) [22, 23].

### 2.4.1 Morphologie und Genomstruktur

Herpesviren sind behüllte Viren, deren 120-240 kbp umfassende, lineare und doppelsträngige DNA in einem ikosadeltahedralen Kapsid verpackt ist und im Elektronenmikroskop häufig torusartig erscheint. Das Kapsid besteht aus 162 Kapsomeren (150 Hexamere und 12 Pentamere) und hat einen Durchmesser von etwa 100-110nm. Es ist von einem amorphen Material umgeben, dem so genannten Tegument, welches wiederum von einer lipidhaltigen Doppelmembran, der Virushülle oder auch Envelope, begrenzt ist. Diese Virushülle trägt Glykoproteine, die im Elektronenmikroskop als ‚spikes‘ zu erkennen sind. Die äußere Kontur der Herpesviren erscheint durch die ungleichmäßige Verteilung und Ausbildung des Teguments häufig unregelmäßig. Dadurch schwankt auch die Gesamtgröße der Partikel zwischen 120 und 300nm [s. Abb. 1] [22, 23].

Anhand biologischer Kriterien wurde die Familie der *Herpesviridae* in drei Unterfamilien eingeteilt, die *Alpha-*, *Beta-* und *Gammaherpesvirinae*, die wiederum in jeweils mehrere Genera unterteilt sind. Die *Alphaherpesvirinae* zeichnen sich durch ein breites Wirtsspektrum, einen kurzen Reproduktionszyklus, ein schnelles Wachstum in der Zellkultur, eine effiziente Zerstörung der infizierten Zellen sowie das Ausbilden der Latenz vor allem in sensorischen Ganglien aus. Die *Betaherpesvirinae* dagegen haben ein enges Wirtsspektrum, einen langsamen Reproduktionszyklus und

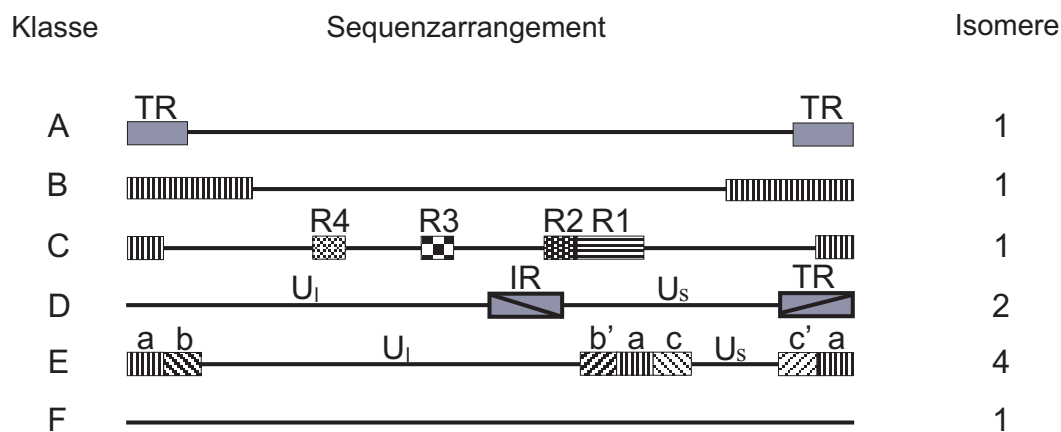
Abbildung 1 Aufbau eines Herpesvirus



(Quelle: The Big Picture Book of Viruses, <http://www.virology.net>)

ein langsames Wachstum in der Zellkultur. Infizierte Zellen sind häufig vergrößert. Die Latenz wird vor allem in sekretorischem Drüsengewebe, in Nieren und in lymphoretikulären Zellen ausgebildet. Die *Gammaherpesvirinae* haben meist ein enges Wirtsspektrum. Sie replizieren *in vitro* in lymphoblastoiden Zellen, einige auch in epitheloiden oder fibroblastischen Zellen, und in der Regel infizieren sie entweder B- oder T-Zellen [22, 23].

Anhand ihrer Genomstruktur können die Herpesviren in sechs Gruppen (A–F) eingeteilt werden, basierend auf der Anwesenheit und Verteilung von repetitiven Sequenzelementen [s. Abb. 2]. Viren der Gruppe A tragen am Ende ihres Genoms einen langen Sequenzabschnitt, der am anderen Ende exakt wiederholt wird, während bei Viren der Gruppe B die terminalen Bereiche aus vielen kürzeren, sich mehrfach wiederholenden Abschnitten bestehen. Das von den terminalen Repeats flankierte Genom der Viren der Gruppe C ist zusätzlich durch interne Repeats in mehrere Abschnitte unterteilt. Ist der terminale Repeat noch einmal in umgekehrter Orientierung innerhalb des Genoms vorhanden, so gehören diese Herpesviren der Gruppe D an. Dabei können die beiden durch den internen Repeat entstandenen Abschnitte des Genoms in verschiedenen Orientierungen zueinander vorliegen. Sind beide terminale Repeats intern wiederholt und liegen direkt neben- und in gegensätzlicher Orientierung zueinander vor, so zählen sie zur Gruppe E. Dabei können auch hier die beiden entstandenen Genomabschnitte in verschiedener Orientierung

**Abbildung 2** Genomorganisation der Herpesviren

R = Repeat, TR = Terminal Repeat, IR = Internal Repeat, U<sub>l</sub> = Unique long,

U<sub>s</sub> = Unique short, b+b' bzw. c+c' = gleiche Sequenzen mit unterschiedlicher Orientierung

(Quelle: [23])

zueinander liegen. In der Gruppe F finden sich keine terminalen oder internen Sequenzwiederholungen [23].

Die Einteilung der *Herpesviridae* in die drei Subfamilien anhand der biologischen Eigenschaften konnte durch eine Analyse der Verwandtschaftsverhältnisse auf DNA-Ebene (Gengehalte und Homologie) untermauert werden. Nur einzelne Viren, z.B. das Marek's disease virus (GaHV-2), mussten aufgrund der Ergebnisse der Sequenzanalysen umgruppiert werden.

## 2.4.2 Replikation

Die Replikation erfolgt bei allen Herpesviren nach dem gleichen Grundmuster. Nach dem Anheften des Viruspartikels an Rezeptoren auf der Zelloberfläche (Attachment), an dem mehrere virale Glykoproteine beteiligt sind, fusioniert die Virushülle mit der Zellmembran (Penetration). Das dadurch ins Cytoplasma entlassene Kapsid wird zu den Kernporen transportiert und die DNA ins Nukleoplasma entlassen. Dort zirkularisiert die DNA, und Replikation und Transkription beginnen.

Für die Transkription der viralen Gene werden die zelleigenen Enzyme verwendet. Die Synthese der Proteine erfolgt im Cytoplasma; sie werden in den Kern zurücktransportiert und erfüllen dort ihre spezifischen Funktionen. Die Transkription wird kaskadenartig in drei Schritten vorgenommen. Die  $\alpha$ -Gene oder ‚immediate early‘-Gene werden zuerst abgelesen. Sind die Proteine synthetisiert, so vermitteln sie die Transkription der  $\beta$ - oder ‚early‘-Gene, welche im Anschluss wiederum die  $\gamma$ - oder ‚late‘-Gene anschalten. Die in der ‚immediate early‘-Phase produzierten Proteine

stellen in erster Linie Regulatorproteine dar, die die lytische Replikation einleiten. Die Proteine der ‚early‘-Phase sind häufig Enzyme, die an der viralen DNA-Replikation beteiligt sind (z.B. DNA-Polymerase, Thymidinkinase), während die Gene, die in der ‚late‘-Phase abgelesen werden, in erster Linie Strukturproteine kodieren. Beispiele hierfür sind das Hauptkapsidprotein oder das im Envelope befindliche Glykoprotein gB. In die letztendlich entstandenen Prokapside kann die ebenfalls neu synthetisierte virale DNA verpackt werden. Die DNA liegt zunächst in Konkatameren vor, die durch die Replikation in Form eines ‚rolling circle‘-Mechanismus‘ entstehen. Diese Konkatamere werden im Bereich der Terminal Repeats in lineare Monomere zerschnitten und in die Kapside verpackt. Der Zusammenbau der Viruspartikel im Kern wird als ‚Assembly‘ bezeichnet. Nach dem ‚Budding‘ an der inneren Kernmembran und der Reifung der Partikel sind die Viren infektiös und werden aus der Zelle ausgeschleust [23].

Wie schon erwähnt, besitzen Herpesviren die Fähigkeit, im Wirtsorganismus eine Latenz auszubilden. Das Genom der Viren liegt dabei in zirkulärer Form im Kern vor (Episom) [24], und nur wenige Gene werden exprimiert und damit die Latenz aufrechterhalten [25, 26]. Es entstehen keine neuen Viruspartikel. Erst ein auf die Zelle wirkender Stimulus (z.B. zur Einleitung der Apoptose der Zelle) bewirkt die Reaktivierung der Viren, und ein erneuter lytischer Zyklus beginnt; es entstehen neue Viruspartikel [22].

## **2.5 Gefährdung durch Herpesviren in der Transplantationsmedizin**

Durch ihre Fähigkeit zur Ausbildung einer Latenz können die Herpesviren im Rahmen einer Transplantation zur Gefahr werden. Ohne Anzeichen einer Erkrankung des Organdonors werden die Viren übertragen, die dann - bevorteilt durch die starke Immunsuppression - im Organempfänger erneut replizieren und zu schweren Komplikationen führen können [27-29]. In der Allotransplantation sind in diesem Zusammenhang HCMV, HHV-6 und EBV besonders gefürchtet. Eine akute HCMV-Infektion kann beim Organrezipienten interstitielle Pneumonien, Hepatitis, Gastritis, Ösophagitis oder Leukopenie auslösen, was nicht selten zum Tode des Patienten führt [30]. Eine HHV-6-Reaktivierung kann ebenfalls Pneumonien sowie Encephalitiden zur Folge haben [31, 32]. EBV ist eng an eine lymphoproliferative Erkrankung assoziiert, die ‚Posttransplant Lymphoproliferative Disorder‘ (PTLD).

Dieses Syndrom ist bei bis zu 9% der Transplantationspatienten zu beobachten und führt bei bis zu 50% der Erkrankten zum Tode [33]. Es kommt zu einer Expansion der Lymphozyten, die von einer polymorphen Proliferation bis hin zu einem monoklonalen Lymphom reichen kann, und deren Verlauf in manchen Fällen durch die Stärke der Immunsuppression zu beeinflussen ist; bei nachlassender Immunsuppression mildert sich der Krankheitsverlauf ab. In der ganz überwiegenden Zahl der Fälle (90%) sind die proliferierenden Zellen der B-Zell-Linie zuzuordnen, und in 90-95% dieser Fälle ist EBV in den proliferierenden B-Zellen nachweisbar [33, 34]. Die Pathogenese ist zur Zeit noch nicht detailliert geklärt, nicht zuletzt deshalb, weil ein entsprechendes Großtiermodell nicht existiert [33]. Vermutet wird, dass durch die Suppression der cytotoxischen T-Zellen die Proliferation der durch die EBV-Infektion immortalisierten B-Zellen außer Kontrolle gerät [35]. Erst vor kurzem wurde von dem Auftreten eines PTLD-ähnlichen Syndroms bei allo- und xenotransplantierten Affen berichtet, das im Hinblick auf seine Tauglichkeit als Modellsystem geprüft werden könnte [34].

Auch bei einer Xenotransplantation ist grundsätzlich mit einer Übertragung von latent in dem Organ oder den Zellen vorliegenden Herpesviren zu rechnen. Fraglich ist bislang, wie diese aus dem Tier stammenden Viren sich im menschlichen Gewebe verhalten, d.h. ob nach einer Reaktivierung eine Replikation auch in den humanen Zellen möglich ist. Auch muss geklärt werden, ob eine Transaktivierung von ebenfalls vorhandenen humanen Herpes- oder anderen Viren durch porcine Herpesviren möglich ist, und ob humane Herpesviren in dem vom Tier stammenden Transplantat replizieren und es schädigen oder womöglich zerstören könnten. Darüber hinaus ist es vorstellbar, dass eine Rekombination der porcinen Viren mit den im Organrezipienten bereits vorhandenen Viren stattfinden und dadurch eine neue Viruspezies entstehen könnte. Diese Fragen sind bislang nicht beantwortet. Da im Moment als Spendertier das Schwein favorisiert wird, müssen zur Klärung der Risiken einer Xenotransplantation die porcinen Herpesviren auf ihr Gefährdungspotenzial hin untersucht werden.

## 2.6 Porcine Herpesviren

Lange Zeit waren beim Schwein lediglich zwei Herpesviren bekannt. Das Pseudorabies-Virus oder Suid Herpesvirus 1 (PRV / SuHV-1), ein Alphaherpesvirus, ist der Auslöser der Aujeszky'schen Krankheit. Diese Krankheit wird aufgrund der tollwut-



artigen Symptome auch ‚Pseudowut‘ oder ‚Pseudorabies‘ genannt. Das Virus zeichnet sich durch ein weites Spektrum suszeptibler Tierarten aus. So sind außer höheren Primaten fast alle Säugetiere mit PRV infizierbar. Nach der Infektion über den Nasen-Rachen-Raum kommt es zunächst zu einer fieberhaften Allgemein-erkrankung, die mit ausgeprägten zentralnervösen Erscheinungen einhergeht. Vor allem beim Schwein sind auch gastrointestinale und respiratorische Symptome zu beobachten. Der Tod tritt bei fast allen Tierarten innerhalb weniger Tage ein. Lediglich das Schwein kann die Infektion überleben; mit steigendem Alter ist die Symptomatik zunehmend schwächer ausgeprägt [22, 36]. Da die Versuche, dieses Virus aus den europäischen Schweinebeständen zu eliminieren, bereits recht weit fortgeschritten sind, ist es in der Schweinepopulation nur noch wenig verbreitet. Für den Menschen wird PRV als nicht infektiös betrachtet, obwohl über Serokonversionen bei Patienten mit leichten neurologischen Symptomen berichtet wurde [37]. Ob dies auch unter den Bedingungen einer Xenotransplantation zutrifft, bedarf dringlich der Überprüfung, insbesondere da PRV *in vitro* in mehreren humanen Zelllinien replizieren kann [37].

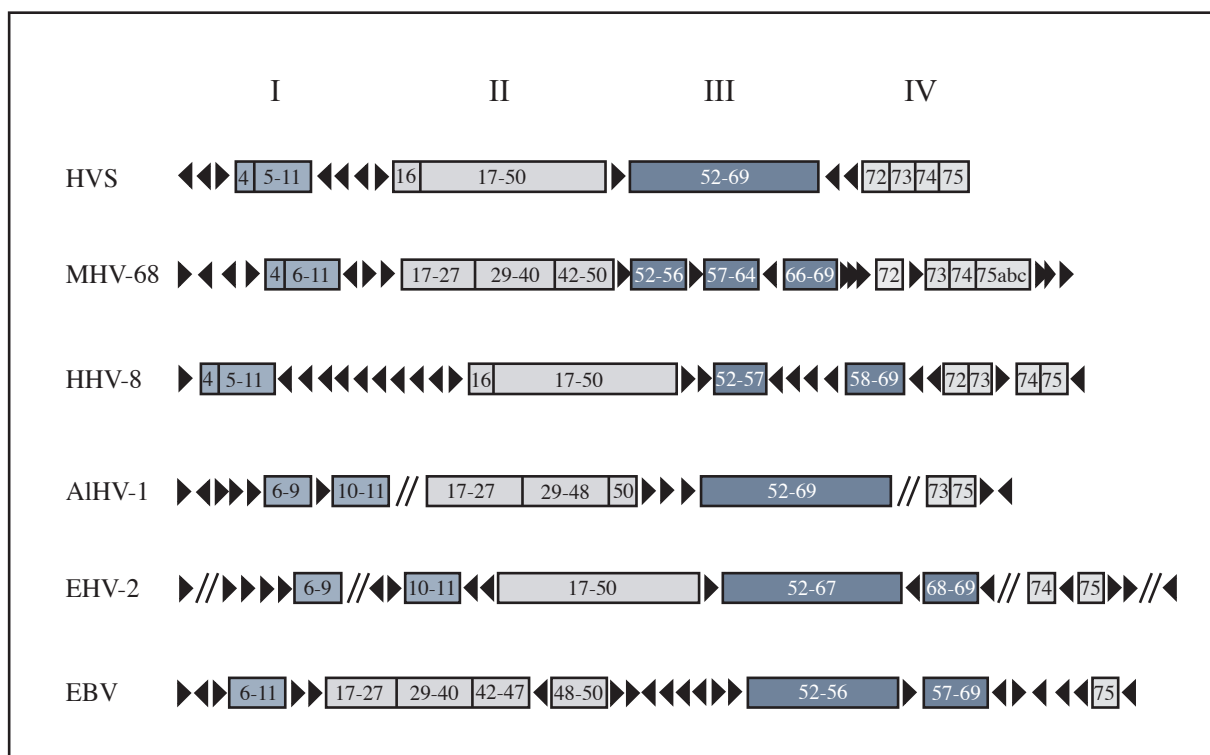
Bei dem zweiten Virus handelt es sich um ein den *Betaherpesvirinae* zugehöriges Virus, das Porcine Cytomegalievirus (PCMV oder SuHV-2). Dieses Virus ist in der Schweinepopulation weit mehr verbreitet, hat aber klinisch eine geringere Bedeutung. Es kommt nach einer Infektion zu einer milden Entzündung der Atemwege (‚Einschlusskörperchenrhinitis‘), die im Allgemeinen nur bei sehr jungen Tieren einen ernsthaften Verlauf nehmen kann [22, 36]. Im Rahmen der Xenotransplantation wird dieses Virus allerdings aufgrund der Verwandtschaft zu dem in der Allotransplantation gefürchteten HCMV und des hohen Durchseuchungsgrades der Schweinepopulation als potenzielles Risiko betrachtet. Die Kokultivierung PCMV-positiver porciner Alveolarmakrophagen mit humanen Zellen (Raji [B-Zellen] und 293 [embryonale Niere, epithelial] ) ergab jedoch keinen Hinweis auf eine Infektion dieser Zellen [38].

1999 konnten zwei weitere porcine Herpesviren identifiziert werden, die in die Unterfamilie der *Gammaherpesvirinae* eingruppiert wurden. Aufgrund ihres Tropismus zu lymphoiden Gewebetypen wie Milz, Blutzellen und Knochenmark wurden sie als ‚Porcine Lymphotrope Herpesviren Typ 1 und 2‘ benannt [39]. Anhand von PCR-Untersuchungen an Blut- und Organproben von Schweinen konnte gezeigt werden, dass diese Viren in der Schweinepopulation weit verbreitet sind, sowohl bei

Wild- als auch bei Hausschweinen [40]. Auffallend dabei ist, dass bei Wildschweinen vor allem PLHV-2 gefunden wurde, während bei Hausschweinen PLHV-1 zu prädominieren scheint. Insgesamt sind etwa 80% der untersuchten Proben in der PCR positiv für mindestens eines der beiden Viren [39]. Sie wurden nicht nur in Proben aus Deutschland nachgewiesen, sondern auch in Schweinen aus Frankreich, Schweden, Spanien, England, den Niederlanden sowie aus Florida/USA (unveröffentlichte Daten von B. Ehlers). Des Weiteren gibt es Berichte über den Nachweis dieser Viren auch im nördlichen Teil der USA (Boston) sowie in Neuseeland (persönliche Mitteilung von Clive Patience und Olga Garkawenko an B. Ehlers). Die PLH-Viren scheinen also über weite Teile des Erdballs verbreitet zu sein, möglicherweise sogar weltweit.

Die Genome der beiden Viren sind bereits zu einem großen Teil sequenziert (ca. 90 kbp von PLHV-1, ca. 75 kbp von PLHV-2). Die Sequenzanalysen zeigen, dass die beiden Viren sehr eng miteinander verwandt sind; in kodierenden Bereichen

**Abbildung 3 Vergleich der genetischen Organisation der vollständig sequenzierten Gammaherpesviren**

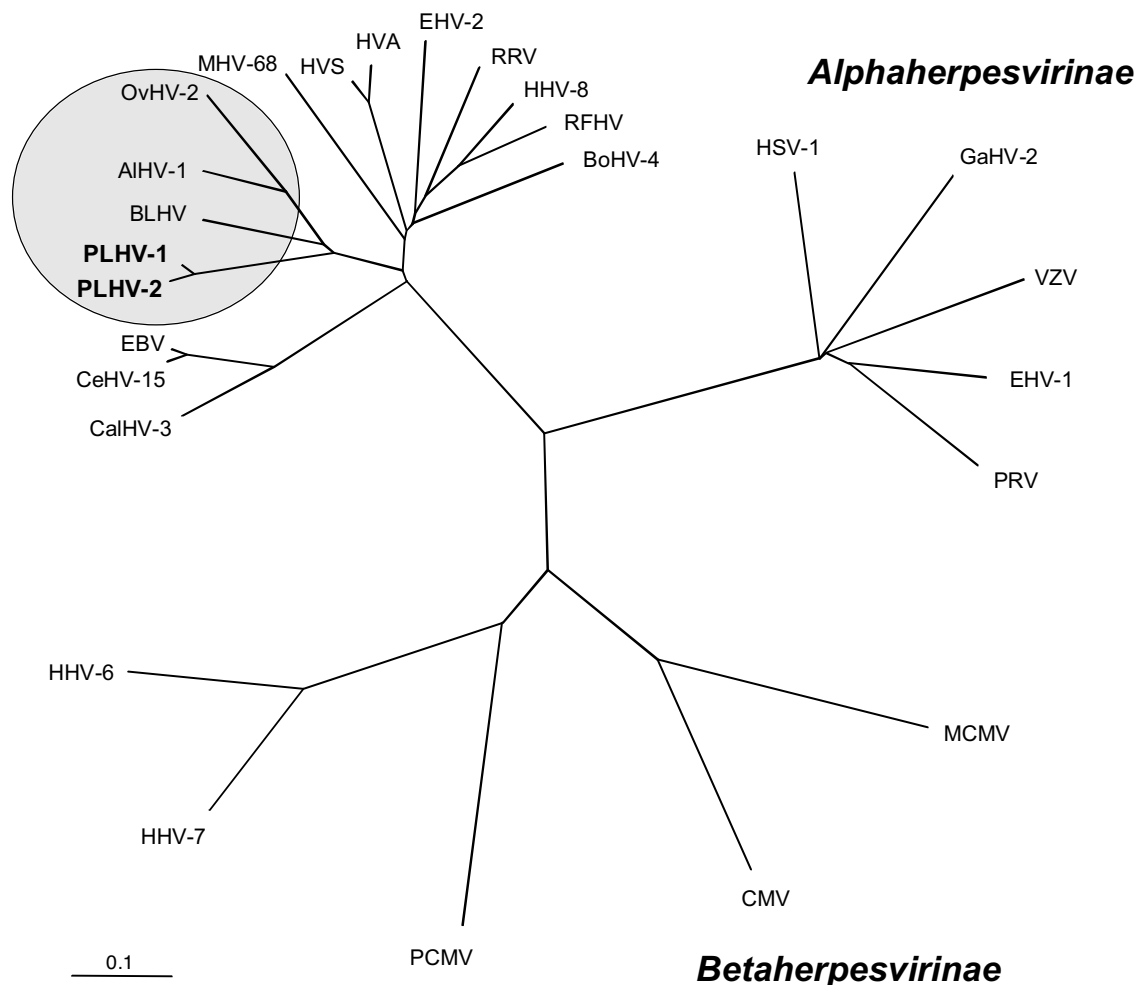


Dargestellt ist die Genomorganisation von HVS, MHV-68, HHV-8, AIHV-1, EHV-2 sowie EBV; das Genom von EBV wurde zur besseren Vergleichbarkeit invertiert, sowie die Nomenklatur der Leserahmen dem Modellvirus HVS angepasst. Die konservierten Genblöcke I-IV wurden unterschiedlich schattiert. Individuelle Leserastermarkierungen der einzelnen Viren sind als schwarze Dreiecke dargestellt.

(Quelle: [41])

liegt die Homologie auf Nukleotidebene bei ca. 90-95%, in nicht-kodierenden sinkt sie ab auf ca. 75% [40]. Auch der Gengehalt der beiden Viren ist in diesem Genombereich identisch: Neben zahlreichen bei (Gamma-) Herpesviren konservierten Genen, die auch in der für Gammaherpesviren typischen Blockorganisation angeordnet sind [s. Abb. 3], konnten zwei Leserahmen identifiziert werden, deren Produkte als potenzielle Virulenzfaktoren zu betrachten sind [42]. Der als ORF E4/BALF<sub>1h</sub> bezeichnete Leserahmen ist ein Homolog zu dem ORF E4 von EHV-2, einem equinen Gammaherpesvirus, sowie zu dem als BALF1 benannten Gen des Epstein-Barr-Virus. Für BALF1, einem Homolog zu dem zellulären bcl-2-Gen, konnte bereits *in vitro* eine anti-apoptotische Funktion gezeigt werden [43]. Der ORF A5/BILF<sub>1h</sub> von PLHV-1 und -2 stellt ein Homolog zu dem ORF A5 von AIHV-1 und BILF1 von EBV dar. Es handelt sich vermutlich um ein Transmembranprotein, welches einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor und somit einen Chemokinrezeptor darstellen könnte [42, 44]. Darüber hinaus besitzen PLHV-1 und -2 zwei weitere zu EBV homologe Gene, für die bei EBV gezeigt werden konnte, dass sie an der Infektion von B-Zellen beteiligt sind (gp350/220, BZLF2 [45, 46]).

Betrachtet man den Verwandtschaftsgrad von PLHV-1 und -2 zu anderen Vertretern der Herpesviren, so zeigt sich, dass ihre engsten Verwandten das Alcelaphine Herpesvirus 1 (AIHV-1), das Ovine Herpesvirus 2 (OvHV-2) sowie das erst kürzlich erstmalig beschriebene Bovine Lymphotrope Herpesvirus (BLHV) sind [s. Abb. 4]. Die beiden erstgenannten, OvHV-2 und AIHV-1, sind dem Genus *Rhadinovirus* der *Gammaherpesvirinae* zugeordnet [23, 47], so dass auch PLHV-1 und -2 vorläufig diesem zuzurechnen sind. OvHV-2 und AIHV-1 sind in ihren Hauptwirten, dem Schaf bzw. Gnu, völlig apathogen, verursachen allerdings eine schwere Erkrankung bei Infektion des Rindes, das so genannte ‚Bösartige Katarrhalfieber‘ (BKF) [22, 48, 49]. Es kommt zu T-Zell-Proliferationen [50] sowie massiven nicht-eitrigen Vaskulitiden, die generalisiert auftreten, in Gehirn, Verdauungstrakt, Niere, Leber und Lunge aber besonders ausgeprägt sind [51]. Klinisch können verschiedene Verlaufsformen beobachtet werden, und in der großen Mehrzahl der Fälle versterben die betroffenen Tiere perakut bis akut. Das Rind stellt dabei einen Endwirt dar; es kommt zu keiner weiteren Verbreitung der Viren von Rind zu Rind [51]. Auch Schweine können bei gemeinsamer Haltung mit Schafen mit OvHV-2 infiziert werden und entwickeln dann BKF-ähnliche Symptome [48, 52]. BLHV wird von den Erstbeschreibern mit der ‚Bo-

**Gammaherpesvirinae**

**Abbildung 4 Phylogenetische Analyse der DNA-Polymerase von PLHV-1 und -2**

Die phylogenetische Analyse wurde mit Hilfe des PHYLIP-Programmpaketes durchgeführt; als Berechnungsgrundlage diente ein 430 aa langes Fragment der DNA-Polymerase der dargestellten Viren.

vinen Enzootischen Leukose' in Verbindung gebracht, einer lymphoproliferativen Erkrankung, die bislang allein einem Retrovirus zugeschrieben wurde [53]. Die nahe Verwandtschaft von PLHV-1 und -2 zu diesen als pathogen einzustufenden Viren wirft die Frage nach ihrer eigenen Pathogenität auf. Bislang wurde noch keine natürlich auftretende Erkrankung beschrieben, bei der eine Assoziation an die PLH-Viren gezeigt werden konnte. Aber selbst wenn diese Viren im Schwein apathogen sind, besteht die Möglichkeit, dass die Infektion einer anderen Spezies weit reichende Folgen haben könnte, wie nicht nur die Beispiele OvHV-2 und AIHV-1 zeigen. Auch andere Gammaherpesviren haben dieses Potenzial, wie Herpesvirus Saimiri (HVS) oder Herpesvirus Ateles (HVA), die in ihren Hauptwirten, den Totenkopffaffen bzw. Klammerschwanzaffen, apathogen sind, bei Infektion von

Neuweltaffen, z.B. Krallenaffen, aber ein polyklonales T-Zell-Lymphom hervorrufen können [54]. Eine besondere Situation stellt dabei sicherlich eine Xenotransplantation dar, bei der unter Umgehung aller natürlichen Barrieren wie Haut und Schleimhaut das Virus direkt in einen massiv immunsupprimierten Patienten gelangt. Dass PLHV-1 in der Lage ist, unter bestimmten Umständen an der Entstehung von Lymphomen zumindest beteiligt zu sein, zeigt das Auftreten eines PTLD-ähnlichen Syndroms bei Schweinen, die eine allogene Blutstammzelltransplantation durchlaufen hatten. Ein Teil der derartig behandelten Schweine entwickelte bei Verwendung eines bestimmten Immunsuppressionsprotokolls Lymphoproliferationen, die sich vor allem durch ein massives Anschwellen der Tonsillen und der Körperlymphknoten äußerte. Die histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen der Lymphknoten zeigten, dass diese zu einem sehr großen Anteil (bis zu 95%) aus Zellen der B-Zell-Linie bestanden [33]. Die Untersuchung der aus den Lymphomzellen extrahierten DNA mittels PCR ergab Hinweise auf die Präsenz eines Gammaherpesvirus, das sich in einer hohen Kopienzahl nachweisen ließ und als PLHV-1 identifiziert werden konnte [42]. Ferner konnte die Transkription einiger Gene von PLHV-1, darunter auch Gene der späten Phase, in den Lymphomzellen nachgewiesen werden. Folglich ist von einer Replikation der Viren in den Lymphomzellen auszugehen [42]. Aufgrund der hohen Homologie zu PLHV-1 ist zu vermuten, dass auch PLHV-2 in der Lage ist, dieses Syndrom zu verursachen. Eine weitere Untersuchung der Rolle, die PLHV-1 (und -2) bei der Entstehung von PTLD in allotransplantierten Schweinen spielen, wird helfen, zu einer Einschätzung des pathogenen Potenzials zu gelangen, das diese Viren im Rahmen einer Xenotransplantation aufweisen könnten.