

2. Leberkarzinomzellen mit konstitutiver Expression adenoviraler E1-Gene als Grundlage für ein Modell intratumoralen Replikation E1-defizienter Adenoviren

Im Rahmen der Einführung unseres Imprägnationskonzeptes wurde die hierzu entgegengesetzte gentherapeutische Vorgehensweise bereits angesprochen. Intratumorale Applikation von Vektoren soll Tumorzellen direkt abtöten. Ein onkolytisches Virus vermehrt sich idealerweise eigenständig und spezifisch in Krebszellen bei geringer Toxizität für den Gesamtorganismus. Für die bisher mangelhafte klinische Effizienz onkolytischer Viren sind antivirale Immunreaktionen, anatomisch bedingte Unzugänglichkeit der Tumoren, fehlende Virusrezeptoren auf Tumorzellen sowie eine ineffiziente Replikation angeschuldigt worden [37].

Der Therapieerfolg replikationskompetenter Viren ist von der Geschwindigkeit und Effizienz der intratumoralen Virusausbreitung abhängig. Die Expression onkolytischer Transgene durch replizierende Viren kann die Effizienz dieser Strategie verbessern. Wir haben die humane Leberzellkarzinomzelllinie Huh7 mit adenoviralen E1-Genen ausgestattet. Die durch Huh7-E1 in SCID-Mäusen erzeugten Tumoren erlauben eine Replikation E1-defizienter Adenoviren. Das Modell ist dazu geeignet E1-negative Adenoviren mit Reportergenen oder onkolytischen Transgenen im replikationskompetenten Kontext zu studieren. Das Modell erlaubt aufgrund der human alpha-1-Antitrypsin (hAAT) Sekretion von Huh7-E1 eine Verlaufsbeobachtung okkulten Tumoren durch Messung der hAAT-Serumkonzentration.

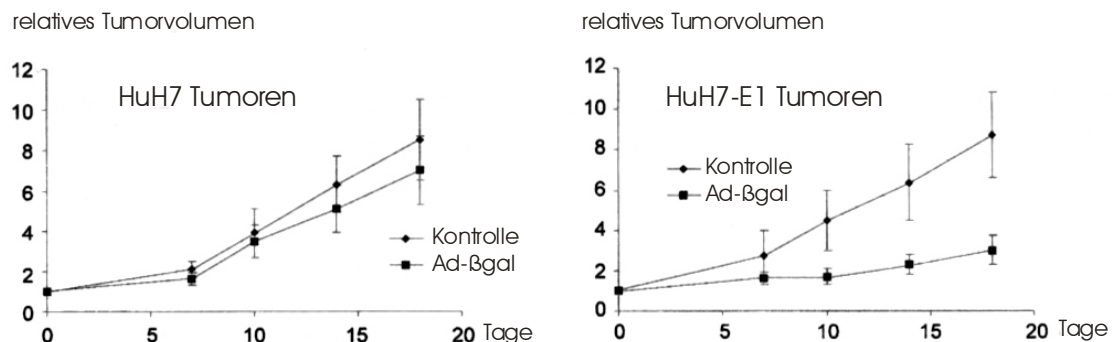


Abb. 5: Wachstumskurven von HuH7 Wildtyp und HuH7-E1 in SCID-Mäusen nach einmaliger intratumoralen Applikation von 1×10^{10} pfu Ad-βgal oder Saline am Tag 0. Deutliche Abnahme der Wachstumsgeschwindigkeit bei virusbehandelten HuH7-E1 Tumoren

Schon die Applikation des Reportervirus Ad-βgal bewirkt eine gute Tumoringhibition. Eine vollständige Infektion des Tumors tritt jedoch auch in diesem Modell nicht ein, die Expression von βgal ist relativ inhomogen, gerade die zentralen Tumorbereiche entziehen sich der Behandlung. Unbefriedigende Vektorsysteme sind ein Grundproblem in der Gentherapie. Am Beispiel von TIMP-1 (siehe oben) ist die Verwendung von Erstgenerationsadenoviren mit CMV Promotor schon deswegen problematisch weil die Expression nur 14 – 21 Tage anhält [15], und damit nicht der Kinetik humaner Tumorerkrankungen entspricht. Die Übertragung gentherapeutischer Konzepte in die Patientenversorgung wird von der Entwicklung effizienter und nicht-toxischer Vektoren abhängen, die eine Langzeitexpression erlauben. Adenoassoziierte Viren oder Helferabhängige Adenoviren sind dafür interessante Kandidaten [20,21], Hybridvektoren versprechen tumorspezifische Genexpression [22].