

## Highlights des 3. Deutsch-Japanisches HIV/AIDS-Symposiums, Hiroshima, Japan, 26.-27. November 2007

Zum dritten Mal fand nun in Japan das Deutsch-Japanische HIV/AIDS-Symposium statt. Schwerpunkt der Veranstaltung bildeten Vorträge und Diskussionen im Grundlagenbereich, aber auch ein eigener Abschnitt wurde jeweils den Vakzinen und klinischen Studien gewidmet sowie sozialwissenschaftlichen Gesichtspunkten von HIV und AIDS.

### Grundlagenforschung im Bereich HIV und AIDS

#### *Molekulare Grundlagen in der Regulation der Transkriptionselongation*

Hier berichtete zunächst Matthias Geier vom MPI für molekulare Physiologie in Dortmund über molekulare Grundlagen im Bereich der Transkriptionselongation. Der positive Transkriptionselongationsfaktor b (P-TEFb) ist ein wesentlicher Regulator verantwortlich für die Genexpression während des Vermehrungszyklus von HIV-1. Dabei bildet die Untereinheit Cyklin T1 einen Komplex gemeinsam mit dem TAT-Protein des HI-Virus und dem TAR-RNA Element, so daß hierdurch die Cyklin-abhängige Kinase 9 (CDK 9) aktiviert wird, welche wiederum den Transkriptionsprozeß auf der Ebene der Kettenelongation in Gang setzt. Matthias Geier und seine Arbeitsgruppe haben dabei die Struktur des Cyklinkomplexes mittels Röntgenkristallanalyse bis auf eine Auflösung von 2,7 Å bestimmen können. Durch die kristallstrukturelle Aufklärung von Zyklin T1 konnten dann weitere funktionelle Analysen angeschlossen werden, um die Funktion und insbesondere die Aktivierung und Deaktivierung des Proteins näher zu charakterisieren. Dabei zeigt sich, daß P-TEFb selber noch einmal durch die Small Nuclear RNA 7SK und das koppelnde Protein Hexim 1 reguliert wird. Während 7SK lediglich der molekulare Vermittler zwischen Hexim 1 und P-TEFb darstellt, inhibiert Hexim 1 die CDK 9 Kineseaktivität und hindert P-TEFb an der Bindung transkriptioneller Templates. Dies geschieht durch direkte Bindung von Hexim 1 an Cyklin T1.

HIV greift hier in den Transkriptionsprozess ein, indem das HIV-1 TAT-Protein Hexim 1 von der Bindungsstelle verdrängt und somit den Transkriptionsprozeß der viralen RNA in Gang setzt. Dabei gelang es der Arbeitsgruppe, die Cyklin T1 bindende Domäne genauer zu charakterisieren, so daß hier erste Möglichkeiten geschaffen wurden, eine neue Medikamentenklasse weiter zu entwickeln, nämlich die Transkriptioninhibitoren.

### ***Anti-TAT Therapie in der HIV-Behandlung: Bioinformatisch gestützte Simulation der 3D-Struktur des TAT/TAR/Cyclin T1 Komplexes, Drug-Screening und Entwicklung einer essbaren TAT-Vakzine***

Herr Takashi Okamoto von der Nagoya-Universität in Nagoya berichtete über den Fortschritt bei der Entwicklung einer eßbaren TAT-Vakzine. Die Arbeitsgruppe von Herrn Okamoto versucht ebenfalls, eine antivirale Therapie auf der Ebene der Transkription zu entwerfen, indem er ein Gegenmolekül im Bereich der TAT-Region entwirft, so dass die eine entsprechende Ankopplung des TAT-TAR-Komplexes an Zyklin T1 verhindern wird. Wenngleich TAT ein attraktives Ziel für neue anti-HIV-Therapien darstellt, so ist die Entwicklung von anti-TAT-Substanzen schwierig wegen der sehr instabilen TAT-Struktur. TAT gilt derzeit als „naturally disordered“, also ein Protein ohne feste Struktur. Die letztlich gegebene 3D-Struktur ist stark abhängig von Assoziationen mit interagierenden Molekülen wie TAT-RNA und Zyklin T1, der Hauptuntereinheit von PTEFb. Herr Okamoto hat in seiner Arbeitsgruppe in dieser Studie den Versuch unternommen, die 3D-Struktur des funktionellen TAT-Moleküls im Zusammenhang mit TAT-RNA und Cyklin T1 computergestützt vorauszusagen. Anschließend wurden die Ergebnisse verifiziert durch computergestützte Analysen mit in vitro-binding, cross-linking etc. Funktionelle Experimente schlossen sich an, in denen verschiedene Mutanten des Cyklin T1 generiert wurden. Dadurch konnten die intermolekularen Interfaces zwischen TAT, TAR und Zyklin T1 untersucht werden und schließlich ein drug-screening begonnen werden. Die so gewonnenen inhibitorischen Moleküle wurden dann in ihrer Aktivität in einer TAT-medierten transkriptialen Aktivierung untersucht. In einem weiteren Schritt wurde eine der Substanzen eingebracht in die Gene einer Tomatenpflanze. Die Extrakte der TAT-exprimierenden rekombinanten Tomatenpflanze wurden dann Mäusen verabreicht, welche letztlich auf diese Art und Weise eine effiziente anti-TAT Antikörper und CTL-Response aufbauen konnten.

### ***Envelope V3-Varianten mit inhärenter Maskier-Funktion als Ursache des persistierenden Immune-Escape der HIV-1 Infektion***

Herr Nakanawa von der Yokohama Universität in Kanegawa, Japan, berichtete über bestimmte Varianten von HIV-1 Envelope-Protein V3, welche in der Lage sind, einen immune escape durchzuführen. HIV-1 entkommt der adaptiven Immunität, um eine persistierende Infektion zu verursachen. Dabei sind die genauen Mechanismen jedoch noch unklar. Einer der Immuneffektoren in vivo sind neutralisierende Antikörper gegenüber der Variablen Region V3 auf der Virusoberfläche. Es wurde vorgeschlagen, daß HIV-1 dieser

Neutralisierung durch Antigenvariationen und eine Glykanhülle des Virus entkommt. In der Arbeit von Herrn Nakanawa zeigte seine Arbeitsgruppe, daß einige V3-Varianten, die er als R-V3 bezeichnet, eine selbst-maskierende Eigenschaft gegenüber der Immunerkennung zeigen. Im Gegensatz zu anderen Antigenen sites ist die R-V3 resistent gegenüber Selektionsdrücken und Veränderungen der Aminosäuresequenz, so daß eine Homogenität und Überlebensvorteil für über 15 Jahre beschrieben ist. HIV-1 rekombinante Viren, welche R-V3 enthalten, sind resistent gegenüber der Neutralisierung durch Antikörper.

***Der Einfluss einer einzelnen Aminosäure-Mutation von HIV-2 bestimmt die Empfindlichkeit gegenüber dem TRIM-5- $\alpha$  Protein von Cynomolg-Aff $\ddot{u}$ n und Menschen***

Herr Hayan Song von der Osaka Universit $\ddot{a}$ t in Japan berichtete  $\ddot{u}$ ber HIV-2 und in Abh $\ddot{a}$ ngigkeit von einer einzelnen Aminos $\ddot{a}$ uremutation die Empfindlichkeit gegen $\ddot{u}$ ber von TRIM-5- $\alpha$ -Protein. TRIM-5- $\alpha$  ist ein bekannter anti-HIV Faktor. HIV-2 stammt von SIV ab. Vorhergehende Studien haben gezeigt, da $\beta$  HIV-2-St $\ddot{a}$ mmen sich sehr stark unterscheiden in ihrer M $\ddot{o}$ glichkeit, sich in Affenzellen wie bei Bono-, Rhesus- oder Zynomolgusaffen zu vermehren. Daher wurde vermutet, da $\beta$  dies von Eigenschaften des Virus abh $\ddot{a}$ ngig sein mu $\beta$ . Die Arbeitsgruppe von Herrn Song untersuchte die virale Sequenz von HIV-2 und fand heraus, da $\beta$  eine Mutation an Position 120 zu einer radikalen  $\ddot{A}$ nderung der Konfiguration der Helixes 6 und 7 f $\ddot{u}$ hrt. Dies f $\ddot{u}$ hrt dann weiter dazu, da $\beta$  der antivirale Effekt von TRIM-5- $\alpha$  nicht mehr zum Tragen kommt und die Tiere einen entsprechend aggressiveren Verlauf der Erkrankung nehmen.

***Biochemische Eigenschaften und Anti-HIV-1 Aktivit $\ddot{a}$ t von APOBEC-3G***

Herr Iwatani vom AIDS Research Center in Tokyo berichtete  $\ddot{u}$ ber die biochemischen Eigenschaften und anti-HIV-1 Aktivit $\ddot{a}$ t von APOBEC 3G. APOBEC 3G ist eine Wirtsspezifische Cytidin-Deaminase, der in der Abwesenheit des viralen VIF-Proteins die HIV-1 Replikation verhindern kann. Um die molekularen Eigenschaften von APOBEC 3 G zu untersuchen, f $\ddot{u}$ hrte das Team von Herrn Iwatani eine Aufreinigung des aktiven Enzyms APOBEC 3G durch ein Baculovirus-Expressionssystem durch mit anschließender biochemischer Analyse der APOBEC 3G-abh $\ddot{a}$ ngigen Deaminasen und Nukleins $\ddot{a}$ urebindungsabh $\ddot{a}$ ngigkeiten.

## **Vakzine und klinische Forschung im Bereich HIV/AIDS**

### ***MVA-Nef Vakzin der Bavarischen Nordic / Universität Erlangen***

Anschließend führte Herr Harrer durch das Vakzineprogramm seiner Universität in Erlangen, gemeinsam mit der Bavarischen Nordic GmbH. Hier ging es um eine Phase II Studie des MVA-Nef-Vakzins bei HIV-infizierten Patienten nach strukturierter Therapiepause. In dieser einfach verblindeten, kontrollierten, randomisierten Multicenter 2-Phasen Studie wurden 77 HIV-1 infizierte Patienten eingeschlossen und erhielten jeweils drei subkutane Vakzinierungen von einer der drei getesteten Impfstoffkombinationen zu dem Zeitpunkt in Woche 0, 8 und 16. Patienten, welche alle Vakzinierungen erhalten hatten und weiter eine stabile HAART mit einer maximalen Suppression der Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze von 50 Kopien/ml aufwiesen, wurden dann strukturierte Therapiepausen zu Woche 20 angeboten und nachverfolgt bis zu Woche 52. Zunächst einmal war der Impfstoff sicher und zeigte keinerlei schwerwiegende Nebenwirkungen. Von den 77 Patienten unterbrachen 37 ihre HAART vier Wochen nach der 3. Vakzinierung. Während der 32 Wochen Nachverfolgung nach Beginn der strukturierten Therapiepause begannen 12 der 37 Patienten wieder ihre HAART, meist aufgrund einer wieder ansteigenden Viruslast. Die verbliebenen 25 Patienten, die nachverfolgt wurden bis zu Woche 52, zeigten dann in den Verumgruppen eine deutlich bessere Kontrolle der Viruslast verglichen mit der Placebogruppe. Zusammenfassend ermutigen die ersten Ergebnisse dieser Phase II und ebnen weiter den Weg für eine mögliche therapeutische Vakzinierung mit dieser Vakzine.

### ***Mitochondriale Toxizität mit bedingt durch eine neue Mutation im Bereich der Polymerase- $\gamma$***

Dr. Shimichi Oga berichtete über eine neue Mutation im Bereich der menschlichen Polymerase- $\gamma$ , welche assoziiert ist mit einem vermehrten Auftreten mitochondrialer Toxizität. Hierzu wurden 16 Patienten mit einer HIV-1 Infektion und davon 11 mit und 5 ohne Zeichen eine mitochondrialen Toxizität (Laktaterhöhung + klinische Zeichen) genetisch untersucht. Bei einem der Patienten zeigte sich eine neue homozygote Polymerase- $\gamma$ -Mutation an Codon 964. Hier war Arginin und Cystein ausgetauscht. Dabei handelte es sich um einen thailändischen Patienten. Die rekombinante Mutante Polymerase- $\gamma$  zeigte dabei lediglich 14 % der normalen Aktivität der Polymerase- $\gamma$ . Diese Aktivität ließ sich dann in der Zellkultur unter Hinzugabe von D4T weiter reduzieren, so daß erstmals bei einem

thailändischen Patienten der Nachweis einer genetischen Prädisposition. Andererseits zeigten die anderen Patienten in dieser Gruppe nicht die entsprechende Mutation, was die multifaktorielle Genese der mitochondrialen Toxizität noch einmal unterstreicht.

### ***Neutralisierende Antikörper in der Behandlung der HIV-Infektion***

Schließlich berichtete Herr Shuso Masoshita von dem Center for AIDS Research an der Kumamoto University in Japan über die Entwicklung eines breit neutralisierten monoklonalen Antikörpers KD 247. Zusammen mit Martin Markowitz vom Aaron Diamond Research Center wird hier demnächst eine Phase I Studie starten zu KD 247, einem breit neutralisierten Antikörper, welcher an eine hochkonservierte Region im V3-Peptid bindet. Ein Synergismus wird erwartet mit CCR5-Rezeptoren, da die konservierte Region lediglich sehr kurz, wahrscheinlich in der Andockphase des Virus an die Hülle, zu sehen sein wird. Die ersten Tests waren bislang sehr vielversprechend. Inwieweit die Ergebnisse sich in der Klinik wiederfinden, wird die Studie dann weiter zeigen.

## **Sozialwissenschaftliche Aspekte von HIV und AIDS**

### ***Kostenentwicklung von HAART in Drittweltländern***

Herr Kimi Tamumora von der WHO in Genf berichtete über die Aktivitäten der WHO in den Dritte Welt Ländern. Insbesondere ist die Kostendeckung in den Dritte Welt Ländern ein großes Problem. Hier zeigte Herr Tamumora auf, daß eine Strategie der WHO darstellt, die verhandelten Preise der Länder mit den Pharmafirmen offenzulegen. Die Preise sind über die WHO Website abrufbar. Hierdurch erhofft sich die WHO die Verhandlungsfähigkeit der einzelnen Länder zu verbessern und die Preise entsprechend senken zu können. Ein großes Problem für die Zukunft der Dritte Welt Länder stellt aus Sicht von Herrn Tamumora die Zweit- und Drittgenerationstherapie dar, da diese noch einmal wesentlich teurer sein werden als die Firstlinetherapie. Aufgrund der Resistenzentwicklung wird dies jedoch unvermeidlich auf den Afrikanischen Kontinent zukommen. Lösungen hierzu sind leider noch nicht in Sicht.

### ***Epidemiologische Trends HIV/AIDS in Deutschland und Japan***

Herr Kamakuo von der Keio University in Kanagawa und Tokyo berichtete dann über den aktuellen Status und Trend von HIV und AIDS in Europa und Japan. Schwerpunktmäßig wurde über Deutschland und Japan berichtet. Hier finden sich letztlich gleiche Trends in den letzten Jahren sowohl in Japan als auch in Deutschland. Wenngleich Japan über wesentlich weniger HIV-infizierte Patienten verfügt (etwa 5.000), so zeigt sich in den letzten Jahren doch

eine deutliche Zunahme der HIV-Infektionen bei jungen schwulen Männern, vergleichbar mit Deutschland.

### *HIV-Prävention in der Gay-Community in Osaka – das MASH-Projekt*

Herr Onizuka aus Osaka stellte das Mash Prevention Project vor. Mash wurde 1998 in Osaka gegründet und ist eine Non-Governmental Organisation, die durch Freiwillige entstanden ist und sich zur Aufgabe gemacht hat, die Prävention voranzubringen. Die implementierten Maßnahmen umfassen im wesentlichen die Verteilung monatlicher Community Newspapers mit STD und HIV-Information, Verteilung von Kondomen, Bereitstellen einer entsprechenden Webseite, Beratungsstellen, aber auch in kleineren Umfängen spezielle Workshops zur Übertragbarkeit von sexuellen Infektionen. Weiter werden Test-Events angeboten, wo Patienten/Probanden sich anonym auf HIV, HBV und Syphilis testen lassen können. Weiter wurden Festivitäten unter der Maßgabe einer HIV-Prävention durchgeführt. Unter diesen Maßnahmen mit einer entsprechenden Validierung durch Umfragebögen zeigte sich in den letzten sieben Jahren (1999-2006) eine Steigerung des AIDS-Wissens von 25-40 % auf 52-82 %. Die HIV-Testraten stiegen an von 19% auf 37 % und das Verwenden von Kondomen bei festen Partnern von 37% auf 61 %. Insgesamt kann man hier sicherlich von einem erfolgreichen Projekt sprechen.

### **Zusammenfassung**

In den zwei Tagen wurde ein gut abgerundetes Programm präsentiert mit vielen Diskussionen und Austausch der einzelnen Institute. Hervorstechend waren die Grundlagenbeiträge, insbesondere zur Weiterentwicklung neuer Substanzen im Bereich des Transkriptionsprozesses oder auch der breit neutralisierenden Antikörper. Aber auch im Bereich der Vakzine-Forschung und den Sozialen Aspekten von HIV/AIDS gab es interessante Beiträge mit erfolgversprechenden Daten zu neuen Impfstoffen. Die besorgniserregende Kostenentwicklung der HAART in den Drittweltländern wird eine der großen Herausforderungen an die globale Gemeinschaft im weiteren Kampf gegen HIV/AIDS in Entwicklungsländern in den nächsten Jahren und Jahrzehnten sein.