

HIV

In den 1990er-Jahren war ein detailreiches Kapitel zum Thema HIV/AIDS Bestandteil der meisten biochemischen und molekularbiologischen Lehrwerke. Obwohl heute dank der Entwicklung spezifischer Arzneistoffe – eine der wichtigsten Errungenschaften der jüngeren Wissenschaftsgeschichte – der Krankheitsverlauf zumindest deutlich verzögert werden kann, erscheint es befremdlich, wie weit die Thematik ins Hintertreffen geraten ist. Dies mag nicht zuletzt darin begründet sein, dass in Anbetracht der umfangreichen Forschungsergebnisse eine Darstellung ohne Vereinfachungen kaum möglich ist. Kenntnisse über die Struktur und Replikation der Retroviren erscheinen umso erstrebenswerter, als dass das Schüsselenzym des retroviralen Vermehrungszyklus, die Reverse Transkriptase, eines der Standardwerkzeuge der molekularbiologischen Forschung ist, auch wenn die für Forschungszwecke eingesetzte Reverse Transkriptase nicht aus dem HIV sondern aus dem Murinen Leukämievirus stammt. Die weitgehend mit Hilfe rationaler Strategien entwickelten Anti-HIV-Arzneistoffe sind die vielleicht besten Beispiele für erfolgreiches modernes Wirkstoffdesign.

<u>Hauptmerkmale des HIV</u>	2
<u>Struktur des HIV-Partikels</u>	2
<u>Genomorganisation</u>	3
<u>Vermehrungszyklus</u>	4
<u>Anti-HIV-Arzneistoffe</u>	6

Quellen:

Aktories, K.; Förstermann, U.; Hoffmann, F. B.; Starke, K. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Elsevier, München, 2005.

Davis, B. D.; Dulbecco, R.; Eisen H. N.; Ginsberg, H. S. Microbiology. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, 1990.

Modrow, S.; Falke, D.; Schätzl H.; Truyen, U. Molekulare Virologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2010.

Morrow, C. D; Park, J.; Wakefield, J. K. Viral gene products and replication of the human immunodeficiency type 1 virus. Am. J. Physiol. 1994. 266:C1135-56.

Rice, W. G. et al. Inhibitors of HIV nucleocapsid protein zinc fingers as candidates for the treatment of AIDS. Science. 1995. 270:1194-7.

Hauptmerkmale des HIV

AIDS (*acquired immune deficiency syndrome*) wurde erstmals 1980 beschrieben. Als Erreger wurde das **Retrovirus HIV** (*human immunodeficiency virus*) identifiziert. Charakteristisch für Retroviren ist ein aus **einzelsträngiger RNA** bestehendes Genom. Nach Infektion der Wirtszelle wird diese RNA durch das virale Enzym **Reverse Transkriptase** (RT) in ein doppelsträngiges DNA-Molekül umgeschrieben. Diese sog. **cDNA** (*complementary DNA*) wird anschließend durch das virale Enzym **Integrase** in die DNA des Wirtsgenoms eingebaut. HIV infiziert ausschließlich Zellen, die das CD4-Protein auf ihrer Oberfläche tragen. Dabei handelt es sich in erster Linie um **T-Helfer-Zellen**. Daneben können auch Monozyten, Makrophagen, Dendritische Zellen und Mikrogliazellen wenige CD4-Proteine tragen und mit HIV infiziert werden. Vor allem durch die Zerstörung der T-Helfer-Zellen kommt es zum Zusammenbruch des Immunsystems.

Struktur des HIV-Partikels

Der Viruspartikel (das sog. **Virion**) ist von einer **Lipiddoppelmembran**, die von der Wirtszelle stammt, umgeben (**Abb. 1**). In die Membran ist das **Transmembran-Glycoprotein gp 41** eingelagert, das mit dem **externen Glycoprotein gp 120** nicht-kovalent verbunden ist. Die Innenseite der Hüllmembran ist mit dem **Matrix-Protein** ausgekleidet. Das Matrix-Protein ist am N-Terminus mit einer kovalent gebundenen Myristinsäure (eine C₁₄-Fettsäure) modifiziert. Der Myristinsäurerest ermöglicht die Assoziation des Matrix-Proteins mit der Membran. Im Inneren des Partikels befindet sich eine konische Struktur, die aus dem **Capsid-Protein** gebildet wird. Das Capsid ist über das **Link-Protein** mit der Matrix verbunden. Das Capsid enthält das virale Genom in Form zweier identischer **einzelsträngiger RNA-Moleküle (vRNA)**. An jedes der beiden vRNA-Moleküle ist ein tRNA-Molekül gebunden (in Abb. 1 nicht dargestellt). Diese tRNA-Moleküle stammen aus der Wirtszelle und dienen im nächsten Vermehrungszyklus als Primer bei der reversen Transkription. Die vRNA ist außerdem mit dem **Nucleocapsid-Protein** assoziiert, das zwei Zinkfinger-Domänen besitzt. Weiterhin befinden sich im Capsid die Enzyme **Reverse Transkriptase**, **Integrase** und **Protease**. Die Protease ist ein Überbleibsel aus dem Reifungsprozess des Viruspartikels.

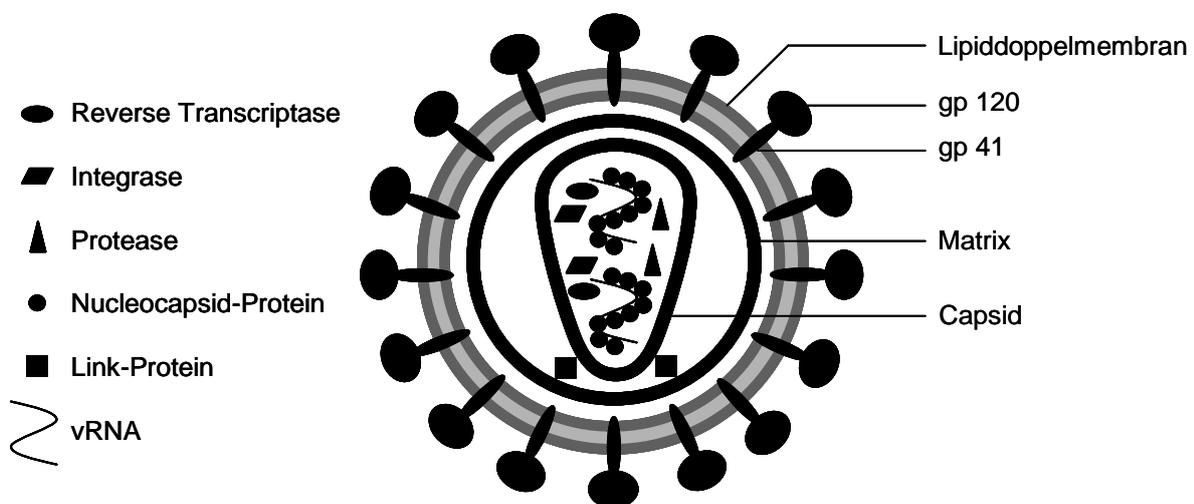


Abb. 1. Struktur des HIV-Partikels.

Genomorganisation

Die Länge des HIV-Genoms beträgt ca. 9.000 Nucleotide. An beiden Enden wird das Genom durch identische Sequenzen, die sog **LTRs** (*long terminal repeats*) flankiert (**Abb. 2**). Die LTRs sind für die Integration der cDNA in das Wirtsgenom notwendig. Nach der Integration dient die LTR-Sequenz am 5'-Ende als Promotor für die Transkription der nachfolgenden viralen Gene, während die LTR-Sequenz am 3'-Ende ein Polyadenylierungssignal zur Verfügung stellt. Der codierende Genomabschnitt ist in die Genabschnitte **gag** (*group-specific antigen*), **pol** (*polymerase*) und **env** (*envelope*) unterteilt. Diese Genabschnitte codieren für größere **Proteine**, die erst post-translational in die funktionalen Proteine gespalten werden.

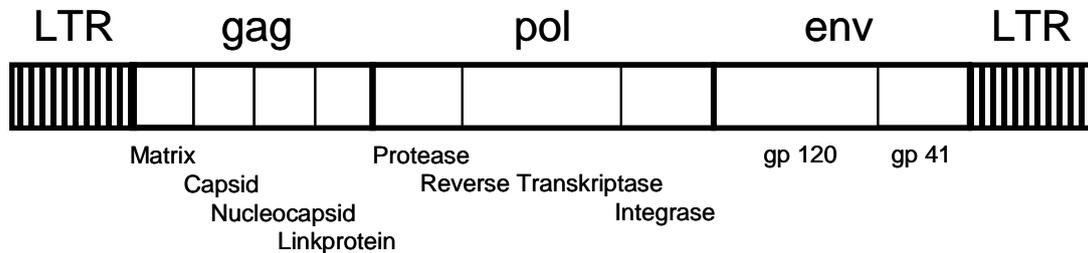


Abb. 2. Genomorganisation des HIV.

Vermehrungszyklus

1. Der Viruspartikel dockt über gp 120 an DC4 auf der Membran der Wirtszelle an (**Abb. 3**). Für die Infektion ist außerdem noch die Interaktion mit dem Chemokinrezeptor CCR5 oder CXCR4 notwendig (nicht dargestellt).
2. Vermittelt durch gp 41 fusioniert die Membran des Viruspartikels mit der Membran der Wirtszelle.
3. Zerfall der Virusstruktur im Zytoplasma führt zur Freisetzung der vRNA.
4. Die Reverse Transkriptase synthetisiert mit der vRNA als Matrize den ersten cDNA-Strang.
5. Der vRNA-Strang wird durch **RNase H** abgebaut. Bei HIV besitzt eine spezielle Domäne der Reversen Transkriptase RNase H-Aktivität; bei anderen Retroviren sind die Reverse Transkriptase und die RNase H separate Enzyme.
6. Die Reverse Transkriptase synthetisiert den zweiten cDNA-Strang.
7. Die doppelsträngige cDNA wird durch die Integrase in das Genom der Wirtszelle eingebaut. Die in das Genom integrierte cDNA wird als **provirale DNA** bezeichnet.
8. Die in das Genom integrierte cDNA wird durch die RNA-Polymerase II der Wirtszelle in virale mRNA transkribiert.
9. Ein Teil der viralen mRNA wird nicht gespleißt. Diese nicht-gespleißte mRNA wird hauptsächlich in das pr 55 gag-Proprotein translatiert. Bei ca. 5 % der Translationsvorgänge tritt eine Leserasterverschiebung der Ribosomen auf, die dazu führt, dass das Stopp-Codon des gag-Gens überlesen und das pr 160 gag pol-Proprotein gebildet wird. Das Auftreten der Leserasterverschiebung wird durch einen Uridin-reichen Sequenzabschnitt begünstigt, der sich in dem für das Nucleocapsid-Protein codierenden Bereich befindet.
10. Ein anderer Teil der viralen mRNA wird gespleißt. Die Translation der einfach gespleißten mRNA führt zur Bildung des gp 160-Proproteins. Außerdem werden durch Translation mehrfach gespleißter mRNA-Moleküle verschiedene kleine regulatorische Proteine gebildet (in Abb. 3 nicht dargestellt).
11. Das gp 160-Proprotein wird im ER glycosyliert (in Abb. 3 nicht dargestellt) und im Golgi-Apparat durch eine Protease der Wirtszelle (das sog. Furin-Protein) in gp 120 und gp 41 gespalten. Die beiden Proteine gehen eine nicht-kovalente Bindung ein und werden an die Zelloberfläche transportiert.

12. Die Proproteine pr 55 gag und pr 160 gag pol assoziieren mit der Zellmembran und dem zytoplasmatischen Teil des gp 41-Proteins.

13. Ein Teil der nicht-gespleißten viralen mRNA tritt in den Komplex ein und dient als genomische virale RNA (vRNA) des entstehenden Viruspartikels.

14. Der unreife Viruspartikel wird durch Knospung von der Zelloberfläche abgeschnürt. Der unreife Viruspartikel enthält noch die nicht-prozessierten Proproteine pr 55 gag und pr 160 gag pol.

15. Bedingt durch die Aminosäurezusammensetzung der Proteine herrscht im Inneren des unreifen Viruspartikels ein leicht saures Milieu. Dadurch wird die Protease-Domäne des pr 160 gag pol-Proproteins aktiviert. Die Protease schneidet sich selber aus dem Proprotein heraus und katalysiert die vollständige Prozessierung der Proproteine. Die Spaltprodukte lagern sich zur Struktur des reifen Viruspartikels zusammen. Dieser Vorgang wird als **Reifung** bezeichnet.

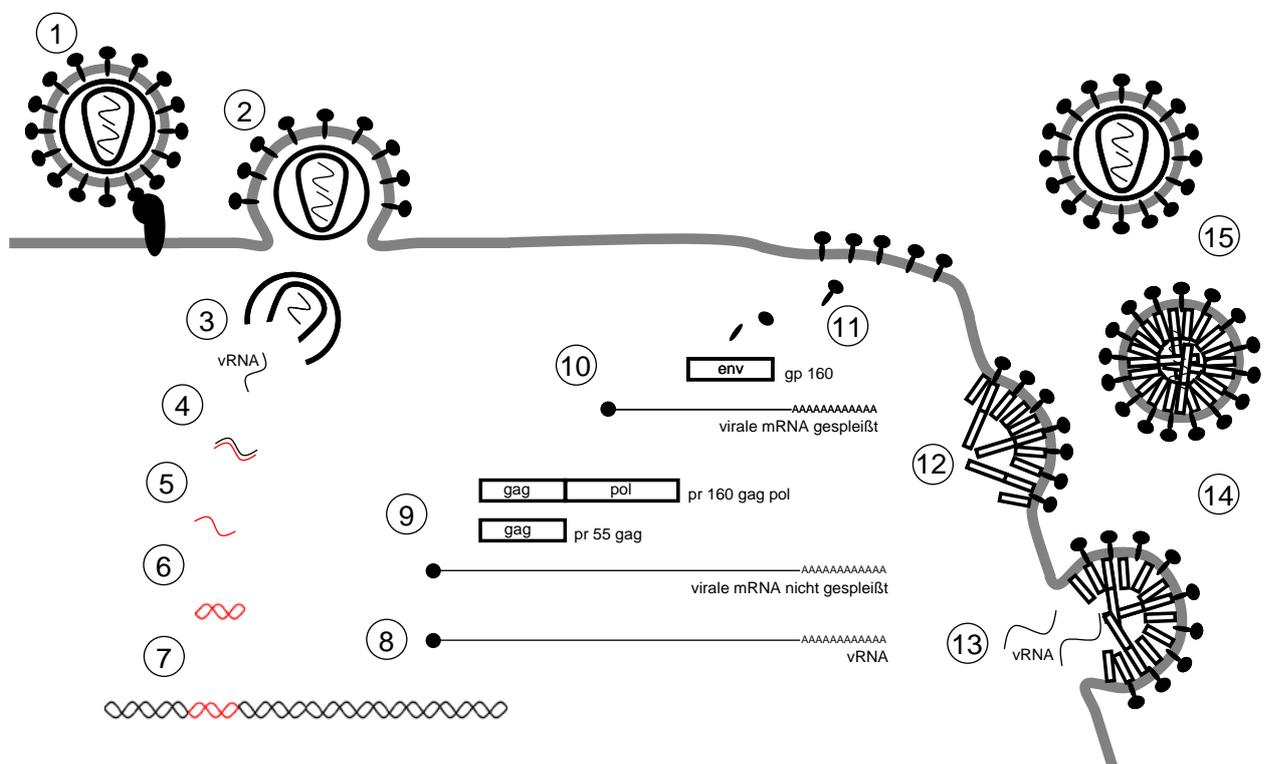


Abb. 3. Vermehrungszyklus des HIV. Einzelheiten sind im Text erläutert.

Anti-HIV-Arzneistoffe

Der Kampf gegen AIDS ist gegenwärtig eines der größten medizinischen Probleme. Als Folge der Entwicklung neuer Arzneistoffe kann heute die Lebensdauer von HIV-Infizierten deutlich verlängert werden. Es ist aber noch immer unmöglich, die Viren vollständig zu eliminieren. Die Schwierigkeit der HIV-Therapie besteht in der hohen genetischen Variabilität, die es den Viren nicht nur ermöglicht, die Immunabwehr zu unterwandern, sondern auch gegen Arzneistoffe resistente Varianten hervorzubringen. Die Ursache für diese Variabilität besteht hauptsächlich darin, dass die Vervielfältigung des Virusgenoms durch die RNA-Polymerase II der Wirtszelle erfolgt. Dieses Enzym besitzt im Gegensatz zur zellulären DNA-Polymerase keine Korrekturleseaktivität. In geringerem Ausmaß trägt auch die Reverse Transkriptase, die ebenfalls keine Korrekturleseaktivität besitzt, zur Variabilität bei. Um das Auftreten resistenter Viren so weit wie möglich zu erschweren, werden bei der Therapie drei oder vier Arzneistoffe kombiniert.

Die wichtigsten Angriffspunkte der verfügbaren Arzneistoffe sind die Reverse Transkriptase und die virale Protease. Bei den **Reverse-Transkriptase-Hemmstoffen** werden Nucleosid-Analoga und Nicht-Nucleoside unterschieden. Als Beispiel für ein **Nucleosid-Analogon** leitet sich Zidovudin vom 2'-Desoxy-Thymidin durch Austausch der 3'-OH-Gruppe gegen eine Azido-Gruppe ab (**Abb. 4**). Zidovudin wird zunächst durch Kinasen der Wirtszelle in das 5'-Triphosphat überführt. Das gebildete Zidovudin-Triphosphat besitzt höhere Affinität zur Reversen Transkriptase als zu anderen DNA-Polymerasen und wird in die entstehende cDNA eingebaut. Durch das Fehlen der 3'-OH-Gruppe ist jedoch keine Kettenverlängerung möglich. **Nicht-nucleosidische Hemmstoffe** der Reversen Transkriptase wie z.B. Efavirenz (**Abb. 4**) binden in der Nachbarschaft des aktiven Zentrums und hemmen das Enzym allosterisch. **Protease-Hemmstoffe** wie z.B. Nelfinavir (**Abb. 4**) bilden die Raumstruktur der Abschnitte der viralen Proproteine nach, die durch die virale Protease während der Reifung gespalten werden. Die virale Protease spaltet überwiegend zwischen Phenylalanin- und Prolin-Resten. Nelfinavir und andere Protease-Hemmstoffe sind sog. **Peptidomimetika**, die Strukturmerkmale eines Phenylalanin-Prolin-Dipeptids besitzen, aber nicht durch die Protease gespalten werden können. Mit Enfuvirtid steht neuerdings auch ein sog. **Fusionsinhibitor** zur Verfügung, der die Fusion des Virus-Partikels mit der Wirtszelle blockiert. Enfuvirtid ist ein Polypeptid bestehend aus 36 Aminosäureresten, das an das Glycoprotein gp 41 bindet. Da Enfuvirtid durch Peptidasen im Magen-Darm-Trakt abgebaut wird und nicht intakt resorbiert werden kann, muss der Arzneistoff injiziert werden.

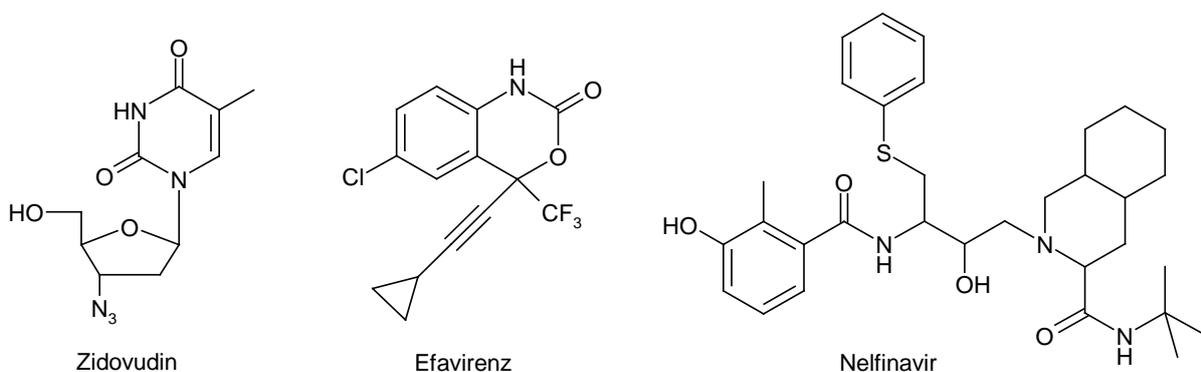


Abb. 4. Beispiele für antiretrovirale Arzneistoffe.