

Abstract der Dissertation: Die Bedeutung viraler Determinanten für die Pathogenität muriner Leukämieviren

Michaela Rodenburg, Prüfungstermin: 05. September 2003, 11 Uhr

Murine Leukämieviren induzieren in infizierten Mäusen verschiedene Leukämieformen. Die Leukämie wird durch die zufällige und stabile Integration der Proviren in das Genom der infizierten Zellen induziert. Diese Integrationen können zur Aktivierung zellulärer Gene führen. *In vivo* wird auf Provirusintegrationen selektioniert, die der infizierten Zelle einen Wachstumsvorteil verschaffen. Dieser rapide anwachsende Zellpool führt dann zur Tumorbildung. Die Charakterisierung der Integrationsstellen hat zur Entdeckung von zahlreichen Onkogenen geführt, die auch in der humanen Tumorentwicklung eine wichtige Rolle spielen.

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, welche Sequenzen im Genom von murinen Leukämieviren einen Einfluss auf die Art der induzierten Leukämie haben. Da das Moloney-MuLV vorwiegend T-Zellen und das 10A1-MuLV im Gegensatz dazu myeloblastische Zellen transformieren kann, wurden bestimmte Bereiche der Genome durch die entsprechenden Sequenzen aus dem anderen MuLV ersetzt. Die auf diese Weise hergestellten chimären Retroviren wurden dann im NIH/Ola-Mausmodell getestet. In früheren Arbeiten wurde gezeigt, dass die „Long Terminal Repeats“ (LTR) einen Einfluss auf die Zellspezifität eines MuLVs haben, da diese die für die Transkription in bestimmten Zelltypen wichtigen Enhancer-Elemente enthalten. In der vorliegenden Arbeit wurde dagegen gezeigt, dass es zwei Bereiche außerhalb des LTRs gibt, die einen starken Einfluss auf die Art der induzierten Leukämie haben. Für die Induktion von myeloblastischen Lymphomen sind vor allem die 10A1 *env*-Sequenzen und die damit verbundene Rezeptornutzung von Pit1 wichtig. Die Aktivierung des Transkriptionsfaktors *Fli-1* scheint ebenfalls für die Transformation der Vorläuferzellen essentiell zu sein und einen Selektionsvorteil für diese Zellen *in vivo* zu bedeuten. Des Weiteren hat der stromabwärts vom LTR gelegene Leader-Bereich einen stärkeren Einfluss auf die Art der induzierten Leukämie als die LTR-Sequenzen. Der vom Moloney-MuLV stammende Leader-Bereich ist in dem hier verwendeten Mausmodell eine stärkere Determinante für die Induktion einer T-Zell-Leukämie als das thymotrope Moloney-LTR. Der entsprechende vom 10A1-MuLV stammende Bereich scheint dagegen die

Entwicklung von blastischen Lymphomen zu ermöglichen, wenn dieser Einfluss nicht durch das starke Moloney-LTR maskiert wird.

In weiteren Untersuchungen sollte nun geklärt werden, wie der Leader-Bereich die Induktion verschiedener Leukämieformen beeinflussen könnte. Diese Region umfasst für den retroviralen Entwicklungszyklus wichtige regulatorische Elemente, wie die Verpackungssequenz für die virale RNA (Ψ), die Primer-Bindungsstelle (PBS), das Dimerisierungssignal (DLS) und eine interne Ribosomeneintrittsstelle (IRES). Darüber hinaus liegt im Leader-Bereich auch das Initiations-Kodon für das für die Virusstruktur nicht erforderliche glykoGag-Protein. Dieses Protein wird nach der Glykosylierung und Prozessierung zur Zellmembran transportiert und konnte auch in Viruspartikeln nachgewiesen werden. Die Funktion dieses Proteins im retroviralen Entwicklungszyklus ist unbekannt, es konnte aber gezeigt werden, dass es wichtig für die Virusausbreitung und Pathogenität *in vivo* ist. Analysen des glykoGag-Expressionsniveaus in MuLV-infizierten SC-1 Zellen zeigten, dass die Moloney Leader-Region zu einem niedrigen, die 10A1 Leader-Region dagegen zu einem hohen glykoGag-Expressionslevel führte. Die Herkunft der den Leader-Bereich flankierenden Sequenzen hatte dabei keine Auswirkungen auf die Expression des Proteins. Das glykoGag-Expressionsniveau korreliert also mit der Induktion bestimmter Leukämieformen. Das Expressionsniveau des glykoGag-Proteins könnte also einen wichtigen Parameter für die Zellspezifität eines MuLVs darstellen. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass andere Bereiche innerhalb des Leaders, die die Virusreplikation *in vivo* beeinflussen, ebenfalls an der Zellspezifität beteiligt sind. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass zwei Bereiche außerhalb des LTRs durch die Virus-Wirts-Interaktion die Leukämiespezifität beeinflussen.