

Prof. Josef Eberle

Resistenz gegen Enfuvirtid aus virologischer Sicht

Der Fusionsinhibitor Enfuvirtid (früher T-20) ist ein H2-Analogon. Resistenz-Mutationen wurden vor allem in der H1-Domäne beschrieben. Der Wirkungsverlust durch einzelne Mutationen zeigt deutliche Unterschiede. Resistente Viren scheinen jedoch weniger fit zu sein. Der H2-Bereich ist im Vergleich zur H1-Domäne aufgrund seiner höheren Variabilität schwieriger zu beurteilen. Man geht davon aus, dass es hier in erster Linie zu adaptiven Folgemutationen kommt.

Enfuvirtid (Fuzeon®) wurde zunächst fast ausschließlich im Salvage-Bereich bei multipel vortherapierten Patienten eingesetzt, die häufig schon gegen alle Substanzen-Klassen resistent waren. In vielen Fällen war Enfuvirtid das einzige noch aktive Medikament. Unter einer solchen funktionellen Monotherapie war das Auftreten von Resistenzmutationen absehbar. Dennoch hat es eine Zeit lang gedauert, bis ausreichend Daten zusammengetragen waren, um die Enfuvirtid-Resistenz zu beschreiben. In diesem Beitrag stehen folgende grundlegende Fragen im Mittelpunkt:

- Wie funktioniert Enfuvirtid?
- Welche Mutationen führen zu einer verminderten Wirksamkeit von Enfuvirtid?
- Wie wirkt sich die Enfuvirtid-Resistenz auf die Virusreplikation aus?
- Gibt es diese Mutationsmuster natürlicherweise bei unselektierten Viren?
- Gibt es für die Interpretation von gp41-Sequenzen Hilfestellungen?

Wie funktioniert Enfuvirtid?

Die Aufnahme (Entry) von HIV-1 in die Zielzelle erfolgt in den drei Schritten Anlagerung, Co-Rezeptorbindung und Fusion. Der erste Kontakt (1. Phase Anlagerung) findet zwischen dem viralen Hüllprotein gp120 und einer Domäne des zellulären CD4-Moleküls statt. In der Folge (2. Phase: Co-Rezeptorbindung) kommt es zu einer sterischen Umformung von Ligand (gp120) und Rezeptor (CD4). Dabei wird eine Neutralisations-empfindlichen Struktur des viralen gp120, die sogenannte V3-Schleife, exponiert. Diese Struktur ist der zweite Ligand des Virus und für die Bindung an den zellulären Co-Rezeptor zuständig.

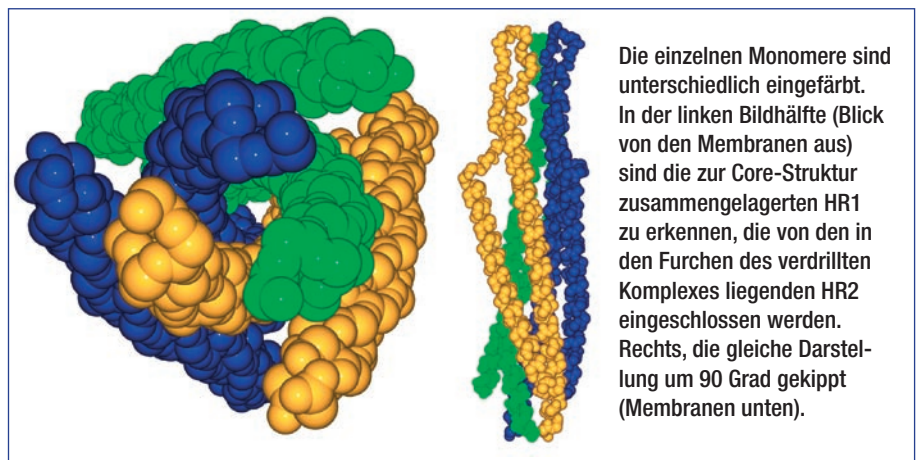


Abb. 1: Das fusionsaktive 6-Helix-Bündel

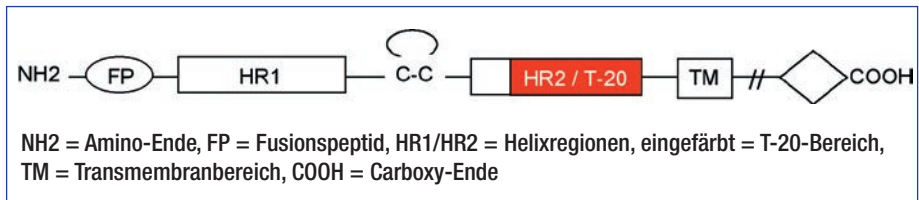


Abb. 2: Linearer Aufbau des gp41 von HIV-1

Häufig wird der CCR5- oder CXCR4-Rezeptor benutzt, ein Molekül aus der Familie der Cytokin-Rezeptoren.

Bei der Co-Rezeptorbindung kommen sich Virus und Zelle schon recht nahe, was die Umformung der gp41-Trimere in der Virushülle auslöst. Die aminoterminalen Fusionspeptide des Virus können sich in der Zellmembran verankern. Anschließend bilden die drei aminoterminalen Helices ein in sich verdrehtes Bündel von drei HR1-Helices aus, um das herum sich im nächsten Schritt die carboxyterminalen Helices (HR2) in die hydrophilen Furchen einpassen. Auf diese Weise entsteht die fusionsaktive Struktur von sechs ineinander verdrehten Helices (Abb. 1). Im nächsten Schritt

(3. Phase: Fusion) kommen sich die Lipidschichten von Virus- und Zellmembran so nahe, dass sie fusionieren.

Enfuvirtid ist ein synthetisches Peptid aus 36 Aminosäuren, deren Abfolge der carboxyterminalen „heptad repeat“-Region (Helixregion 2 = HR2) des transmembranen Glykoproteins gp41 (Aminosäuren 117-162) eines Clons (HxB2) von HIV-1_{LAI} entspricht. Damit ist die Substanz ein H2-Analogon, das an HR1 (Aminosäuren 29-82) bindet und dadurch die Bildung der fusionsaktiven gp41-Struktur und in der Folge die Fusion verhindert. HIV wird nicht in die Zelle aufgenommen und kann diese nicht infizieren.

Meist Mutationen in HR1-Region

Im Vergleich mit der Reversen Transkriptase und der Protease ist die Zielregion für Fusions-Inhibitoren deutlich schlechter konserviert, das heißt, neben wenigen konservierten Aminosäuren finden wir viele Positionen, an denen natürlicherweise verschiedene Aminosäuren vorkommen. Dieser Spielraum ist offensichtlich für die HR2-Region größer als für die HR1-Region. Demzufolge sollten HR2-Peptide, zu denen auch Enfuvirtid gehört, als Inhibitoren auf eine geringere Vielfalt bei den Bindungspartnern treffen und entsprechend häufiger passen.

In HR1 wurden bei Patienten mit Therapieversagen unter Enfuvirtid vor allem Aminosäureaustausche an den Positionen 36, 37, 38, 40, 42, 43, 44 und 45 gesehen. Über ihre Häufigkeit und das Ausmaß der einzelnen Substitutionen für die Therapieresistenz gibt es mittlerweile mehrere Berichte (z.B. Mink M, et al., Wei X, et al.). Der Faktor des Wirkverlustes beträgt dabei je nach Mutation oder Kombination von Mutationen zwischen dem 10fachen bis zum mehr als 500fachen. Am häufigsten wurden Mutationen an den Positionen 38, hier vorwiegend von Valin zu Alanin, 42 von Asparagin zu Asparaginsäure oder Threonin und an Position 43 von Asparagin zu Asparaginsäure oder einer ganzen Reihe weiterer Aminosäuren beobachtet. Diese Mutationen und auch Kombinationen von einigen weiteren konnten auch in einer eigenen kleinen Untersuchung in München gefunden werden, an der einige Behandlungszentren teilnahmen.

H2-Bereich schwer beurteilbar

Der Bereich zwischen den helikal geordneten Proteinabschnitten und die HR2-Region sind schlechter konserviert. Hier treten an vielen Positionen auch ohne Enfuvirtid-Selektion viele unterschiedliche Aminosäuren auf, so dass die Bewertung solcher Substitutionen unter Therapie schwer fällt. Nach heutigem Verständnis handelt es sich wohl nicht um Resistenz-verursachende Mutationen, sondern um adaptive Folgemutationen, die eine für das Virus ungünstige Mutation in HR1 zu kompensieren versuchen. Zu diesen Austausch gehört die Mutation an Position 138 (Xu L, et al.) und eine Mutation an Position 126, die im direkt an Enfuvirtid angrenzenden



Abb. 3:
Enfuvirtid
wird subkutan
gespritzt

Nachbarbereich liegt.

Für die Mutation an Position 126 wurde in vitro gezeigt (Baldwin CE, et al.), dass sie sogar neben einer geringen Enfuvirtid-Resistenz eine Enfuvirtid-Abhängigkeit zur Folge hat. Das heißt, dass bei einem bestimmten Konzentrationsbereich von Enfuvirtid Viren mit dieser Mutation schneller replizieren als ganz ohne Enfuvirtid. Für die Praxis hätten solche Mutationen den schönen Nebeneffekt, dass die mutierten Viren bei Absetzen von Enfuvirtid benachteiligt wären und so eine Art Schaukeltherapie möglich sein könnte.

Resistenz und Fitness

Offensichtlich ist es für HIV möglich, wie bei allen anderen Therapien, auch unter Entry-Inhibitoren wie Enfuvirtid Resistenz-Mutationen zu akquirieren und damit unter Therapie zu replizieren. Allerdings kann regelmäßig beobachtet werden, dass die hauptsächlich für Resistenz verantwortlichen Mutationen schon wenige Wochen nach Absetzen der Therapie wieder verschwinden. Die replikative Fitness der mutierten Viren verhielt sich in einer Untersuchung genau umgekehrt zur Resistenz (Lu J, et al.), d.h. resistente Viren scheinen weniger fit zu sein. Dazu passen auch klinische Beobachtungen, dass Patienten unter Enfuvirtid selbst nach Auftreten von Resistenz (Mutation V38A) einen weiteren CD4-Anstieg, teilweise sogar nach Absetzen der Therapie aufweisen (Aquaro S, et al.).

Natürliche Mutationsmuster?

Obwohl, wie oben erwähnt, die gp41-Region insgesamt sehr variabel ist, sind die für Resistenz verantwortlichen Posi-

tionen relativ gut konserviert, so dass die typischen Mutationen der Enfuvirtid-Resistenz bei Wildtypviren nicht auftreten. Es gibt also keine natürlich resistenten Viren. Es kann allerdings sein, dass beim Zusammenwirken verschiedener Aminosäuren im HR1-HR2-Kontakt ein individuelles Virus eine deutlich geringere Beeinflussbarkeit durch Enfuvirtid hat. Deshalb spricht die Therapie auch nicht bei allen Patienten gleichermaßen gut an.

Interpretationshilfen

Neben kommerziell verfügbaren Sequenztests für den Enfuvirtid-relevanten gp41-Bereich gibt es inzwischen auch mehrere Vorschläge zur Interpretation von Mutationen in dieser Region. Eine neue Internetseite bietet den kostenlosen Service, die Interpretationsvorschläge der einschlägigen öffentlich zugänglichen Algorithmen automatisch auszuwerten. Dort erhält man neuerdings auch einen Vorschlag für die Bedeutung der Nukleinsäuresequenzen von gp41 für die Enfuvirtid-Resistenz (www.hiv-grade.de). ■

Prof. Josef Eberle
Max von Pettenkofer-Institut
Pettenkoferstr. 9a · 80336 München
Email: eberle@lmu.de

Literaturzitate und weitere Quellen

Aquaro S, et al. (2006) *Conf. on Retroviruses and Opportunistic Infections*, Abstract 596
Baldwin CE, et al. (2004) *J Virol*, 78:12428-12437
Lu J, et al. (2004) *J Virol*, 78:4628-4637
Mink M, et al. (2005) *J Virol*, 79:12447-12454
Wei X, et al. (2002) *Antimicrob Agents Chemotherapy*, 46:1896-1905
Xu L, et al. (2005) *Antimicrob Agents Chemotherapy*, 49:1113-1119
Links zum Interpretationsalgorithmus HIV-GRADE (mit Anbindung von ANRS, Stanford HIV DB, Geno2Pheno, u.a.) über www.hiv-grade.de