

Stellungnahme der ZKBS
zur Risikobewertung von porzinen endogenen Retroviren
als Spender- oder Empfängerorganismen gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

In Abhängigkeit von Rasse und Züchtung enthalten Schweinegenome unterschiedlich viele Kopien proviraler Genome des *Porcine type-C oncovirus* (veraltet: porcine endogenous retrovirus, PERV) [1; 2]. Dabei kodieren nur wenige der proviralen Sequenzen für replikationskompetente Viren [3]. PERV gehören innerhalb der Familie der *Retroviridae* zum Genus *Gamma-retrovirus*. Sie weisen ein einfach aufgebautes (+)ssRNA-Genom mit einer Gesamtlänge von ca. 8 - 9 kb auf [3]. Das Genom enthält die Gene *gag*, *pol* und *env*, welche von den *long terminal repeats* flankiert werden. Bislang sind drei verschiedene PERV-Subtypen (PERV-A, PERV-B und PERV-C) beschrieben, die weit verbreitet sind. Während PERV-A und PERV-B bei allen Schweinen vorkommen, ist das phylogenetisch jüngere PERV-C bei ca. 90 % aller Schweine vorhanden [4; 5]. Die drei Subtypen unterscheiden sich vor allem in ihren Hüllproteinen, so dass sie an verschiedene zelluläre Rezeptoren binden [1; 6].

Für die Subtypen PERV-A und PERV-B wurde gezeigt, dass sie *in vitro* über einen breiten Wirtsbereich verfügen. Dieser umfasst auch humane Zelllinien, die von PERV-A und PERV-B produktiv infiziert werden können [2; 7 - 11]. Die von den humanen Zellen produzierten Viruspartikel sind resistent gegenüber einer Inaktivierung durch das humane Komplementsystem [7]. Damit besteht das Potenzial, dass sich PERV im Menschen replizieren und ausbreiten können. Im Rahmen klinischer Studien erhielten bereits > 200 Patienten ein porzines Xenotransplantat (Gewebe oder Zellen). Bei keinem der Patienten wurde jedoch eine Übertragung von PERV festgestellt [4].

Für den Subtyp PERV-C wurden ebenfalls Experimente zur Ermittlung des Wirtsbereichs durchgeführt. Dabei wurden vom *Murine leukemia virus* abgeleitete Vektorpartikel, die ein Reporter gen übertragen, mit dem Hüllprotein von PERV-C pseudotypisiert. Mit diesen Partikeln konnten porzine Zelllinien sowie eine Charge der humanen Fibrosarkomzelllinie HT1080 transduziert werden [9]. Dieses Ergebnis konnte nicht mit anderen Chargen derselben Zelllinie reproduziert werden. In Anwesenheit der Rezeptorbindedomäne des Hüllproteins des *Gibbon ape leukemia virus* konnten mit dem Hüllprotein von PERV-C pseudotypisierte, replikationsdefiziente Partikel jedoch die humane Zelllinie HeLa transduzieren [12]. In der Literatur wird daher die Frage diskutiert, ob ein Hüllprotein eines humanen endogenen Retrovirus einen ähnlichen transaktivierenden Effekt haben könnte [4]. In den bisherigen *in vitro*-Infektionsstudien erwies sich PERV-C jedoch stets als ecotrop.

Über die drei Subtypen hinaus sind in somatischen porzinen Zellen auch natürliche Rekombinanten zwischen PERV-A und PERV-C beschrieben [4; 13]. Sie besitzen die Rezeptorbindedomäne von PERV-A und sind daher ebenfalls polytrop.

Bei Schweinen und beim Menschen sind bislang keine Erkrankungen beschrieben, die mit PERV ursächlich im Zusammenhang stehen. Im Verlauf einer Infektion integriert das virale Genom jedoch ungerichtet in das Genom der Wirtszelle. Im Rahmen dieser Insertionsmutagenese können zelluläre Onkogene aktiviert oder zelluläre Tumorsuppressorgene inaktiviert

werden. Bei einer hohen Viruslast können PERV zudem immunsuppressiv wirken, da das Hüllprotein bei hohen Konzentrationen eine ähnlich inhibierende Wirkung auf die Proliferation humaner Mitogen-stimulierter Lymphozyten aufweist wie die Hüllproteine des *Human immunodeficiency virus 1* und des *Baboon endogenous virus* [14].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden die polytropen Subtypen PERV-A und PERV-B sowie rekombinante PERV-A/C als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet. Der ecotrope Subtyp PERV-C wird der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Die polytropen Retroviren PERV-A, PERV-B und PERV-A/C besitzen einen breiten Wirtsbereich, der auch humane Zelllinien einschließt. Eine Übertragung auf den Menschen und eine daraus resultierende Insertionsmutagenese sind für diese Viren somit nicht auszuschließen. Der Wirtsbereich des ecotropen Subtyps PERV-C beschränkt sich hingegen auf Schweine.

Literatur

1. Akiyoshi DE, Denaro M, Zhu H, Greenstein JL, Banerjee P, and Fishman JA. (1998). Identification of a full-length cDNA for an endogenous retrovirus of miniature swine. *J Virol* **72**(5):4503-7.
2. Yang L, Güell M, Niu D, George H, Lesha E, Grishin D, Aach J, Shrock E, Xu W, Poci J, Cortazio R, Wilkinson RA, Fishman JA, and Church G. (2015). Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs). *Science* **350**(6264):1101-4.
3. Czauderna F, Fischer N, Boller K, Kurth R, and Tönjes RR. (2000). Establishment and characterization of molecular clones of porcine endogenous retroviruses replicating on human cells. *J Virol* **74**(9):4028-38.
4. Denner J, and Tönjes RR. (2012). Infection barriers to successful xenotransplantation focusing on porcine endogenous retroviruses. *Clin Microbiol Rev* **25**(2):318-43.
5. Niebert M, and Tönjes RR. (2005). Evolutionary spread and recombination of porcine endogenous retroviruses in the *Suiformes*. *J Virol* **79**(1):649-54.
6. Le Tissier P, Stoye JP, Takeuchi Y, Patience C, and Weiss RA. (1997). Two sets of human-tropic pig retroviruses. *Nature* **389**:681-2.
7. Patience C, Takeuchi Y, and Weiss RA. (1997). Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nat Med* **3**(3):282-6.
8. Niu D, Wei HJ, Lin L, George H, Wang T, Lee IH, Zhao HY, Wang Y, Kan Y, Shrock E, Lesha E, Wang G, Luo Y, Qing Y, Jiao D, Zhao H, Zhou X, Wang S, Wei H, Güell M, Church GM, and Yang L. (2017). Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science* **357**(6357):1303-7.
9. Takeuchi Y, Patience C, Magre S, Weiss RA, Banerjee PT, Le Tissier P, and Stoye J. (1998). Host range and interference studies of three classes of pig endogenous retrovirus. *J Virol* **72**(12):9986-91.

10. Martin U, Kiessig V, Blusch JH, Haverich A, von der Helm K, Herden T, and Steinhoff G. (1998). Expression of pig endogenous retrovirus by primary porcine endothelial cells and infection of human cells. *Lancet* **352**:692-4.
11. Wilson CA, Wong S, Muller J, Davidson CE, Rose TM, and Burd P. (1998). Type C retrovirus released from porcine primary peripheral blood mononuclear cells infects human cells. *J Virol* **72**(4):3082-7.
12. Lavillette D, and Kabat D. (2004). Porcine endogenous retroviruses infect cells lacking cognate receptors by an alternative pathway: implications for retrovirus evolution and xenotransplantation. *J Virol* **78**(16):8868-77.
13. Karlas A, Irgang M, Votteler J, Specke V, Özel M, Kurth R, and Denner J. (2010). Characterisation of a human cell-adapted porcine endogenous retrovirus PERV-A/C. *Ann Transplant* **15**(2):45-54.
14. Denner J. (1998). Immunosuppression by retroviruses: implications for xenotransplantation. *Ann N Y Acad Sci* **862**:75-86.