

INHALT

DIAGNOSTIK UND THERAPIE

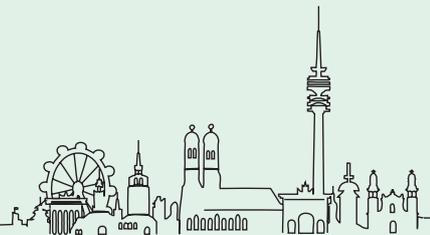
- ▶ **LENACAPAVIR, der erste First-in-Class-Kapsid-Inhibitor: So nah und doch noch fern**
Patrick Braun **S. 2**

DER KLINISCHE FALL

- ▶ **Falsch-positive HIV-NAT-Ergebnisse nach CAR-T-Zell-Therapie**
Priv.-Doz. Dr. med. Anja Tröger,
Prof. Dr. med. Jürgen Wenzel **S. 6**
- ▶ **HIV-1-Resistenz im Zentralnervensystem (ZNS)**
Tobias Manuel Appel,
PD Dr. Martin Stürmer,
Prof. Dr. med. Christoph Stephan **S. 8**

FÜR SIE GELESEN

- ▶ **Der dritte Fall**
PD Dr. rer. nat. habil. med.
Hanna-Mari Baldauf **S. 11**



Für den Inhalt der Artikel sind die Autoren* allein verantwortlich.

Ziel dieses Bulletins ist es, Ärzte, Gesundheitsbehörden und Patienten über aktuelle wissenschaftliche sowie klinische Themen aus dem Bereich der Retroviren zu informieren. Zweimal im Jahr wird in kurzer Form der aktuelle Forschungsstand zu verschiedenen Themen wiedergegeben. Für Verbesserungsvorschläge und Anregungen sind wir sehr dankbar.

*Aus Gründen guter Lesbarkeit verwenden wir im Text des Bulletins überwiegend das generische Maskulinum, das selbstverständlich und gleichberechtigt alle Geschlechter einbezieht!

Die Redaktion



EDITORIAL

Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,
sehr geehrte Damen und Herren,

ich freue mich, Ihnen die erste Ausgabe des »Retroviren Bulletins« des Jahres 2023 aus München vorzustellen.

Patrick Braun, Labor- und Projektleiter am PZB Aachen, stellt in seinem Artikel Lenacapavir, den ersten bis zur klinischen Reife entwickelten HIV-1-Kapsid-Inhibitor vor. Seit 2022 steht dieser neue antivirale Ansatz für eine orale und auch langwirksame parenterale Anwendung über internationale Apotheken zur Verfügung. Therapeutische Kombinations- und auch PrEP-Studien werden in den kommenden Jahren seine Rolle bei der Behandlung und Prävention der HIV-1-Infektion aufzeigen.

PD Dr. Anja Tröger und **Prof. Jürgen Wenzel** vom Universitätsklinikum Regensburg berichten über den Fall eines im Rahmen einer akuten Leukämie mit einer CAR-T-Zell-Therapie behandelten Kindes, das im Nachgang ein falsch-positives HIV-1-PCR-Ergebnis hatte. Hintergrund ist die Verwendung HIV-basierter Gen-Vehikel bei der Herstellung dieser therapeutischen T-Zellen, was zu positiven HIV-1-PCR-Ergebnissen selbst in Plasmaproben führen kann. Onkologen sollten sich dieser Tatsache bewusst sein, um emotionale Belastungen für Patientinnen und Patienten sowie unnötige Diagnostik zu vermeiden.

Ein weiterer spannender Fall beschreibt eine HIV-1-Resistenz im Zentralnervensystem einer aus Uganda stammenden Patientin, die sich mit starken Kopfschmerzen und Lichtscheu vorstellte. **Tobias Appel**, **PD Dr. Martin Stürmer** und **Prof. Christoph Stephan** aus Frankfurt berichten, dass unter Therapieumstellung von einer Nukleosid-/Nukleotid-Kombination auf einen modernen Integrase-Inhibitor eine Verminderung der Viruslast in der Rückenmarksflüssigkeit (CSF) und eine Besserung der neurologischen Beschwerden zu verzeichnen war.

In der Rubrik »Für Sie gelesen« widmet sich **PD Dr. Hanna-Mari Baldauf** dem »dritten Fall« einer sicher dokumentierten Heilung einer HIV-1-Infektion. Die wissenschaftliche Begleitung der Patienten, die in »Berlin«, »London« und nun »Düsseldorf« behandelt wurden, ist wichtig, um diese risikobehaftete und derzeit besonderen Konstellationen vorbehaltene Heilungsoption besser zu verstehen und breitere Heilungsansätze zu entwickeln.

Mit allen guten Wünschen,
Ihr Professor Oliver T. Kepler

LENACAPAVIR, der erste First-in-Class-Kapsid-Inhibitor: *So nah und doch noch fern ...*

Seit 1987 wurden zahlreiche antivirale Substanzklassen für die Behandlung der HIV-Infektion entwickelt. Aktuell werden Nukleosid-/Nukleotidanaloga, Nicht-nukleosidale Reverse-Transkriptase-Inhibitoren, Integrase-Inhibitoren, Protease-Inhibitoren sowie Entry-Inhibitoren eingesetzt. Das Arsenal wurde 2022 um die neue Klasse der Kapsid-Inhibitoren erweitert. Das Kapsid nimmt sowohl in der frühen als auch in der späten Phase des HIV-Replikationszyklus eine zentrale Rolle ein. Durch Verwendung von Kapsid-Inhibitoren werden somit zeitlich versetzt unterschiedliche Schritte im Vermehrungsprozess gestört.

Struktur des HIV-Kapsid (CA)

Das HIV-Kapsid (lat. Capsula: kleine Kapsel) ist eine Hülle, in der sich das virale Genom sowie u.a. HIV-spezifische Enzyme befinden. Grundbaustein eines HIV-Kapsids ist das p24-CA-Monomer, ein aus 231 Aminosäuren bestehendes Protein. CA-Monomere werden von der HIV-Protease durch proteolytische Spaltung aus den viralen Gag- und GagPol-Polypeptiden freigesetzt. Während der Maturationsphase fügen sich fünf bis sechs CA-Monomere zu pentameren oder hexameren Kapsomeren zusammen, die dann durch Vernetzung die charakteristische, konische Struktur des HIV-Kapsids bilden. Ein Kapsid besteht in der Regel aus einem Gitternetz von etwa 200 Hexameren, in dem sieben Pentamere

am breiten und fünf am dünnen Ende des Kapsids integriert sind (**Abb. 1**). Die Pentamere sind notwendig, damit sich das Kapsid in konischer Form bilden kann. Ohne pentamere Kapsomere würden deformierte Kapside in Form von röhrenförmigen Hüllen entstehen [1, 2].

First-in-Class-Kapsid-Inhibitor: Lenacapavir

Lenacapavir (LEN, früher **GS-6207**, Handelsname: **Sunlenca®**) ist ein CA-Inhibitor, der im picomolaren Bereich antiviral wirkt. Bedingt durch eine langandauernde Wirksamkeit kann LEN nicht nur oral (täglich oder wöchentlich), sondern auch als subkutane Injektion im sechsmonatigen Abstand verabreicht werden. LEN liegt im

Arzneimittel als Lenacapavir-Natrium vor ($C_{39}H_{31}ClF_{10}N_7NaO_5S_2$, $M_r = 990,3 \text{ g/mol}$) äquivalent zur Konzentration von 463,5 mg Lenacapavir in 1,5 ml [3].

Die Wirkweise von LEN ist bis dato nur teilweise verstanden. Bekannt ist, dass LEN spezifisch an zwei angrenzende CA-Monomere bindet (**Abb. 2**). Dadurch werden sowohl die im Replikationszyklus benötigten Konformationsänderungen der CA-Proteine als auch die Bindung von zellulären Kofaktoren beeinträchtigt. Als Resultat wird in der frühen Phase des Replikationszyklus der nukleäre Import der viralen Erbinformation und in der späten Phase die Entstehung neuer infektiöser Viruspartikel inhibiert (**Abb. 3**) [10, 27].

Der HIV-Replikationszyklus wird daher sowohl in der frühen als auch späten Phase durch LEN gehemmt. Noch vor wenigen Jahren war man der Auffassung, dass sich das Kapsid bereits im Zytoplasma destabilisiert und auflöst. Nun ist bekannt, dass das Kapsid unversehrt entlang der Mikrotubuli durch die Zellporen transportiert wird und die Kapsidhülle erst im Zellkern in Einzelteile zerbricht (**Abb. 3**) [4].

Es wird zum einen postuliert, dass LEN die Bindung von nukleären Importproteinen (Nup153, CPSF6) an das Kapsid behindert, sodass der Transport in den Zellkern gestört ist [10, 27]. Durch die Inhibition des nukleären Imports wird die Integration der viralen Erbinformation in die zelluläre DNA verhindert. Sollte doch virale DNA in den Zellkern gelangen, wird zusätzlich deren Integration durch LEN gestört, weil CPSF6 auch die virale Integration koordiniert [27]. Zum anderen wird vermutet, dass durch die Bindung der CA-Inhibitoren die Flexibilität der CA-CA-Bindungen beeinträchtigt wird. Der CA-Inhibitor LEN bewirkt durch die Bindung an das CA, dass die Gitterstruktur der Hülle in eine starre, aber stabilere Form überführt wird. Dadurch wird jedoch die Integrität des Kapsids negativ beeinflusst. Wie und wann die Kapsidhülle nach Bindung des CA-Inhi-

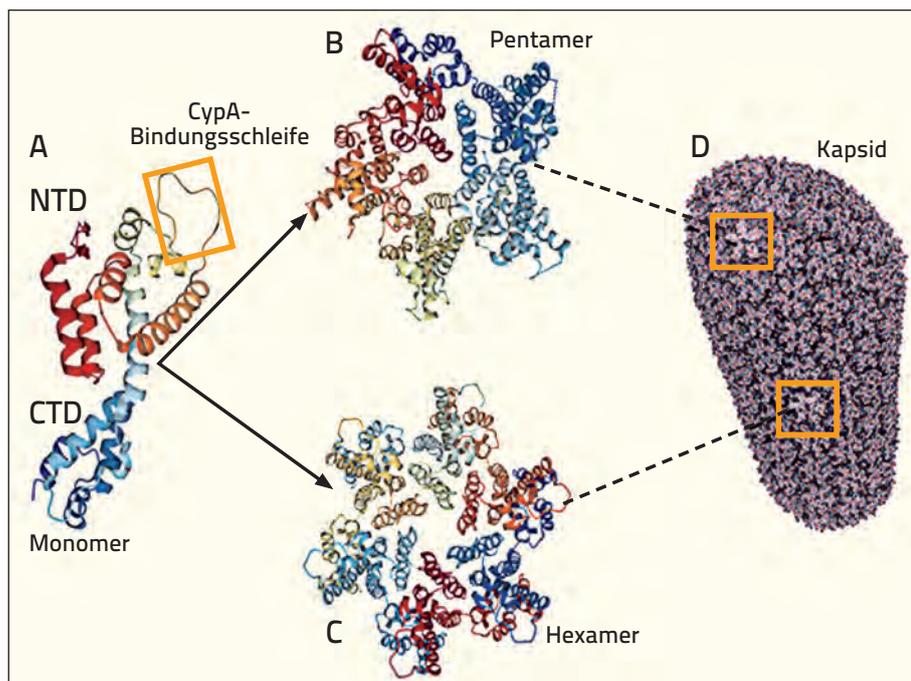


Abb. 1: Struktur eines HIV-1-Kapsids. **A** = Struktur eines CA-Monomers mit N-terminaler Domäne (NTD), C-terminaler Domäne (CTD) und CypA-Bindungsschleife; **B** = Struktur eines pentameren Kapsomers; **C** = Struktur eines hexameren Kapsomers; **D** = konisches Kapsid mit 186 hexameren und 12 pentameren Untereinheiten.

(Quelle: [1] Al Burtamani et al. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

bitors im Zellkern aufbricht, ist bisher nicht geklärt [5, 6, 7]. Im späteren Stadium des Replikationszyklus wird die Virusassemblierung und -freisetzung gestört, indem u.a. durch Eingriff im Gag/GagPol-Prozess die Produktion von CA-Untereinheiten reduziert wird [10].

Im letzten Schritt der Maturation entstehen durch Bindung der CA-Inhibitoren fehlgeformte Kapside in Form röhrenartiger Hüllen ohne integrierte pentamere Kapsomere [8]. Grundlage hierfür ist die gesteigerte Geschwindigkeit bei der CA-CA-Zusammenlagerung durch LEN, was die Ausbildung eines funktionalen, konischen Kapsids verhindert [10]. Die antivirale Wirksamkeit ist in der frühen Phase zehnmal höher als in der späten Phase des Replikationszyklus (EC₅₀: 23 pM versus 439 pM) [10].

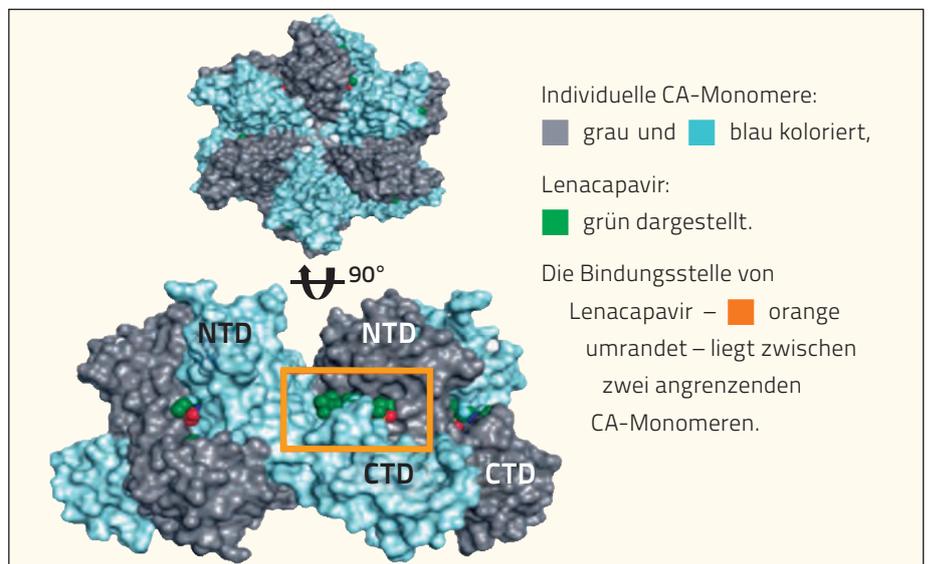


Abb. 2: X-ray Kristallstruktur der Auf- und Seitenansicht eines Hexamers.
 (Quelle: [10] Link JO, Rhee MS, Tse WC et al. ▶ <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2443-1>)

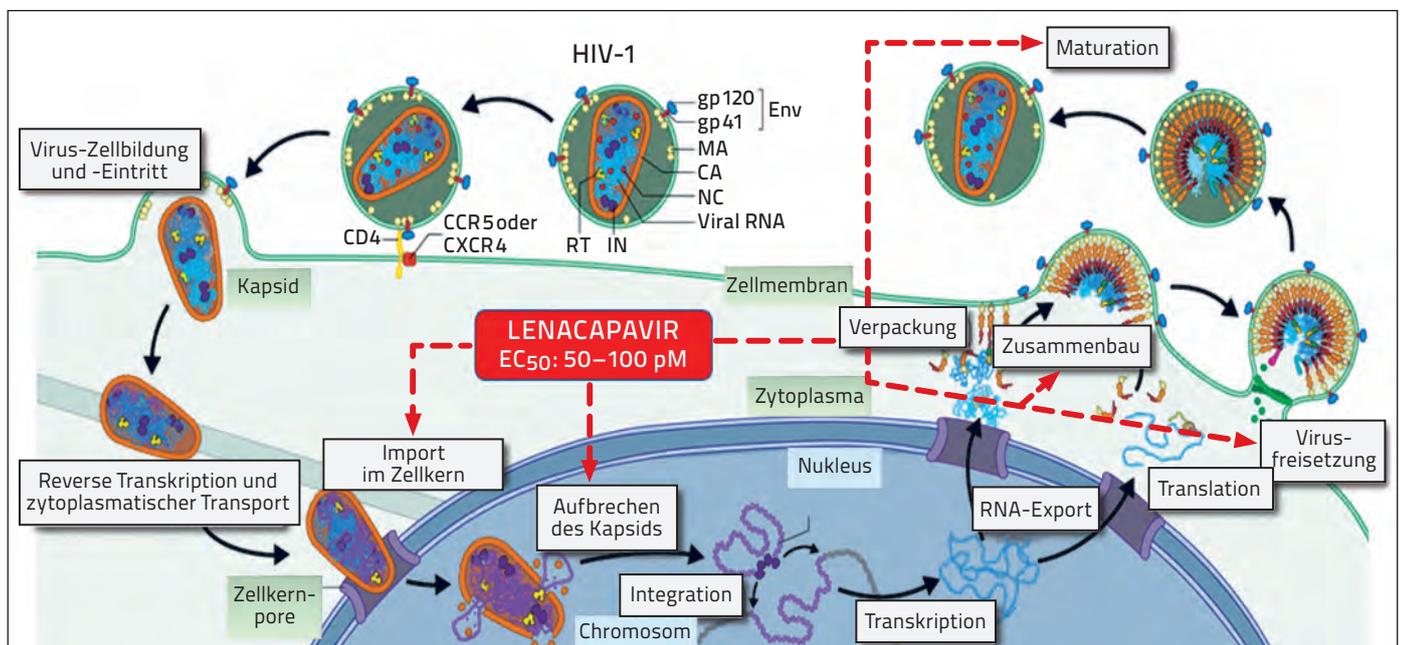


Abb. 3: Schematische Darstellung des Replikationszyklus von HIV mit Angriffspunkten von LEN (rot).
 (adaptiert nach ▶ <https://scienceofhiv.org/wp/life-cycle/> und ▶ <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)

Studienlage

Die Wirksamkeit und Verträglichkeit von LEN wird in vielen Kombinationen und unterschiedlichen Settings untersucht. Zwei wichtige Phase-II/III-Studien sind die **CAPELLA-Studie** [11] bei therapieerfahrenen Patienten und die **CALIBRATE-Studie** [12] bei therapie-naiven Patienten.

■ In der **CAPELLA-Studie** wurden Probanden mit multiresistenten HI-Viren und aktuellem Therapieversagen mit LEN (in Kombination mit einer optimierten Begleittherapie) behandelt. Sie bekamen nach einer 14-tägigen oralen *Lead-in*-Phase alle sechs Monate eine subkutane Injektion mit LEN. Bei Zugabe von LEN zum versagen-

den Therapieregime konnte man nach 15 Tagen eine mittlere Viruslastreduktion von $-2,1 \log$ HIV-1-RNA-Kopien/ml beobachten [11]. Nach 52 Wochen lag die Viruslast in 78% der Probanden (n=72) unterhalb von 50 HIV-1-RNA-Kopien/ml [13]. Im Gesamtkollektiv, bestehend aus randomisierter und nicht randomisierter Kohorte, wurden bisher bei neun von 72 Probanden Viren mit CA-Inhibitorresistenz nachgewiesen. Bei diesen Probanden lag eine funktionelle Monotherapie mit LEN vor [13]. In der Patientengruppe mit fortgeschrittener HIV-Erkrankung entwickelte sich die CD4-Zellzahl im Laufe der Studie positiv. Die Rate an Probanden mit anfänglich < 50 CD4-Zellen/μl lag zu Anfang bei 24% (17/72) und sank zu Woche 52 auf 2% (1/72). Die häu-

figsten Nebenwirkungen waren Übelkeit, Durchfall und Injektionsreaktionen. Es gab lediglich einen Studienabbruch wegen Injektionsreaktionen (Grade 1).

■ Die **CALIBRATE-Studie** ist die erste, in der untersucht wurde, ob eine langwirksame Substanz auch bei therapie-naiven Patienten wirksam ist. Das Kollektiv wurde in einem komplexen Studiendesign in vier Studienarme aufgeteilt. In einer 28-wöchigen Einleitungsphase wurde je nach Arm LEN oral QD oder subkutan Q6M in Kombination mit oralem Emtricitabin (FTC) und Tenofovirafenamid (TAF) QD gegeben. Anschließend wurden zwei Studienarme auf eine duale Therapie, bestehend aus LEN s.c. Q6M und oralem TAF QD oder oralem

Bictegravir (BIC) QD umgestellt. Der dritte Arm wurde unverändert fortgeführt, und der vierte Arm, bestehend aus TAF/FTC/BIC, fungierte als Kontrollarm. Im primären Endpunkt zu Woche 54 lag in den vier Studienarmen die HI-Viruslast bei 85 bis 92 % der Probanden unter 50 Kopien/ml. Bis Woche 80 hatten drei von sieben Probanden, die die Kriterien für eine Testung auf Resistenzentwicklung erfüllten, ein virologisches Versagen und resistente Viren gegen LEN entwickelt. Bei allen Probanden mit Resistenzentwicklung konnten die CA-Mutationen Q67H+K70R nachgewiesen werden [14]. Die häufigsten Nebenwirkungen waren Kopfschmerzen, Übelkeit und Injektionsreaktionen [12]. Es gab keine Studienabbrüche wegen Nebenwirkungen, jedoch vier wegen Injektionsreaktionen (alle Grade 1) [28]. Bemerkenswert ist, dass die Viruslast durch LEN ähnlich rasch abgesenkt wurde wie unter Integraseinhibitoren [12] (Abb. 4).

Auf Basis der CAPELLA-Daten wurde LEN in Kombination mit anderen antiretroviralen Substanzen für Erwachsene mit multiresistenten Viren, für die es sonst nicht möglich ist, ein suppressives Therapieregime zusammenzustellen, von der Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) zugelassen [3]. Jedoch wird der Hersteller Gilead derzeit LEN nicht in Deutschland einführen. Das ist sehr schade, da gerade diese Patienten zwingend neue Therapieoptionen benötigen. Damit entsprechende Patientengruppen trotzdem LEN erhalten können, muss der umständliche Weg über internationale Apotheken mit der zuvor eingeholten Kostenerstattungsgenehmigung erfolgen.

Resistenz

In vitro wurden Resistenzmutationen an acht Positionen im gag-Gen identifiziert: L56I, N57S, M66I, Q67H, Q67Y, K70N, K70A, N74D, N74S, A105E, T107N. Mit Ausnahmen der solitären Q67H und eventuell auch der N74D führen die anderen selektierten Mutationen zu einem viralen Fitnessverlust, dessen klinische Bedeutung allerdings noch unklar ist. Die solitäre Mutation M66I weist den höchsten Resistenzfaktor auf mit ca. 3.000 [10, 18, 26]. Keine der genannten Mutationen kommt, wie eine Analyse von 1.500 klinischen Proben zeigte, als natürlicher Polymorphismus vor. Eine Resistenzanalyse vor Einsatz von LEN ist demnach bei HIV-1-Subtyp B und den untersuchten Non-B-Subtypen nicht notwendig [17, 25]. Gegenüber HIV-2 zeigt LEN eine Wirksamkeit, die jedoch um einen Faktor 10 schwächer ausfällt als gegenüber HIV-1 [9, 10]. Es ist daher nicht geklärt, ob

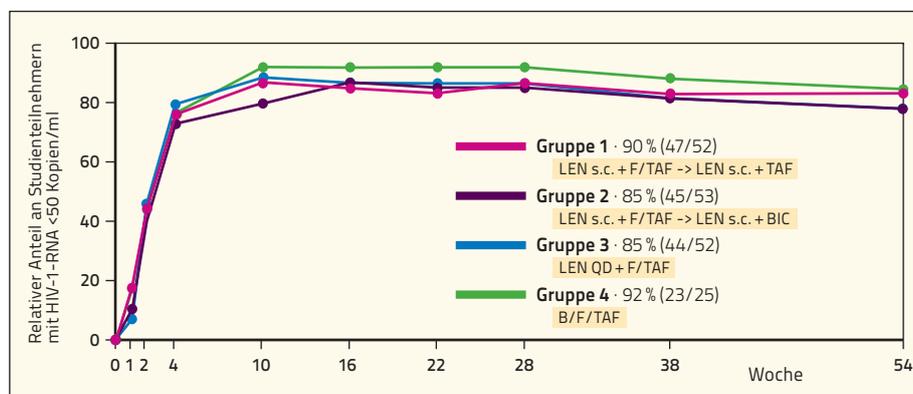


Abb. 4: CALIBRATE-Studie: Viruslastreduktion (%) unter subkutaner oder oraler Gabe von Lenacapavir in Kombination mit anderen antiviralen Substanzen (Gruppe 1 bis 3) im Vergleich zum Kontrollarm (Gruppe 4).

(Quelle: [12] Gupta A, Berhe M, Crofoot G et al. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(22\)00291-0](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(22)00291-0))

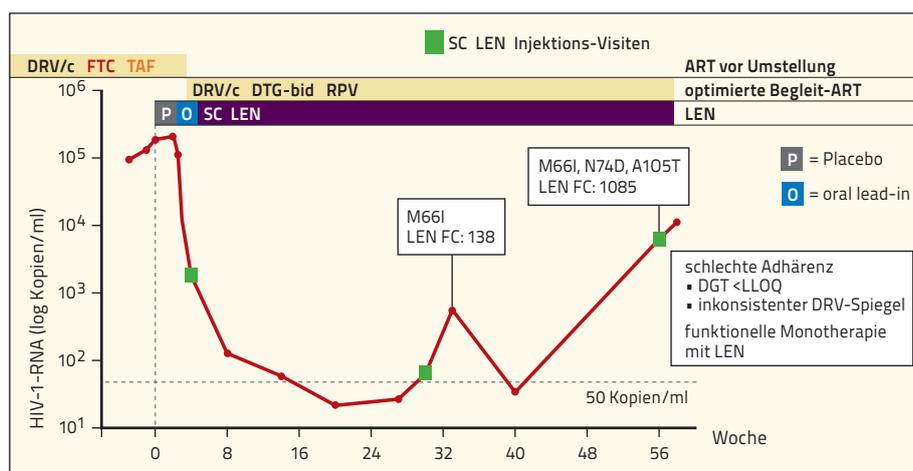


Abb. 5: Exemplarischer Patient der CAPELLA-Studie mit Therapieversagen unter LEN. Verlauf der HIV-1-RNA über die Zeit; detektierte Resistenzmutationen im gag-Gen mit entsprechendem Resistenzfaktor; unzureichende Adhärenz auf Basis von therapeutischen Spiegelmessungen postuliert.

(Quelle: [19] Margot N, Naik V, Vanderveen L et al. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiac364>)

die pharmakologischen Spiegel am Ende der sechsmonatigen Injektionsintervalle ausreichen, um eine HIV-2-Wirksamkeit zu gewährleisten. Es bestand *in vitro* keine Kreuzresistenz zwischen LEN und den anderen bestehenden Medikamentenklassen, einschließlich der Entry-Inhibitoren und dem nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Translokations-Inhibitor Islatravir [15, 16]. Die meisten der *in vitro* selektierten Resistenzmutationen wurden im Rahmen der klinischen Studien bestätigt. Darüber hinaus wurden weitere Mutationen identifiziert, die im deutschen HIV-Grade-Resistenz-Algorithmus berücksichtigt werden und im HIV-Buch gelistet sind, siehe dazu:

- ▶ <https://www.hiv-grade.de/>
- ▶ <https://www.hivbuch.de/>

Die Resistenzbarriere scheint nicht der eines Integrase-Inhibitors der zweiten Generation zu entsprechen. In der Phase-1b-Dosisfindungsstudie 4072 wurden unter 10-tägiger Monotherapie mit LEN bei zwei von 29 Probanden im Studienarm mit der niedrigsten Dosierung (20 mg LEN s.c.) resistente Viren mit der gag-Mutation Q67H

selektiert [18]. Diese Mutation wurde auch in der CALIBRATE-Studie bei drei zuvor therapie-naiven Patienten in Kombination mit K70R detektiert [14]. Dies scheint somit der primäre Resistenz-Pfad zu sein. Interessanterweise wurde bei den vielfältig vorbehandelten Personen mit HIV in der CAPELLA-Studie vor allem die M66I bei Resistenzentwicklung nachgewiesen, die sich initial entwickelte, teilweise gefolgt von weiteren Mutationen [19]. Somit gilt:

- Funktionelle Monotherapien sollten vermieden werden, da die Gefahr der Resistenzentwicklung sehr wahrscheinlich ist, wie in der CAPELLA-Studie gezeigt werden konnte [19].
- Weiterhin sollte eine nicht supprimierende Therapie zur Vermeidung von Resistenzakkumulation zeitnah umgestellt oder intensiviert werden (Abb. 5).

Dosierung von Lenacapavir

LEN wird nach einer nahrungsunabhängigen oralen Einleitungsphase subkutan an zwei verschiedenen Stellen im Abdomen

nach folgendem Schema injiziert [3]:

Einleitung

Tag 1 600 mg oral (2 x 300-mg-Tabletten)
Tag 2 600 mg oral (2 x 300-mg-Tabletten)
Tag 8 300 mg oral (1 x 300-mg-Tablette)
Tag 15 927 mg subkutane Injektion
(2 x 1,5-ml-Injektionen)

Erhaltung

Alle sechs Monate 927 mg subkutane Injektion (2 x 1,5-ml-Injektionen); das Injektionsfenster beträgt +/- zwei Wochen

Die orale Einleitungsphase ist wichtig, um bereits am Anfang ausreichend hohe pharmakologische Spiegel zu erreichen.

Medikamenteninteraktion

LEN ist ein Substrat von CYP3A und insbesondere von *permeability glycoprotein* (P-gp) und UGT1A1. Starke Inhibitoren dieser Signalketten, wie Rifampicin, führen zu einer signifikanten Senkung der Plasmakonzentration von LEN und sind damit kontraindiziert. Ebenso sollten starke Induktoren von CYP3A, P-gp und UGT1A1, wie Atazanavir/Cobicistat, vermieden werden, da diese ebenso zu einer signifikanten Erhöhung der Plasmakonzentrationen von LEN führen können. Die gleichzeitige Gabe von Inhibitoren oder Induktoren einzelner Signalwege sind laut Zulassungstext nicht kontraindiziert. LEN wird den moderaten Inhibitoren von CYP3A zugeordnet. Weiterführende Informationen zu möglichen Interaktionen sind im Zulassungstext von Sunlenca® gelistet [3]. LEN beeinträchtigt nicht die Leber- und Nierenfunktion.

Ausblick

LEN ist ein First-in-Class-Kapsid-Inhibitor mit einem neuen vielversprechenden Wirkansatz, hoher Potenz, oraler und – besonders hervorzuheben – parentaler Gabe mit langer Wirkdauer. Er wurde Mitte 2022 zunächst für Patienten mit multiplen resistenten HI-Viren ohne weitere Therapieoptionen zugelassen. Bedauerlicherweise wird diese wichtige Substanz für diese vulnerable Gruppe derzeit nicht in Deutschland eingeführt und muss aufwendig über internationale Apotheken geordert werden. Neben der Zulassungsstudie CAPELLA wird die Wirksamkeit von LEN in weiteren Studien mit dem Integrase-Inhibitor Bictegravir (tägliche orale Gabe) [23], mit dem nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Translokations-Inhibitor Islatravir (wöchentliche orale Gabe) [20] oder breitneutralisierenden Antikörpern (sechsmonatige parenterale Gabe) [21] untersucht. Bedingt durch den frühen Angriffspunkt im Repli-

kationszyklus und der langen Wirksamkeit ist LEN eine ideale Substanz zur HIV-Prävention. Somit ist es nicht verwunderlich, dass LEN auch im Rahmen von PrEP-Studien analysiert wird. Wahrscheinlich wird LEN jedoch zunächst in breiter Anwendung als »Switch-Option« in ein paar Jahren in Deutschland eingeführt werden.

Quellen

- 1 Al Burtamani N, Pau A, Fassati A. The Role of Capsid in the Early Steps of HIV-1 Infection: New Insights into the Core of the Matter. *Viruses* 2021, 13, 1161. <https://doi.org/10.3390/v13061161>
- 2 Rossi E, Meuser ME, Cunanan CJ, Cocklin S. Structure, Function, and Interactions of the HIV-1 Capsid Protein. *Life* (Basel). 2021 Jan 29;11(2):100. <https://doi.org/10.3390/life11020100>
- 3 EU Zulassung von Sunlenca®: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/sunlenca-epar-product-information_en.pdf
- 4 Zila V, Margiotta E, Turoňová B et al. Cone-shaped HIV-1 Capsids are transported through intact nuclear pores. *Cell*. 2021;184(4):1032-1046.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.025>
- 5 Selyutina A, Hu P, Miller S et al. GS-CA1 and lenacapavir stabilize the HIV-1 core and modulate the core interaction with cellular factors. *iScience*, Volume 25, Issue 1, 2022, 103593, ISSN 2589-0042. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103593>
- 6 Li C, Burdick RC, Nagashima K, Hu WS, Pathak VK. HIV-1 cores retain their integrity until minutes before uncoating in the nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118(10):e2019467118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2019467118>
- 7 Li C, Burdick RC, Hu WS et al. Lenacapavir disrupts HIV-1 core integrity while stabilizing the Capsid lattice. *CROI 2023, Seattle*. Poster abstract 215. https://croi.blob.core.windows.net/documents/215_Chenglei_Li_CROI_2023-133209746208509433.pdf
- 8 Kvaratskhelia M et al. Lenacapavir inhibits virion maturation by blocking formation of Capsid pentamers. *CROI 2023, Seattle*. Oral abstract 100.
- 9 Smith R, Raugi D, Nixon R et al. Antiviral activity of lenacapavir against HIV-2 isolates. *Poster abstract 538*. <https://www.croiconference.org/abstract/antiviral-activity-of-lenacapavir-against-hiv-2-isolates>
- 10 Link JO, Rhee MS, Tse WC et al. Clinical targeting of HIV Capsid protein with a long-acting small molecule. *Nature*. 2020;584(7822):614-618. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2443-1>
- 11 Segal-Maurer S, DeJesus E, Stellbrink HJ et al. Capsid Inhibition with Lenacapavir in Multidrug-Resistant HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2022;386(19):1793-1803. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2115542>
- 12 Gupta A, Berhe M, Crofoot G et al. Lenacapavir administered every 26 weeks or daily in combination with oral daily antiretroviral therapy for initial treatment of HIV: a randomised, open-label, active-controlled, phase 2 trial. *Lancet HIV* 2023;10:15–23. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(22\)00291-0](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(22)00291-0)
- 13 Ogbuagu O, Segal-Maurer S, Ratanasuwan W et al. Efficacy and safety of long-acting subcutaneous lenacapavir in heavily treatment-experienced people with multi-drug resistant HIV: Week 52 results. *IDWeek*, 2022, Washington, DC. Abstract 1585.
- 14 Hagins D, Koenig E, Safran R et al. Long-acting lenacapavir in a combination regimen for treatment naïve PWH: week 80. *CROI 2023, Seattle*. Poster abstract 522. https://croi.blob.core.windows.net/documents/Hagins_CROI_2023_60x40_Final_virtual-133208888868082874.pdf
- 15 Margot N, Ram R, Rhee M et al. 2021. Absence of lenacapavir (GS-6207) phenotypic resistance in HIV Gag cleavage site mutants and in isolates with resistance to existing drug classes. *Antimicrob Agents Chemother* 65:e02057-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.02057-20>
- 16 Diamond T, Ngo W, Goh S et al. No Antagonism or Cross-Resistance Observed Between Islatravir and Lenacapavir. *CROI 2023, Seattle*. Poster abstract 585.
- 17 Marcelin AG, Charpentier C, Jary A et al. Frequency of Capsid substitutions associated with GS-6207 in vitro resistance in HIV-1 from antiretroviral-naïve and -experienced patients. *J Antimicrob Chemother*; 15(6), June 2020, Pages 1588–1590. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa060>
- 18 Margot N, Vanderveen L, Naik V et al. Phenotypic resistance to lenacapavir and monotherapy efficacy in a proof-of-concept clinical study, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 77, Issue 4, April 2022, Pages 989–995. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab503>
- 19 Margot N, Naik V, VanderVeen L et al. Resistance Analyses in Highly Treatment-Experienced People With Human Immunodeficiency Virus (HIV) Treated With the Novel Capsid HIV Inhibitor Lenacapavir, *JID*, 2022;226 (11):1985–1991. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiac364>
- 20 <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05052996>
- 21 <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04811040>
- 22 <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04994509>
- 23 <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05502341>
- 24 <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04925752>
- 25 Troyano-Hernández P, Reinoso R and Holguín Á. (2022) HIV Capsid Protein Genetic Diversity Across HIV-1 Variants and Impact on New Capsid-Inhibitor Lenacapavir. *Front. Microbiol.* 13:854974. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.854974>
- 26 Bester SM, Adu-Ampratwum D, Annamalai AS et al. Structural and Mechanistic Bases of Viral Resistance to HIV-1 Capsid Inhibitor Lenacapavir. *mBio*. 2022;13(5):e0180422. <https://doi.org/10.1128/mbio.01804-22>
- 27 Bester SM, Wei G, Zhao H et al. Structural and mechanistic bases for a potent HIV-1 Capsid inhibitor. *Science*. 2020;370(6514):360–364. <https://doi.org/10.1126/science.abb4808>
- 28 Kumar P, Gupta S, Segal-Maurer S et al. Injection-Site Reaction Experience in Clinical Studies of People Using Lenacapavir For HIV Treatment. *CROI 2023*, poster abstract 184.

Patrick Braun
Labor-/Projektleitung PZB Aachen

Labor Dr. med. H. Knechten
Blondelstr. 9 · 52062 Aachen
pab@pzb.de



Falsch-positive HIV-NAT-Ergebnisse nach CAR-T-Zell-Therapie

Bei der CAR-T-Zell-Therapie handelt es sich um eine neuartige Immuntherapie für Krebspatienten, bei der gentechnologisch veränderte T-Zellen mit synthetischen, antigenspezifischen Rezeptoren zur Anwendung kommen (sogenannte chimäre Antigenrezeptoren, CAR). Wir berichten über einen neunjährigen Jungen, der nach dem zweiten Rezidiv einer akuten lymphoblastischen Leukämie und sieben Wochen nach CAR-T-Zell-Therapie zur Vorbereitung einer allogenen Stammzelltransplantation an unserer Klinik behandelt wurde. Im Rahmen der virologischen Screening-Diagnostik fiel ein falsch-positives HIV-1-PCR-Ergebnis auf, das letztendlich durch die vorangegangene CAR-T-Zell-Therapie erklärt werden konnte.

Kasuistik

Bei einem neunjährigen Jungen wurde vor sechs Jahren erstmals die Diagnose einer akuten lymphoblastischen Leukämie (Vorläufer B-ALL) gestellt. Es folgte über zwei Jahre eine Polychemotherapie gemäß AIEOP-BFM 2009-Protokoll. Vierzehn Monate nach der Ersttherapie kam es zu einem späten kombinierten Knochenmark- und ZNS-Rezidiv der akuten lymphoblastischen Leukämie (ALL). Dieses wurde mit einer Polychemotherapie gemäß Protokoll IntRe-ALL SR 2010 über einen Zeitraum von etwa zweieinhalb Jahren und einer Ganzhirnbestrahlung in Helmtechnik behandelt. Während der Therapie kam es zu einer Thrombose des Sinus sagittalis superior mit angrenzenden Brückenvenenthrombosen und einem Stauungsinfarkt links präzentral mit fokal-generalisierten Krampfanfällen. Wenige Tage nach Ende der Erhaltungstherapie wurde ein zweites, sehr frühes, isoliertes ZNS-Rezidiv der ALL diagnostiziert und mittels intrathekaler Triple-Therapie (Methotrexat, Hydrocortison, Cytarabin) behandelt. Drei Monate nach Diagnose des zweiten Rezidivs erhielt der Patient eine gegen B-Zellen gerichtete CAR-T-Zell-Immuntherapie mit dem Präparat Tisagenlecleucel (Kymriah®, Firma Novartis). Nach einer lymphodepletierenden Chemotherapie mit Fludarabin und Cyclophosphamid erfolgte die Gabe der eigenen, genetisch

veränderten Immunzellen, die an CD19-exprimierende Leukämiezellen und normale B-Zellen binden und diese zerstören.

Etwa zwei Monate später wurde der Patient zur Vorbereitung einer allogenen, haploidenten Stammzelltransplantation in der pädiatrischen hämato-onkologischen Ambulanz vorgestellt. Im Rahmen eines routinemäßigen, diagnostischen Vorbereitungsprogramms zur Transplantation wurde in der Virologie auch eine HIV-1-RNA-PCR aus EDTA-Plasma angefordert. Diese Untersuchung fiel – zunächst überraschend für alle – positiv aus, jedoch mit einer niedrigen HIV-1-RNA-Konzentration von 88 Kopien/ml. Die Analyse aus einer Plasma-Probe, die zwei Wochen früher entnommen worden war, zeigte ebenfalls ein schwach-positives Ergebnis mit <20 Kopien/ml. Bei dem Patienten konnten keine Risikofaktoren für eine HIV-Infektion eruiert werden. Die analytische Validität der Ergebnisse wurde daraufhin mit zwei weiteren HIV-1-PCR-Assays untersucht und positiv bestätigt (Tabelle 1). Die durchgeführten serologischen HIV-Antigen/Antikörper-Suchtests der 4. Generation blieben aus Untersuchungsmaterialien von verschiedenen Zeitpunkten allesamt negativ. Die letzte negative serologische Kontrolle erfolgte mehr als fünf Monate nach der positiven PCR-Detektion. Dies schließt retrospektiv das Vorliegen der Frühphase einer HIV-Infektion aus (Tabelle 2).

Diskussion

Im August 2018 wurden erstmals zwei kommerzielle chimäre Antigenrezeptor-(CAR)-T-Zelltherapien von der European Medicines Agency (EMA) zugelassen und kurz danach auf dem deutschen Markt eingeführt. Beide Präparate enthalten chimäre Antigenrezeptoren gegen CD19, ein Oberflächenantigen, das von B-Lymphozyten und bestimmten Tumorzellen exprimiert wird.

Das erste zugelassene Präparat, Tisagenlecleucel (Kymriah®, Firma Novartis) wird für die Behandlung bei refraktärer oder rezidivierter akuter lymphatischer Leukämie der B-Zellreihe (Vorläufer B-ALL) bei Kindern und jungen Erwachsenen sowie bei Erwachsenen mit diffus großzelligen B-Zell-Lymphomen (DLBCL) und follikulären Lymphomen (FL) eingesetzt. Für die Herstellung wird ein selbst-inaktivierender lentiviraler Vektor der 3. Generation verwendet, um die T-Zellen der Patienten im Labor mit dem Gen für einen chimären Antigenrezeptor zu transduzieren und damit so zu verändern, dass sie effektiv gegen CD19-positive Leukämiezellen vorgehen können. Nach der genetischen Modifikation werden die CAR-T-Zellen den Patienten im Anschluss an eine vorbereitende Chemotherapie wieder infundiert.

Das zweite in Deutschland zugelassene, gegen CD19 gerichtete Präparat, Axicabtagen-Ciloleucel (Yescarta®, Firma Gilead), findet Anwendung bei rezidivierten und refraktären diffus großzelligen B-Zell-Lymphomen (DLBCL) und primär mediastinalen großzelligen B-Zell-Lymphomen (PMBCL) nach systemischen Therapien. Für die Herstellung wird ein Vektorsystem auf Basis eines murinen γ -Retrovirus verwendet.

Nach Gabe der Präparate binden die eigenen, gentechnisch veränderten T-Zellen über den chimären Rezeptor an CD19-positive Zielzellen, werden aktiviert und führen

Tabelle 1: Ergebnisse der HIV-1-NAT-Analysen aus EDTA-Plasma. NAT = Nukleinsäureamplifikationstechnik.

Datum Entnahme	HIV-1-NAT-Verfahren	Ergebnis qualitativ	Ergebnis quantitativ (Kopien/ml)
23.08.22	Abbott Alinity m HIV-1	positiv	<20
06.09.22		positiv	88
06.09.22	Cepheid Xpert HIV-1 Viral Load XC	positiv	228
06.09.22	Roche cobas MPX (auf cobas 6800-System)	positiv (Cp 33)	–

über Effektorfunktionen zur deren Apoptose. Infolgedessen kann es neben der Zerstörung der Leukämiezellen auch zu einer länger andauernden B-Zellaplasie und Hypogammaglobulinämie kommen.

In der Fachliteratur finden sich vereinzelte Fallberichte über falsch-positive HIV-1-NAT-Ergebnisse bei Patienten nach CAR-T-Zell-Therapien, bei denen lentivirale Vektoren in der Herstellung verwendet wurden [1–5]. Die transduzierten T-Zellen zirkulieren in den meisten Patienten länger als ein Jahr. Sie enthalten aus dem Herstellungsprozess höchstwahrscheinlich Sequenzen, die mit dem 5'-LTR und *gag*-Genbereich des HIV-1 übereinstimmen. Diagnostische HIV-1-NAT-Verfahren einiger Hersteller verwenden diese konservierten viralen Genbereiche als Zielregionen, was wiederum die diagnostisch falsch-positiven PCR-Ergebnisse erklären würde. In der Praxis hat sich dieses Phänomen wiederholt auch bei Verwendung des eigentlich zellfreien Untersuchungsmaterials EDTA-Plasma gezeigt. Eine neue Erkenntnis aus dem hier beschriebenen Fall ist, dass auch die beiden relativ neu-

en NAT-Verfahren Abbott-Alinity-m-HIV-1 und Cepheid-Xpert-HIV-1-Viral-Load-XC von falsch-positiven Reaktionen in diesem Zusammenhang betroffen sind (Tabelle 3). Bestimmte andere NAT-Verfahren scheinen dieses unerwünschte Verhalten hingegen nicht zu zeigen [2].

Da die Primer- und Sondensequenzen der NAT-Verfahren nicht öffentlich zugänglich sind, ist es derzeit nicht möglich, Aussagen zu den exakten Ursachen der Kreuzreaktion mit den in der Herstellung der CAR-T-Zell-Präparate verwendeten Plasmidsequenzen zu machen.

Bei Axicabtagen-Ciloleucel (Yescarta®) besteht wegen der größeren genetischen Distanz der verwendeten murinen γ -Retrovirussequenzen zu HIV-1 kein bekanntes Risiko für falsch-positive Reaktionen in der HIV-NAT-Diagnostik.

Neben der CAR-T-Zell-Therapie spielt dieses Phänomen aber offenbar auch in anderen Bereichen eine Rolle, in denen lentivirale Vektoren für zelluläre Therapieverfahren eingesetzt werden: Eine Studie berichtete im Zusammenhang mit einer T-Zell-Rezeptorthherapie [6] und eine weitere

bei der Gentherapie einer X-chromosomal-gekoppelten schweren kombinierten Immundefizienz (X-SCID) ebenfalls über falsch-positive HIV-NAT-Ergebnisse [7].

Die mit lentiviralen Vektoren transduzierten Zellen können keine HIV-spezifischen Proteine synthetisieren. Dies schließt das p24-Antigen mit ein, das in serologischen Suchtests der 4. Generation als früher Marker einer HIV-Infektion mit sehr hoher Sensitivität detektiert wird [8]. Diese Suchtests sind also nicht von der bei NAT-Verfahren beschriebenen Kreuzreaktion betroffen und können als Alternativen für die HIV-Diagnostik bei Patienten nach CAR-T-Zell-Therapie eingesetzt werden.

Fazit

CAR-T-Zell-Therapien entwickeln sich mit rasantem Tempo weiter und stellen eine zunehmend bedeutsame Therapieoption bei bestimmten Krebserkrankungen dar. Der hier vorgestellte Fall und weitere, bereits publizierte Berichte zeigen, dass es nach solchen Therapien zu falsch-positiven Kreuzreaktionen bei verbreiteten diagnostischen HIV-NAT-Verfahren kommen kann. Alle an der Behandlung und Diagnostik von Patienten mit Immuntherapieverfahren beteiligten Ärztinnen und Ärzte sollten sich dieser Tatsache bewusst sein, eine entsprechende Information an das durchführende Labor weitergeben und anstatt der betroffenen HIV-NAT-Verfahren bevorzugt serologische HIV-Antigen/Antikörper-Suchtests der 4. Generation (oder nicht betroffene NAT-Verfahren) anfordern bzw. verwenden. Auch die behandelten Patienten sollten über diesen Sachverhalt aufgeklärt werden.

Tabelle 2: Ergebnisse der serologischen HIV-Suchtests der 4. Generation (Abbott Architect, HIV Ag/Ab Combo Assay; Chemilumineszenz-Mikropartikel-Immunoassay, CMIA; reaktiv $\geq 1,0$ S/Co); S/Co = Signal-zu-Grenzwert-Verhältnis.

Datum Entnahme	Signalintensität (S/Co)	Ergebnis qualitativ
23.04.22	0,23	negativ
22.08.22	0,16 0,09	negativ negativ
06.09.22	0,10	negativ
20.09.22	0,23	negativ
13.02.23	0,08	negativ

Tabelle 3: Ausgewählte diagnostische HIV-1-NAT-Verfahren. Genetische Zielregionen und Kenntnisstand bzgl. falsch-positiver Ergebnisse nach CAR-T-Zell-Therapie.

Hersteller	NAT-Produkt	Zielgene	Methode	Nachweisgrenze, 95%-LoD (Kopien/ml)	Kreuzreaktivität bei CAR-T-Zell-Therapie
Abbott	Alinity m HIV-1	5'-LTR und <i>pol</i> (p31 Integrase-Region)	Quantitative RT-PCR	20	+ (dieser Fallbericht)
Abbott	RealTime HIV-1 Viral Load (m2000-System)	<i>pol</i> (p31 Integrase-Region)	Quantitative RT-PCR	40	– (3, 5)
Cepheid	Cepheid Xpert HIV-1 Viral Load XC	5'-LTR und <i>pol</i>	Quantitative RT-PCR	~14	+ (dieser Fallbericht)
Roche	Cobas HIV-1	5'-LTR und <i>gag</i>	Quantitative RT-PCR	20	+ (2)
Roche	Cobas AmpliPrep/TaqMan HIV-1 version 2.0	5'-LTR und <i>gag</i>	Quantitative RT-PCR	20	+ (3, 4, 5)
Roche	Cobas MPX und TaqScreen MPX Test version 2.0	5'-LTR und <i>gag</i>	Qualitative Multiplex-PCR	~25	+ (dieser Fallbericht, 4)
Siemens	Versant HIV-1 RNA 1.5 Assay (kPCR)	5'-LTR und <i>gag</i>	Quantitative RT-PCR	37	unbekannt

Quellen

1 Alali M, Carlucci JG, Christenson J, Prather C, Skiles J. Case Series of False-Positive HIV Test Results in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Patients Following Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy: Guidance on How to Avoid and Resolve Diagnostic Dilemmas. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2022 Aug 30;11(8):383-385. PMID: 35512447.
▶ <https://doi.org/10.1093/jpids/piac028>

2 Villalba JA, Maus MV, Frigault MJ, Zaffini R, Gandhi RT, Rosenberg ES, Siedner MJ. False-Positive Human Immunodeficiency Virus Test Results in Patients Receiving Lentivirus-Based Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy: Case Report, Review of the Literature, and Proposed Recommendations. *J Infect Dis.* 2022 Jun 1;225(11):1933-1936. PMID: 34927686.
▶ <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab605>

3 Hauser JR, Hong H, Babady NE, Papanicolaou GA, Tang YW. False-Positive Results for Human Immuno-

nodeficiency Virus Type 1 Nucleic Acid Amplification Testing in Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy. *J Clin Microbiol.* 2019 Dec 23;58(1):e01420-19. PMID: 31694968; PMCID: PMC6935905.

▶ <https://doi.org/10.1128/JCM.01420-19>

4 Laetsch TW, Maude SL, Milone MC, Davis KL, Krueger J, Cardenas AM, Eldjerou LK, Keir CH, Wood PA, Grupp SA. False-positive results with select HIV-1 NAT methods following lentivirus-based tisagenlecleucel therapy. *Blood.* 2018 Jun 7;131(23):2596-2598. Epub 2018 Apr 18. PMID: 29669777; PMCID: PMC6003382.
▶ <https://doi.org/10.1182/blood-2017-12-822940>

5 Ariza-Heredia EJ, Granwehr BP, Viola GM, Bhatti M, Kelley JM, Kochenderfer J, Hosing C. False-positive HIV nucleic acid amplification testing during CAR T-cell therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017 Aug;88(4):305-307. Epub 2017 Jun 3. PMID: 28610774; PMCID: PMC7891749.

▶ <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.05.016>

6 Theppote AS, Carmack AE, Riedel DJ. False positive HIV testing after T-cell receptor therapy. *AIDS.* 2020 Jun 1;34(7):1103-1105. PMID: 32379161.

▶ <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002511>

7 De Ravin SS, Gray JT, Throm RE, Spindler J, Kearney M, Wu X, Coffin JM, Hughes SH, Malderelli F, Sorrentino BP, Malech HL. False-positive HIV PCR test following ex vivo lentiviral gene transfer treatment of X-linked severe combined immunodeficiency vector. *Mol Ther.* 2014 Feb;22(2):244-245. PMID: 24487563; PMCID: PMC3918917. Vec.
▶ <https://doi.org/10.1038/mt.2013.296>

8 Eberle J. Was kann das Labor zur Diagnostik und Therapieüberwachung der HIV-Infektion leisten? *Retroviren-Bulletin* 2022 (2):5-7.

▶ https://www.mvp.uni-muenchen.de/wp-content/uploads/2022/12/NRZ_Retroviren_Bulletin_2-2022.pdf

Priv.-Doz. Dr. med. Anja Tröger

Abteilung für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie, Stammzelltransplantation, Universitätsklinikum Regensburg

Franz-Josef-Strauß-Allee 11
93053 Regensburg

anja.troeger@ukr.de



Prof. Dr. med. Jürgen Wenzel

Klinische Virologie, Institut für Klinische Mikrobiologie und Hygiene, Universitätsklinikum Regensburg

Franz-Josef-Strauß-Allee 11
93053 Regensburg

juegen.wenzel@ukr.de



DER KLINISCHE FALL

HIV-1-Resistenz im Zentralnervensystem (ZNS)

Eine 47-jährige Patientin stellte sich aufgrund von starken Kopfschmerzen und Lichtscheu in der Notaufnahme vor. Die Kopfschmerzen bestanden seit drei Wochen, hatten aber in den letzten 24 Stunden deutlich zugenommen und waren resistent gegen Kopfschmerztabletten. Weitere Beschwerden, insbesondere Fieber, waren nicht eruierbar. Die aus Uganda stammende Patientin war zu Besuch in Deutschland. In der Heimat wurde ihre seit mehr als 20 Jahren bekannte HIV-Infektion mit Emtricitabin (FTC)/Tenofoviridisoproxil (TDF) 200/245 mg, Darunavir (DRV) 800 mg und Ritonavir (r) 100 mg – jeweils einmal täglich – behandelt.

Kasuistik

Bei Aufnahme klagte die Patientin über bifrontale Cephaligen und ausgeprägte Photophobie. In der klinischen Untersuchung zeigte sich ein deutlich reduzierter Allgemeinzustand sowie eine psychomotorische Verlangsamung ohne Meningismus. Ein fokales neurologisches Defizit, wie Hirnerveparese, Kraftminderung, Reflexausbildungsstörung inklusive Babinski-Zeichen, konnte nicht festgestellt werden. Die Lichtreaktion beider Pupillen war unauffällig.

Bisher war bei der Patientin anamnestisch keine AIDS-Manifestation bekannt. Sie berichtete über gutes Ansprechen auf die verabreichte antiretrovirale Therapie (ART), jedoch auch über »erhöhte Viruslasten«.

Noch in der Aufnahmesituation wurde eine kraniale Magnet-Resonanz-Tomographie (cMRT) des Kopfes angefertigt. Es zeigten sich multifokal großflächige, asymmetrisch verteilte, hypodense Marklager-Alterationen (**Abb. 1**), weswegen im Anschluss eine Liquorpunktion durchgeführt wurde.

In einer simultan aus Blut und Liquor bestimmten HI-Viruslast zeigten sich unterschiedliche Befunde:

- HIV-1-PCR (**Blut**): 206 Genomäquivalente (Gäq)/ml
- HIV-1-PCR (**Liquor**): 3.694 Gäq/ml.

Aus der Liquorprobe gelang eine HIV-Sequenzierung mit dem Nachweis folgender Mutationen:

■ **im Protease-Gen:** L10I, E35D, H69K, L89T, befundet ohne signifikante Sensibilitäts-Einschränkung der verfügbaren Protease-Inhibitoren, besonders Darunavir (DRV);

■ **im Reverse-Transkriptase (RT)-Gen:** T69-Insertion, V179I, L210W, T215Y, befundet mit wahrscheinlicher Resistenz gegen Abacavir, Zidovudin, Stavudin, TDF/Tenofoviralfenamid u. möglicher Resistenz für Lamivudin, FTC sowie keiner zu erwartenden Resistenz für alle nicht-nukleosidalen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTIs), Interpretation nach HIV-GRADE, Version 03/2022 (▶ www.hiv-grade.de). Das Integrase-Gen wurde nicht Sequenz analysiert, in der genotypischen Korezeptor-Tropismusanalyse fand sich ein dual-mixed-Befund.

Als weitere signifikante Befunde ließen sich erheben:

- **im venösen Blut bzw. Serum:** ein unauffälliges Blutbild sowie ein guter Helferzellstatus (CD4+ = 538/µl, bei 29,4 %), CrP normwertig
- **im Liquor:**
 - Pleozytose (manuelle Zählung): 8/µl Leukozyten (Norm: 0-4), aktiviertes mononukleäres Zellbild,
 - keine Erythrozyten (0/µl),
 - normale Glukose (55 mg/dl, Norm: 45-70, auch im Serum: 94 mg/dl, Norm: 74-106),
 - normales Laktat 1,93 mmol/l (Norm: 1,1-2,4),
 - normaler Albuminquotient (QAib: 3,9),
 - diskret erhöhtes Gesamteiweiß (492 mg/l, Norm: < 450),
 - negative Befunde für BK/JC-Virus-DNA (unspezifische Suchreaktion und spezifisch JCV & BKV)
 - negative Befunde für CMV-, VZV- und HSV-1/2-DNA sowie (wdh.) Cryptokokken-Antigen

Insgesamt wurde der Liquorbefund als entzündlich beurteilt, bei ausgeglichener klinischer Chemie, ohne spezifischen Erregernachweis, außer HIV-1. Weitere detaillierte Informationen zur individuellen antiretroviralen Therapiegeschichte seit Beginn 1997 ließen sich nicht erheben. Die aktuelle Therapie begann ca. 2017, frühere HIV-Sequenzierungsbefunde lagen nicht vor.

Klinische Interpretation und therapeutisches Procedere

Unter Zusammenschau aller Befunde wurde in der klinischen Bewertung die Diagnose einer HIV-Enzephalopathie gestellt, als

Ursache der akuten Verschlechterung, was eine AIDS-Manifestation darstellt. Gegen die wichtigste Differenzialdiagnose einer progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML) sprach der gute Immunstatus der Patientin (CD4+-Zellzahl >500/µl), das eher untypische Verteilungsmuster im cMRT und die negative JC-PCR im Liquor in zwei unabhängigen Tests. Hinweise für alternative Diagnosen fanden sich nicht.

Für die Pathogenese der HIV-Enzephalopathie wurden als begünstigende Faktoren interpretiert:

1. Die eingesetzten nukleotidischen RT-Inhibitoren TDF und FTC werden durch das Vorhandensein der HIV-Resistenzmutationen, insbesondere der T69-Insertion, in ihrer antiretroviralen Wirksamkeit herabgesetzt.
2. Der geboosterte Protease-Inhibitor DRV gilt als schlecht liquorgängig und erlaubt durch am ehesten erniedrigte Liquorspiegel eine HI-Virusreplikation jenseits der Blut-Hirnschranke; allerdings wurde keine erneute Liquorentnahme zur diagnostischen Spiegelbestimmung für DRV und Ritonavir unternommen.

Unter dieser Vorstellung wurde die antiretrovirale Therapie (ART) umgestellt von TDF, FTC und DRV/r auf DRV/r und Dolutegravir (DTG). Zuvor wurde eine chronisch-aktive Hepatitis B-Virusinfektion ausgeschlossen.

Vier Wochen nach Therapieumstellung berichtete die Patientin über eine deutliche klinische Besserung ihrer Beschwerden und ihres Allgemeinzustands, mit vollständiger Rückbildung der Cephalgien sowie der psychomotorischen Verlangsamung, sodass sie schließlich wieder in ihr Heimatland Uganda zurückreisen konnte.

Diskussion

Multidrug-Resistenz(MDR)-Mutationen sind gefürchtete Komplikationen unkontrollierter Virusreplikation unter ART. So steht bei Versagen der ART und Auftreten einer MDR-Mutation nicht selten eine ganze Medikamentenklasse zukünftig nicht mehr als Therapieoption zur Verfügung. Beispiele für die Klasse der nukleosidalen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) sind im RT-Gen die Mutationen Q151M und die T69-Insertion. Im Fall der letzteren sind dann alle derzeit verfügbaren NRTIs in ihrer Wirkung herabgesetzt [1]. Das Neuaufreten von NRTI-Klassen-MDR-Mutationen ist heute unter modernen Medikamentenkombinationen ein sehr seltenes Ereignis geworden, was sicher mit den Charaktereigenschaften der modernen Substanzen, z.B. der Halbwertszeiten, zu tun hat. Dabei wird das Auftreten einer T69-Insertion in europäischen HIV-Behandlungszentren heute nur noch sehr selten beobachtet. Eine Analyse der nationalen britischen HIV-Resistenzdatenbank zur Prävalenz der HIV-MDR-Mutationen ergab eine abfallende Prävalenz der T69-Insertion, die heutzutage nur noch absolut selten beobachtet wird (**Abb. 2**).

In der Kasuistik unserer Patientin sind Einzelheiten ihrer Therapiegeschichte unbekannt. Bekannt ist eine antiretrovirale Vortherapie nach der Diagnose vor über 20 Jahren sowie der Zeitpunkt der letzten Therapie-Umstellung 2017 auf das letzte Regime seither: FTC/TDF 200/245 mg Kombinationstablette und DRV 800 mg sowie Ritonavir 100 mg täglich. Darunter waren anamnestisch im peripheren Blut »erhöhte Viruslasten« vorbeschrieben – konsistent mit dem Befund der bei uns in der

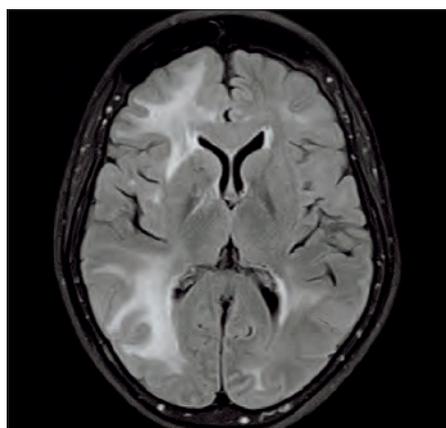


Abb.1: Kraniale MRT-Aufnahme des Kopfes der Patientin, die Aufnahme zeigt in der FLAIR-Sequenz flächig-konfluierende hyperintense Veränderungen des Hirnparenchyms: supratentoriell beidseits, rechtsbetont frontal und temporal.

Wir danken Frau Univ.-Professorin Dr. med. Elke Hattingen von der Neuroradiologie am Universitätsklinikum Frankfurt a.M. für die Überlassung dieser Aufnahme.

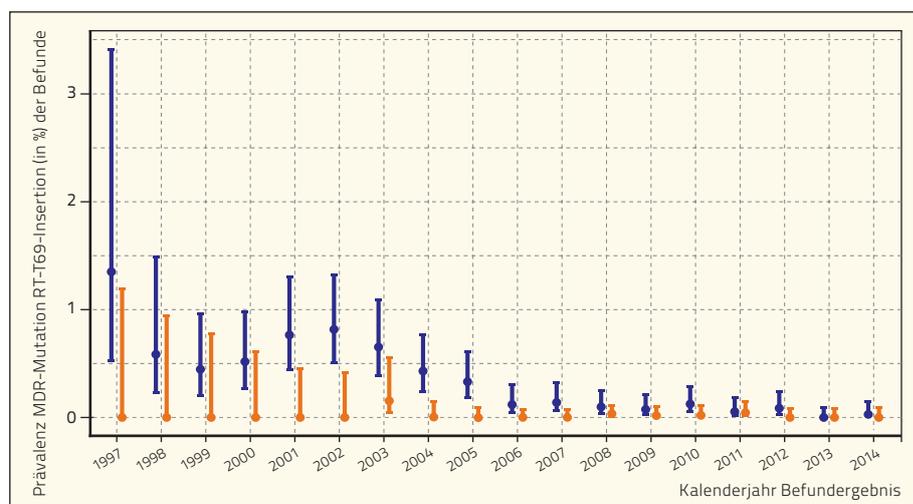


Abb.2: Prävalenz der T69-Insertion in der UK-CHIC-Kohorte: Patienten wurden pro Sequenzierung und Kalenderjahr max. einmal gezählt. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme: **blau** = ART-erfahrene Patienten, **orange** = ART-naive (Bezugsgröße/Jahr = Gesamtzahl Individuen mit mindestens einem genotypischen Reverse-Transkriptase-Sequenzierungsbefund im Bezugsjahr; gezeigt werden binominale 95 %-Konfidenz-Intervalle).

(Quellen: [2] Stirrup et al. / Diagramm©: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

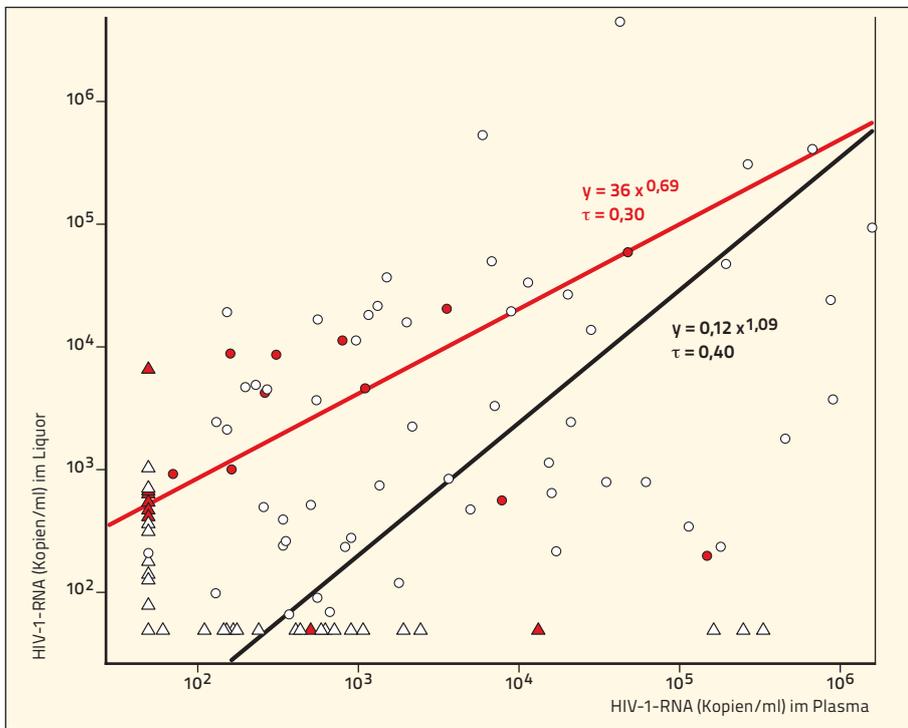


Abb. 3: Das Scatter-plot-Diagramm individueller Viruslastbefunde im Verhältnis Liquor/Plasma zeigt wie erwartet eine stark signifikante Korrelation zwischen Plasma- und Liquor-Viruslast bei PLWH, die mit konventioneller antiretroviraler (dreifach-)Therapie behandelt wurden (**schwarz:** $\tau = 0,4$, $p < 0,001$) und im Kontrast dazu eine niedrigere, gerade eben noch signifikante Korrelation für PLWH, die mit geboosterter doppel-Protease-Inhibitor-Therapie behandelt wurden (**rot:** $\tau = 0,3$, $p = 0,04$); dies legt eine tendenziell höhere HI-Viruslast im ZNS nahe für PLWH auf alleiniger PI-Therapie.

Aufnahmesituation gefundenen Plasma-HI-Viruslast von 206 GÄq/ml. Bei dieser relativ niedrigen Plasmavirämie überrascht der im Liquor feststellbar hohe HIV-1-RNA-Befund. Erklärbar wird diese Konstellation durch eine aufgrund der Resistenzsituation bestehende »funktionelle Monotherapie« mit dem Proteaseinhibitor (PI) DRV. Bei vorbehandelten Menschen, die mit HIV leben (*people living with HIV*, PLWH), setzte man

bis zum Zeitpunkt, als die gut im ZNS aktiven Integraseinhibitoren verfügbar wurden (Raltegravir ab ca. 2008, DTG ab ca. 2011), nicht selten die »doppel-PI«-Therapie als eine Art Salvagetherapie ein. Dies erfolgte häufig in Form einer geboosteren doppel-Proteaseinhibitor-Therapie (bdPI) mit Lopinavir/Saquinavir [3], die sich ebenfalls durch günstige pharmako-kinetische Eigenschaften in Blutspiegelmessungen charak-

terisierten. [4]. Allerdings zeigten sich im Vergleich zwischen PLWH, die bdPI-Therapie erhielten, und konventioneller (dreifach-)ART analog tendenziell messbar höhere Viruslast-Befunde im ZNS/Plasma-Verhältnis unter bdPI [5] (**Abb.3**).

In der Kasuistik zeigte unsere Patientin aus Uganda ein anhaltendes Therapieansprechen mit Regression der neurologischen Beschwerden, nach dem Austausch der Nukleosid-/Nukleotid-Kombination gegen den modernen Integrase-Inhibitor DTG. Eine vorherige Resistenztestung (Sequenzierung Integrase-Gens) lag nicht vor, allerdings war ohne bzw. unwahrscheinliche vorherige Exposition eine Integrase-Inhibitor-Resistenz nicht zu erwarten. Eine erneute HIV-Liquoruntersuchung im Verlauf wurde nicht unternommen, aber im peripheren Blut fiel die HIV-RNA vom Ausgangswert (206 GÄq/ml) auf < 20 GÄq/ml, was im Zusammenhang mit dem klinischen Ansprechen als Therapieerfolg interpretiert wurde.

Tobias Manuel Appel

Zentrum Innere Medizin/Klinik 2
Universitätsklinikum der Goethe-
Universität Frankfurt a.M.

Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt a.M.

tobiasmanuel.appel@kgu.de



PD Dr. Martin Stürmer

Virologe
IMD-Labor Frankfurt a.M.

Heidelberger Straße 13
60327 Frankfurt a.M.

mstuermer@labffm.de



Prof. Dr. med. Christoph Stephan

Internist und Infektiologe
Zentrum Innere Medizin/Klinik 2
Universitätsklinikum der Goethe-
Universität Frankfurt a.M.

Theodor-Stern-Kai 7 · 60590 Frankfurt a.M.

c.stephan@em.uni-frankfurt.de



Quellen

- 1 Top Antivir Med. 2022;30(4):559-574.
- 2 Stirrup OT, Dunn DT, Tostevin A, Sabin CA, Pozniak A, Asboe D, Cox A, Orkin C, Martin F, Cane P. UK HIV Drug Resistance Database; UK Collaborative HIV Cohort. Risk factors and outcomes for the Q151M and T69 insertion HIV-1 resistance mutations in historic UK data. *AIDS Res Ther.* 2018 Apr 16;15(1):11. PMID: 29661246; PMCID: PMC5902836. <https://doi.org/10.1186/s12981-018-0198-7>
- 3 Staszewski S, Babacan E, Stephan C, Haberl A, Carlebach A, Gute P, Klauke S, Hermschulte Y, Stuermer M, Dauer B. Frankfurt HIV Cohort. The LOPSAQ study: 48 week analysis of a boosted double protease inhibitor regimen containing lopinavir/ritonavir plus saquinavir without additional antiretroviral therapy. *J Antimicrob Chemother.* 2006 Nov;58(5):1024-30. Epub 2006 Sep 6. PMID: 16956902. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl375>
- 4 Stephan C, von Hentig N, Kourbeti I, Dauer B, Mösch M, Lutz T, Klauke S, Harder S, Kurowski M, Staszewski S. Saquinavir drug exposure is not impaired by the boosted double protease inhibitor combination of lopinavir/ritonavir. *AIDS.* 2004 Feb 20;18(3):503-8. PMID: 15090803. <https://doi.org/10.1097/00002030-200402200-00017>
- 5 Donath M, Wolf T, Stürmer M, Herrmann E, Bickel M, Khaykin P, Göpel S, Gute P, Haberl A, de Leuw P, Schüttfort G, Berger A, Stephan C. for Frankfurt HIV Cohort Study. HIV-1 replication in central nervous system increases over time on only protease inhibitor therapy. *Med Microbiol Immunol.* 2016 Dec;205(6):575-583. Epub 2016 Jul 28. PMID: 27469377. <https://doi.org/10.1007/s00430-016-0469-7>

Der dritte Fall

Heilung von HIV – ist das möglich? JA, auch wenn es aktuell eher die Ausnahme als die Regel ist. Normalerweise integrieren sich HI-Viren ins menschliche Genom und können in sogenannten Reservoir-Zellen lebenslang latent vorhanden sein. Timothy Brown, der »Berliner Patient«, war der erste, der durch Stammzelltransplantation – zur Therapie einer vorliegenden Leukämieerkrankung – mit Zellen eines CCR5Δ32-homozygoten-Spenders auch von seiner HIV-Erkrankung geheilt werden konnte [1]. Leider erlitt er jedoch ein Rezidiv seiner Leukämie, woran er vor knapp zweieinhalb Jahren verstarb. Die natürlich vorkommende Deletion im CCR5-Gen, die vor allem in Europa und im westlichen Asien bei bis zu 10% der Bevölkerung vorhanden ist [2], verhindert die Interaktion von CCR5-abhängigen HIV-Glykoproteinen mit der Zielzelle, wodurch der Viruseintritt und somit die Vermehrung von HIV nicht mehr stattfinden kann. HI-Viren, die stattdessen CXCR4 als Ko-Rezeptor verwenden, sind hiervon indes nicht beeinträchtigt. Dieser erste Fall aber eröffnete Wissenschaftlern und Ärzten die Möglichkeit, ähnliche Strategien weiterzuentwickeln – so wie auch für den zweiten Fall, der bekannt wurde als »Londoner Patient« und der seither ebenfalls als geheilt gilt [3].

Der »Düsseldorfer Patient«

Nun wurde der dritte Fall, der »Düsseldorfer Patient«, im Februar diesen Jahres im Nature Medicine durch Dr. Björn-Erik Ole Jensen und Kollegen vorgestellt [4]. 2008 wurde dieser Patient erstmals HIV-positiv getestet und war seit 2010 unter antiretroviraler Therapie (ART) (Abb. 1). 2011 wurde bei ihm, ähnlich wie in den anderen Fällen, eine akute myeloische Leukämie (AML) diagnostiziert, welche durch eine konventionelle Chemotherapie behandelt werden konnte. Aufgrund eines Leukämie-Rezidivs wurde er erneut erfolgreich chemotherapeutisch behandelt, erhielt aber im Februar 2013 zusätzlich noch eine Stammzelltransplantation mit CD34+-Stammzellen einer CCR5Δ32-homozygoten Spenderin (HSCT). Vier Monate später hatte er jedoch erneut ein Rezidiv, sodass anschließend eine dritte chemotherapeutische Behandlung mit zusätzlichen Spenderleukozyten (4x DLI) notwendig wurde. Des Weiteren zeigte er 2014 mäßig erhöhte Leberwerte sowie eine Reaktivierung von Zytomegalievirus, Herpes simplex Virus Typ 2, humanem Herpesvirus Typ 8 und Epstein-Barr-Virus. Zusätzlich entwickelte sich eine milde chronische Graft-versus-host (GvHst)-Erkrankung im Auge des Patienten. Während dieser Zeit wurde die ART aufrechterhalten, doch waren weder HIV-RNA und -DNA noch HIV-1-p24-Kapsidproteine im peripheren Blut detektierbar. Auch eine Virusanzucht blieb erfolglos. Im November 2018 erfolgte eine analytische Unterbrechung der ART um zu prüfen, ob eine Heilung bzw. Remission von HIV durch die allogene CCR5Δ32-Stammzelltransplantation auch in diesem Fall erfolgreich gewesen war.

Und tatsächlich: Auch nach Absetzen

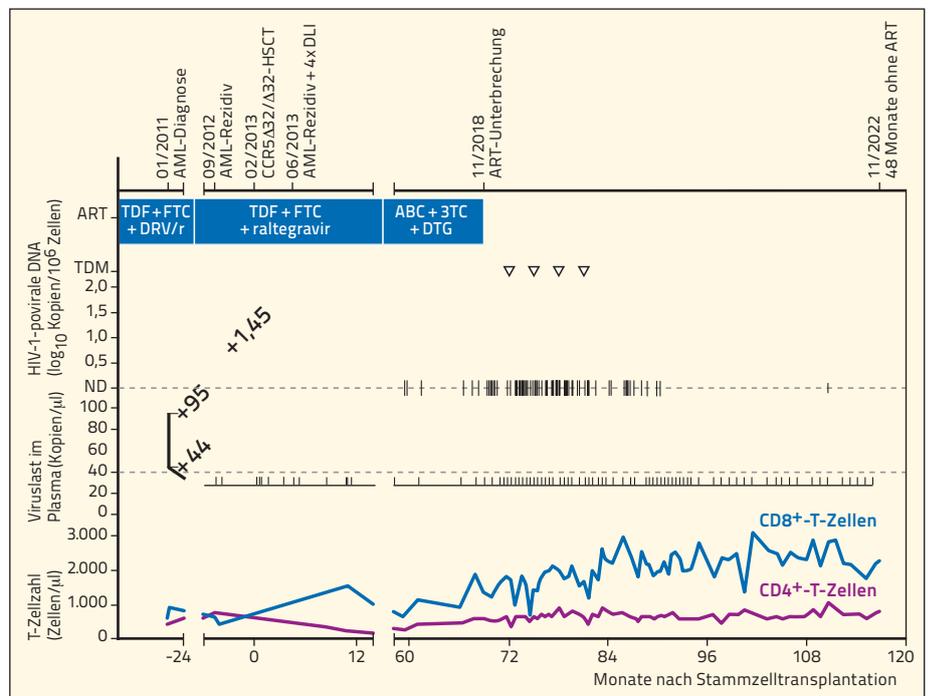


Abb. 1: Behandlungsschema des »Düsseldorfer Patienten«. (Quelle: [4] Jensen BO et. al. <http://doi.org/10.1038/s41591-023-02213-x>)

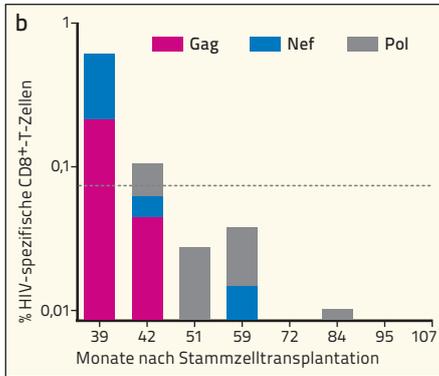
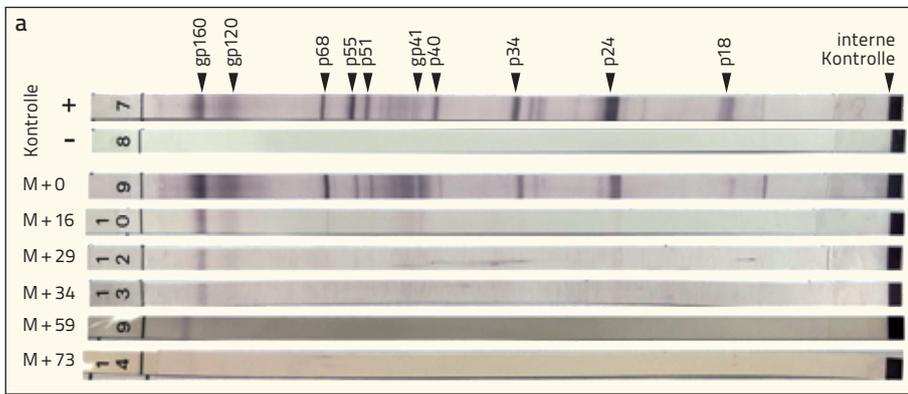
der ART wurde bis heute kein Anzeichen für Virusreplikation gefunden. Im weiteren Verlauf erholten sich die natürlichen Killerzellen und CD8+-T-Zellen und waren immunologisch nicht mehr von denen HIV-negativer Personen zu unterscheiden, wohingegen CD4+-T-Zellen weiterhin immunologisch vergleichbar denen HIV-positiver Patienten blieben. Bemerkenswerterweise waren HIV-spezifische CD8+-T-Zellen sowie HIV-spezifische Antikörper ab 39 Monate nach Stammzelltransplantation graduell weniger detektierbar bzw. ähnlich denen HIV-negativer Personen (Abb. 2, S.12).

Diese drei Erfolgsgeschichten zeigen, dass eine Heilung von HIV möglich ist. Wie-

so hat es bei ihnen funktioniert und bei vielen anderen nicht? Das kann man abschließend nicht vollständig beantworten, jedoch hatten die drei Patienten zwei wesentliche Gemeinsamkeiten:

■ **Der erste Aspekt:** Alle entwickelten eine Leukämie, weswegen eine Stammzelltransplantation in Betracht gezogen wurde. Dazu wählten die Ärzte CCR5Δ32-homozygote Spender aus, um so eventuell zwei Fliegen mit einer Klappe schlagen zu können.

■ **Der zweite Aspekt** des Erfolgs war die Tatsache, dass nur CCR5-trope Viren in den Patienten zirkulierten, wodurch die Replikation nach der Stammzelltransplantation abrupt zum Ende kam.



Quo vadis, HIV-Heilung?

Eine Stammzelltransplantation ist mit vielen Risiken verbunden und ohne Erfolgsgarantie, sodass sie sicher nicht das Mittel der Wahl sein kann, um so über 30 Millionen HIV-Infizierte weltweit [5] zu behandeln. Neue Gentherapiekonzepte, die durch Editierung präzise eine Deletion von CCR5 im Genom hervorrufen können, bieten insofern zukunftsorientierte Behandlungsmöglichkeiten [6-10], da sie sich mit Verfahren wie »shock&kill« oder »block&lock« kombinieren ließen, um zusätzlich das HIV-Reservoir reduzieren zu können [11].

■ Nach Fertigstellung dieses Artikels wurde im März 2023 **der vierte Fall** veröffentlicht: die »New Yorker Patientin« [12].

Quellen

- Hütter G et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med* **360**, 692-698 (2009).
<http://doi.org/10.1056/NEJMoa0802905>
- Novembre J, Galvani AP & Slatkin M. The geographic spread of the CCR5 Delta32 HIV-resistance allele. *PLoS Biol* **3**, e339 (2005).
<http://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030339>

PD Dr. rer. nat. habil. med.
Hanna-Mari Baldauf

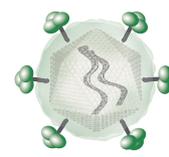
Virologie, NRZ für Retroviren
am Max von Pettenkofer-Institut
der Universität München (LMU)

Feodor-Lynen-Straße 23 · 81377 München
baldauf@mvp.lmu.de



Abb. 2 (a/b): Verlust der HIV-spezifischen CD8⁺-T-Zellreaktivität als auch HIV-spezifischen Antikörper.
(Quelle: [4] Jensen BO et al.
<http://doi.org/10.1038/s41591-023-02213-x>)

- Gupta RK et al. HIV-1 remission following CCR5Δ32/Δ32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature* **568**, 244-248 (2019).
<http://doi.org/10.1038/s41586-019-1027-4>
- Jensen BO et al. In-depth virological and immunological characterization of HIV-1 cure after CCR5Δ32/Δ32 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nat. Med.* 2023 Mar;29(3):583-587.
<http://doi.org/10.1038/s41591-023-02213-x>
- UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics – Fact sheet 2022. Vol. 2023.
- Karuppusamy KV et al. The CCR5 Gene Edited CD34⁺CD90⁺ Hematopoietic Stem Cell Population Serves as an Optimal Graft Source for HIV Gene Therapy. *Frontiers in Immunology* **13** (2022).
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.792684>
- Mehmetoglu-Gurbuz T, Yeh R, Garg H & Joshi A. Combination gene therapy for HIV using a conditional suicidal gene with CCR5 knockout. *Virology Journal* **18**, 31 (2021).
<https://doi.org/10.1186/s12985-021-01501-7>
- Haworth KG, Peterson CW & Kiem H-P. CCR5-edited gene therapies for HIV cure: Closing the door to viral entry. *Cytotherapy* **19**, 1325-1338 (2017).
<http://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.05.013>
- ClinicalTrials.gov. Phase 1 Dose Escalation Study of Autologous T-cells Genetically Modified at the CCR5 Gene by Zinc Finger Nucleases in HIV-Infected Patients. Vol. 2023.
- Qi C et al. Inducing CCR5Δ32/Δ32 Homozygotes in the Human Jurkat CD4⁺ Cell Line and Primary CD4⁺ Cells by CRISPR-Cas9 Genome-Editing Technology. *Molecular Therapy – Nucleic Acids* **12**, 267-274 (2018).
<http://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.05.012>
- Maslennikova A & Mazurov D. Application of CRISPR/Cas Genomic Editing Tools for HIV Therapy: Toward Precise Modifications and Multilevel Protection. *Front Cell Infect Microbiol* **12**, 880030 (2022).
<http://doi.org/10.3389/fcimb.2022.880030>
- Hsu J et al. International Maternal Pediatric Adolescent AIDS Clinical Trials Network (IMPAACT) P1107 Team. HIV-1 remission and possible cure in a woman after haplo-cord blood transplant. *Cell*. 2023 Mar 16;186(6):1115-1126.e8.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.02.030>



NRZ Retroviren
München



Nationales Referenzzentrum für Retroviren

IMPRESSUM

Herausgeber:

Nationales Referenzzentrum für Retroviren
Max von Pettenkofer-Institut
Ludwig-Maximilians-Universität München

Leitung:

Prof. Dr. med. Oliver T. Keppler
FA für Medizinische Mikrobiologie, Virologie
und Infektionsepidemiologie

Koordinator Diagnostik:

PD Dr. med. Maximilian Münchhoff

Koordinatoren Öffentlichkeitsarbeit:

Prof. Dr. med. Oliver T. Keppler
PD Dr. med. Maximilian Münchhoff

Koordinator Retroviren Bulletin:

Dr. rer. nat. Natascha Grzimek-Koschewa

Kontakt:

Max von Pettenkofer-Institut · Hauptgebäude
Pettenkoferstr. 9a · 80336 München

Tel.: + 49 89 / 21 80 - 7 28 35

E-Mail: nrzretroviren@mvp.lmu.de

<http://www.mvp.uni-muenchen.de/nationales-referenzzentrum-fuer-retroviren/>

Grafische Gestaltung:

www.grafikstudio-hoffmann.de

Druck: www.stoba-druck.de

THEMEN DER NÄCHSTEN AUSGABE*

- ▶ HIV in der Pädiatrie
- ▶ Interessanter Klinischer Fall

* Änderungen vorbehalten

WIR DANKEN



dem Robert Koch-Institut,
dem Bundesministerium für Gesundheit (BMG)
und dem Förderverein Infektionsmedizin
München e.V., die die Arbeit des NRZ fördern,

sowie folgenden Firmen
für ihre freundliche Unterstützung:



Roche Diagnostics
Deutschland GmbH



Abbott
GmbH & Co. KG



Gilead Sciences
GmbH



EUROIMMUN
Medizinische Labor-
diagnostika AG



Cepheid
GmbH



DiaSorin
Deutschland GmbH