

Aus der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie
des Zentrums für Innere Medizin und Neurologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Dieter Häussinger

**Kombinationstherapie aus aktiver HBsAg-Vakzination und alpha-
Interferon bei Interferon Non-Respondern mit chronisch replikativer
Hepatitis B**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Michaela Kaldewey

2003

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Alfons Labisch, M.A.

Dekan

Referent: PD Dr. med. Heintges

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. von Giesen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	4
2. Patienten und Methoden	7
3. Ergebnisse	10
4. Diskussion	18
5. Literaturverzeichnis	21
6. Zusammenfassung	24
Anhang	

1. Einleitung

Die chronische Infektion mit dem Hepatitis B-Virus (HBV) ist weltweit eine der medizinisch bedeutsamsten Viruserkrankungen. Ausgelöst wird sie durch ein kleines, partiell doppelsträngiges DNS-Virus, dessen Virusgenom aus einem DNS - Molekül von circa 3200 Nukleotiden Länge besteht.

Im Hinblick auf die Häufigkeit der Erkrankung bestehen regional erhebliche Unterschiede. Gebiete mit hoher Endemierate (bis zu 20 % der Bevölkerung) sind weite Teile Südostasiens, das südlich der Sahara gelegene Afrika und die Amazonasregion. In Westeuropa, Nordamerika und Australien sind dagegen nur etwa 2% der Bevölkerung infiziert [1].

In Regionen mit hoher HBV-Prävalenz wird die Infektion überwiegend perinatal bzw. in der frühen Kindheit übertragen. In Regionen mit niedriger HBV-Prävalenz erfolgt die Ansteckung überwiegend im Erwachsenenalter durch parenterale Transmission oder Sexualkontakte. Besondere Risikogruppen sind Homosexuelle, Personen mit häufigem Partnerwechsel, Hämodialysepatienten, medizinisches Personal, Drogenabhängige und Patienten die Bluttransfusionen erhalten haben.

Ein chronische HBV-Infektion liegt definitionsgemäß dann vor, wenn nach einer akuten Hepatitis B das HBs-Antigen (HBsAg) im Serum mehr als 6 Monate persistiert.

Klinisch unterscheidet man bei der chronischen HBV-Infektion zwei wichtige Verlaufsformen: Bei alleiniger Persistenz des HBs-Ag ohne serologischen Nachweis viraler Replikationsmarker (HBe-Ag, HBV-DNA in der Dot-blot-Hybridisierung) liegt in der Regel keine wesentliche Lebererkrankung vor. Diese Patienten weisen nur ein geringes Risiko für die Entwicklung einer Leberzirrhose auf [2]. Sind dagegen die viralen Replikationsmarker HBe-Ag und/oder HBV-DNA im Serum nachweisbar, so besteht meist eine chronisch-aktive Lebererkrankung. Bei dieser Verlaufsform kommt es nach 10-15 Jahren in ca. 20 - 25 % der Fälle zu einem Übergang in eine Leberzirrhose, die mit hoher Morbidität und Mortalität einhergeht [3].

Aufgrund der schlechten Prognose der chronisch replikativen Hepatitis B sind effektive Therapieansätze dringend erforderlich. Die Behandlungsmöglichkeiten sind bis heute jedoch unbefriedigend: Die erste zugelassene Therapie ist die subkutane Behandlung mit rekombinantem α -Interferon (IFN). Empfohlen wird eine 3 mal wöchentliche Gabe von 5-6 Millionen IE Interferon α -2 über 6 Monate [4]. Hierunter kommt es in ca. 30-40% der Fälle zur Überführung der hochreplikativen Verlaufsform in einen HBs-Ag-Trägerstatus [5,6,7]. Diese Serokonversion geht mit einer Verbesserung der Prognose einher [5]. Eine vollständige Ausheilung der Erkrankung mit Verlust des HBs-Ag kann allerdings nur bei etwa 8 % der behandelten Patienten erwartet werden [5].

Bei etwa 60-70% der Patienten mit chronisch replikativer HBV-Infektion ist die Interferon-Therapie jedoch erfolglos, d. h. das HBe-Ag persistiert [5]. Führt man bei diesen Patienten eine erneute Interferon-Behandlung durch, so kann allenfalls noch in 30 % der Fälle mit einer Serokonversion (Verlust des HBe-Ag und Ausbildung von HBe-Ak) gerechnet werden [8,9,10].

Auch neue Therapieansätze, wie die Gabe von Lamivudine (Zeffix^R) allein oder in Kombination mit Alpha-Interferon führen nur bei einem Teil der Patienten zum Erfolg. Die Ergebnisse waren denen einer alleinigen Interferon-Therapie sowohl bei nicht vorbehandelten als auch bei erfolglos vorbehandelten Patienten nicht überlegen [11,12,13]. Entscheidende Probleme beim Einsatz von Lamivudine sind vor allem die Notwendigkeit einer langjährigen Gabe sowie die häufige Resistenzentwicklung bei längerer Monotherapie [14,15,16].

Überraschende Ergebnisse erbrachte eine Studie von Pol et al, die den Einfluß einer aktiven HBV-Immunsierung auf den Verlauf der chronischen HBV-Infektion untersuchte [17].

Im Rahmen dieser Studie wurden 32 Patienten mit chronisch replikativer HBV-Infektion mit rekombinantem HBV-Impfstoff (Gen Hevac B vaccine, Pasteur-Merieux, Frankreich) immunisiert. Es zeigte sich, daß 3 Monate nach Beendigung der Impfung 31 % der Patienten keine HBV-DNA im Serum mehr aufwiesen. Bei weiteren 13% kam es zu einer deutlichen Hemmung der Virusreplikation.

Im Rahmen der vorliegenden, prospektiven Pilotstudie an 20 Patienten mit chronisch replikativer Hepatitis B-Infektion wurde die Wirksamkeit und Verträglichkeit einer 6-monatigen α -Interferon-Therapie (Intron A[®], 5 Mio I.E. 3x wöchentlich s.c.) in Kombination mit einer aktiven Immunisierung gegen HBV (Gen H-B-Vax[®], MSD, Behringwerke) untersucht. Eingeschlossen wurden nur Patienten, die nach einer vorangegangenen Interferon-Therapie weiterhin in der Dot-blot-Hybridisierung HBV-DNA im Serum aufwiesen und deren letzte Interferon-Therapie mindestens 6 Monate zuvor beendet wurde.

2. Patienten und Methoden

Die 20 Patienten (14 Männer und 6 Frauen) hatten ein Durchschnittsalter von $37,1 \pm 12,7$ Jahren (Spannweite: 18 bis 62 Jahre). 17 Patienten waren weiße Europäer, 3 Patienten waren Asiaten. Anamnestisch ließ sich der genaue HBV-Infektionszeitpunkt bei fast allen Patienten nicht sicher ermitteln. Die HBV-Erstdiagnose lag im Mittel $6,8 \pm 4,5$ Jahre (Spannweite: 2 bis 18 Jahre) zurück.

Bei allen Patienten waren bereits ein ($n=16$) oder zwei ($n=4$) erfolglose Therapiezyklen mit IFN α -2 durchgeführt worden. Die kumulative IFN-Dosis betrug im Mittel 428 ± 94 Mio I.E. (Spannweite: 270 bis 648 Mio I.E.). Die Dauer der vorangegangenen Therapiezyklen betrug durchschnittlich $30,6 \pm 7,6$ Wochen (24 bis 52 Wochen). Im Rahmen der vorherigen IFN-Therapien war es bei 2 von 20 Patienten zu einer vorübergehenden Negativierung der HBV-DNA im Serum gekommen. Einer dieser 2 Patienten hatte zusätzlich eine transiente Serokonversion gezeigt (HBe-Ag negativ, anti-HBe positiv).

Bei allen Patienten ließ sich vor Beginn der Kombinationstherapie mittels dot-blot-Hybridisierung HBV-DNA im Serum nachweisen. Der HBV-DNA-Titer lag bei 20 % der Patienten unter 100 pg/ml, bei 30 % zwischen 100 und 1000 pg/ml, bei 15 % zwischen 1000 und 2000 pg/ml und bei 35 % der Patienten im Bereich über 2000 pg/ml (Tabelle 1).

18 von 20 Patienten waren HBe-Ag positiv und anti-HBe negativ. 2 Patienten waren HBe-Ag negativ und anti-HBe positiv, so daß der Verdacht auf eine Infektion mit einer sogenannten HBe-Ag-Minusmutante bestand.

Die Serum-GPT war bei allen Patienten vor Therapiebeginn erhöht (77 ± 73 U/l, Spannweite: 21 bis 338 U/l). Bei 16 Patienten war eine histologische Untersuchung der Leber durchgeführt worden. Eine Leberzirrhose lag in keinem Fall vor. Bei keinem Patienten war ein chronischer Alkoholabusus bekannt. Eine virale Koinfektion mit HDV, HCV oder HIV war ausgeschlossen worden.

Tabelle 1. Patientencharakteristika vor Therapiebeginn	
Variable	Wert
Patientenzahl	20
Geschlechtsverteilung (m/w)	14/6
Alter	37 ± 13 Jahre (24 – 50 Jahre)
vorherige kumulative IFN-Dosis	428 ± 94 Mio. I.E. (334 - 522 Mio.I.E.)
Dauer vorheriger IFN-Therapien	31 ± 8 Wochen (23 - 39 Wochen)
HBV-DNA (Anteil der Patienten)	
-unter 100 pg/ml	20%
-100 bis 1000 pg/ml	30%
-1000-2000 pg/ml	15%
-über 2000 pg/ml	35%

Im Rahmen dieser Pilotstudie wurde bei allen 20 Patienten eine erneute Interferontherapie (Interferon α -2b, Intron A[®], Essex) in einer Dosierung von 3x5 Mio IE subkutan/Woche über 6 Monate durchgeführt. Zusätzlich erfolgte mit Beginn der IFN-Therapie, sowie nach 4 und nach 13 Wochen eine aktive Immunisierung gegen HBV mit einem rekombinanten Wirkstoff intramuskulär (Gen H-B-Vax[®], MSD, Behringwerke).

Primäres Ziel der Therapie war die Elimination der HBV-DNA aus dem Serum (Dot-blot-Hybridisierung), sekundäres Therapieziel war die Serokonversion von HBe-Ag zu HBe-Ak.

Die Patienten wurden 4, 12 und 26 Wochen nach Beginn der IFN-Therapie sowie 6 Monate nach Beendigung der Therapie klinisch und serologisch in der Hepatitisambulanz der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie der Universitätsklinik Düsseldorf untersucht. Neben Blutbild, Gerinnung und klinischer Chemie (einschließlich Transaminasen und Leberfunktionsparametern) wurden HBV-DNA, HBe-Ag, HBe-Ak, HBs-Ag und HBs-Ak regelmäßig bestimmt. Darüberhinaus wurden zu Therapiebeginn und am Ende der Nachbeobachtungszeit das Serum-AFP gemessen und eine Abdomen-Sonographie durchgeführt.

Die Bestimmung der HBV-DNA erfolgte mittels eines Hybridisierungsassays (Abbott Laboratories, Chicago), dessen untere Nachweisgrenze bei 1,0 pg/ml liegt. HBe-Ag und HBs-Ag wurden mittels kommerziell verfügbarer Radioimmunassays (Abbott Diagnostics, North Chicago) bestimmt. Die quantitative Bestimmung des HBsAg erfolgte mittels Laurell Elektrophorese (beschrieben bei [18]).

Die Studie wurde der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf vorgelegt und positiv bewertet. Nach ausführlicher Aufklärung über den Charakter der Studie und mögliche Nebenwirkungen der Therapie sowie nach Unterzeichnung der Einverständniserklärung durch den Patienten wurde die Behandlung begonnen.

Die statistischen Auswertungen (siehe Tabellen und Abbildungen) wurden mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS für Windows, Version 6.1.3 durchgeführt.

3. Ergebnisse

HBV-DNA-Negativierung

Drei, 6 bzw. 12 Monate nach Beginn der IFN-Therapie zeigten 45% (9/20), 37% (8/20), bzw. 45% (9/20) aller Patienten eine Negativierung der HBV-DNA in der Dot-blot-Hybridisierung.

Bei einem von 7 Patienten (14 %), die bei Therapieende HBV-DNA negativ waren, ließ sich am Ende der Nachbeobachtungszeit wieder HBV-DNA im Serum nachweisen.

Bei 67% (6/9) der Patienten, die am Ende der Nachbeobachtungszeit HBV-DNA negativ waren, hatte sich bereits 3 Monate nach Therapiebeginn keine HBV-DNA mehr im Serum nachweisen lassen.

Von den initial HBe-Ag-positiven Patienten (n=18) zeigten bei Therapieende 39% (7/18) und am Ende der Nachbeobachtungszeit 50% (9/18) eine Negativierung der HBV-DNA (Tabelle 2). Bei keinem der initial HBe-Ag-negativen Patienten (n=2) konnte die HBV-DNA unter die Nachweisgrenze gesenkt werden

Tabelle 2. HBV-Serologie und GPT nach Ende von Therapie und Follow-up (Ergebnisse der 18 initial HBeAg-positiven Patienten)

	Therapie-Ende (Woche 24)	Ende des Follow-up (Woche 48)
HBeAg negativ	22% (4/18)	39% (7/18)
HBV-DNA negativ	39% (7/18)	50% (9/18)
HBsAg negativ	0% (0/18)	0% (0/18)
normale GPT	28% (5/18)	44% (8/18)

HBe-Ag-Serokonversion

Von den initial 18 HBe-Ag positiven Patienten (Tabelle 2) zeigten bei Therapieende bzw. am Ende der Nachbeobachtungszeit 4 (22%) bzw. 7 Patienten (39%) eine Negativierung des HBe-Ag (wobei in keinem Fall HBV-DNA nachweisbar war). Bei 6 von 7 Patienten (86%), die am Ende der Nachbeobachtungszeit HBe-Ag negativ waren, lagen gleichzeitig HBe-Ak vor.

Bei 4 von 7 Patienten (57 %), die am Ende der Nachbeobachtungszeit HBe-Ag negativ waren, hatte bereits zu Therapieende die HBe-Ag-Negativierung vorgelegen. Die Transaminasen lagen bei allen HBe-Ag negativen Patienten am Ende des follow-up im Normbereich.

Prädiktive Faktoren

für ein Ansprechen der Kombinationstherapie

Zur Ermittlung prädiktiver Faktoren für ein Ansprechen der Therapie (d. h. HBV-DNA-Negativierung) wurde untersucht, ob sich die Gruppe der Responder (n=9) im Hinblick auf bestimmte Variablen von der Gruppe der Non-Responder (n=9) unterscheidet. Hierzu gehörten neben Alter, Geschlecht und vorangegangener kumulativer Interferon-Dosis auch die Höhe der Transaminasen sowie des HBV-DNA-Titers vor Therapiebeginn.

Zusammenfassend fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen ($p > 0.05$ für alle untersuchten Parameter), wenngleich Responder einen Trend zu höheren Transaminasenwerten und zu niedrigeren HBV-DNA-Titern zeigten (Tabelle 3).

Tabelle 3. Responder versus Non-Responder -
Patientencharakteristika vor Therapiebeginn

	Responder	Non-Responder
Patienten mit HBV-DNA > 2000 pg/ml*	2/9 (22%)	5/9 (56%)
GPT (U/l) ¹	107 ± 32	45 ± 8
Alter (Jahre) ¹	43 ± 4	34 ± 3
vorangegangene IFN-Dosis (Mio. I.E.) ¹	389 ± 21	458 ± 32

Patienten wurden als Responder bezeichnet, wenn 6 Monate nach Ende der Kombinationstherapie die HBV-DNA negativ war. Alle verglichenen Parameter erreichten keine statistische Signifikanz. ($p > 0,05$ für alle Parameter)

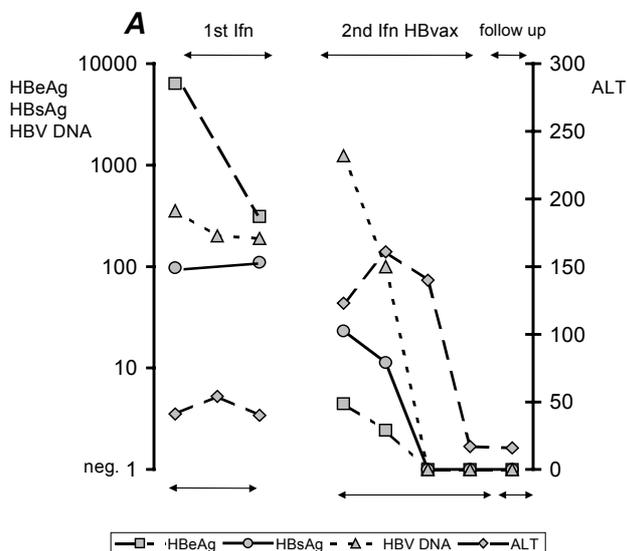
* Fisher's exact test

¹ T-Test für unverbundene Stichproben

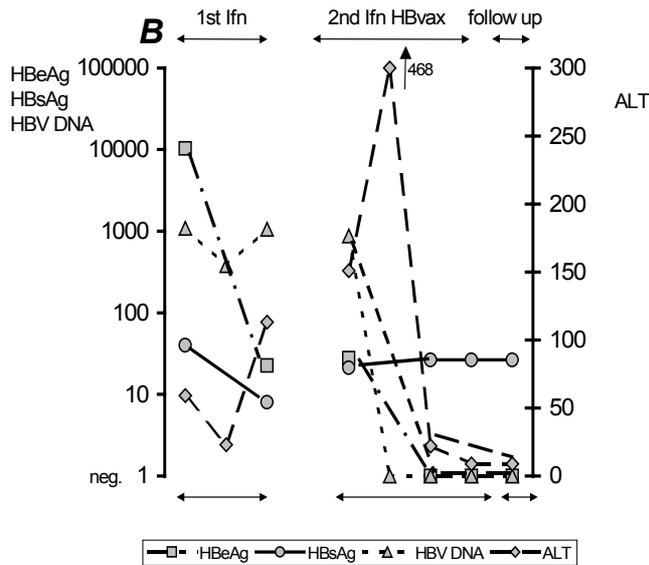
Quantitative Bestimmungen von HBV-DNA, HBeAg und HBsAg im Therapieverlauf verglichen mit der vorangegangenen Interferon-Monotherapie

Die quantitativen Bestimmungen der HBV-DNA-, HBeAg- und HBsAg-Konzentrationen zeigten im Therapieverlauf interindividuell erhebliche Variationen. Im Folgenden sind einige repräsentative Fälle dargestellt (Abb. A-F):

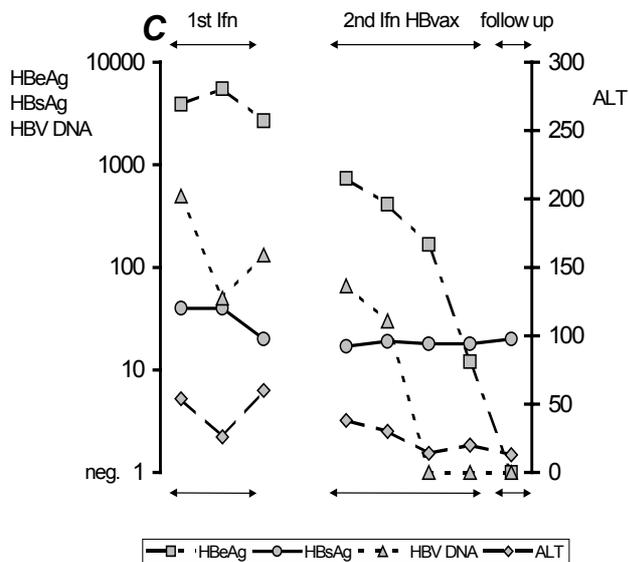
Patient A wies Ähnlichkeiten mit 9 anderen Patienten auf, die dauerhaft auf die Kombinationstherapie ansprachen. Hier hatten sich während der vorangegangenen Interferon-Monotherapie die HBV-DNA- und HBsAg-Konzentrationen nicht wesentlich verändert. Die HBeAg-Konzentration war jedoch (wie auch bei Patient B) unter der IFN-Monotherapie abgefallen und niedrig geblieben. Vor Beginn der Kombinationstherapie waren die HBV-DNA-, HBeAg- und HbsAg-Konzentrationen mäßig hoch, wobei es im Folgenden zu sehr niedrigen oder nicht mehr nachweisbaren Konzentrationen von HBV-DNA, HBeAg, HBsAg und der GPT kam.



Bei Patient B zeigte die HBeAg-Konzentration bei der vorangegangenen IFN-Therapie einen Abfall um mehr als 2 log-Stufen, ohne daß ein signifikanter HBV-DNA-Abfall oder ein GPT-Flare auftraten. Im Gegensatz dazu kam es unter der Kombinationstherapie zu einem starken und anhaltenden Abfall der HBV-DNA und einem starkem GPT-Flare, begleitet von einem unveränderten HbsAg-Spiegel.



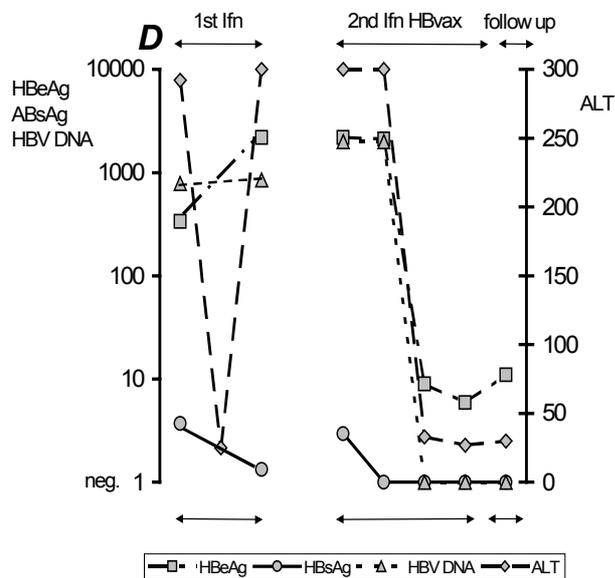
Bei Patient C kam es bei der vorangegangenen IFN-Therapie nur zu einem geringfügigen Abfall der HBV-DNA, der HBeAg- und der HBsAg-Konzentration. Die Kombinationstherapie jedoch führte zu einer vollständigen, auch im Follow-up stabilen Negativierung der HBV-DNA. Ebenso fiel hier die HBeAg-Konzentration rapide bis unterhalb der Nachweisgrenze auf Null. Die HBsAg-Konzentration blieb bei beiden Therapien fast unbeeinflusst.

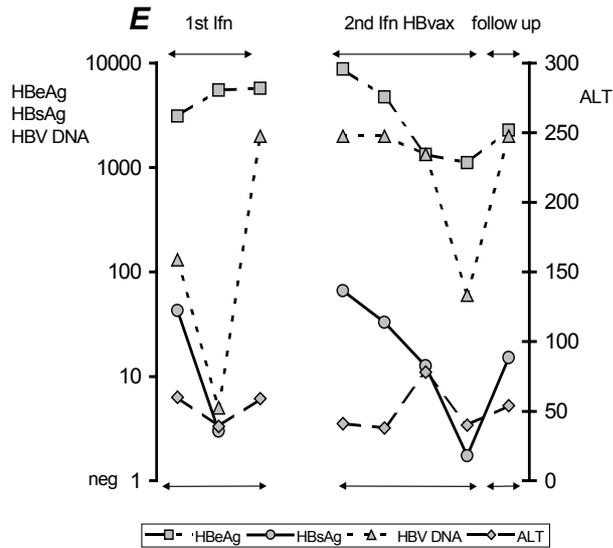


Zwei Patienten (Patient D und E) zeigten während der vorangegangenen IFN-Therapie überraschenderweise einen Anstieg der HBeAg-Konzentration mit gleichzeitigem Abfall der HBsAg-Konzentration. Unter Kombinationsbehandlung kam es bei beiden Patienten zu einem signifikantem Abfall von HBeAg- und HBsAg-Konzentrationen. Die Tatsache der HbeAg-Zunahme während des ersten Therapiekurses ohne HBV-Vakzine deutet darauf hin, daß der Abfall unter der Kombinationstherapie möglicherweise der HBV-Vakzine zuzuschreiben ist. Dennoch war bei beiden Patienten das Therapieergebnis unterschiedlich.

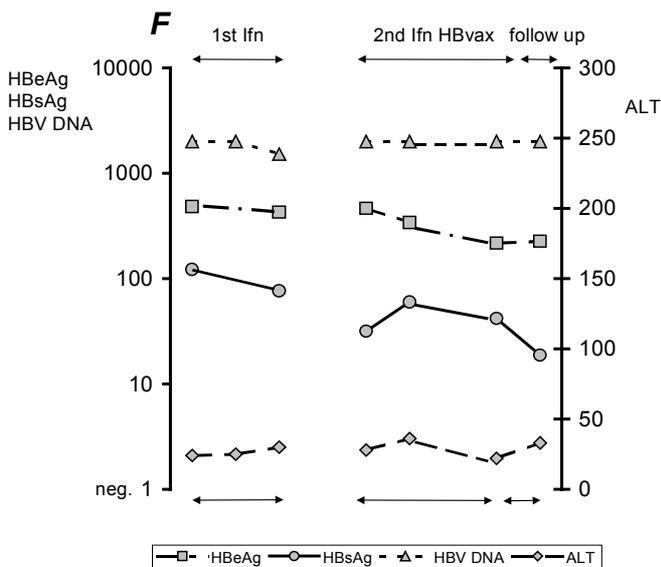
Patient D zeigte ein vollständiges Ansprechen mit anhaltender Negativierung von HBV-DNA und sehr niedrigen Konzentrationen von HBeAg und HBsAg.

Patient E zeigte unter der Kombinationsbehandlung keine HBV-DNA-Negativierung. Während der Nachbeobachtung kam es sogar zu einem deutlichen Wiederanstieg von HBV-DNA-, HBeAg- und HBsAg-Konzentrationen fast auf die Ausgangswerte vor Therapiebeginn.





Wie bei Patient F exemplarisch dargestellt, zeigten 7 von 9 Non-Responder-Patienten unter der Kombinationstherapie einen vorübergehenden Abfall der HBV-DNA-Konzentration und/oder der HBeAg- bzw. HBsAg-Spiegel. Im Vergleich zu den Responder-Patienten fiel der nur kurze und geringe Anstieg der Serum-GPT auf.



Bei allen Responder-Patienten lag der HBsAg-Spiegel nach Therapieende unter 30 µg/ml. Bei einigen Patienten lag die HBsAg-Konzentration sogar unter der Nachweisgrenze von 0,2 µg/ml (EIA).

Nebenwirkungen der Therapie

Die Kombinationstherapie wurde von fast allen Patienten gut vertragen. Im Vordergrund standen die bekannten, leicht bis mittelgradig ausgeprägten Nebenwirkungen von α -Interferon (Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen, transienter Haarausfall, depressive Verstimmungen sowie geringgradige Leukopenien und Thrombopenien). Eine Dosisreduktion oder ein Therapieabbruch wurde in keinem Fall erforderlich.

Bei einem 55-jährigen Patienten kam es 4 Wochen nach Therapiebeginn zu einer erheblichen Erhöhung des Serum-AFP auf maximal 1456 ng/dl in Verbindung mit einem deutlichen Anstieg der Transaminasen (GPT_{max.} 322 U/l, GOT_{max.} 325 U/l). Klinisch stand hierbei eine ausgeprägte allgemeine Abgeschlagenheit im Vordergrund. Ein hepatozelluläres Karzinom zeigte sich mittels bildgebender Verfahren nicht, es wurde keine stationäre Behandlung nach Therapiebeginn erforderlich. Serologisch zeigte sich bei diesem Patienten 3 Monate nach Therapiestart eine persistierende HBV-DNA-Negativierung ohne Serokonversion bei annähernd normalen Transaminasen und AFP.

Bei einer 29-jährigen Patientin trat unter Therapie eine schwere Stomatitis aphthosa auf, die eine vorübergehende stationäre Behandlung erforderlich machte. Die Beschwerdesymptomatik bildete sich nach kurzer Pause der IFN-Therapie vollständig zurück.

Eine 40-jährige Patientin schließlich zeigte nach der ersten Impfung noch vor Beginn der IFN-Therapie eine kurzzeitige, leichte, lokale Impfreaktion mit subfebrilen Temperaturen.

4. Diskussion

Die chronische Hepatitis B-Infektion ist weltweit ein bedeutendes medizinisches Problem. Bei der replikativen (HBeAg-positiven) Verlaufsform entwickeln bereits nach 10-15 Jahren ca. 20-25% der Patienten eine Leberzirrhose [3], die durch ihre Komplikationen innerhalb von wenigen Jahren zum Tode führen kann.

Bisher ist keine Therapie verfügbar, die bei chronischer HBV-Infektion zuverlässig zu einer Ausheilung der Erkrankung führen würde. Die initiale Standard-Therapie besteht in der subkutanen Gabe von Alpha-Interferon in einer Dosierung von 5-6 Mio. IE 3 mal pro Woche über 6 Monate. Hierdurch läßt sich bei ca. 30-40 % der Patienten eine Serokonversion von HBeAg zu HBeAk erzielen [5,6], was mit einer Prognoseverbesserung einhergeht. Eine vollständige Serokonversion von HBsAg zu HBsAk, gelingt unter einer Interferon-Therapie dagegen nur bei ca. 8 % der Patienten [5].

60-70% der mit Interferon behandelten Patienten weisen somit eine Persistenz des HBeAg mit Fortbestehen einer höhergradigen Virusreplikation auf. Durch einen erneuten Interferon-Therapiezyklus kann möglicherweise bei weiteren 30% der verblieben Patienten doch noch eine Serokonversion von HBeAg zu HBeAk erzielt werden. Die Erfahrungen hierüber sind jedoch begrenzt. Primäre Interferon-Non-Responder scheinen von der erneuten Therapie nur in Ausnahmefällen zu profitieren [8].

Auch das Nukleosidanalogen Lamivudine hat bei Patienten, die auf eine vorangegangene Interferon-Therapie nicht dauerhaft angesprochen haben, bisher enttäuscht. Die HBe-Ag-Serokonversionsraten lagen unter einer 12-monatigen Lamivudine-Monotherapie (100 mg/die) bzw. einer kombinierten Lamivudine-Interferon-Therapie über 6 Monate (100 mg/die bzw. 10 Mio. IE TIW) bei lediglich 18% bzw. 12% [12]. Ergebnisse aus weiteren Phase-3-Studien zum Einsatz von

anderen Nukleosidanaloga bei IFN-Non-Respondern liegen zum jetzigen Zeitpunkt ebensowenig vor, wie andere erfolgversprechende Therapiekonzepte.

Pol et al. konnten 1994 im Rahmen einer Pilotstudie an 32 Patienten zeigen, daß bereits eine alleinige aktive Immunisierung gegen HBV bei Patienten mit chronisch replikativer Hepatitis B (HBeAg positiv) in 31% der Fälle zu einer Negativierung der HBV-DNA im Serum führt. Bei weiteren 13% der Patienten wurde eine deutliche Hemmung der Virusreplikation erzielt [17]. Die Mechanismen, die diesem Ansprechen zugrunde liegen, sind möglicherweise eine vermehrte Aktivierung Antigen-präsentierender dendritischer Zellen und eine Proliferation von HBsAg-spezifischen CD4+ Helferzellen [19,20].

Im Rahmen dieser prospektiven Pilotstudie wurde an 20 Patienten mit chronisch replikativer Hepatitis B die Wirksamkeit und Verträglichkeit einer 6-monatigen Alpha-Interferon-Therapie (Intron A[®], 5 Mio IE TIW) in Kombination mit einer aktiven Immunisierung gegen HBV (Gen H-B-Vax[®], MSD, Behringwerke) untersucht. Eingeschlossen wurden nur Patienten, die nach einer vorangegangenen Interferon-Therapie weiterhin mittels Dot-blot-Hybridisierung HBV-DNA im Serum aufwiesen und deren letzte Interferon-Therapie mindestens 6 Monate zurück lag.

Zusammenfassend konnte 6 Monate nach Therapieende bei 50% der Patienten eine Negativierung der HBV-DNA und bei 39% der Patienten eine Serokonversion (HBeAg negativ/HBeAk positiv) erzielt werden. Die Ansprechraten waren damit deutlich besser als bei allen anderen bekannten Therapieansätzen. Dies ist um so bemerkenswerter, wenn bedacht wird, daß sich das untersuchte Patientenkollektiv zu 90% aus ehemaligen Interferon-Non-Respondern rekrutierte. Patienten also, die nach dem derzeitigen Kenntnisstand besonders ungünstige Voraussetzungen für eine Interferon-Retherapie bieten. Zudem wiesen 7 von 20 Patienten vor Therapiebeginn hohe HBV-DNA-Titer (über 2000 pg/ml) auf. Für die Ersttherapie ist bekannt, daß hohe DNA-Titer mit einer niedrigen Ansprechrate einhergehen [5,7].

Aufgrund der geringen Patientenzahl ließ sich im Rahmen der vorliegenden Studie keine aussagekräftige Subgruppenanalyse im Hinblick auf prädiktive Faktoren für den Therapieerfolg durchführen. Insbesondere wäre von Interesse, ob Variablen wie Alter, Geschlecht, Ansprechen bei der vorangegangenen Therapie oder auch die Höhe des HBV-DNA-Titers und der Transaminasen mit der Serokonversionsrate korreliert werden können. Für die Interferon-Monotherapie gelten hohe Transaminasen und niedrige HBV-DNA-Spiegel als günstige prädiktive Faktoren für ein Ansprechen [5,7,21,22].

Zur Klärung dieser Fragen ist bereits eine größere, kontrollierte, randomisierte Studie aufgelegt worden. In diesem Rahmen wird auch untersucht werden, ob eine weitere Optimierung der Wirksamkeit durch Änderung des Therapieschemas möglich ist. Denkbar sind hier vor allem Protokolle mit höherer Impfstoff- und/oder Interferon-Dosis sowie eine sequentielle Vakzinations-Interferon-Therapie.

Eine intrakutane Impfung könnte nach neueren Ergebnissen im Gegensatz zur intramuskulären Injektion zu einer besseren Präsentation des HBs-Ag durch Antigen-präsentierende-Zellen (APC) und damit zu einer verstärkten Stimulation von T4-Helfer-Zellen führen [23].

Darüberhinaus müssen die immunologischen Mechanismen aufgeklärt werden, die die Wirkung der Vakzination bei bereits bestehender HBV-Infektion vermitteln.

5. Literaturverzeichnis

1. Heintges T, Mohr L, Niederau C. Epidemiologie und Klinik der chronischen Virushepatitis. *Dtsch med Wschr* 1994; 119: 1365-70
2. de Franchis R, Meucci G, Vecchi M et al. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993; 118: 191-4
3. Liaw Y, Tai D, Chu C, Chen T. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis. A prospective study. *Hepatology* 1988; 8: 493-6
4. Hopf U, Niederau C, Kleber G, Fleig WE. Behandlung der chronischen Virushepatitis B/D und der akuten und chronischen Virushepatitis C. Konsensus der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten. *Z Gastroenterol* 1997; 35: 971-86
5. Niederau C, Heintges T, Lange S et al. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996; 334: 1422-7
6. Wong DK, Cheung AM, O'Rourke K et al. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993; 119: 312-23
7. Brook MG, McDonald JA, Karayiannis P, Caruso L, Forster G, Harris JR, Thomas HC. Randomised controlled trial of interferon alfa 2A (Roferon-A) for the treatment of chronic hepatitis B virus (HBV) infection: factors that influence response. *Gut*. 1989; 30: 1116-22.
8. Teuber G, Dienes HP, Meyer zum Büschenfelde KH, Gerken G. Interferon-alpha-Retherapie der chronischen Hepatitis-B- und -C-Virusinfektion. *Z Gastroenterol* 1995; 33: 94-8
9. Janssen HL, Schalm SW, Berk L, de Man RA, Heijtkink RA. Repeated courses of alpha-interferon for treatment of chronic hepatitis type B. *J Hepatol*. 1993; 17 Suppl 3: S47-51.
10. Ballauff A, Schneider T, Gerner P, Habermehl P, Behrens R, Wirth S. Safety and efficacy of interferon retreatment in children with chronic hepatitis B. *Eur J Pediatr*. 1998; 157: 382-5.

11. Dienstag JL, Schiff ER, Wright TL et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med* 1999; 341: 1256-63.
12. Schiff E, Karayalcin S, Grimm I et al. A placebo controlled study of lamivudine and interferon alpha-2b in patients with chronic hepatitis B who previously failed interferon therapy. *Hepatology*. 1998;28:388A.
13. Mutimer D, Naoumov N, Honkoop P et al. Combination alpha-interferon and lamivudine therapy for alpha- interferon-resistant chronic hepatitis B infection: results of a pilot study. *J Hepatol*. 1998;28:923-9.
14. Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW et al. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. Lamivudine Clinical Investigation Group. *Hepatology*. 1998; 27: 1670-7.
15. Ling R, Mutimer D, Ahmed M, Boxall EH, Elias E, Dusheiko GM, Harrison TJ. Selection of mutations in the hepatitis B virus polymerase during therapy of transplant recipients with lamivudine. *Hepatology*. 1996 ;24: 711-3.
16. Honkoop P, Niesters HG, de Man RA, Osterhaus AD, Schalm SW. Lamivudine resistance in immunocompetent chronic hepatitis B. Incidence and patterns. *J Hepatol*. 1997;26:1393-5.
17. Pol S, Driss F, Michel ML, Nalpas B, Berthelot P, Brechot C. Specific vaccine therapy in chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1994; 344: 342
18. Gerlich WH, Thomssen R. Standardized detection of hepatitis B surface antigen: determination of its serum concentration in weight units per volume. *Develop Biol Standard*. 1975; 30: 78-87.
19. Akbar SM, Abe M, Masumoto T, Horiike N, Onji M. Mechanism of action of vaccine therapy in murine hepatitis B virus carriers: vaccine-induced activation of antigen presenting dendritic cells. *J Hepatol*. 1999; 30: 755-64.
20. Couillin I, Pol S, Mancini M, Driss F, Brechot C, Tiollais P, Michel ML. Specific vaccine therapy in chronic hepatitis B: induction of T cell proliferative responses specific for envelope antigens. *J Infect Dis*. 1999; 180: 15-26.
21. Thomas HC, Karayiannis P, Brook G. Treatment of hepatitis B virus infection with interferon. Factors predicting response to interferon. *J Hepatol*. 1991; 13 Suppl 1: S4-7.

22. Nowak MA, Bonhoeffer S, Hill AM, Boehme R, Thomas HC, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996; 93: 4398-402.

23. Rahman F, Dahmen A, Herzog-Hauff S et al. Cellular and humoral immune response induced by intradermal or intramuscular vaccination with the major hepatitis B surface antigen. *Hepatology* 2000; 31 (2): 521-7.

Zusammenfassung

Die chronische Hepatitis B-Infektion ist weltweit ein bedeutsames medizinisches Problem. Vor allem Patienten mit replikativer (HBeAg-positiver) Verlaufsform sind in hohem Maße gefährdet, innerhalb weniger Jahre eine Leberzirrhose zu entwickeln. Diese führt häufig durch ihre Komplikationen, wie Leberversagen oder hepatozelluläres Karzinom zum Tod.

Die therapeutischen Möglichkeiten bei chronisch replikativer Hepatitis B sind bis heute begrenzt. Unter Gabe von Alpha-Interferon über 6 Monate kann bei lediglich etwa 30-40% der Patienten eine Serokonversion des HBeAg erzielt werden. Hierdurch wird die Prognose verbessert. Bei den übrigen Patienten ist eine erneute Interferontherapie nur noch selten erfolgreich. Auch Nukleosidanaloga (wie z.B. Lamivudine) haben die Ergebnisse bisher nicht verbessern können.

Wir haben im Rahmen dieser Pilotstudie bei 20 Patienten mit chronisch replikativer Hepatitis B, die auf eine vorangegangene Interferon-Therapie nicht angesprochen haben, die Wirksamkeit und Verträglichkeit einer 6-monatigen Alpha-Interferon-Therapie (Intron A[®], 5 Mio IE 3x pro Woche s.c.) in Kombination mit einer aktiven Immunisierung gegen HBV (Gen H-B-Vax[®], MSD, Behringwerke) untersucht. *Zusammenfassend* zeigte die Gruppe der initial HBeAg positiven Patienten (n=18) 6 Monate nach Therapieende in 50% eine Negativierung der HBV-DNA und in 39% eine Serokonversion des HBeAg (HBeAg neg/HBeAk pos). Die Ansprechraten waren damit deutlich besser als bei allen bekannten Therapieansätzen. Größere kontrollierte Studien werden diese vielversprechenden Ergebnisse bestätigen müssen.

Anhang

Lebenslauf

Persönliche Daten

Vor- und Familienname: Michaela Kaldewey
 Geburtsname: Bonsmann
 Geburtsdatum: 08.06.1967
 Geburtsort: Düsseldorf
 Eltern: Wolfgang Bonsmann
 Goldschmiedemeister
 Lieselotte Bonsmann
 Kauffrau
 Staatsangehörigkeit: deutsch
 Bekenntnis: römisch-katholisch
 Familienstand: verheiratet; 3 Kinder

Schulbildung:

Aug. 1973 bis Juli 1977 Grundschule
 Karthause-Hain-Schule, Düsseldorf
 Aug. 1977 bis Jan. 1979 Kreisgymnasium Heikendorf
 Schleswig-Holstein
 Feb. 1979 bis Juni 1986 Geschwister-Scholl-Gymnasium
 Ratingen
 Abschluß: Abitur
 Aug. 1986 bis April 1987 Höhere Handelsschule für Abiturienten

Berufsausbildung:

Juli 1987 bis März 1988	Stadtinspektoranwärterin Fachhochschule für öffentliche Verwaltung NRW
April 1988 bis Juli 1988	Krankenpflege-Praktikum Heerdter Krankenhaus
Okt. 1988 bis Sept. 1991	Krankenpflegeausbildung Marienhospital, Düsseldorf Abschluß: Krankenschwester
Okt. 1992	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf
April 1995	Physikum
März 1996	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
März 1999	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
April 1999 bis April 2000	Praktisches Jahr im Ev. Krankenhaus in Düsseldorf mit drittem Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Juni 2000 bis Dez.2001	Ärztin im Praktikum im Ev. Krankenhaus in Düsseldorf in der Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde
seit Dezember 2001	Ärztin im Ev. Krankenhaus in Düsseldorf in der Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde

Kombinationstherapie aus aktiver HBsAg-Vakzination und alpha-Interferon bei Interferon Non-Respondern mit chronisch replikativer Hepatitis B

Michaela Kaldewey

ZUSAMMENFASSUNG

Die chronische Hepatitis B-Infektion ist weltweit ein bedeutsames medizinisches Problem. Vor allem Patienten mit replikativer (HBeAg-positiver) Verlaufsform sind in hohem Maße gefährdet, innerhalb weniger Jahre eine Leberzirrhose zu entwickeln. Diese führt häufig durch ihre Komplikationen, wie Leberversagen oder hepatozelluläres Karzinom zum Tod.

Die therapeutischen Möglichkeiten bei chronisch replikativer Hepatitis B sind bis heute begrenzt. Unter Gabe von Alpha-Interferon über 6 Monate kann bei lediglich etwa 30-40% der Patienten eine Serokonversion des HBeAg erzielt werden. Hierdurch wird die Prognose verbessert. Bei den übrigen Patienten ist eine erneute Interferontherapie nur selten erfolgreich. Auch Lamivudine und andere Nukleosidanaloga haben die langfristigen Ergebnisse bisher nicht verbessern können.

Im Rahmen einer Pilotstudie bei 20 Patienten mit chronisch replikativer Hepatitis B, die auf eine vorangegangene Interferon-Therapie nicht angesprochen haben, wurde die Wirksamkeit und Verträglichkeit einer 6-monatigen Alpha-Interferon-Therapie (Intron A[®], 5 Mio IE 3x pro Woche s.c.) in Kombination mit einer aktiven Immunisierung gegen HBV (Gen H-B-Vax[®], MSD, Behringwerke) untersucht. Zusammenfassend zeigte die Gruppe der initial HBeAg positiven Patienten (n=18) 6 Monate nach Therapieende in 50% eine Negativierung der HBV-DNA und in 39% eine Serokonversion des HBeAg (HBeAg negativ/HBeAk positiv). Die Ansprechraten waren damit besser als bei allen anderen Therapieansätzen. Größere kontrollierte Studien werden diese vielversprechenden Ergebnisse bestätigen müssen.