

# 25 Jahre nach der Entdeckung von HIV: Chancen auf Heilung und Impfung (Nobel-Vortrag)\*\*

Luc Montagnier\*

Virologie · AIDS · HIV · Nobel-Vortrag

## Biographisches

Ich wurde am 18. August 1932 in Chabris geboren, einer französischen Kleinstadt in Berry südlich des Loiretals. Die wichtigsten Produkte dieser bis heute landwirtschaftlich geprägten Region sind Käse und Spargel. Es war die Heimat meiner Mutter, ich selbst lebte aber nie dort. Die Eltern meines Vaters stammten aus der Auvergne, einer Provinz im Herzen Frankreichs, die für ihre weiten Graslandschaften und urzeitlichen Vulkane bekannt ist. Von letzteren leitet sich wohl auch mein Familienname ab: Montagnier, was soviel bedeutet wie Bergbewohner.

Mein Vater hatte in seiner Jugend eine durch Streptokokken verursachte Arthritis durchlitten. Diese schreckliche Krankheit hatte seine Herzkappen irreversibel geschädigt, sodass er von der Armee ausgemustert wurde. Er nahm eine Tätigkeit als Buchhalter an, was damals noch mit viel handschriftlicher Aufzeichnung verbunden war. Zunächst arbeitete er in Poitiers, dann zog er ein wenig weiter nach Norden, in die Kleinstadt Chatellerault, zwischen Tours und Poitiers gelegen.

Ich war ein Einzelkind, und so wurde mir stets die ungeteilte Aufmerksamkeit meiner Mutter zuteil. An zwei Ereignisse aus dieser Zeit erinnere ich mich noch genau:

Im Alter von 5 Jahren wurde ich beim Überqueren einer Hauptstraße von einem zu schnell fahrenden Auto erfasst. Ich erlitt zahlreiche Wunden, deren Narben zum Teil heute noch sichtbar sind, und fiel ins Koma. Doch nach 2 Tagen erwachte ich wieder und war quasi neu geboren (Abbildung 1).



Abbildung 1. Luc Montagnier im Alter von fünf Jahren.

Zwei Jahre später, im Jahr 1939, begann der Krieg, gerade zu der Zeit, als die ganze Familie mit der Traubenernte im Weinberg meines Onkels beschäftigt war. Die Zeitungsbilder der Ruinen von Warschau nach einem deutschen Luftangriff sind mir im Gedächtnis geblieben.

1940 schließlich erreichte der Krieg auch uns: Bei der Invasion durch die deutsche Wehrmacht ließen meine Eltern ihr Haus zurück, weil es nahe eines Bahnhofs und damit sehr gefährlich gelegen war. Doch auf unserer Flucht im Auto waren wir vor den Bomben bestimmt nicht sicherer, als wenn wir zuhause geblieben wären.

Das erste Besatzungsjahr war entsetzlich; wir hatten keinerlei Vorräte und hungerten die meiste Zeit. Ich war ein schmächtiges Büschlein, und in den vier Kriegsjahren nahm ich kein einziges Gramm zu! Der Geschmack des „Ersatz“-Essens war nichts für mich, doch von Schokolade und Orangen konnte ich nur träumen. Dazu kam noch, dass mein Vater an chronischer Darmentzündung litt, und bei seinem Vater wurde ein Kolorektal-Karzinom festgestellt. Bis mein Großvater im Jahr 1947 nach langer schwerer Krankheit starb, musste ich mit jedem Besuch ansehen, wie sich sein Zustand unaufhaltsam verschlechterte. Diese Erfahrung war wohl einer der Gründe, warum ich später Medizin studierte und über Krebs zu forschen begann.

Im Juni 1944 wurde unser Haus dann schwer beschädigt – diesmal aber durch einen alliierten Bombenangriff. Frankreich wurde befreit, was eine große Erleichterung bedeutete, doch der Anblick der vielen getöteten Zivilisten und Soldaten wollte mich ebenso wenig loslassen wie die Bilder der abgemagerten KZ-Häftlinge, die dem Tod in den Lagern entronnen waren. Ich habe den Krieg kennengelernt, und ich verabscheue seine Greuel.

In der höheren Schule war ich meinen Klassenkameraden gewöhnlich weit voraus. Zu dieser Zeit entwickelte ich auch meine wissenschaftliche Neugierde, während meine katholische Erziehung in den Hintergrund trat. Nach dem Beispiel meines Vaters, der in seiner Freizeit mit Batterien werkeln, stattete ich den Keller unseres neuen Hauses mit einem Chemielabor aus, in dem ich begeistert Wasserstoffgas und

[\*] Prof. L. Montagnier

World Foundation AIDS Research and Prevention, UNESCO, Paris (Frankreich)

[\*\*] Copyright© The Nobel Foundation 2008. Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck einer deutschen Fassung des Vortrags.

süßlich riechende Aldehyde erzeugte sowie Nitroverbindungen (nicht Nitroglycerin!), die mir aber ein ums andere Mal explodierten.

Durch die Lektüre populärwissenschaftlicher Bücher verfolgte ich mit Begeisterung den beeindruckenden Fortschritt der Physik, und im Besonderen der Atomphysik. Weil ich wohl in Physik und Chemie bewandert, in Mathematik aber nicht der Beste war, bewarb ich mich nicht um einen Studienplatz an einer der „Grandes Ecoles“, sondern schrieb mich in Poitiers für Medizin und Naturwissenschaften ein. Im Grunde schwebte mir eine Forscherlaufbahn in Humanbiologie vor, doch weder die Medizin noch die Naturwissenschaften in Poitiers boten dieses Studienfach an. Weil beide Fakultäten aber nahe beieinander lagen, konnte ich morgens im Krankenhaus studieren und nachmittags Vorlesungen in meinen naturwissenschaftlichen Hauptfächern – Botanik, Zoologie und Geologie – besuchen.

Pierre Gavaudan, damals neu als Botanik-Professor, war glücklicherweise ein sehr untypischer Vertreter seiner Zunft, insofern sein Interesse weit über die Klassifizierung von Pflanzen hinausging. Ihm gebührt mein Dank dafür, dass er mir die Augen für die neue Biologie öffnete, deren Zeitalter durch die Entdeckung der DNA-Doppelhelix, der In-vitro-Synthese von Proteinen und der Struktur von Viren eingeleitet wurde.

Zu dieser Zeit entwickelte ich zuhause eine Vorrichtung, in der ich eine Zeitrafferkamera und ein Mikroskop koppelte, die mir mein Vater geschenkt hatte. Mit der Hilfe dieses Geräts konnte ich erste eigene Forschungen anstellen. Dabei stand mit der Phototaxie von Chloroplasten ein seit 1908 bekanntes Phänomen im Mittelpunkt: die Fähigkeit einiger Algen, die an der Oberfläche von Teichen leben, ihren großen Chloroplasten gemäß der Lichtintensität auszurichten; bei zu starker Lichteinstrahlung drehte sich der flache Chloroplast in der röhrenförmigen Zelle in einer Weise, dass er seine Kante präsentierte. Bei Dunkelheit oder schwacher Einstrahlung zeigte er hingegen seine größte Oberfläche. Weil dieser Prozess einige Minuten dauerte, ließ er sich mit der Zeitrafferkamera beobachten. Mithilfe verschiedener Glasfilter konnte ich zeigen, dass nicht das vom Chlorophyll absorbierte rote Licht für die Orientierung der Chloroplasten maßgeblich war, sondern dass der Prozess indirekt über gelbliche Pigmente gesteuert wird, die blaues Licht absorbieren. Im Alter von 21 Jahren reichte ich diese Arbeit stolz an der naturwissenschaftlichen Fakultät von Poitiers ein. Mein Mentor Pierre Gavaudan bat mich daraufhin, zusätzlich noch eine Literaturrecherche anzustellen. Indem er mir die L-Formen von Bakterien als Thema vorgab, schickte er mich auf den ersten von mehreren Exkursen in die Welt der Filterbakterien. Die Suche nach Quellen zu diesem kontroversen Thema führte mich bis in die Bibliothek des Pariser Pasteur-Instituts. Bald darauf verließ ich dann Poitiers ganz in Richtung Paris, wo ich mein Medizinstudium abschließen und einige Aspekte der Biologie mit mehr Bezug zur Humanbiologie studieren konnte, namentlich Neurophysiologie, Virologie und Onkologie.

Nach meiner Aufnahme als Assistent an der Sorbonne erlernte ich mit 23 Jahren zunächst einige klassische Verfahren, die auf Alexis Carrels Arbeiten an Hühnerembryoherzen

Kulturen zurückgingen, sowie die Handhabung von Monoschichten aus humanen Zelllinien. Meine Forschung erbrachte zwar nichts Verwertbares, doch diese Studien verschafften mir solide Kenntnisse der Pasteurschen Techniken, mit deren Hilfe man auch ohne Anwendung von Antibiotika perfekt steril arbeiten konnte.

Im Jahr 1957 beschrieben Fraenkel-Conrat, Gierer und Schramm die erste infektiöse Virus-RNA aus dem Tabakmosaikvirus. Damit war mein Werdegang bestimmt: Ich wollte als Virologe forschen und die Methoden der modernen Molekularbiologie nutzen.

Ich begann mit Untersuchungen zum Virus der Maul- und Klauenseuche in Carshalton bei London. Mein Gastgeber war Kingsley Sanders, ein außergewöhnlicher Brite, der in seiner Freizeit Opernmusik zu komponieren pflegte. Bei der Aufklärung der Replizierung von kleinen RNA-Viren überließ er mir die Wahl der Mittel. Es gelang mir, die erste infektiöse Doppelstrang-RNA aus Zellen zu identifizieren, die mit dem murinen Encephalomyokarditis-Virus (einem kleinen Einzelstrang-RNA-Virus) infiziert waren. Damit war bewiesen, dass sich RNA wie DNA replizieren kann, indem sie unter Basenpaarung einen komplementären Strang aufbaut.

Um meine Kenntnisse über onkogene Viren weiter zu verbessern, wechselte ich von Carshalton nach Glasgow. Dort war ein neues Institut für Virologie eröffnet worden, dem der bemerkenswerte Virologe Michael Stocker vorstand. Viele hervorragende Gastwissenschaftler, unter anderem auch Renato Dulbecco, verbrachten Forschungsaufenthalte an diesem Institut.

Im Zuge von Untersuchungen über ein kleines onkogenes DNA-Virus, ein Polyomavirus, entdeckten Ian Macpherson und ich eine neue Eigenschaft transformierter Zellen: Sie wuchsen in Weichagar. Mithilfe dieser Technik war es einfach, das Transformierungsvermögen des Polyomavirus und seiner DNA zu ermitteln. Wir wiesen nach, dass schon die isolierte DNA das gesamte onkogene Potenzial des Virus in sich trägt. Heute ist dies allgemein bekannt, aber seinerzeit war es keinesfalls selbstverständlich.

Nach meiner Rückkehr nach Frankreich arbeitete ich am Curie-Institut. Dort wendete ich das Verfahren auf verscheidenartige Krebszellen an, im ursprünglichen Zustand sowie nach Transformierung mit onkogenen RNA- oder DNA-Viren. Ich konnte *in vitro* einige Stufen des Transformierungsprozesses unterscheiden, die mit Modifikationen der Plasmamembran und der umgebenden Kohlenhydrathülle einhergingen.

Das große Rätsel dieser Tage war die Replizierung von onkogenen RNA-Viren, die heute als Retroviren bezeichnet werden. Howard Temin (Abbildung 2) hatte die Beteiligung einer DNA-Zwischenstufe vorgeschlagen, doch andere Möglichkeiten waren ebenfalls denkbar. Ich suchte beispielsweise nach einer Doppelstrang-RNA, die für das Rous-Sarkom-Virus spezifisch war, das Hühnerembryozellen infizieren und transformieren kann. Es gelang mir auch, Doppelstrang-RNA-Sequenzen zu isolieren, diese stammten jedoch von der Zelle selbst und lagen in gleicher Konzentration auch in nichtinfizierten Zellen vor! Gemeinsam mit Louise Harel wies ich später nach, dass diese RNA zum Teil



**Abbildung 2.** Überreichung einer Ehrentafel der American Society of Pathology durch Howard Temin (1985).

auf DNA-Wiederholungssequenzen zurückgeht. Rückblickend könnten wir damals einige der kürzlich identifizierten interferierenden RNAs isoliert haben, die an der Herunterregulierung der Boten-RNA-Translation beteiligt sind.

In der Zeit um 1969 und 1970 führte die Isolierung einer RNA-Polymerase in Zusammenhang mit Partikeln des Virus der vesikulären Stomatitis zu der Vorstellung, dass es auch ein maßgebliches Enzym für onkogene RNA-Viren geben könnte. So entdeckten Howard Temin und Mizutani, sowie unabhängig von ihnen D. Baltimore, im Jahr 1970 ein spezifisches Enzym des Rous-Sarkom-Virus (RSV). Diese reverse Transkriptase (RT) war in der Lage, virale RNA in DNA zurückzuübersetzen.

Ungefähr zur gleichen Zeit zeigten Hill und Hillova im französischen Villejuif, dass DNA-Extrakte mit RSV transformierter Zellen infektiös waren und die genetische Information der Viren-RNA in sich trugen. Das Enzym wirkte also auch in infizierten Zellen. Zusammen mit P. Vigier bestätigte ich diese Beobachtung. Wir konnten überdies nachweisen, dass die infektiöse DNA mit der chromosomal DNA der Zellen verbunden war. Somit war ein Einbau von proviraler DNA belegt, wie er zuvor von Temin postuliert worden war.

Die Untersuchungen am Hühner-RSV stießen Studien an ähnlichen Viren in Säugern an. Zahlreiche Forscher gingen zu diesem Zeitpunkt davon aus, dass die RT-Aktivität eine neue und hoch empfindliche Möglichkeit bieten könnte, ähnliche Viren bei humaner Leukämie oder anderen Krebserkrankungen des Menschen aufzuspüren. Die amerikanischen NIH legten eigens ein kostspieliges Krebsviren-Programm auf. Leider verlief die Suche nach humanen Retroviren weitgehend ergebnislos, doch sie führte zu grundlegenden molekulärbiologischen Erkenntnissen über tierische Retroviren und zur Entdeckung der Onkogene als „Krebsgene“.

Im Jahr 1972 offerierte mir Jacques Monod, der damalige Direktor des Pasteur-Instituts, eine Forschungsgruppe in der neuen virologischen Abteilung des Instituts zu gründen. Ich nahm an und wählte mit der viralen Onkologie ein allgemeines Thema, das mir Gestaltungsfreiheit bei meinen Projekten ließ. Das Ziel blieb aber immer die Entdeckung von Viren, die an Krebserkrankungen des Menschen beteiligt sind.

Unter anderem interessierte ich mich für den Wirkmechanismus von Interferon und dessen Rolle bei der Expression von Retroviren. In dieses Gebiet gelangte ich, nachdem ich in Zusammenarbeit mit zwei anerkannten Experten, Edward und Jacqueline De Maeyer, die biologische Aktivität von Interferon-Boten-RNA nachgewiesen hatte. Von 1973 an bekam meine Forschungsgruppe Unterstützung durch Ara Hovanessian und seine Mitarbeiter, mit deren Hilfe wir auch den komplizierten biochemischen Mechanismus der antiviralen Aktivität dieser bemerkenswerten Gruppe zellulärer Proteine erforschen konnten.

1975 erhielt unsere Gruppe dann Verstärkung durch Jean-Claude Chermann und Françoise Barré-Sinoussi (Abbildung 3), die im Besonderen auf den Nachweis von Retroviren anhand ihrer RT-Aktivität spezialisiert war. Ich überzeugte die beiden, an einer internen Kooperation teilzunehmen, deren Ziel wieder das Auffinden von Retroviren im Zusammenhang mit Krebserkrankungen im Menschen war. Wir begannen im Jahr 1977 mit Gewebsproben und Blutproben aus verschiedenen Pariser Krankenhäusern.



**Abbildung 3.** Die Entdecker von HIV im Park des Pasteur-Instituts in Garches bei Paris während einer Pause des „100 Guards Meeting“ (1987). Von links nach rechts: Jonas Salk, Jean-Claude Gluckman, Jean-Claude Chermann, Luc Montagnier, Robert Gallo, Françoise Barré-Sinoussi, Willy Rozenbaum, Charles Mérieux.

Zwei Fortschritte anderer Arbeitsgruppen halfen uns bei unserer Suche:

In Villejuif hatte Ion Gresser ein wirksames Antiserum erhalten, das endogenes Alpha-Interferon neutralisieren konnte. Wir erkannten, dass dieses Interferon von Mauszellen produziert wird, in denen die Expression einiger ihrer endogenen Retroviren induziert war. Eine Blockade durch das Antiserum verstärkte die Produktion der endogenen Retroviren im Kulturmedium bis um das 50-fache. Obwohl endogene Retroviren schon seit Jahrmillionen im Genom von Vertebraten verschlüsselt sind, wird ihre Expression – wie die Expression exogener Viren auch – noch immer durch das Interferonsystem kontrolliert!

Um diese Zeit entdeckten Doris Morgan und Frank Ruscetti in Dr. Gallos Arbeitsgruppe einen Wachstumsfaktor, mit dessen Hilfe humane T-Lymphocyten (TCGF, damals Interleukin 2, IL2, genannt) *in vitro* vervielfältigt und somit

kultiviert werden konnten. Uns war zu dieser Zeit bekannt, dass Mausmammatumor-Viren (MMTV; ein Retrovirus) nicht nur in den Tumorzellen, sondern auch in Lymphocyten im Blut exprimiert werden können.

Diese beiden Fortschritte sollten uns bei der Suche nach Retroviren im Zusammenhang mit Krebserkrankungen helfen. Wir konzentrierten uns auf die Anwendung des Anti-Interferon-Serums und von IL<sub>2</sub> auf T-Lymphocyten-Kulturen von Brustkrebspatienten.

Im Jahr 1980 gelang es uns dann, eine DNA-Sequenz, die der Sequenz von MMTV nahe verwandt war, nicht nur in den Krebszellen einer an entzündlichem Brustkrebs erkrankten Nordafrikanerin, sondern auch in Kulturen ihrer T-Lymphocyten nachzuweisen. Für einen zweiten Patienten erhielten wir ähnliche Resultate. Leider konnten wir auf dem damaligen Stand noch nicht ermitteln, ob wir es mit Sequenzen eines endogenen Retrovirus oder mit einem exogenen Virus zu tun hatten. Ich plane aber, diese Studien unter Zuhilfenahme der leistungsfähigen Techniken, die uns mittlerweile zur Verfügung stehen, wieder aufzunehmen.

Im Jahr 1983 führte derselbe Ansatz – mit Anti-Interferon-Serum und Langzeitkulturen von T-Lymphocyten – dann aber zur Isolierung von HIV.

Ich begann im Jahr 1982 mit der Erforschung von AIDS. Damals wurde bekannt, dass ein Erreger – möglicherweise ein Virus – die neue mysteriöse Krankheit auslösen könnte. Zu dieser Zeit gab es in Frankreich nur wenige Erkrankungsfälle, doch diese genügten, um das Interesse einer Gruppe junger Ärzte und Immunologen zu wecken. Sie wandten sich wiederum an Virologen, und speziell Retrovirologen, weil es wahrscheinlich erschien, dass das HTLV beteiligt sein könnte. Dieses Virus war das einzige bekannte humane Retrovirus und erst kürzlich von R. C. Gallo beschrieben worden. Retroviren, die in Nagern Leukämie auslösen, verursachen oft auch eine Auszehrung (das „Wasting-Syndrom“), die auf eine Schwächung des Immunsystems zurückzuführen sein könnte. Ähnliche Beobachtungen wurden auch bei Patienten mit HTLV-induzierter Leukämie gemacht.

Ein Mitglied dieser Ärztegruppe, Françoise Brun-Vézinet, hatte als Studentin mein Virologieseminar besucht. Sie rief mich an, weil sie eine Möglichkeit sah, nach dem vermeintlichen Retrovirus zu suchen. Ein junger Homosexueller war nach einer USA-Reise mit einem – nicht schmerhaft, aber unästhetisch – geschwollenen Lymphknoten im Nacken bei Dr. Willy Rozenbaum, einem der Köpfe der Ärztegruppe vorstellig geworden. Diese Lymphknotenschwellung war ein frühes Symptom der Krankheit.

Ein Grund dafür, in diesem Krankheitsstadium schon nach dem Virus zu suchen, lag darin, dass ein frühzeitig gefundenes Virus sicherer als Auslöser denn als Folge der Schwächung des Immunsystems zu identifizieren wäre. Mit den Untersuchungen wurde auch deshalb begonnen, weil eine Anfrage eines Herstellers von Hepatitis-B-Impfstoff vorlag. Dieses Tochterunternehmen des Pasteur-Instituts nutzte das Plasma amerikanischer Blutspender, und man war besorgt, ob der AIDS-Erreger durch die angewendete Reinigung mit Virusantigenen sicher entfernt würde.

Die Probe aus dem Lymphknoten traf am 3. Januar 1983 ein, dem ersten Tag meines neuen Virologieseminars am

Pasteur-Institut. Erst abends fand ich die Zeit, das kleine harte Gewebsstück aufzuschneiden. Ich trennte die Lymphocyten ab und begann, ihre Kultivierung mithilfe eines bakteriellen Mitogens zu stimulieren. Ich setzte dieses Protein A ein, das sowohl auf B- als auch auf T-Lymphocyten wirkt, weil ich nicht wusste, welche Lymphocyten-Fraktion das gesuchte Virus produzieren würde. Drei Tage später setzte ich den T-Zell-Wachstumsfaktor zu, den mir ein Kollege aus der Arbeitsgruppe von Jean Dausset zur Verfügung gestellt hatte.

Die T-Zellen wuchsen und gediehen. Meine Mitstreiter Françoise Barré-Sinoussi und Jean-Claude Chermann und ich entschlossen uns, einem früher ausgearbeiteten Protokoll für die Suche nach Retroviren in Krebserkrankungen beim Menschen zu folgen und die RT-Aktivität im Kulturmedium alle 3 Tage zu messen. Am 15. Tag entdeckte Françoise einen Hinweis auf einen positiven Verlauf (Einbau von radioaktivem Thymidin in polymere DNA), der sich in der folgenden Woche bestätigte.

Wir hatten erfolgreich nachgewiesen, dass ein Retrovirus vorlag, doch damit fingen die Fragen erst an: 1) Ähnelte das Virus dem HTLV oder nicht? 2) War es ein begleitendes Virus oder die wirkliche Ursache der Krankheit?

Um Antworten auf diese grundsätzlichen Fragen zu finden, mussten wir das Virus biochemisch und immunologisch charakterisieren, und dafür mussten wir es in ausreichenden Mengen züchten. Es erwies sich glücklicherweise als leicht, das Virus in aktivierten T-Lymphocyten von erwachsenen Blutspendern zu vermehren. Dieses erste Isolat war nicht zellpathogen, doch anders als bei HTLV-infizierten Kulturen entstanden durch Transformierung keine unsterblichen Zelllinien; wie normale Lymphocyten starben die Kulturen jeweils nach 3–4 Wochen.

Im Unterschied hierzu wirkten die Isolate, die ich in der Folge aus Lymphocyten-Kulturen von AIDS-Patienten erhielt, zellpathogen auf T-Lymphocyten-Kulturen, und sie ließen sich, wie wir später herausfanden, in größeren Mengen in leukämischen Zelllinien züchten.

Kurz nach der Isolierung konnten meine Mitarbeiter und ich zeigen, dass das Virus immunologisch nicht mit HTLV verwandt war, und auch unter dem Elektronenmikroskop unterschied es sich deutlich von diesem. Schon im Juni 1983 fiel mir auf, dass die Bilder unseres Virus quasi identisch mit publizierten elektronenmikroskopischen Aufnahmen des Visna-Virus von Schafen, des Virus der infektiösen Anämie von Pferden und des bovinen Lymphocytentivirus war: Es war also ein Retroentivirus; Viren dieser Unterfamilie lösen bei den betroffenen Tieren lang anhaltende Krankheiten aus, aber keine Immunschwäche.

Somit war klar, dass wir es mit einem Virus zu tun hatten, das sich sehr stark von HTLV unterschied. Meine Aufgabe bestand nun darin, ein Forscherteam zusammenzustellen, das dieses neue Virus sicher als den Erreger von AIDS enttarnte.

In dieser spannenden Zeit hielten wir an jedem Samstagmorgen eine Besprechung ab, und meine Mitarbeiter legten mir Mal um Mal neue Daten vor, die auf eine urächliche Rolle des Virus hindeuteten. Die viralen Isolate nannten wir LAV für „Lymphadenopathy Associated Virus“, wenn sie von Patienten mit geschwollenen Lymphknoten

(einem frühen Symptom der Infektion) stammten. Die Isolate aus Patienten mit AIDS-Krankheitsbild bezeichneten wir dagegen als „Immuno Deficiency Associated Viruses“ (IDAV); diese wuchsen gewöhnlich besser in T-Lymphozyten-Kulturen und führten zur Bildung großer Syncytien durch Fusion mehrerer infizierter Zellen. Später erkannten wir, dass einige von ihnen sich auch in kontinuierlichen Zelllinien vermehrten, die von B- oder T-Zellen abstammten. Diese Eigenschaft erleichterte die kommerzielle Produktion des Virus in größerem Maßstab.

Für September 1983 hatten L. Gross und R. Gallo eine Konferenz über HTLV in Cold Spring Harbor organisiert, und ich verfügte bereits über genügend Daten, um in einem Vortrag eine kausale Verknüpfung zwischen Virus und Krankheit herzustellen. Von den wenigen Zuhörern, die lange genug ausgeharrt hatten, um meinen Vortrag anzuhören, wurde er skeptisch aufgenommen. Man hielt lieber an der HTLV-Theorie fest, als anzunehmen, dass mit den Retroviren eine zweite Familie von Retroviren existieren könnte, deren entsprechende Mitglieder wohl beim Menschen, nicht aber bei Tieren eine Immunschwäche auslösen!

Wie viele neue Entdeckungen stieß also auch die meine zunächst auf Ablehnung – nur stand in diesem Fall das Schicksal von Transfusionspatienten und Blutern auf dem Spiel! Ein serologischer Bluttest mit unseren Virusantigenen ließ sich im Labormaßstab bereits ausführen, es fehlte nur noch die industrielle Umsetzung und Kommerzialisierung.

Dazu kam es dann im Jahr 1985, nachdem zwei weitere Forschergruppen – zunächst Dr. Gallo von den NIH zu Anfang 1984, dann Jay Levy in San Francisco – unsere Beobachtungen bestätigt hatten. Dr. Gallo und Kollegen stützten den Zusammenhang zwischen dem Virus und der Krankheit, verbesserten die Detektionsverfahren bei der Antikörperreaktion und züchteten einige Virenstämme, auch unsere, in Krebs-T-Zelllinien. In der Zwischenzeit wiesen meine Mitarbeiter die Vorliebe des Virus für CD4<sup>+</sup>-Zellen nach und identifizierten den Oberflächenrezeptor CD4 als den wichtigsten Rezeptor des Virus.

Diesen Handlungsstrang werde ich im nächsten Abschnitt weiterverfolgen. Vorher möchte ich aber beschreiben, wie ich zwei wichtige Phänomene entdeckte, die erklären, auf welche Weise das HIV das Immunsystem zerstört.

In der Latenzphase der Infektion ist das Virus im Blut nicht nachweisbar; es befindet sich vor allem in Lymphozyten der lymphatischen Gewebe – und doch fanden wir, dass die meisten Lymphozyten im Blut krank waren! Im Jahr 1987 hatte ich den jungen Schweden Jan Alberts in meinem Arbeitskreis zu Gast. Er wollte humane Lymphozyten in einem serumfreien, synthetischen Medium kultivieren und einige Techniken der HIV-Kultur erlernen. Ein Vergleich der Lebensfähigkeit der Lymphozyten von gesunden Spendern und HIV-infizierten Patienten (auch in der symptomfreien Frühphase) in dem von ihm gewählten Medium zeigte Überraschendes: Die erstgenannten überlebten einige Tage, die meisten der letztgenannten (über 50%) starben hingegen sehr schnell; dieser Prozess konnte durch Zugabe von Interleukin 2 in gewissem Ausmaß zurückgedrängt werden.

Die Verwendung von normalem Kulturmedium mit fötalem Kälberserum führte zu ähnlichen Beobachtungen, wobei

die Lymphocyten von infizierten Patienten allerdings länger überlebten.

Schon nach kurzer Zeit erkannten drei meiner Mitarbeiter den Grund für dieses Zellsterben: Es handelte sich um Apoptose. Bei diesem aktiven Prozess stirbt eine Zelle quasi willentlich und auf „saubere“ Weise, wobei möglichst wenig toxische Verbindungen ins Medium entlassen werden.

Dieser Vorgang ist ein physiologischer Mechanismus, um eine abnorme Vermehrung aktiver Lymphocyten zu verhindern, doch in diesem Fall nahm er Überhand und beschränkte sich nicht auf die hauptsächlichen Zielzellen der HIV-Infektion – die CD4<sup>+</sup>-T-Lymphocyten –, sondern er betraf auch Zellen, die gar nicht vom Virus infiziert werden konnten, z.B. CD8<sup>+</sup>-T-Lymphocyten, B-Lymphocyten, Monocyten oder natürliche Killerzellen (NK-Zellen). Hierbei handelte es sich offensichtlich um ein allgemeines Phänomen; die zirkulierenden Blutzellen in der Kultur neigten schlicht zur Apoptose, ungeachtet der Tatsache, dass die meisten von ihnen weder infiziert noch überhaupt infizierbar waren. Meine Mitarbeiterin Marie-Lise Gougeon entdeckte einen sehr klaren Zusammenhang zwischen der In-vitro-Apoptose und der Abnahme der CD4-T-Zellen bei Patienten.

Wir haben lange nach der Ursache dieser massenhaften Apoptose gesucht, aber keine zufriedenstellende Erklärung gefunden. Am wahrscheinlichsten ist es, dass die Patienten vom Beginn der Infektion an einem starken oxidativen Stress ausgesetzt sind. Diese Erkenntnis liegt mir besonders am Herzen, denn ein solcher oxidativer Stress, der als Faktor bis heute von vielen AIDS-Forschern außer Acht gelassen wird, verschlimmert wahrscheinlich die Fehlaktivierung, die den Zusammenbruch des Immunsystems einleitet, und er löst überdies Entzündungsreaktionen aus, indem er die Produktion von Cytokinen verstärkt.

Wenn man diese Erklärung akzeptiert, kommt man direkt zur nächsten Frage: Welche Faktoren führen zum oxidativen Stress? Virale Proteine, virale DNA-Fragmente, eine Co-infektion mit Mycoplasmen? Selbst nach 25 Jahren können wir hierauf keine befriedigende Antwort geben. Fest steht aber: Der oxidative Stress existiert als Phänomen, und er muss behandelt werden – und das ist meist in der klinischen AIDS-Therapie noch nicht der Fall!

Die Möglichkeit einer kombinierten Antiretroviren-Therapie hat die Heilungschancen von AIDS, einer Krankheit, deren Diagnose früher einem Todesurteil gleichkam, so weit verbessert, dass die Patienten nun ein beinahe „normales“ Leben führen können. Das Virus ist aber immer noch vorhanden und lauert darauf, sich ungehemmt zu vermehren, wenn die Behandlung abgesetzt wird. Außerdem steht bei weitem nicht allen HIV-infizierten Patienten in den Entwicklungsländern die Möglichkeit einer Behandlung offen, sodass die Epidemie nach wie vor jährlich 2–3 Millionen Menschen das Leben kostet. Es ist absolut notwendig, diese Probleme in den Griff zu bekommen, und die klinische und Grundlagenforschung weiter voranzutreiben.

In den 90er Jahren wurde mir klar, dass die Forschung nicht auf Laboratorien in den wohlhabenden Industrienationen des Nordens beschränkt bleiben darf. Es sind hauptsächlich die Entwicklungsländer im Süden, in denen unzählige

lige an AIDS (und anderen Krankheiten wie Tuberkulose und Malaria) erkrankte Patienten auf Heilung hoffen.

In allzu vielen Fällen haben sich Nord-Süd-Kooperationen als ungleiche Partnerschaften erwiesen: Im Stil einer Forschungs-„Safari“ wurden im Süden die Serumproben gesammelt, die dann im Norden ausgewertet wurden. Heute werden viele junge Forscher aus dem Süden im Norden ausgebildet, doch das Fehlen von geeigneten Laboratorien und Infrastrukturen in ihren Heimatländern hält sie von der Rückkehr ab. Davon abgesehen gibt es keinen anderen Weg, die Realität einer Krankheit kennenzulernen, als selbst die betroffenen Gebiete zu bereisen.

Daher gründete ich mit dem ehemaligen UNESCO-Generaldirektor Federico Mayor eine Stiftung, deren Ziel es ist, in afrikanischen Ländern Forschungs- und Vorsorgezentren einzurichten. Diese schwierige Aufgabe wurde von Kollegen und Ärzten begeistert angenommen, und wir erhielten – besonders an der Elfenbeinküste und in Kamerun – auch Unterstützung von Regierungsseite. Ich wünsche mir, dass diese Pilotprojekte schließlich zur Errichtung eines Netzwerks von Zentren in allen Entwicklungsländern führen, deren Bevölkerung schwer von der Epidemie betroffen ist.

Auf wissenschaftlicher Seite machte mir meine Auseinandersetzung mit AIDS klar, wie ein oxidativer Stress das Immunsystem schwächen und Entzündungen begünstigen kann; dies ist bei vielen chronischen Erkrankungen wie Parkinson, Alzheimer und Arthrose zu beobachten. Eine Folge von chronischen Infektionen? Oder Folge und Ursache zugleich? Antworten auf diese und viele weitere Fragen sind nur durch harte Arbeit und innovatives Denken zu erhalten. Ich hoffe, beides noch lange fortsetzen zu können.

### Nobel-Vortrag

Nach der beeindruckenden Entwicklung der Naturwissenschaften im vergangenen Jahrhundert haben wir nun eine deutlich klarere Vorstellung von der Entstehung der Erde als unsere Vorfäder. Das Leben auf der Erde begann vermutlich vor dreieinhalb Millionen Jahren. Schon früh bildete sich dabei ein genetisches Gedächtnis heraus, das auf einem außergewöhnlich stabilen Molekül beruht: Die DNA-Doppelhelix trägt den genetischen Code in allen lebenden Organismen – vom Bakterium hin bis zum Menschen. Unser Erbgut ist das Ergebnis von Myriaden molekularer Erfindungen, die Millionen – wenn nicht Milliarden – von Jahren zurückliegen. Der Evolutionsdruck sorgte dafür, dass erfolgreiche Erfindungen erhalten blieben und von Generation zu Generation verfeinert wurden.

Seit 30 000 Jahren hat sich unser biologisches Erscheinungsbild mit dem überdimensionierten Gehirn, einem Kehlkopf, um Laute zu bilden, und Händen als Werkzeuge nicht verändert. Doch vor 10 000 Jahren kam ein weiteres Gedächtnis hinzu, durch das wir uns als Art von den anderen abheben: Im Rahmen dieses kulturellen Gedächtnisses werden Wissen und Gesellschaftsstrukturen von einer Generation zur nächsten weitergereicht. Als Vehikel dienen Sprache, Schrift und seit kurzem auch virtuelle Kommunikationswege.

Dieser Prozess setzte an verschiedenen Stellen auf der Erde fast zeitgleich ein, als sich sesshafte, Landwirtschaft treibende Stämme und daraus Zivilisationen entwickelten. Seit dieser Zeit sind für jeden Menschen ein genetisches Gedächtnis, das mit der Geburt übertragen wird, und ein kulturelles Gedächtnis, das er über sein ganzes Leben hin erlernt und vergrößert, unverzichtbar. In den vergangenen drei Jahrhunderten, und besonders im 20. Jahrhundert, hat sich nun unser Wissensschatz explosionsartig vergrößert und über die ganze Welt verbreitet.

Wir sehen uns allzu gerne als rein geistige Wesen, doch die biologische Realität ist eine andere: Jedem von uns steht schließlich der Tod bevor, und während unseres Lebens haben wir ständig mit Krankheiten zu tun. Zu Beginn dieses neuen Jahrhunderts sind zwei Arten von bedrohlichen Krankheiten zu unterscheiden:

- Neue Epidemien, ausgelöst von infektiösen Erregern (meist Bakterien oder Viren);
- Chronische Erkrankungen (Krebs, neurodegenerative, Herzkrankgefäß- und Autoimmunerkrankungen, Diabetes, Arthrose), die auf die gestiegene Lebenserwartung und anthropogene Veränderungen der Umwelt zurückzuführen sind.

Dieser Vortrag dreht sich naturgemäß um AIDS als neue Epidemie, doch sollten wir nicht vergessen, dass es nach wie vor auch andere lebensbedrohliche Ansteckungskrankheiten gibt; namhafte Beispiele hierfür sind Malaria und Tuberkulose in tropischen Ländern.

Die Entwicklung und Ausbreitung weiterer neuer Epidemien ist nicht auszuschließen, denn sie werden durch menschliche Aktivitäten begünstigt:

- mangelhafte oder fehlende Hygiene;
- Wassermangel;
- Globalisierung und schnellerer Austausch, z. B. durch Reisen;
- die (chemische) Verschmutzung von Atmosphäre und Umwelt, die zu oxidativem Stress führen und das Immunsystem schwächen kann;
- Mangelernährung, Drogenmissbrauch und Alter sind weitere Faktoren, die das Immunsystem schwächen;
- die Erderwärmung bietet übertragenden Insekten neue ökologische Nischen;
- ein verändertes Sexualverhalten.

Dieser letzte Faktor und eine Schwächung des Immunsystems als Folge von Mangelernährung, Drogenmissbrauch und dem verstärkten Auftreten von Coinfektionen sind wohl die Ursachen dafür, dass AIDS zu einer globalen Epidemie wurde, die sich über Kontinente hinweg ausbreiten konnte und kürzlich auch Polynesien erreicht hat.

Der AIDS-Erreger existierte in Afrika, schon bevor die Epidemie in den 70er Jahren in Zentralafrika und Nordamerika ausbrach. Weil ähnliche Viren aus anderen Primaten bekannt sind (denen sie augenscheinlich keine vergleichbaren Probleme bereiten), könnte man annehmen, AIDS sei als Zoonose entstanden – durch die Übertragung solcher Viren von Primaten auf Menschen, wobei zunächst keine Krankheit auftrat.

Doch gehen wir zunächst zurück, und betrachten wir die Umstände, unter denen HIV in meinem Labor am Pasteur-Institut entdeckt wurde (Abbildung 4).

Die Krankheit AIDS wurde zuerst im Juni 1981 durch Mitglieder des Centre for Disease Control (namentlich James Curran) als solche erkannt, nachdem zwei Ärzte, Michael Gottlieb in Los Angeles und Alvin Friedman-Kien in New York, über das gehäufte Auftreten von opportunistischen Infektionen und Kaposi-Sarkomen bei jungen Homosexuellen berichteten, die miteinander Geschlechtsverkehr hatten. Nach der Veröffentlichung eines Berichts zu diesem Thema im CDC-Bulletin wurden ähnliche Fälle aus Westeuropa gemeldet, und besonders aus Frankreich von einer Gruppe junger Ärzte und Immunologen um Jacques Leibovitch und Willy Rozenbaum.

Bald stellte sich heraus, dass ein ähnliches Krankheitsbild auch bei Blutern und Transfusionspatienten auftrat. Auf biologischer Ebene war eine stark geschwächte zelluläre Immunität charakteristisch, und klinisch wurden Infektionen beobachtet, die sonst von Patienten mit chemisch oder genetisch unterdrücktem Immunsystem bekannt waren.

Aus dem Auftreten bei Blutern ließ sich die Art des Erregers ableiten: Diese AIDS-Patienten hatten gereinigte Konzentrate der Faktoren 8 oder 9 erhalten, die aus Spendernblut durch bakteriologische Filtration hergestellt worden waren. Durch den Reinigungsprozess sollten alle löslichen Giftstoffe entfernt und durch die Filtration sollten Bakterien oder Pilze zurückgehalten werden: Demnach konnten nur Viren in den verabreichten Präparaten vorhanden gewesen sein. Ich begann also, nach Viren zu suchen – aber nach

welcher Art von Viren? Viele Viren schwächen das Immunsystem, um in ihren Wirten überleben zu können, insbesondere Herpesviren (Cytomegalovirus) und Retroviren. Ein möglicher Kandidat war das humane T-Zell-Leukämievirus (HTLV), das R. C. Gallo sowie japanische Forscher beschrieben hatten.

Weil wir vor allem Erfahrung mit Retroviren hatten (wie im biographischen Teil geschildert), begaben wir uns auf die Suche nach einem HTLV-ähnlichen Virus. Dies war uns von der französischen Ärztegruppe und von Institut Pasteur Production, einem Tochterunternehmen des Instituts, das einen Hepatitis-B-Impfstoff aus dem Plasma von Blutspendern herstellte, empfohlen worden.

Wir nahmen zunächst Lymphocyten aus geschwollenen Lymphknoten unter die Lupe, weil wir davon ausgingen, dass sich die Viren in der frühen Phase der Infektion in diesen Zellen anreichern sollten. Am 3. Januar erhielt ich eine entsprechende Gewebsprobe von einem Patienten mit Lymphknotenschwellung im Nacken, einem Symptom, das bereits als frühes Anzeichen einer AIDS-Erkrankung ausgemacht worden war. Nach dem Zerkleinern der Probe und Auseinanderlösen der kleinen Stückchen in einzelne Zellen wurden die Lymphocyten unter den klassischen Bedingungen für aktivierte Lymphocyten in einem Nährmedium mit Protein A und Anti-Interferon-Serum kultiviert. Dabei nutzte ich zunächst Protein A, einen bakteriellen Aktivator für sowohl T- als auch B-Lymphocyten, weil ich nicht wusste, in welcher Zellgruppe sich das Virus verbarg.

Tatsächlich vermehrten sich nach der Zugabe von Interleukin 2 nur noch die T-Lymphocyten gut, und sie produzier-



Abbildung 4. Die Arbeitsgruppe des Pasteur-Instituts, die 1983–1984 an der Entdeckung von HIV beteiligt war.

ten eine geringe Virusmenge, die anhand ihrer Reverse-Transkriptase-Aktivität von meiner Kollegin Françoise Barré-Sinoussi identifiziert wurde. Schon etwa neun Monate später konnten wir das Virus auch in B-Lymphocyten züchten, die durch das Epstein-Barr-Virus transformiert worden waren.<sup>[4]</sup>

Das Virenwachstum nahm mit dem Rückgang des Zellwachstums ab, doch wir konnten das Virus in den Lymphocyten erwachsener Blutspender sowie in Lymphocyten aus Nabelschnurblut weiter kultivieren. So gelang die Charakterisierung des Virus, und somit der erste Nachweis, dass es sich von den HTLVs unterschied. Eine Immunfärbung mit dem Serum des Patienten führte zu einem p24-25-Protein, das nicht mit Antikörpern gefällt werden konnte, die spezifisch für das p24-gag-Protein von HTLV1 waren (Dr. R. C. Gallo hatte uns dieses freundlicherweise zur Verfügung gestellt).

Elektronenmikroskopische Studien an Schnitten der ursprünglichen Lymphknoten-Probe und an kultivierten infizierten Lymphocyten zeigten wenige Viruspartikel mit einem dichten konischen Kern, die den Retroviren von Tieren (z. B. dem Virus der ansteckenden Anämie bei Pferden, dem Visna-Virus bei Schafen und anderen) ähnlich waren, sich aber von HTLV unterschieden. Anders als bei HTLV beobachteten wir nie die Bildung dauerhaft transformierter Zelllinien aus kultivierten infizierten Lymphocyten (Abbildung 5).

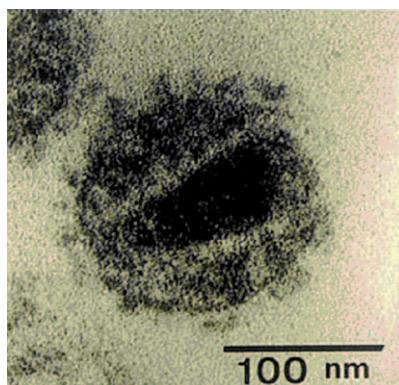


Abbildung 5. Ein HIV-Partikel unter dem Elektronenmikroskop.

Diese Resultate wurden im Mai 1983 in *Science* publiziert,<sup>[1]</sup> begleitet von zwei Beiträgen der Gruppen um Gallo und Essex, die HTLV als den wahrscheinlichen Erreger von AIDS darstellten. In den folgenden Monaten sammelte meine Arbeitsgruppe weitere Daten, mit deren Hilfe wir zeigen konnten, dass das Virus nicht nur ein begleitendes Virus ist, sondern der plausibelste Erreger von AIDS.

- 1) Dieselbe Virusart wurde aus Patienten verschiedener Gruppen isoliert: promiskuitive homosexuelle Männer, Bluter, Drogensüchtige, Afrikaner (Tabelle 1).
- 2) Zusätzlich zu den Ergebnissen der Immunfärbung von viralen Proteinen (p25, p18), reagierten die Seren von Patienten mit Lymphknotenschwellung und ein Teil der Seren von AIDS-Patienten im fortgeschrittenen Stadium positiv in einem ELISA-Test mit Proteinen des teilgereinigten Virus.<sup>[2]</sup>

Tabelle 1: Erste Virenisolale der virenökologischen Abteilung.

Patienteninitialen	Herkunft	Klinischer Zustand	Cytopathischer Effekt
Bru, ♂	homosexueller Mann, Kaukasier	Prä-AIDS	–
Loi, ♂	Bluter, Kaukasier	AIDS	+
Lai, ♂	homosexueller Mann, Kaukasier	AIDS (Ks)	++
Eli, ♀	Zaire, Afrikanerin	AIDS	+

- 3) Bei In-vitro-Studien infizierte das Virus nur CD4<sup>+</sup>-T-Lymphocyten, nicht aber CD8<sup>+</sup>-T-Lymphocyten.<sup>[3]</sup>
- 4) Isolate von AIDS-Patienten im Endstadium wirkten zellpathogen. Speziell das dritte Isolat eines jungen Homosexuellen mit Kaposi-Sarkom (Lai) führte – vermutlich durch Zusammenlagerung infizierter Zellen – zur Bildung großer Syncitien (Abbildung 6). Versuche, das erste Isolat, Bru, in T-Zelllinien von Patienten mit Leukämie oder malignem Lymphom zu züchten, endeten erfolglos. Später fanden wir aber heraus,<sup>[5]</sup> dass das Bru-Isolat mit dem Lai-Isolat kontaminiert war, denn dieses konnte in Laboratorien, denen wir unser Bru-Isolat auf Anfrage zur Verfügung stellten, in T-Zelllinien (GEM, HUT78) gezüchtet werden.

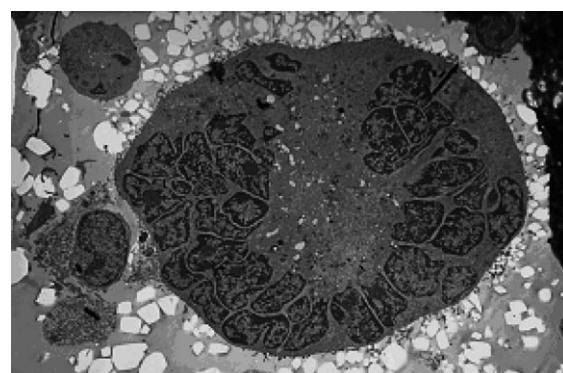


Abbildung 6. Elektronenmikroskopiebild einer Riesenzelle (Syncytium), die aus vielen Lymphocyten nach Exprimierung des HIV-Fusionsproteins gebildet wurde (aus Lit. [6]).

Einige Laborisolale ließen sich sogar in großem Maßstab in T-Zelllinien züchten, was die Analyse des Virus und seine Anwendung zum Nachweis von Antikörpern in kommerziellen Bluttests ermöglichte.

Als ich unsere Daten im September 1983 bei einer HTLV-Konferenz in Cold Spring Harbor<sup>[6]</sup> vorstelle, wurden sie skeptisch aufgenommen, und erst die Beschreibung eines praktisch identischen Virus, HTLV III, durch die Gruppe von R. C. Gallo<sup>[7]</sup> im Frühjahr 1984 überzeugte die Fachwelt, dass dieses neue Retrovirus der Erreger von AIDS war. Jay Levy und Mitarbeiter in San Francisco isolierten dann ein gleichartiges Virus,<sup>[8]</sup> und viele andere Gruppen folgten dem Beispiel.

Doch einige wenige Zweifler, allen voran P. Duesberg, sehen es nach wie vor nicht als einwandfrei erwiesen an, dass

das Virus überhaupt existiert oder gar nach Kochs Kriterien als Erreger von AIDS gelten kann.

Die provirale DNA des Virus, das mittlerweile von einem internationalen Nomenklatur-Komitee in HIV (Human Immunodeficiency Virus) umbenannt worden war, wurde kloniert und sequenziert.<sup>[9-11]</sup> Als Ergebnis erhielt man die klassische Genstruktur tierischer Retroviren, an deren Entschlüsselung Dr. Duesberg früher selbst beteiligt gewesen war. Doch zusätzlich wurden in den DNA-Sequenzen neue Gene (*tat*, *nef*) entdeckt, die entscheidend für die Regulierung der Genexpressierung im Virus waren. Somit verfügte das Virus wahrscheinlich über das komplizierteste Genom aller bekannten Retroviren (Abbildung 7). HIV und verwandte Viren aus Primaten sind in dieser Hinsicht gut charakterisiert; sie enthalten nur DNA-Sequenzen, die nicht im menschlichen Genom auftreten.

Rückblickend betrachtet hätten zwei Tatsachen auch den letzten Zweifler von der Rolle des HIV als Erreger von AIDS überzeugen sollen:

- 1) Eine Übertragung von AIDS durch Bluttransfusion trat in Ländern, in denen Blutspender mit HIV-Antikörpern überprüft wurden, praktisch nicht mehr auf.
- 2) Die Inhibierung der Virusvermehrung durch eine Kombination spezifischer Hemmstoffe für virale Enzyme (reverse Transkriptase, Protease) konnte den Zustand von Patienten deutlich verbessern. Genmutationen, mit deren Hilfe HIV Resistenzen gegen diese Hemmstoffe aufbaute, resultierten wiederum in Rückfällen und verschlechterten den Zustand der Patienten.

Im Jahr 1986 konnten wir in einer Kooperation mit portugiesischen Kollegen ein zweites Virus (das ich HIV-2 nannte) aus westafrikanischen Patienten in einem Lissabonner Krankenhaus isolieren.<sup>[12]</sup> Alle zeigten AIDS-Symptome, doch keiner der Patienten hatte Antikörper gegen unser

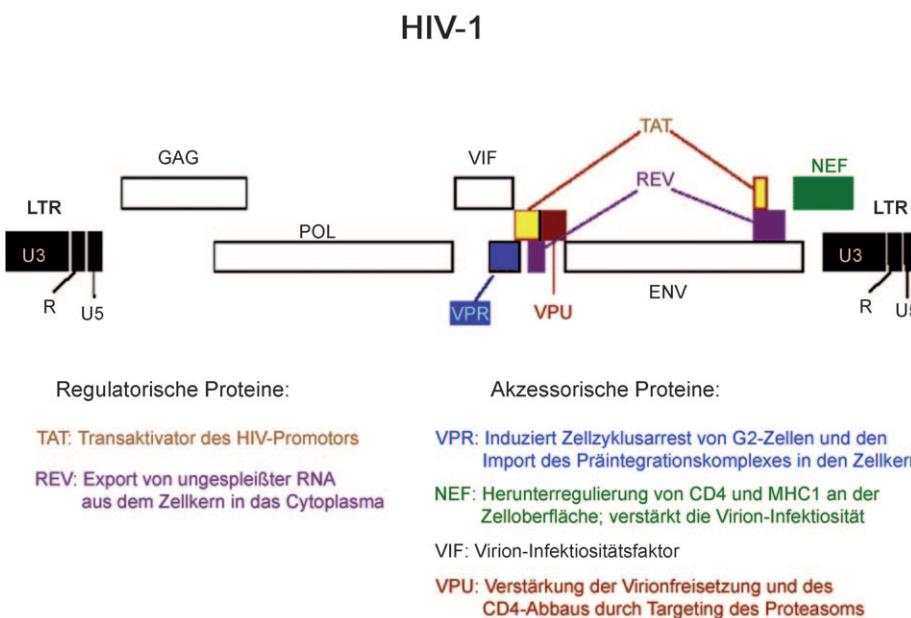


Abbildung 7. Genomstruktur von HIV-1: In den Genen *gag*, *pol* und *env* sind die Strukturproteine verschlüsselt.

erstes Virus. Sie verfügten lediglich über Antikörper gegen das wandlungsfähigste Protein von HIV, das Oberflächen-glycoprotein. Die Patienten hatten die Antikörper gegen die hoch konservierten internen Proteine von HIV-2 verloren, die – anders als das Glycoprotein – gemeinsame Epitope mit ihren Entsprechungen in HIV-1 teilen (Abbildung 8).

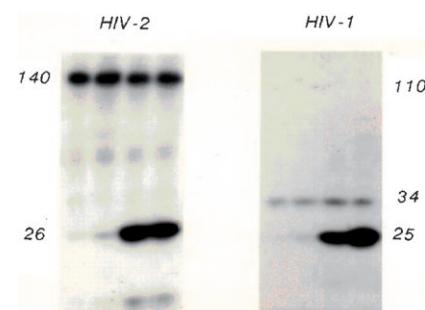


Abbildung 8. Immunfällung von radioaktiv markierten HIV-1- und HIV-2-Proteinen durch das Serum eines AIDS-Patienten mit HIV-2-Infektion. Unter HIV-2 ist die Fällung des Hüllproteins zu erkennen.

Nach der Isolierung von HIV-1<sup>[6]</sup> und HIV-2<sup>[12]</sup> aus AIDS-Patienten in Afrika wurde uns schließlich klar, dass wir es mit einer großen Epidemie zu tun hatten, bei der die Viren auch auf heterosexuellem Weg übertragen wurden.

Den Nachweis, dass HIV nicht durch bloße Nähe übertragen wurde, erbrachte unsere Studie in einem französischen Internat, an dem junge HIV-infizierte Bluter ständig mit HIV-negativen gesunden Kindern zusammen waren: Am Ende wurde keines der gesunden Kinder HIV-positiv getestet.<sup>[13]</sup>

Die Isolierung des AIDS-Erregers ermöglichte es nun, Präventionsmaßnahmen zu empfehlen und nach effizienten Hemmstoffen gegen das Virus zu suchen. Der erste Kandidat,

Azidothymidin (AZT), hemmte die reverse Transkriptase von HIV in vitro zwar effizient (Mitsuya), die Anwendung an AIDS-Patienten führte aber schon bald zur Ernährung.<sup>[14]</sup> Die Behandlung löste die Bildung von AZT-resistenten Virusmutanten aus, ohne die Lebenserwartung der Patienten zu erhöhen. Das Hauptproblem bei der Behandlung mit nur einem oder zwei Hemmstoffen besteht im Mutationsvermögen des Virus. Diese Eigenschaft erklärt überdies, warum die AIDS-Pathophysiologie so ausgesprochen kompliziert ist und warum es so schwierig ist, einen effizienten Impfstoff zu entwickeln.

Erst eine Kombination aus drei Hemmstoffen erwies sich in der klinischen Praxis als effizient. Seit 1996 setzen Ärzte bei der Behandlung von Patienten mit großer

Virenlast und geringen Mengen an CD4<sup>+</sup>-T-Zellen auf die HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy), um tödliche opportunistische Infektionen weitgehend auszuschalten (Tabelle 2).<sup>[15]</sup>

**Tabelle 2:** Meilensteine der AIDS-Forschung

1981	Identifizierung der Krankheit in den USA
1983	Erste Isolierung von HIV
1984	Erkennung von HIV als Erreger von AIDS; Charakterisierung auf biologischer und molekularer Ebene
1985	Erste Bluttests, um die Übertragung von HIV durch Bluttransfusionen auszuschließen
1986	Isolierung von HIV-2
1987	Erste Anwendung von AZT als Antiretroviren-Wirkstoff
1991	Erkennung der Apoptose als Mechanismus des Zelltods bei AIDS
1995	Verminderung der vorgeburtlichen HIV-Übertragung durch AZT
1995	Nachweis der schnellen HIV-Replizierung während der Latenzphase der Infektion
1996	Identifizierung der wichtigsten HIV-Corezeptoren
1996–97	Allgemeine Einführung von HAART in Industrienationen

## Die Wandlungsfähigkeit von HIV

Um nicht durch Immunreaktionen des Wirts ausgeschaltet zu werden, verfügen die meisten Viren über eine Strategie, ihre immunogenen Epitope zu verändern. Im Fall von HIV wurde dies durch die Verknüpfung mehrerer Faktoren perfektioniert. Die wichtigsten Faktoren sind:

1. Fehler bei der reversen Transkription;
2. Genetische Rekombination;
3. Unvollständige Neutralisierung der Aktivität des zellulären Gens APOBEC3G durch Vif;
4. Oxidativer Stress.

Der erste Punkt beruht darauf, dass das replizierende Enzym, die reverse Transkriptase (RT), nicht über eine Korrekturfunktion verfügt. Daher kann bei der Transkription eines von  $10^5$  Nucleotiden fehlerhaft übertragen werden, was eine deutlich höhere Abweichungswahrscheinlichkeit bedeutet als bei den zellulären DNA-Polymerasen (eines von  $10^9$  Nucleotiden).

Andere Retroviren wie HTLV variieren ihr Erbgut nicht derart schnell, weil die provirale DNA nach erfolgter Aufnahme durch die zelluläre DNA-Replikationsmaschinerie vervielfältigt wird. Dieser Unterschied lässt sich damit erklären, dass HIV-infizierte Zellen sterben und das Virus sich daher nur durch viele Zyklen wiederholter Infektion erhalten kann, bei denen jeweils die reverse Transkription seiner RNA in DNA erfolgt. Bei In-vitro-Studien an Zelllinien – also ohne Selektionsdruck durch das Immunsystem – traten die zellpathogene Wirkung sowie viele Zyklen wiederholter Infektion ebenfalls auf, doch das Virus erschien stabil.

Ein weiterer Variationsfaktor ist die genetische Rekombination. Die (humorale und zelluläre) Immunantwort gegen das Virus kann eine zweite Infektion des Wirts mit dem Virus nicht verhindern, weil das Virus sich aus den zuvor genannten und anderen Gründen zu schnell verändert, sodass einige

Zellen durch zwei Viren infiziert werden können. Dies wiederum ermöglicht die Rekombination der RNA der beiden Viren, die jeweils in zwei Kopien vorliegt. So entsteht ein „Mosaik“-Virus, in dem viele Sequenzen der beiden ursprünglichen Viren ausgehend von Rekombinations-„Hot-spots“ miteinander verflochten sind. Dieses Phänomen beobachtet man vor allem in Afrika, wo vermutlich viele Erkrankte wiederholt einer Infektion ausgesetzt sind. Solche Mosaikviren verfügen über einen Selektionsvorteil und verteilen sich in der infizierten Population. Die ursprünglichen Unterarten A, B, C, D, E, G usw., die durch die Sequenz ihres *env*-Gens definiert sind, werden so lokal durch A/G, B/C usw. verdrängt.

Später wurden noch zwei weitere Faktoren identifiziert: In den Lymphocyten codiert eine Familie von Genen für Enzyme, die virale DNA dadurch sabotieren, dass sie Guanosin in Adenosin umwandeln (APOBEC3G). Als Gegenmittel hat das Virus das *vif*-Gen entwickelt, das einerseits dafür sorgt, dass die virale DNA funktionsfähig bleibt, andererseits aber Mutationen nicht gänzlich ausschließt.<sup>[16]</sup>

Ein letzter Faktor, dessen Bedeutung für die Wandlungsfähigkeit möglicherweise übersehen wurde, ist der oxidative Stress als Ursache für RNA- und DNA-Mutationen (vor dem Einbau der proviralen DNA): Aus Sauerstoff gebildete hoch reaktive Moleküle können vor allem die Basen Guanin und Desoxyguanin oxidiert und so ihre Codierungsfähigkeit beeinträchtigen oder einen falschen Reparaturschritt bewirken.

Eine Kombination aus diesen Faktoren könnte eine Erklärung liefern für die Wandlungsfähigkeit des Virus im Wirt während der langen Latenzphase der Infektion sowie für die zunehmende Wandlungsfähigkeit der Stämme bei der Verbreitung der Epidemie. Dieser Wandlungsfähigkeit können wir dadurch begegnen, dass wir die Vervielfältigung des Virus im Wirt durch eine Antiretroviren-Behandlung und das Neutralisieren von oxidativem Stress verlangsamen, doch es verbleiben noch einige Probleme.

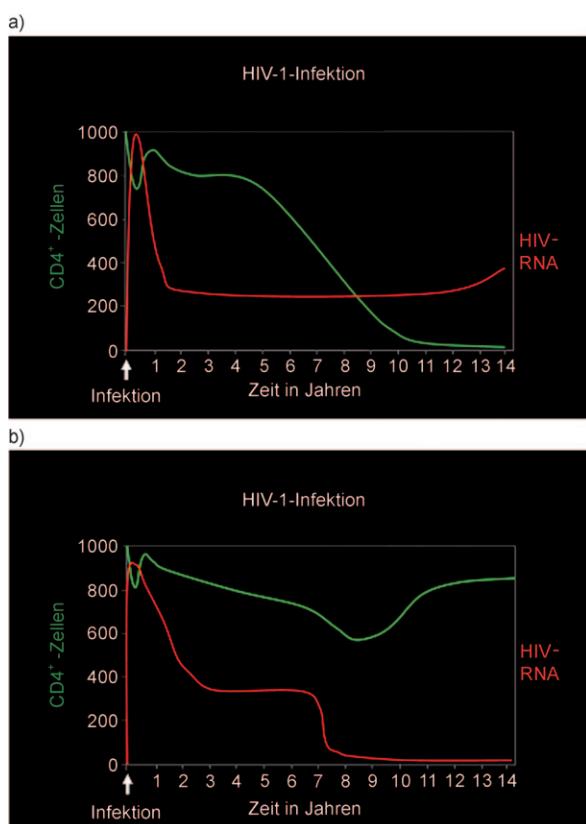
## Wie zerstört eine HIV-Infektion das Immunsystem?

In den Jahren nach der Entdeckung des Virus führte man die Abnahme der CD4<sup>+</sup>-T-Zellen zunächst auf deren direkte Infektion durch das zellpathogene Virus zurück. Doch die Viren isoliert aus der Frühphase der Krankheit (wie im Fall von Bru) waren nicht zellpathogen; nach der Bindung an CD4<sup>+</sup>-Rezeptoren von aktivierten Lymphocyten nutzen sie CCR5, den Rezeptor eines Chemokins, als Corezeptor. Nur Viren aus Patienten in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium waren zellpathogen (wie im Fall von Lai), sodass eine direkte Infektion der verbliebenen T-Lymphocyten (über einen anderen Chemokin-Corezeptor, CXCR4) schließlich zum Verschwinden dieser Zellen führen könnte.

Tatsächlich scheint die Zahl an aktivierte CD4<sup>+</sup>-T-Lymphocyten, die einzige die vollständige Replizierung des Virus ermöglichen, einen begrenzenden Faktor für die anfängliche Infektion – nach dem ersten Kontakt mit dendritischen Zellen und Monocytten der Genital- oder Rektalschleimhaut – darzustellen. Offensichtlich können Entzün-

dungen und (bakterielle oder virale) Cofektionen die Zahl an aktivierte T-Lymphocyten und somit das Risiko einer HIV-Infektion steigern. Kürzlich wurde auch ein Zusammenhang zwischen dem Virus und den Peyer-Platten im Dünndarm festgestellt, die eine Hauptquelle aktiver T-Lymphocyten sind.

Zu Beginn der Infektion kann sich das Virus schnell in allen lymphatischen Geweben vervielfältigen, weil das Immunsystem verzögert reagiert (in der Reihenfolge Interferon – NK-Zellen – CD8T-Zellen – Antikörper); anschließend verlangsamt sich die Replizierung, außer in einigen Lymphknoten (Abbildung 9).



**Abbildung 9.** Verlauf von HIV-1-Infektionen: a) unbehandelte Patienten; b) Patienten, die im sechsten Jahr der Erkrankung eine antiretrovirale Therapie erhielten.

Damit setzt die chronische Phase ein, die im Allgemeinen, abgesehen von der Lymphknotenschwellung, symptomfrei verläuft. Dabei wird die Replizierung des Virus in den Lymphknoten fortgesetzt, und die Immunantwort wird trotz steter Neubildung von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Lymphocyten immer schwächer. Dieser Prozess kann sich über Jahre hinziehen.

Wir haben zwei Phänomene beobachtet, die die indirekte Zerstörung des Immunsystems in dieser Phase erklären könnten: das biologische Phänomen der Apoptose und das biochemische Phänomen des oxidativen Stresses.

Zur Apoptose: In meinem Arbeitskreis wurde dieser programmierte Zelltod das erste Mal für weiße Blutkörperchen in Interleukin-2-freier Kultur beobachtet.<sup>[17]</sup> Nicht nur

die CD4<sup>+</sup>-T-Zellen, sondern auch die anderen Immunzellen – CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, NK-Zellen, B-Lymphocyten und Monocyten – waren davon betroffen, sofern sie aus dem Blut von symptomfreien HIV-Patienten oder von Patienten mit AIDS-Symptomen stammten. Es gelang uns aber, die Abnahme der CD4<sup>+</sup>-T-Zellen in Patienten mit dem in vitro beobachteten Phänomen<sup>[18]</sup> in Einklang zu bringen, indem wir voraussetzen, dass die Zellen im lebenden Organismus sich in einem Zustand der Präapoptose befinden. Tatsächlich entdeckten wir in infizierten Patienten generell eine Immunaktivierung,<sup>[19]</sup> die mittlerweile als ein wichtiger Faktor bei der AIDS-Erkrankung anerkannt wird.

Auf biochemischer Ebene konnten wir nachweisen, dass die Lymphocyten (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, NK) in symptomfreien Patienten die Merkmale von oxidativem Stress zeigen (Überschuss freier Radikale aus Sauerstoff): einen schnellen Abbau von oxidiertem Protein und die Carbonylierung einiger Aminosäuren.<sup>[20]</sup> Im Blut der Patienten beobachteten wir, passend dazu, eine Überoxidation der Plasmalipide<sup>[21]</sup> und eine Oxidation von Guanin.

Was könnte diesen starken oxidativen Stress verursachen? Mindestens ein HIV-Protein könnte dazu beitragen: Flores, McCord und Mitarbeiter erkannten, dass das Protein Tat unter anderem die Exprimierung des Gens der Manganhaltigen Superoxid-Dismutase in Lymphocyten hemmt.<sup>[22]</sup> Dieses Enzym spielt eine Schlüsselrolle bei der Umwandlung des stark oxidierenden Superoxid-Anions in Wasserstoffperoxid. Im Blut von infizierten Patienten wurden Nanogramm-Mengen an Tat nachgewiesen, und es wurde gezeigt, dass das Protein in das Zellplasma eindringen kann.

Bakterielle und virale Cofektionen können den oxidativen Stress zusätzlich verstärken. Wir haben untersucht, ob eine „kalte“, andauernde bakterielle Infektion in HIV-infizierten Patienten vorliegen könnte, denn wir hatten beobachtet, dass eine Cofektion von Lymphocyten mit einigen *Mycoplasma*-Arten (*M. pirum*, *M. penetrans*, *M. fermentans*) die zellpathogene Wirkung von HIV in vitro deutlich verstärkte. Weil diesen kleinen Bakterien das Enzym Katalase fehlt, das Wasserstoffperoxid in Wasser umwandelt, fördern sie den oxidativen Stress, und überdies aktivieren sie die Lymphocyten.<sup>[23]</sup>

Die Pathophysiologie von AIDS ist also ein kompliziertes Gebiet. HIV ist der Erreger und somit die Hauptursache der Krankheit, aber es könnte einige „Komplizen“ haben. Außerdem sind indirekte Wirkungen als Folge einer Fehlaktivierung des Immunsystems durch oxidativen Stress zu berücksichtigen.

### Ausblick – Keine Heilung. Kein Impfstoff. Aber vielleicht Heilung durch einen Impfstoff

Mit der Einführung von HAART konnte AIDS auf das Niveau einer erträglichen Infektionskrankheit abgemildert werden, doch auch bei noch so langer Behandlungsdauer lässt sich die Krankheit mithilfe der gängigen Hemmstoffe nicht heilen! Sobald die Behandlung abgebrochen wird, vermehrt sich das Virus binnen weniger Wochen, und das Immunsystem bricht erneut zusammen.

Aus dieser Beobachtung zog man den Schluss, es könnte ein Virusreservoir geben, das mit den angewendeten Wirkstoffen nicht erreicht wird;<sup>[24]</sup> denkbar wäre etwa eine latente Form des Virus in bestimmten Geweben.

Unser Ziel ist es nun, die Größe dieses Reservoirs zu quantifizieren und die Ausschüttung sich aktiv vermehrender Viren zu verhindern. Das soll durch eine Konditionierung des Immunsystems geschehen, sodass dieses gegen die am stärksten konservierten Teile von Virusproteinen wirken kann.

Ein mögliches Protokoll für diese therapeutische Immunisierung mit dem Ziel, HIV funktionell auszuschalten,<sup>[25]</sup> könnte wie folgt aussehen:

1. Zunächst wird die Viruslast im Plasma durch eine drei- bis sechsmonatige Antiretroviren-Therapie (HAART) unter die Nachweisgrenze gedrückt und während der Dauer des gesamten Protokolls so niedrig gehalten.
2. Anschließend werden Antioxidantien und Immunstimulatien, etwa eine oral verabreichbare Form von Glutathion, gegeben, um den oxidativen Stress durch die viralen Proteine und die HAART zu mildern. Reduziertes Glutathion löst einen Wechsel von der TH2- zur TH1-Antwort aus und fördert so die zelluläre Immunität. Seine Wirkung kann durch die Gabe von synthetischen Immunstimulatien noch verstärkt werden, die kurz vor der klinischen Zulassung stehen.
3. Nach zweiwöchiger Behandlung gemäß Punkt 2 kann mit der spezifischen Immunisierung gegen HIV-Proteine mit Hilfe eines therapeutischen Impfstoffs begonnen werden. Erste Studien mit entsprechenden Präparaten lieferten gemischte Ergebnisse; möglicherweise war das Immunsystem der Patienten nicht im erforderlichen Maß wiederhergestellt, und/oder die Immunogene waren ungeeignet. Daten, die wir aus gentechnischen Studien erhalten, deuten darauf hin, dass das native HIV-Glycoprotein verändert werden muss, um die am höchsten konservierten Teile des Proteins, auch die am Andocken von HIV beteiligte Tasche, immunogen zu machen. Auf diese Weise sollte es möglich sein, auch entfernte Mutanten zu neutralisieren. Ich empfehle überdies, bei der Impfstoff-Präparation zwei weitere Proteine einzubeziehen, die an der Schwächung des Immunsystems Anteil haben: Tat und Nef, und zwar auch in modifizierten, nicht funktions tüchtigen Formen, die aber immer noch immunogen sein müssen.
4. Nach dieser Impfung wird die HAART unterbrochen. War das Protokoll erfolgreich, so wird das Virus nicht wieder ausbrechen: Die Viruslast wird niedrig bleiben, und die CD4<sup>+</sup>-T-Zellen werden sich erholen. Eine regelmäßige Überwachung dieser beiden Parameter gibt dann Aufschluss darüber, ob die Immunisierung noch Bestand hat. Eine starke zelluläre Immunität könnte im Zusammenspiel mit der Induktion neutralisierender Antikörper den Vermehrungszyklus des Virus unterbrechen, indem sie neuerliche Zellinfektionen durch neu gebildete Viren verhindert. Ein solcher Verteidigungsmechanismus wurde schon spontan von wenigen HIV-infizierten Patienten aufgebaut, die auch nach vielen Jahren keine Schwächung des Immunsystems zeigten.

Dieses Protokoll ist kompliziert, jedoch billiger und für die Patienten sicher deutlich angenehmer als eine lebenslange Antiretroviren-Therapie. Mit der Behandlung kann schon im Frühstadium der HIV-Infektion begonnen werden, vielleicht sogar mit größeren Erfolgschancen, weil das Immunsystem des Patienten dann noch in einem besseren Zustand ist.

Das beschriebene Szenario ist optimistisch, doch wenn es tatsächlich gelingen sollte, HIV-Infektionen zu heilen, hätte dies einen beträchtlichen Einfluss auf den weiteren Verlauf der Epidemie: In Entwicklungsländern kommt der Nachweis einer HIV-Infektion einem Brandmal gleich, mit entsprechenden Auswirkungen auf das Familienleben und den Beruf. Viele Infizierte verweigern daher im Verdachtsfall einen Test und übertragen das Virus auf neue Partner. Die Aussicht auf erfolgreiche Behandlung einer diagnostizierten HIV-Infektion sollte die Bereitschaft zu Frühuntersuchungen steigern und zu verantwortungsbewussterem Verhalten führen.

Die Entdeckung eines erfolgreichen therapeutischen Impfstoffs wird außerdem die Entwicklung eines effizienten Präventiv-Impfstoffs erleichtern, der dieselben Virenkomponenten angreift.

Bis es so weit ist, müssen die Antiretroviren-Wirkstoffe allen Patienten zur Verfügung gestellt werden. Dies erfordert nicht nur eine Senkung des Preises für die Medikamente (in dieser Hinsicht wurden bereits Fortschritte erzielt), sondern auch den Aufbau medizinischer Infrastrukturen mit gut ausgebildeten Ärzten und Forschungszentren in Entwicklungsländern. Unsere Stiftung hat sich zum Ziel gesetzt, diese Entwicklung in Afrika voranzutreiben. So hat World Foundation AIDS Research and Prevention in Zusammenarbeit mit der UNESCO und den Regierungen der Länder zwei Zentren für AIDS-Forschung und -Prävention errichtet: das „Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan“ (CIRBA; Abbildung 10) in Abidjan (Elfenbeinküste) und das



Abbildung 10. Das CIRBA in Abidjan (gegründet 1996).

International „Chantal Biya“ Reference and Research Centre for HIV-AIDS Prevention and Care-taking (CIRBC) in Yaoundé (Kamerun).

Eingegangen am 20. April 2009

Übersetzt von Dr. Volker Jacob, Mannheim

[1] „Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)“: F. Barré-Sinoussi, J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vézinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier, *Science* **1983**, 220, 868–871.

[2] „Detection of IgG antibodies to lymphadenopathy-associated virus in patients with AIDS or lymphadenopathy syndrome“: F. Brun-Vézinet, F. Barre-Sinoussi, A. G. Saimot, D. Christol, L. Montagnier, C. Rouzioux, D. Klatzmann, W. Rozenbaum, J. C. Gluckman, J. C. Chermann, *Lancet* **1984**, 1253–1256.

[3] „Selective tropism of lymphadenopathy associated virus (LAV) for helper-inducer T lymphocytes“: D. Klatzmann, F. Barré-Sinoussi, M. T. Nugeyre, C. Dauguet, E. Vilmer, C. Griscelli, F. Brun-Vézinet, C. Rouzioux, J. C. Gluckman, J. C. Chermann, L. Montagnier, *Science* **1984**, 225, 59–63.

[4] „Adaptation of Lymphadenopathy Associated Virus (LAV) to replication in EBV-transformed B lymphoblastoid cell lines“: L. Montagnier, J. Gruest, S. Chamaret, C. Dauguet, C. Axler, D. Guetard, M. T. Nugeyre, F. Barré-Sinoussi, J. C. Chermann, J. B. Brunet, D. Klatzmann, J. C. Gluckman, *Science* **1984**, 225, 63–66.

[5] „LAV revisited: origins of the early HIV-1 isolates from Institut Pasteur“: S. Wain-Hobson, J. P. Vartanian, M. Henry, N. Chenciner, R. Cheynier, S. Delassus, L. Pedroza Martins, M. Sala, M. T. Nugeyre, D. Guetard, D. Klatzmann, J. C. Gluckman, W. Rozenbaum, F. Barré-Sinoussi, L. Montagnier, *Science* **1991**, 252, 961–965.

[6] „A new human T-lymphotropic retrovirus: characterization and possible role in lymphadenopathy and acquired immune deficiency syndromes“: L. Montagnier, J. C. Chermann, F. Barré-Sinoussi, S. Chamaret, J. Gruest, M. T. Nugeyre, F. Rey, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vézinet-Brun, C. Rouzioux, G. A. Saimot, W. Rozenbaum, J. C. Gluckman, D. Klatzmann, E. Vilmer, C. Griscelli, C. Foyer-Gazengel, J. B. Brunet in *Human T Cell Leukemia/Lymphoma Viruses* (Hrsg.: R. C. Gallo, M. E. Essex, L. Gross), Cold Spring Harbor Laboratory, New York, **1984**, S. 363–379.

[7] „Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS“: M. Popovic, M. G. Sarngadharan, E. Read, R. C. Gallo, *Science* **1984**, 224, 497–500.

[8] „Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS“: J. A. Levy, A. D. Hoffman, S. M. Kramer, J. A. Lanois, J. M. Shimabukuro, L. S. Oskiro, *Science* **1984**, 225, 840–842.

[9] „Molecular cloning of lymphadenopathy-associated virus“: M. Alizon, P. Sonigo, F. Barré-Sinoussi, J. C. Chermann, P. Tiollais, L. Montagnier, S. Wain-Hobson, *Nature* **1984**, 312, 757–760.

[10] „Nucleotide sequence of AIDS virus, LAV“: S. Wain-Hobson, P. Sonigo, O. Danos, S. Cole, M. Alizon, *Cell* **1985**, 40, 9–17.

[11] „Complete nucleotide sequence of the AIDS virus, HTLV-III“: L. Ratner, W. Haseltine, R. Patarca, K. J. Livak, B. Starcich, S. F. Josephs, E. R. Doran, A. Rafalski, E. A. Whitchorn, K. Baumleister, L. Ivanoff, S. R. Petteway, M. L. Pearson, J. A. Lauttenbergen, T. S. Papas, J. Ghrayeb, N. T. Chang, R. C. Gallo, F. Wong-Staal, *Nature* **1985**, 313, 277–284.

[12] „Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS“: F. Clavel, D. Guetard, F. Brun-Vézinet, S. Chamaret, M. A. Rey, M. O. Santos-Ferreira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, L. Montagnier, *Science* **1986**, 233, 343–346.

[13] „Transmissibility of human immunodeficiency virus in haemophilic and non-haemophilic children living in a private school in France“: A. Berthier, S. Chamaret, R. Fauchet, J. Fonlupt, N. Genetet, M. Gueguen, M. Pommereuil, A. Ruffault, L. Montagnier, *Lancet* **1986**, 598–601.

[14] „Concorde: MCR/ANRS randomised double-blind controlled trial of immediate and deferred zidovudine in symptom-free HIV infection“: M. Seligmann, D. A. Warrel, J.-P. Aboulker, C. Carbon, J. H. Darbyshire, J. Dormont, E. Eschwege, D. J. Girling, D. R. James, J.-P. Levy, P. T. A. Peto, D. Schwarz, A. B. Stone, I. V. D. Weller, R. Withnall, K. Gelmon, E. Lafon, A. M. Swart, V. R. Aber, A. G. Babiker, S. Lhoro, A. J. Nunn, M. Vray, *Lancet* **1994**, 343, 871–881.

[15] M. Zuniga, A. Whiteside, A. Ghaziani, J. G. Bartlett (Vorwort von L. Montagnier/R. Gallo), *A Decade of HAART: The Development and Global Impact of Highly Active Antiretroviral Therapy*, Oxford University Press, Oxford, **2008**.

[16] „Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein“: A. M. Sheehy, N. C. Gaddis, J. D. Choi, M. H. Malim, *Nature* **2002**, 418, 646–650.

[17] „Mise en évidence d'un processus d'engagement vers la mort cellulaire par apoptose dans les lymphocytes de patients infectés par le VIH“: M. L. Gougeon, R. Olivier, S. Garcia, D. Guetard, T. Dragic, C. Dauguet, L. Montagnier, *C. R. Acad. Sci. Ser. III* **1991**, 312, 529–537.

[18] „Programmed cell-death in AIDS-related HIV and SIV infections“: M. L. Gougeon, S. Garcia, J. Heaney, R. Tschopp, H. Lecocur, D. Guetard, V. Rame, C. Dauguet, L. Montagnier, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **1993**, 9, 553–563.

[19] „Programmed cell death in peripheral lymphocytes from HIV-infected persons: Increased susceptibility to apoptosis of CD4 and CD8 T cells correlates with lymphocyte activation and with disease progression“: M. L. Gougeon, H. Lecocur, A. Dulioust, M. G. Enouf, M. Crouvoisier, C. Goujard, T. Debord, L. Montagnier, *J. Immunol.* **1996**, 156, 3509–3520.

[20] „Oxidative protein damage and degradation in lymphocytes from patients infected with human immunodeficiency virus“: G. Piedimonte, D. Guetard, M. Magnani, D. Corsi, I. Picerno, P. Spataro, L. Kramer, M. Montroni, G. Silvestri, J. F. Torres-Roca, L. Montagnier, *J. Infect. Dis.* **1997**, 176, 655–664.

[21] „Increased plasma thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) before opportunistic infection symptoms in HIV-infected individuals“: O. Lopez, D. Bonnefont-Rousselot, M. Mollereau, R. Olivier, L. Montagnier, J. Emerit, M. Gentilini, J. Delattre, *Clin. Chim. Acta* **1996**, 247, 181–187.

[22] „The human immunodeficiency virus-1 Tat protein increases cell proliferation, alters sensitivity to zinc chelator-induced apoptosis, and changes Sp1 DNA binding in HeLa cells“: M. Sevea, A. Faviera, M. Osmana, D. Hernandez, G. Vaitaitis, N. C. Flores, J. M. McCord, S. C. Flores, *Arch. Biochem. Biophys.* **1999**, 361, 165–172.

[23] „In vitro influence of Mycoplasma penetrans on activation of peripheral T lymphocytes from healthy donors or human immunodeficiency virus-infected individuals“: Y. Sasaki, A. Blanchar, H. L. Watson, S. Garcia, A. Dulioust, L. Montagnier, M. L. Gougeon, *Infect. Immun.* **1995**, 63, 4277–4283.

[24] „The challenge of finding a cure for HIV infection“: D. D. Richman, D. M. Margolis, M. Delaney, C. Warner Grenne, D. Hazuda, R. J. Pomerantz, *Science* **2009**, 323, 1304–1307.

[25] „Toward functional eradication of HIV infection“: L. Montagnier, *Future HIV Ther.* **2007**, 1, 3–4.