

Analyse der Immunantwort bei Hepatitis C

Zusammenfassung

Das Schicksal der Hepatitis-C-Virusinfektion wird bestimmt durch die Interaktion des Immunsystems des Wirts, insbesondere der virusspezifischen T-Zellantwort mit dem Virus. Eine frühe, starke, multispezifische und TH1-lymphokindominierte und langanhaltende CD4+- und CD8+ T-Zellantwort ist mit einer Elimination bzw. Kontrolle des Virus und einer selbstlimitierten akuten Hepatitis C assoziiert, während eine schwache T-Zellantwort mit viraler Persistenz und chronischem Verlauf der Erkrankung verbunden ist. Die bei einigen Patienten nachweisbare schwache Immunantwort während der chronischen Hepatitis C ist nicht in der Lage, das Virus zu eliminieren, bestenfalls übt diese T-Zellantwort eine gewisse Kontrolle über das Virus aus. Auf der anderen Seite trägt sie zu der chronischen Leberschädigung bei. Die Rolle der humoralen Immunantwort bei der Hepatitis C ist derzeit noch unklar. Das Verständnis der Hepatitis C virusspezifischen T-Zellantwort ist von außerordentlicher Bedeutung, da es den Weg ebnet für neue therapeutische und prophylaktische Impfansätze bei dieser Erkrankung.

Schlüsselwörter

Hepatitis C · Immunpathogenese · T-Zellantwort · Humorale Antwort

Das Hepatitis-C-Virus ist für den praktisch tätigen Arzt gleichermaßen faszinierend wie für Theoretiker, Virologen, Molekularbiologen, für Immunologen und Epidemiologen. Seit seiner Entdeckung durch ein Team von Chiron, Inc. USA unter der Leitung von M. Houghton im Jahre 1989 [1] sind ungezählte Arbeiten über das Virus, die Infektion sowie über die Erkrankung erschienen. Weltweit gibt es wohl über 200 Mio. Infizierte und mit einer Prävalenz von ca. 1% ist die Hepatitis C die wichtigste Hepatitis in der westlichen Welt.

Trotz eines immensen Erkenntniszuwachses über das Virus und die Infektion während der letzten Jahre sind noch viele Fragen, vielleicht die meisten Fragen zu allen Aspekten dieses Virus und der Erkrankung, unbeantwortet:

- ▶ die genomische Organisation,
- ▶ die Genotyp- und Quasispeziesnatur des Virus,
- ▶ der verwirrende und nicht vorhersehbare natürliche Verlauf der Erkrankung,
- ▶ die weitgehend unklare Beteiligung des Virus an der Pathogenese zahlreicher Krankheitsmanifestationen jenseits der eigentlichen Hepatitis wie Erkrankungen des Immunsystems, Kryoglobulinämie, Lymphome, Schilddrüsen- und Hauterkrankungen,
- ▶ die Mechanismen, die zum Umbau der Leber, zur Zirrhoseentwicklung und zum Leberzellkarzinom bei einem hohen Prozentsatz der Patienten führe und

- schließlich die während der letzten Jahre stark verbesserten, aber immer noch völlig unbefriedigenden Therapieergebnisse.

Für den Immunologen fällt die Entdeckung des Virus in die Zeit eines riesigen Erkenntnisgewinns über die Mechanismen der T-Zellimmunologie. Da wir heute wissen, dass das Hepatitis-C-Virus nicht wesentlich zytopathisch für die Leberzelle ist, kommt dem Immunsystem und hier insbesondere dem T-Zellsystem eine entscheidende Bedeutung für Verlauf und Pathogenese der Infektion zu. Jüngste Forschungsergebnisse ergeben nicht nur Einblicke in die faszinierende und komplizierte Pathogenese der Erkrankung, sie haben nicht nur Beispielcharakter für andere Virusinfektionen, sondern bereiten auch den Weg für ganz neue Ansätze in Therapie und Prophylaxe dieser Infektion.

Immunantwort auf das Hepatitis-C-Virus

Das Hepatitis-C-Virus infiziert die Leber, dabei ist allerdings noch nicht bekannt, über welche Struktur an der Oberfläche des Hepatozyten das Virus in die Zelle aufgenommen wird. Kürzlich wurde entdeckt, dass das HCV an das Molekül CD81 bindet, diese Bindung

Prof. Dr. Gerd R. Pape
Med. Klinik II, Klinikum Großhadern,
Ludwig Maximilians Universität München,
Marchioninistraße 15, 81377 München

G. R. Pape

Analysis of the Immune Response in Hepatitis C Virus Infection

Abstract

The outcome of Hepatitis C virus infection depends on the interaction of the hosts immune system, particularly the virus specific T cell response, with the virus. An early vigorous multispecific TH1 lymphokine dominated and persistent CD4+ and CD8+ T cell response is associated with elimination (control) of the virus and self limited acute hepatitis C, whereas an absent or weak T cell response is associated with viral persistence and chronic course of disease. The weak immune response during chronic hepatitis C is insufficient to eradicate the virus, at best it may exert a certain control but on the other hand contributes to chronic liver damage. The role of the humoral immune response is not clearly defined yet. Understanding the HCV specific T cell response is of great importance since it paves the way for novel therapeutic and prophylactic vaccine approaches for this devastating disease.

Keywords

Hepatitis C Virus Infection · Immunopathogenesis · T Cell Response · Humoral Response

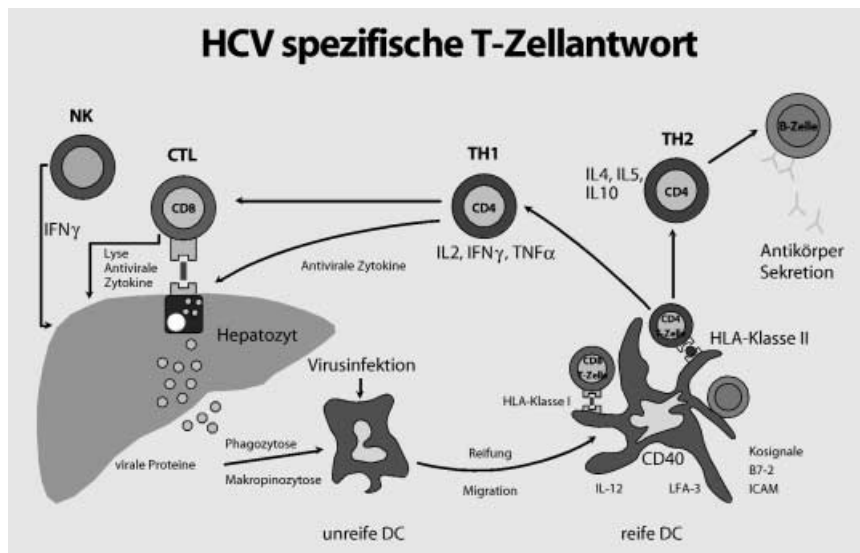


Abb. 1 ▲ 2- HCV- spezifische T-Zellantwort

ist jedoch nicht für die Infektion der Leberzelle verantwortlich. Das HCV repliziert in den Hepatozyten, frei werdendes Virusprotein wird von unreifen sog. antigenpräsentierenden Zellen (APZ) (z. B. dendritischen Retikulumzellen, DCs) aufgenommen. Darüber hinaus können DCs auch direkt infiziert werden. Die Zellen reifen aus und wandern in die T-Zellareale des lymphatischen Systems, wo sie die entscheidenden Mittler für die Induktion der spezifischen antiviralen Immunantwort darstellen. Abb. 1 gibt schematisch und vereinfacht die Immunantwort auf das HCV wieder.

In den antigenpräsentierenden Zellen zu Peptiden abgebaute Virusproteine werden an HLA Klasse-I- und Klasse-II-Moleküle gebunden und auf der Oberfläche dieser Zellen den T-Zellrezeptoren der CD8+T-Zellen (CTL, zytolytischen T-Zellen) über HLA Klasse I sowie den CD4+T-Zellen (Helfer-T-Zellen) über HLA Klasse-II-Moleküle präsentiert. Unter Beteiligung von sog. kostimulatorischen Signalen (das sind bestimmte Oberflächenmoleküle auf den APZ sowie Kytokine) werden die spezifischen antiviralen Lymphozyten induziert. CD4+T-Zellen orchestrieren die Immunantwort, sie reifen aus zu sog. TH1- oder TH2-Zellen. TH1- und TH2-Zellen unterscheiden sich durch ihr Lymphokinprofil, wobei TH1-Zellen vor allem Interferon-gamma (IFN-gamma) und Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF-alpha), TH2-Zellenzytokine wie IL4, IL5, IL6, IL9, IL10, IL13 produzieren.

„Dem T-Zellsystem kommt eine entscheidende Bedeutung für Verlauf und Pathogenese der HCV-Infektion zu.“

Als THo-Zellen bezeichnet man Lymphozyten, die sowohl TH1- als auch TH2-Lymphokine produzieren können. CD4+TH1-Zellen unterstützen die zelluläre Immunantwort, vor allem die spezifischen CD8+T-Zellen, darüber hinaus produzieren sie selber prinzipiell antivirale Zytokine, welche die Virusvermehrung direkt hemmen können. CD4+TH2-Zellen unterstützen die Aktivierung und Differenzierung von B-Zellen, mithin die spezifische Antikörperantwort. Auch induzierte CD8+Zellen vermehren sich, expandieren klonal und wandern in die Leber, wo sie als Effektorzellen Leberzellen sowohl lytisch als auch apoptotisch (Perforin- und Fasligand vermittelt) zerstören können, aber darüber hinaus auch über antivirale Zytokine (z. B. IFN-gamma) die Virusreplikation stoppen und das Virus beseitigen können. Dieser zuletzt erwähnte antivirale Mechanismus konnte zumindest für das Hepatitis-B-Virus, für das Zytomegalie-, das Rotavirus und das Humane Immundefizienzvirus gezeigt werden und trifft möglicherweise auch für das HCV zu [2, 3, 4].

In jüngster Zeit werden darüber hinaus sog. natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und natürlichen T-Killerzellen (NKT-Zellen) in der ganz frühen

Phase der Auseinandersetzung des Wirtes mit dem Hepatitis-C-Virus große Bedeutung zugesprochen.

Humorale Immunantwort

Antikörper gegen HCV sind prinzipiell gegen Epitope in allen Virusproteinen gerichtet. Bei den einzelnen Individuen variieren Spezifität und Auftreten der Antikörper, allerdings findet die Serokonversion in der Regel zwischen der siebten bis 31. Woche nach Infektion statt [5], im Vergleich mit anderen Virusinfektionen ist dies eine späte Serokonversion. Bei der HCV-Infektion wurden bisher neutralisierende Antikörper gegen das Hüllprotein E2 (gegen die sog. hypervariable Region 1, HVR1) nachgewiesen. Diese Region zeigt, wie der Name sagt, große Sequenzvariabilität, sodass möglicherweise ein „Escape“ des Virus vor den Antikörpern denkbar ist. Im Schimpansen-Experiment konnte man mit Impfung von rekombinantem Hüllprotein neutralisierende Antikörper induzieren, die diesen Tieren einen Impfschutz vor Infektion bei Gabe einer niedrigen Virusdosis verlieh. Der wirkungsvollste Antikörper war gegen E2 gerichtet, gegen die Bindungsstelle von CD81, einem als Rezeptor für HCV agierenden Molekül [6].

„Die Rolle der Antikörper für den Verlauf der HCV-Infektion ist umstritten.“

Trotz dieser grundsätzlichen Beobachtung ist die Rolle der Antikörper für den Verlauf der HCV-Infektion nicht klar. So ist insbesondere auch die Bedeutung von Antikörpern gegen die hypervariable Region umstritten. Es konnte gezeigt werden, dass eine frühe Antikörperproduktion gegen die hypervariable Region 1 nicht mit Ausheilung assoziiert ist und dass es zur Klärung des Hepatitis-C-Virus auch ohne Auftreten von Antikörpern gegen Hüllproteine kommt [7, 8]. Darüber hinaus konnte ein langdauernder Schutz durch protektive Antikörper nicht induziert werden. Insgesamt scheint die Viruspersistenz ein komplizierter multifaktorieller Prozess zu sein, bei dem schützende Antikörper wahrscheinlich die geringere, wenn überhaupt eine Rolle spielen.

Zelluläre Immunantwort bei Hepatitis C

Natürliche Zytotoxizität

Man nimmt heute grundsätzlich an, dass der virusspezifischen T-Zellantwort bei der Auseinandersetzung mit dem Hepatitis-C-Virus die herausragende Rolle zukommt. Allerdings gibt es jetzt erstmals – wie oben erwähnt – Hinweise darauf, dass in der frühen Phase der Infektion auch die sog. angeborene zelluläre Immunantwort in Gestalt von natürlichen Killer-(NK-)Zellen und natürlichen Killer-T-(NKT-)Zellen für den Verlauf der HCV-Infektion von Bedeutung sind.

HCV spezifische T-Zellantwort

Die in den letzten Jahren in der Immunologie entwickelten Techniken erlauben eine detaillierte Analyse von virusspezifischen T-Zellen. Im Einzelnen lässt sich sowohl die Frequenz, die Funktion und vor allem die genaue Spezifität, d. h. die Erkennung eines Peptidpitops auf dem Virus für die einzelnen CD8+ und CD4+T-Zellen identifizieren. Dies ist von erheblicher Bedeutung für zukünftige therapeutische wie prophylaktische Ansätze.

T-Zellantwort bei akuter Hepatitis C

Wenn auch der natürliche Verlauf der Hepatitis C im Einzelfall nicht bzw. nur unvollständig vorausgesagt werden kann, wissen wir doch, dass die Mehrzahl der akuten Infektionen einen chronischen Verlauf nimmt. Patienten mit chronischem Verlauf haben in der Regel eine asymptomatische akute Hepatitis C. Eine Ausnahme bilden Patienten mit symptomatischer akuter Hepatitis C. Ungefähr die Hälfte dieser Patientengruppe zeigt eine spontane Ausheilung ihrer Hepatitis. Daher können an diesem Patientenkollektiv immunologische Vorgänge, die entweder mit spontaner Elimination des Virus und Ausheilung der Erkrankung oder mit Viruspersistenz und chronischem Verlauf assoziiert sind, hervorragend untersucht werden.

Patienten, die das Virus spontan kontrollieren, haben eine starke, multispezifische und langandauernde T-Helferzellantwort im peripheren Blut [9, 10, 11, 12]. Diese Reaktion ist TH1/TH0 dominiert (siehe oben) und zeigt in ihrer Spezifität vor allem gegen die Nichtstrukturproteine des

Virus gerichtete immundominante Epitoperkennung. Einzelne immundominante Virusepitope sind hochkonserviert zum Teil zu 100% in allen Genotypen und weiteren Virusvarianten und sind promiskuitiv, d. h. sie können von Patienten mit unterschiedlichem HLA-Hintergrund erkannt werden [10]. Persistenz des HCV und Übergang in eine chronische Hepatitis ist dagegen mit einer nicht nachweisbaren oder schwachen T-Helferzellantwort verbunden. Für die virusspezifischen CD8+T-Zellen konnte eine ähnliche Korrelation gezeigt werden [13, 14, 15].

Insgesamt sieht es so aus, als ob Stärke, Spezifität, Zytokinprofil und Dauer der T-Zellantwort das Schicksal einer HCV-Infektion bestimmen (Übersicht 1). Verliert der Patient seine spezielle T-Zellreaktion (die Ursachen hierfür sind noch nicht bekannt) so persistiert das Virus, und es entwickelt sich eine chronische Erkrankung [16]. Bei Patienten, die die Erkrankung ausheilen und das Virus dauerhaft kontrollieren, bleibt die CD4+T-Zellantwort erhalten [16]. Wir konnten zeigen, dass Erkrankte noch über 20 Jahre nach Ausheilung ihrer akuten Hepatitis C (Patienten aus den neuen Bundesländern, die Ende der 70er Jahre mit HCV kontaminiertem Anti-D-Immunglobulin behandelt wurden) eine signifikante virusspezifische CD4+T-Zellantwort im peripheren Blut aufweisen. Da Patienten mit durchgemachter Hepatitis C alle Marker einer Infektion oder Erkrankung verlieren oder verlieren können, d. h. HCV-RNA negativ und anti-HCV negativ sein können und normale Transaminasen haben, ist der Nachweis einer HCV-spezifischen T-Zellreaktion der einzige Hinweis für eine irgendwann stattgehabte HCV-Infektion. Es ist gut möglich, dass wir aufgrund dieser Tatsache den Prozentsatz von Fällen mit selbstlimitierter HCV-Infektion in der Bevölkerung unterschätzen [17].

Übersicht 1. Verlauf der HCV Infektion und HCV-spezifische-T-Zellantwort

- ▶ Elimination (Kontrolle) des Virus und selbstlimitierte Erkrankung:
- ▶ starke, multispezifische, TH1 dominierte langanhaltende T Zellantwort
- ▶ Persistenz des Virus und chronischer Verlauf der Erkrankung:
nicht nachweisbare oder schwache T-Zellantwort

Interessanterweise kann eine spezifische T-Zellreaktion auch im Blut von gesunden Familienmitgliedern HCV-Infizierter gefunden werden. Es ist denkbar, dass diese Reaktion durch ständigen Viruskontakt aufrechterhalten wird und auf der anderen Seite Immunität verleiht [18].

T-Zellantwort bei chronischer Hepatitis C

Patienten mit chronischer Hepatitis C haben keine oder eine schwächer ausgeprägte CD4+T-Zellantwort. Diese zeigt im Gegensatz zur akuten Hepatitis C auch eine Spezifität für Strukturproteine (Coreprotein). Man geht heute davon aus, dass die Frequenz der spezifischen CD4+T-Zellen im peripheren Blut in den meisten Fällen unterhalb der Nachweisgrenze der entsprechenden Tests liegt. Auch für die zytolytischen CD8+T-Zellen zeigt sich mit der modernen Tetramertechnik zum Nachweis dieser peptidspezifischen Zellen eine sehr niedrige Frequenz im peripheren Blut [15, 19]. Die Ursache für die schwache viruspezifische T-Zellantwort bei Patienten mit chronischer Hepatitis ist nicht bekannt. Da diese Patienten aber eine normale T-Zellreaktion gegen andere Viren, z. B. gegen EBV und CMV, aufweisen, kann man nicht von einer generellen Suppression der T-Zellantwort bei diesen Individuen ausgehen.

„Die Ursache für die schwache viruspezifische T-Zellantwort bei Patienten mit chronischer Hepatitis ist nicht bekannt.“

Das Hepatitisvirus ist selbst nicht zytolytisch, d. h. es zerstört nicht die Leberzellen. Vielmehr verursachen die gegen das Virus gerichtete spezifische T-Zellreaktion sowie sog. Bystanderzellen im Lebergewebe die entzündliche Gewebeschädigung. Sowohl CD8+- als auch CD4+HCV-spezifische T-Zellen sind im Lebergewebe angereichert, teilweise dort auch vollkommen kompartimentalisiert, sodass sie sich ausschließlich in der Leber nachweisen lassen [20, 21, 22].

Interferenz des Hepatitis-C-Virus mit dem Immunsystem als mögliche Ursache der Viruspersistenz

Kenntnisse über Mechanismen, die zur Viruspersistenz führen, wären gerade auch für neue Therapiestrategien von großer Bedeutung. Sie sind daher Gegenstand intensiver Forschung, ohne dass man allerdings bisher einen bestimmten Mechanismus als Hauptverantwortlichen für Viruspersistenz und Chronizität hätte identifizieren können.

Mögliche Mechanismen sind:

- HCV-Sequenzvariationen und Mutationen in T-Zellepitopen,
- verminderte Suszeptibilität des Virus gegenüber Zytokinen,
- niedrige T-Zellfrequenz,
- Interferenz des HCV-Core mit z. B. T-Zell-induzierter Apoptose oder Interferenz von HCV Proteinen mit der Antigenprozessierung,
- Hochregulation der MHC-Klasse-I-Expression auf infizierten Zellen und damit Blockierung von NK-Mechanismen,
- weitere Möglichkeiten [23, 24, 25, 26].

Immunantwort und Impfung

Der Entwicklung einer prophylaktischen Vakzine gegen das Hepatitis-C-Virus stehen zahlreiche Hindernisse im Wege:

HCV kann bisher nicht in adäquaten Mengen in vitro kultiviert werden, ein brauchbares Kleintiermodell existiert nicht, so dass man in den vorklinischen Studien auf Schimpansen angewiesen ist. HCV ist ein RNA-Virus, das schnell mutiert. Der Druck der Immunantwort kann zur Variation in T-Zellepitopen führen, sodass das Virus sich einer Immunantwort entzieht. Die große genetische Heterogenität des Virus wird deutlich in den sechs Genotypen, über 50 Subtypen und einer Unzahl von Quasispezies.

Bisherige Kandidaten für eine HCV-Vakzine sind die rekombinanten Hüllproteine E1 und E2. Mit ihnen lässt sich ein Schutz gegenüber homologem Virus erreichen. Diese Vakzinen werden derzeit weiter entwickelt und sind auch für erste Einsätze im Sinne von Sicherheitstestungen im Menschen vorgesehen [27].

Bei der insgesamt noch sehr unbefriedigenden Situation der Entwicklung einer prophylaktischen HCV-Vakzine

werden zahlreiche neue Wege beschritten, z. B. virusähnliche Partikel, die Hüll- und Coreproteine enthalten, rekombinante Vakzinen aus viralen Untereinheiten, synthetische Peptidvakzinen, nackte DNA-Vakzinen und sog. lebende rekombinante Vakzinen, bei denen in attenuierte Viren geklonte Sequenzen, die HCV Proteine kodieren, eingebaut werden.

Perspektiven

Nach Infektion mit dem Hepatitis-C-Virus entscheidet die Auseinandersetzung des Immunsystems mit dem Virus über das Schicksal des weiteren Verlaufs dieser Infektion. Dies bedeutet eine Entscheidung darüber, ob der Mensch das Virus kontrolliert und die Erkrankung ausheilt, oder ob das Virus persistiert und eine chronische Erkrankung verursacht. Das Immunsystem gibt Ausschlag, welche Krankheitsmanifestationen entstehen und entscheidet letztlich darüber, ob Virus oder Wirt, beide oder keiner von beiden die Infektion überleben. Zahlreiche Variable sowohl auf der Seite des Virus wie auch des Immunsystems können den Verlauf dominieren oder modifizieren:

- Virusreplikation,
- Virusmenge,
- Variabilität des Virus,
- Zell- und Gewebetropismus und Suszeptibilität gegenüber Resistenzmechanismen des Organismus (z. B. Interferon),
- das Immunsystem,
- Spezifität,
- Kinetik,
- Dauer der zellvermittelten (T-Zellen) wie der humoralen Immunantwort in Assoziation mit unspezifischen Infektormechanismen wie z. B. NK- und NKT-Zellen.

Vereinfacht formuliert ist eine starke gegen mehrere Bestandteile des Virus gerichtete T-Zellantwort des Patienten mit einer Kontrolle des Virus und Ausheilung der Erkrankung assoziiert, während eine fehlende T-Zellreaktion mit Persistenz des Virus und Chronizität der Erkrankung verbunden ist. Die T-Zellreaktion kann man prospektiv testen, sie lässt bei einem Patienten mit symptomatischer akuter Hepatitis C prognostische Aussagen über den spontanen Verlauf der Erkrankung zu.

Fazit für die Praxis

Die in diesem Artikel diskutierten neuen Erkenntnisse über die Bedeutung der T-Zellen zur Kontrolle des Hepatitis-C-Virus führen zu neuen Behandlungsansätzen und Strategien der chronischen Erkrankung. Das Prinzip besteht darin, die fehlende oder zu schwache spezifische antivirale Immunreaktion (T-Zellantwort) des Patienten zu induzieren, zu aktivieren oder zu verstärken. Hierfür wird das Immunsystem in geeigneter Weise mit Virusbestandteilen konfrontiert, d. h. es wird eine therapeutische Impfung z. B. mit Virusprotein, Viruspeptiden, DNA-Vakzinen, etc. durchgeführt. Es ist davon auszugehen, dass eine derartige Aktivierung oder Induktion einer antiviralen T-Zellantwort nicht nur eine therapeutische, sondern auch eine prophylaktische Impfung darstellt.

Literatur

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ et al. (1989) Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne NonA, NonB Viral Hepatitis Genome. *Science* 244:359–61
2. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV (1999) Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science* 284:825–829
3. Pavic I, Polic B, Crnkovic I, Lucin P, Jonjic S, Koszinowski UH (1993) Participation of endogenous tumour necrosis factor alpha in host resistance to cytomegalovirus infection. *J Gen Vir* 74:2215–2223
4. Franco MA, Tin C, Greenberg HB (1997) CD8+ T cells can mediate almost complete short-term and partial long-term immunity to rotavirus in mice. *J Virol* 71:4165–4170
5. Chien DY, Choo QL, Tabrizi A et al. (1992) Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection using an immunodominant chimeric polypeptide to capture antibodies: Reevaluation of the role of HCV in liver disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10011–10015
6. Pileri P, Vematsu Y, Campagnoli S et al. (1998) Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 16:89–109
7. Ray SC, Wang YM, Laeyendecker O, Ticehurst JR, Villamo SA, Thomas DL (1999) Acute hepatitis C virus structural gene sequences as predictors of persistent viremia: Hypervariable region 1 as a decoy. *J Virol* 73:2938–2946
8. Basset SE, Thomas DL, Brasky KM, Lanford RE (1999) Viral persistence, antibody to E1 and E2, and hypervariable region 1 sequence stability in hepatitis C virus-inoculated chimpanzees. *J Virol* 73:1118–1126
9. Diepolder HM, Zachoval R, Hoffmann RM et al. (1995) Possible mechanism involving T-lymphocyte response to non-structural protein 3 in viral clearance in acute hepatitis C virus infection. *Lancet* 346:1006–1007
10. Diepolder HM, Gerlach JT, Zachoval R et al. (1997) Immunodominant CD4+ T-cell epitope within nonstructural protein 3 in acute hepatitis C virus infection. *J Virol* 71:6011–6019
11. Missale G, Bertoni R, Lamonaca V et al. (1996) Different clinical behaviors of acute hepatitis C virus infection are associated with different vigor of the anti-viral cell mediated immune response. *J Clin Invest* 98:706–714
12. Lamonaca V, Missale G, Urbani S et al. (1999) Conserved hepatitis C virus sequences are highly immunogenic for CD4+ T cells: implications for vaccine development. *Hepatology* 30:1088–1098
13. Chang KM, Grüner NH, Southwood S, Sidney J, Pape GR, Chisari FV, Sette A (1999) Identification of HLA-A3 and -B7-restricted CTL response to hepatitis C virus in patients with acute and chronic hepatitis C. *J Immunol* 162:1156–1164
14. Grüner NH, Gerlach JT, Jung MC et al. (2000) Association of HCV-specific CD8+ T cells with viral clearance in acute hepatitis C. *J Infect Dis* 181(5):1528–1536
15. Lechner F, Grüner NH, Urbani S et al. (2000) CD8+ T lymphocyte responses are induced during acute HCV virus infection but are not sustained. *Eur J Immunol* 30(9):2479–2487
16. Gerlach JT, Diepolder H, Jung MC et al. (1999) Recurrence of hepatitis C virus after loss of virus-specific CD4(+) T-cell response in acute hepatitis C. *Gastroenterology* 117(4):933–941
17. Takaki A, Rehermann B, Wiese M et al. (2000) Cellular immune responses persist, humoral responses decline two decades after recovery from a single source outbreak of hepatitis C. *Nat Med* 6:578–582
18. Scognamiglio P, Accapezzato D, Casciani A et al. (1999) Presence of effector CD8+ T cells in hepatitis C virus-exposed healthy seronegative donors. *Immunol* 162:6681–6689
19. He XS, Rehermann B, Lopez-Labrador FX et al. (1999) Quantitative analysis of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells in peripheral blood and liver using peptide-MHC tetramers. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:5692–5697
20. Koziel MJ, Dudley D, Afdhal N et al. (1995) HLA class I-restricted cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus. Identification of multiple epitopes and characterization of patterns of cytokine release. *J Clin Invest* 96:2311–2321
21. Schirren CA, Jung MC, Gerlach JT et al. (2000) Related articles. Liver-derived hepatitis C virus (HCV)-specific CD4(+) T cells recognize multiple HCV epitopes and produce interferon-gamma. *Hepatology* 32:597–603
22. Schirren CA, Jung MC, Worzfeld T, Mamin M, Baretton G, Gerlach JT, Gruener NH, Zachoval R, Houghton M, Rau HG, Pape GR (in press) HCV-specific CD4+ T cell response after liver transplantation occurs early, is multispecific, compartmentalize to the liver and does not correlate with recurrent disease. *J Infect Dis*
23. Chang KM, Rehermann B, McHutchison JG, Pasquinelli C, Southwood S, Sette A, Chisari FV (1997) Immunological significance of cytotoxic T lymphocyte epitope variants in patients chronically infected by the hepatitis C virus. *J Clin Invest* 100:2376–2385
24. Weiner A, Erickson AL, Kansopon J, Crawford K, Mutchmore E, Hughes AL, Houghton M, Walker CM (1995) Persistent hepatitis C virus infection in a chimpanzee is associated with emergence of a cytotoxic T lymphocyte escape variant. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:2755–2759
25. Taylor DR, Shi ST, Romano PR, Barber GN, Lai MM (1999) Inhibition of the interferon-inducible protein kinase PKR by HCV E2 protein. *Science* 285:107–110
26. Korth M, Katze MG (2000) Evading the interferon response: hepatitis C virus and the interferon-induced protein kinase, PKR. In: Hagedorn CH, Rice CM (eds). *Curr Top Microbiol Immunol* 242:197–224
27. Houghton M (2000) Strategies and prospects for vaccination against the hepatitis C viruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 242:327–329