

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *Gammaretrovirus koa* als Spender- und Empfängerorganismus gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Die Spezies *Gammaretrovirus koa* (veraltet: Koala retrovirus, KoRV) umfasst sowohl endogene als auch exogene Retroviren der Gattung *Gammaretrovirus* innerhalb der Familie *Retroviridae* [1]. KoRV weist ein einfach aufgebautes (+)ssRNA-Genom mit einer Gesamtlänge von ca. 8,4 kb auf. Das Genom enthält die Gene *gag*, *pol* und *env*, welche von den *long terminal repeats* flankiert werden [2].

Auf Grundlage phylogenetischer Analysen des *env*-Gens werden derzeit zwölf verschiedene KoRV-Subtypen (KoRV-A bis KoRV-M; wobei KoRV-J dem KoRV-B-Subtyp entspricht) unterschieden [3, 4]. KoRV-A ist der einzige Subtyp, der auch als endogenes Virus vorkommt, alle anderen Subtypen sind ausschließlich exogen [3, 5]. KoRV-A ist ein relativ junges endogenes Retrovirus, das vermutlich erst vor weniger als 50.000 Jahren in das Koala (*Phascolarctos cinereus*)-Genom aufgenommen wurde und sich noch im Übergang von einem aktiven, neu endogenisierten Retrovirus zu einer genomisch fixierten Einheit befindet [6, 7]. Endogene KoRV-A liegen im Koala-Genom entweder als unvollständige Genomfragmente oder als vollständige virale Genome vor, die in der Lage sind zu replizieren und replikationskompetente Viruspartikel zu bilden [3, 8].

KoRV-A ist in allen freilebenden Koala-Populationen in Australien weit verbreitet [3]. Dagegen wurden die exogenen Subtypen KoRV-B – KoRV-M (außer KoRV-E) fast ausschließlich in Koala-Populationen der nördlichen Bundesstaaten Australiens (Queensland und New South Wales) identifiziert [3, 4, 9]. Viele Subtypen, einschließlich KoRV-E, wurden zudem in domestizierten Koalas in zoologischen Einrichtungen weltweit nachgewiesen [5, 10–13].

Durch die Integration von KoRV in das Wirtsgenom werden mutagene und immunmodulatorische Auswirkungen auf den Wirt begünstigt. Als Hotspots für die Virusintegration wurden Regionen des Koala-Genoms identifiziert, die krebserrelevante Gene enthalten [14]. Infolgedessen haben infizierte Tiere ein erhöhtes Risiko, an Lymphomen und Leukämien sowie an anderen Krebsarten wie Mesotheliomen und Schädeltumoren zu erkranken [8, 15]. Zahlreiche Studien zeigen zudem einen Zusammenhang zwischen KoRV und einer Reihe weiterer Erkrankungen sowie Koinfektionen bei Koalas, insbesondere mit Bakterien der Gattung *Chlamydia* [15–18]. Das häufige Auftreten opportunistischer Infektionen könnte darauf hindeuten, dass KoRV eine Immunschwäche verursacht. So wurde bei Koalas, die mit KoRV-A infiziert waren, ein signifikanter Rückgang der IFN γ - und IL17A-Werte und eine Verringerung des Verhältnisses der

CD4:CD8-Genexpression festgestellt [19]. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen einer KoRV-Infektion und einem geschwächten Immunsystem oder einer Koinfektion konnte bisher jedoch nicht nachgewiesen werden [20]. Eine nationale Risikoanalyse in Australien kam insgesamt zu dem Schluss, dass KoRV ein erhebliches Risiko für die Gesundheit von Koalas und deren Populationen im Norden des Landes darstellt [21].

Die Übertragung exogener KoRV erfolgt horizontal, höchstwahrscheinlich zwischen Mutter und Jungtier durch die Aufnahme von Milch, Papp und/oder infizierten Flüssigkeiten perinatal [5]. Endogene KoRV-A werden zudem vertikal über die Keimzellen übertragen [7].

Hinweise von natürlich auftretenden KoRV-Infektionen bei anderen Tieren oder dem Menschen liegen bisher nicht vor [22]. *In vitro* kann KoRV verschiedene Arten von Säugerzellen (Maus, Ratte, Rind, Hamster und Mensch) infizieren [12, 23, 24]. Ebenso konnten Ratten *in vivo* mit KoRV infiziert werden, wobei eine von zwölf infizierten Ratten nach 200 Tagen ein Fibrosarkom entwickelte [12]. Zur Infektion menschlicher Zellen nutzt KoRV-A den *Sodium-dependent phosphate transporter 1* (PiT1, kodiert durch SLC20A1) als Rezeptor, wogegen KoRV-B an den *thiamine transporter 1* (THTR1, kodiert durch SLC19A2) bindet [11].

Der engste Verwandte von KoRV ist das exogene *Gammaretrovirus gibleu* (veraltet: Gibbon ape leukemia virus, GALV, **Risikogruppe 2**) [2]. Aufgrund der geografischen Distanz beider Wirte wird spekuliert, dass KoRV und GALV von einem gemeinsamen Vorläufervirus abstammen, das aus Fledermäusen oder Nagetieren stammt. So wurden in Fledermäusen und verschiedenen Nagetieren KoRV-ähnliche Viren nachgewiesen [25, 26].

In der TRBA 462 „Einstufung von Viren und TSE-Agenzien in Risikogruppen“ ist KoRV der Risikogruppe 1 mit dem Zusatz t²¹ zugeordnet [27].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV wird *Gammaretrovirus koa* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

KoRV ist ein replikationskompetentes Virus, das bisher ausschließlich in Koala-Populationen nachgewiesen wurde. Es ist nicht vollständig auszuschließen, dass sich der Wirtsbereich von KoRV neben Koalas auch auf andere Säugetiere erstreckt und ggf. den Menschen mit einschließt. Im Verlauf der Infektion integriert das KoRV-Genom in das Genom der Wirtszelle, wodurch die Entstehung verschiedener Krebsarten begünstigt wird. Zudem fördert eine Infektion mit KoRV, möglicherweise durch eine Schwächung des Immunsystems, das Auftreten von Koinfektionen.

¹ Wegen der Wirbeltierpathogenität können aus tierseuchenrechtlicher Sicht Sicherheitsmaßnahmen erforderlich werden, die vergleichbar mit den Sicherheitsmaßnahmen der Schutzstufe 2 ein Entweichen des Virus in die äußere Umgebung bzw. in andere Arbeitsbereiche minimieren (siehe auch TRBA 120).

Literatur

1. **Tarlinton RE, Meers J, Young PR** (2006). Retroviral invasion of the koala genome. *Nature* **442**(7098):79–81.
2. **Hanger JJ, Bromham LD, McKee JJ, O'Brien TM, Robinson WF** (2000). The Nucleotide Sequence of Koala (*Phascolarctos cinereus*) Retrovirus: a Novel Type C Endogenous Virus Related to Gibbon Ape Leukemia Virus. *J Virol* **74**(9):4264.
3. **Blyton MDJ, Young PR, Moore BD, Chappell KJ** (2022). Geographic patterns of koala retrovirus genetic diversity, endogenization, and subtype distributions. *Proc Natl Acad Sci U S A* **119**(33):e2122680119.
4. **Chappell KJ, Brealey JC, Amarilla AA, Watterson D, Hulse L, Palmieri C, Johnston SD, Holmes EC, Meers J, Young PR** (2017). Phylogenetic Diversity of Koala Retrovirus within a Wild Koala Population. *J Virol* **91**(3).
5. **Joyce BA, Blyton MDJ, Johnston SD, Young PR, Chappell KJ** (2021). Koala retrovirus genetic diversity and transmission dynamics within captive koala populations. *Proc Natl Acad Sci U S A* **118**(38).
6. **Ávila-Arcos MC, Ho SYW, Ishida Y, Nikolaidis N, Tsangaras K, Höning K, Medina R, Rasmussen M, Fordyce SL, Calvignac-Spencer S, Willerslev E, Gilbert MTP, Helgen KM, Roca AL, Greenwood AD** (2013). One hundred twenty years of koala retrovirus evolution determined from museum skins. *Mol Biol Evol* **30**(2):299–304.
7. **Ishida Y, Zhao K, Greenwood AD, Roca AL** (2014). Proliferation of Endogenous Retroviruses in the Early Stages of a Host Germ Line Invasion. *Mol Biol Evol* **32**(1):109–20.
8. **Tarlinton R, Meers J, Hanger J, Young P** (2005). Real-time reverse transcriptase PCR for the endogenous koala retrovirus reveals an association between plasma viral load and neoplastic disease in koalas. *J Gen Virol* **86**(Pt 3):783–7.
9. **Sarker N, Fabijan J, Seddon J, Tarlinton R, Owen H, Simmons G, Thia J, Blanchard AM, Speight N, Kaler J, Emes RD, Woolford L, Trott D, Hemmatzadeh F, Meers J** (2019). Genetic diversity of Koala retrovirus env gene subtypes: insights into northern and southern koala populations. *J Gen Virol* **100**(9):1328–39.
10. **Shojima T, Yoshikawa R, Hoshino S, Shimode S, Nakagawa S, Ohata T, Nakaoka R, Miyazawa T** (2013). Identification of a novel subgroup of Koala retrovirus from Koalas in Japanese zoos. *J Virol* **87**(17):9943–8.
11. **Xu W, Stadler CK, Gorman K, Jensen N, Kim D, Zheng H, Tang S, Switzer WM, Pye GW, Eiden MV** (2013). An exogenous retrovirus isolated from koalas with malignant neoplasias in a US zoo. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110**(28):11547–52.
12. **Fiebig U, Hartmann MG, Bannert N, Kurth R, Denner J** (2006). Transspecies transmission of the endogenous koala retrovirus. *J Virol* **80**(11):5651–4.
13. **Xu W, Gorman K, Santiago J, Kluska K, Eiden M** (2015). Genetic Diversity of Koala Retroviral Envelopes. *Viruses* **7**(3):1258–70.
14. **McEwen GK, Alquezar-Planas DE, Dayaram A, Gillett A, Tarlinton R, Mongan N, Chappell KJ, Henning J, Tan M, Timms P, Young PR, Roca AL, Greenwood AD** (2021). Retroviral integrations contribute to elevated host cancer rates during germline invasion. *Nat Commun* **12**(1):1316.
15. **Denner J, Young PR** (2013). Koala retroviruses: characterization and impact on the life of koalas. *Retrovirology* **10**:108.
16. **Vitali SD, Reiss AE, Jakob-Hoff RM, Stephenson TL, Holz PH, Higgins DP** (2023). National Koala Disease Risk Analysis - Appendices version 1.2.: <https://doi.org/10.25910/gfg9-vk76>.

17. **Waugh CA, Hanger J, Loader J, King A, Hobbs M, Johnson R, Timms P** (2017). Infection with koala retrovirus subgroup B (KoRV-B), but not KoRV-A, is associated with chlamydial disease in free-ranging koalas (*Phascolarctos cinereus*). *Sci Rep* **7**(1):134. E-Pub ahead of print 09.03.2017.
18. **Butcher RG, Pettett LM, Fabijan J, Ebrahimie E, Mohammadi-Dehcheshmeh M, Speight KN, Boardman W, Bird PS, Trott DJ** (2020). Periodontal disease in free-ranging koalas (*Phascolarctos cinereus*) from the Mount Lofty Ranges, South Australia, and its association with koala retrovirus infection. *Aust Vet J* **98**(5):200–6. E-Pub ahead of print 23.01.2020.
19. **Maher IE, Patterson J, Curnick M, Devlin J, Higgins DP** (2019). Altered immune parameters associated with Koala Retrovirus (KoRV) and Chlamydial infection in free ranging Victorian koalas (*Phascolarctos cinereus*). *Sci Rep* **9**(1):11170. E-Pub ahead of print 01.08.2019.
20. **Quigley BL, Timms P** (2020). Helping koalas battle disease - Recent advances in Chlamydia and koala retrovirus (KoRV) disease understanding and treatment in koalas. *FEMS Microbiol Rev* **44**(5):583–605.
21. **Vitali SD, Reiss AE, Jakob-Hoff RM, Stephenson TL, Holz PH, Higgins DP** (2023). National Koala Disease Risk Analysis Report version 1.2.: <https://doi.org/10.25910/xkkv-nk38%20>.
22. **Xu W, Stoye JP** (2014). Koala retrovirus (KoRV): are humans at risk of infection? *Tech. Rep. Aust. Mus., Online* **24**:99–101.
23. **Oliveira NM, Farrell KB, Eiden MV** (2006). In Vitro Characterization of a Koala Retrovirus. *J Virol* **80**(6):3104–7.
24. **Sarker N, Tarlinton R, Owen H, David Emes R, Seddon J, Simmons G, Meers J** (2020). Novel insights into viral infection and oncogenesis from koala retrovirus (KoRV) infection of HEK293T cells. *Gene* **733**:144366.
25. **Mottaghinia S, McMichael L, Meers J** (2023). Bats or rodents, who started it? Short history of the gibbon ape leukaemia virus–koala retrovirus clade. In Proceedings of the Second Koala Retrovirus Workshop, ed. D. E. Alquezar-Planas, D. P. Higgins, C. L. Singleton, and A. D. Greenwood. *Tech. Rep. Aust. Mus., Online* **38**:15–8.
26. **Hayward JA, Tachedjian G** (2024). KoRV-related retroviruses in diverse Australian and African rodent species. *bioRxiv*:02.25.581998.
27. **TRBA** (2024). Einstufung von Viren und TSE-Agenzien in Risikogruppen (TRBA 462) <https://www.baua.de/DE/Angebote/Regelwerk/TRBA/TRBA-462>. Besucht am 31.07.2024.