

März 1998
Nr. 49

Der Verein «Forschung für Leben» informiert:

Im Kampf gegen Rinderwahnsinn und Creutzfeldt-Jakob-Krankheit:

**Prionenkrankheiten und Ausbreitung im Organismus;
Schlüsselfunktion transgener Mäuse**

Prof. Dr. Adriano Aguzzi
Dr. Thomas Blättler
Dr. Sebastian Brandner
Dr. Michael A. Klein
Dr. Alex J. Raeber

_____Impressum

Der Verein «Forschung für Leben», gegründet 1990, bezweckt die Information der Bevölkerung über die Ziele und die Bedeutung der biologisch-medizinischen Forschung. Er bringt den Nutzen, aber auch die Gefahren, die sich aus der Forschung ergeben, einfach und klar zur Sprache und baut durch Aufklärung Ängste und Misstrauen ab.

«Forschung für Leben» besteht aus gegen 200 Mitgliedern und Gönnermitgliedern. Die Einzelmitgliedschaft beträgt jährlich Fr. 50.–, die Gönnermitgliedschaft Fr. 500.–.

Bei Interesse oder für weitere Informationen kontaktieren Sie bitte die Geschäftsstelle:
Verein «Forschung für Leben»
Postfach, 8033 Zürich
Geschäftsführerin: Dr. Regula Pfister
Tel. 01 361 49 47, Fax 01 361 53 32
E-Mail: vffleben@access.ch
Internet: <http://www.access.ch/vffleben>

Im Kampf gegen Rinderwahnsinn und Creutzfeldt-Jakob-Krankheit:

Prionenkrankheiten und Ausbreitung im Organismus; Schlüsselfunktion transgener Mäuse

__Einführung

Prionenkrankheiten oder übertragbare schwammartige Enzephalopathien (TSE = Transmissible Spongiform Encephalopathies) sind Krankheiten, die das Nervensystem irreparabel schädigen. Charakteristisch für diese Erkrankungen sind Gedächtnisverlust, Bewegungsstörungen, spongiforme Veränderungen des Hirns und Ablagerungen einer abnormen Form eines körpereigenen Proteins, des Prion-Proteins, auf Nervenzellen. Neben Krankheiten beim Menschen, wie der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK), dem Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) Syndrom und der fatalen familiären Schlaflosigkeit (FFI), gehören zu den TSE auch die Traberkrankheit (Scrapie) bei Schafen und Ziegen sowie der Rinderwahnsinn (BSE). Während Scrapie seit mehr als 200 Jahren bekannt ist, stellt BSE eine neue Form der TSE dar, die 1986 in England zum ersten Mal epidemiarartig auftrat und sich vermutlich durch die Verfütterung von Tierkörpermehl ausgebreitet hat. Bei der neu aufgetretenen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK), die in den letzten Jahren bei jüngeren Patienten in England aufgetreten ist, wird ein kausaler Zusammenhang mit BSE diskutiert.

In unserer Arbeitsgruppe untersuchen wir die Mechanismen der Übertragung und Ausbreitung von Prionen im Körper. Mit modernen molekularbiologischen Methoden stehen uns Instrumente zur Verfügung, die Krankheitsentstehung zu analysieren und therapeutische Ansätze zu entwickeln, mit denen die Ausbreitung von Prionen im infizierten Organismus beeinflusst werden kann.

Die Natur des TSE-Erregers ist nach wie vor ungeklärt. Mit grosser Wahrscheinlichkeit handelt es sich nicht um ein Virus oder ein Bakterium. Alle Versuche, eine erregerspezifische Nu-

kleinsäure (Erbinformation) nachzuweisen, blieben bislang erfolglos. Zusätzlich weist der TSE-Erreger Eigenschaften auf, die ihn grundsätzlich von konventionellen Pathogenen unterscheiden. Aufgrund dieser ungewöhnlichen Eigenschaften formulierte Stanley Prusiner im Jahre 1982 die «Protein-only-Hypothese» und nannte den Erreger *Prion*, eine Wortspielerei aus den Vorsilben von ‚proteinaceous infectious agent‘. Diese Hypothese besagt, dass die TSE ausschliesslich durch eine abnorme Form, PrP^{Sc} (PrP für Prion-Protein; ^{Sc} für Scrapie) eines normalen, vom Wirtsorganismus kodierten Proteins, PrP^C (C für ‚cellular‘), ausgelöst werden. Beide Formen besitzen die gleiche Aminosäuresequenz, sie unterscheiden sich jedoch in ihrer räumlichen Struktur. Zusätzlich wird postuliert, dass PrP^{Sc} nach Eindringen in eine Wirtszelle die Umwandlung von körpereigenen PrP^C Molekülen zu PrP^{Sc} Molekülen auslösen kann und somit die Vermehrung der infektiösen Einheit sichergestellt wird (Abb. 1). Wie dieser Prozess der Prion-Protein Vermehrung auf molekularer Ebene abläuft, ist Gegenstand intensiver Untersuchungen.

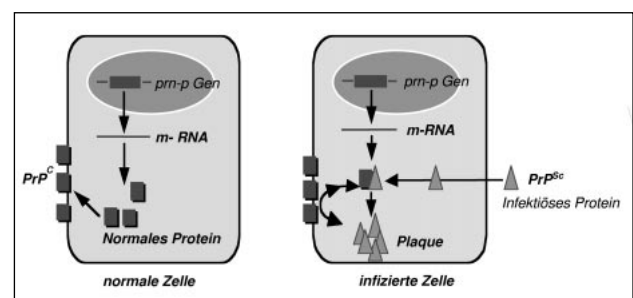


Abbildung 1: Die Protein-only-Hypothese

__Die Speziesbarriere

Bei der experimentellen Übertragung von Prionen von einer Tierart auf eine andere werden verlängerte Inkubationszeiten beobachtet, die sich bei mehrfachen Passagen innerhalb der gleichen Spezies verkürzen und schliesslich stabi-

lisieren. Dieses Phänomen wird als Speziesbarriere bezeichnet. Durch die Verwendung transgener Mäuse konnten wesentliche Aspekte der molekularen Grundlagen dieses Phänomens aufgeklärt werden. So führt das Einschleusen eines Hamster-PrP-Gens in eine Maus zur Anfälligkeit der Maus gegenüber Hamster-Prionen. In gleicher Weise wurde das menschliche PrP-Gen als Transgen in die Keimbahn der Maus eingeschleust. Wie zu erwarten war, sind diese transgenen Mäuse empfänglich für menschliche Prionen. Aus diesen Erkenntnissen kann geschlossen werden, dass die PrP-Struktur des Wirts für die Speziesbarriere verantwortlich ist. Entsprechend können gentechnologisch Mäuse erzeugt werden, die das PrP-Gen von Rindern tragen. Mit Hilfe dieser Mäuse sollen die Eigenschaften von Rinder-Prionen untersucht werden, um z.B. einen Test für BSE zu entwickeln.

Die Rolle von PrP bei Prion-Erkrankungen

Um die Rolle des Prion-Proteins bei TSE genauer zu untersuchen, hat die Arbeitsgruppe von Charles Weissmann das Prion-Protein Gen der Maus inaktiviert. Die daraus gezüchteten PrP-losen Mäuse (*Prnp^{0/0}*) können kein Prion-Protein mehr herstellen. Überraschenderweise zeigen *Prnp^{0/0}* Mäuse keine Entwicklungsstörungen, haben eine normale Lebenserwartung und unterscheiden sich nicht von Wildtyp-Mäusen. Diese Mäuse eröffneten die Möglichkeit, die Prion-Hypothese zu überprüfen. Ein Organismus, der kein PrP^C synthetisieren kann, sollte den Erreger nicht vermehren können und somit resistent gegenüber Prionen sein. In der Tat erwiesen sich die gentechnisch veränderten *Prnp^{0/0}* Mäuse als vollständig resistent gegen die Krankheit, und sie können keine Prionen vermehren. Aus diesen Ergebnissen ergeben sich möglicherweise Ansätze, wie Prionen-Erkrankungen mittels Gentechnologie zu kontrollieren sind.

PrP in der Pathogenese der TSE

Die molekularen Abläufe der Krankheitsentstehung der TSE sind bisher nur wenig verstanden. Allgemein wird angenommen, dass die aus

PrP^{Sc} bestehenden extrazellulären Ablagerungen auf Nervenzellen wesentlich für die krankhaften Veränderungen des Zentralnervensystems (ZNS) verantwortlich sind. Um die Mechanismen der Krankheitsentstehung zu analysieren, haben wir ein Transplantationssystem entwickelt. PrP^C-exprimierendes Hirngewebe von Mausembryonen wird dabei in das Hirn von *Prnp^{0/0}* Mäusen transplantiert (Abb. 2).

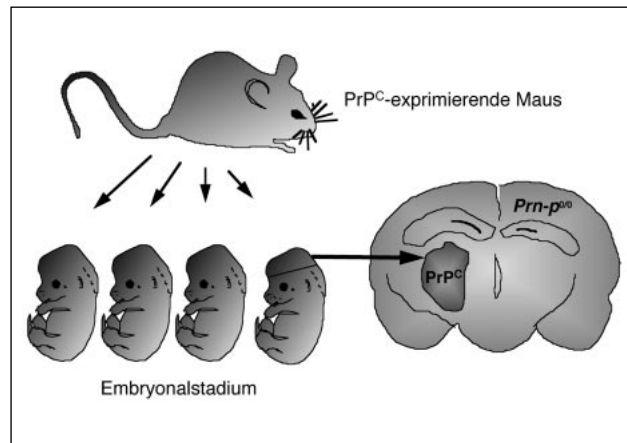


Abbildung 2: Transplantation neuralen Gewebes in erwachsene Empfängermäuse

Nach intrazerebraler Inokulation solcher Tiere mit Prionen kommt es zu einer starken Akkumulation von PrP^{Sc} und von Prionen in den zerebralen PrP-haltigen Transplantaten und zu einer Freisetzung von PrP^{Sc} in das umgebende Hirngewebe. Weiter zeigen die Transplantate die typischen TSE-assoziierten Veränderungen wie Nervenzellverlust und astrozytäre Gliose. Erstaunlicherweise lassen sich bis 16 Monate nach der Infektion im benachbarten Hirngewebe der PrP-losen Maus (*Prnp^{0/0}*), selbst in unmittelbarer Nachbarschaft zum Transplantat (welches viel PrP^{Sc} enthält), keine pathologischen Veränderungen nachweisen. Daraus schliessen wir, dass PrP^{Sc} nur toxisch für Zellen ist, die PrP^C exprimieren.

Prionenvermehrung im lymphatischen System und im Zentralnervensystem (ZNS)

In den meisten Fällen führt die Prioneninokulation zunächst zu einer Vermehrung des Erregers im lymphatischen System (z.B. in der Milz), die weder klinische noch pathologische Auswir-

kungen hat. In einer zweiten Phase folgt die Prioninvasion in das Zentralnervensystem (ZNS).

Obwohl die intrazerebrale Verabreichung von Prionen die effizienteste Infektionsroute darstellt, spielt für die natürliche Übertragung die äussere (periphere) Verabreichung eine weit wichtigere Rolle. So wird angenommen, dass der Übertragungsweg sowohl der BSE als auch der vCJK den Magen-Darmtrakt miteinschliesst. Prionenkrankheiten manifestieren sich primär als ZNS-Erkrankungen, und die höchsten Konzentrationen des Erregers sind im Hirn nachweisbar. Daher muss die Prioneninvasion von der Peripherie zum ZNS eine zentrale Bedeutung haben.

Unsere Arbeitsgruppe hat sich zum Ziel gesetzt, die einzelnen Stadien des Prionentransports von der Peripherie ins ZNS genauer zu untersuchen. Dafür haben wir wiederum PrP-exprimierendes, embryonales Hirngewebe in das Hirn von *Prnp^{0/0}* Empfängertieren transplantiert.

Anders als bei der intrazerebralen Infektion mit Prionen konnten wir nach intraperitonealer oder intravenöser Verabreichung von Prionen keine Krankheit im Transplantat erkennen und keine Prionen in der Milz nachweisen (Abb. 3). Wildtyp-Mäuse hingegen akkumulieren schon kurz nach der Infektion, unabhängig von der Verabreichungsrouten, eine signifikante Menge von Prionen im lymphatischen System.

In einem weiteren Experiment haben wir haematopoetische Vorläuferzellen, die PrP^C-exprimieren, in *Prnp^{0/0}* Mäuse transferiert und beobachtet, dass nach Inokulation mit Prionen eine Wiederherstellung der Prionenvermehrung in der Milz stattfindet. Überraschenderweise zeigen Mäuse, die zusätzlich zur Knochenmarkstransplantation ein intrazerebrales Transplantat tragen, hohe Mengen von Prionen in der Milz, aber keine Anzeichen einer Infektion des Transplantats im Gehirn (Abb.3). Wir schliessen daraus, dass es für den Transport von Prionen von der Milz in das Nervensystem eines PrP-exprimierenden Gewebes bedarf. Indirekte Befunde lassen vermuten, dass das periphere Nervensystem eine wichtige Rolle für die Ausbreitung von Prionen von der Peripherie ins ZNS spielt.

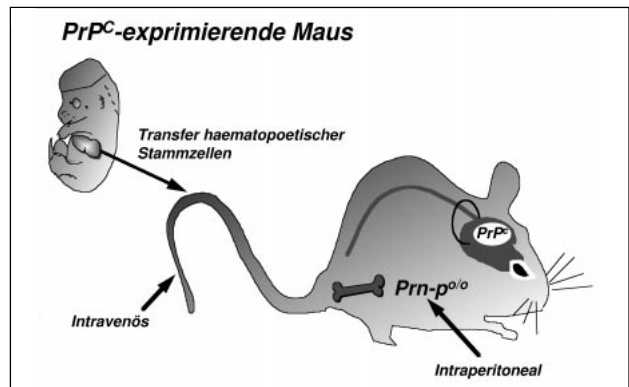


Abbildung 3: Intravenöse oder intraperitoneale Verabreichung von Prionen in PrP-lose Mäuse führte nicht zu einer Vermehrung von Prionen in der Milz und nicht zur Erkrankung eines PrP^C-exprimierenden Transplantats im ZNS. Ein Austausch des lymphatischen Systems mit haematopoetischen Vorläuferzellen, die PrP^C exprimieren, führt dagegen zur Prionenvermehrung in der Milz in PrP-losen Mäusen.

Um die Bedeutung des lymphatischen Systems detaillierter zu analysieren, wurden in einer weiteren Studie verschiedene genetisch veränderte Mäuse untersucht, denen jeweils genau definierte Bestandteile des Immunsystems fehlen. Nach Infektion dieser immundefizienten Mäuse mit Prionen liess sich feststellen, dass von den verschiedenen Truppen des Immunsystems eine Gattung unabdingbar war, um die tödlichen Prionen ins Nervensystem zu schleusen, nämlich die B-Lymphozyten. Dieser Typ weisser Blutzellen sorgt für eine Koordination der Immunabwehr und für deren «Gedächtnis»; er hilft, bereits einmal besiegte Erreger wiederzuerkennen (Abb 4.).

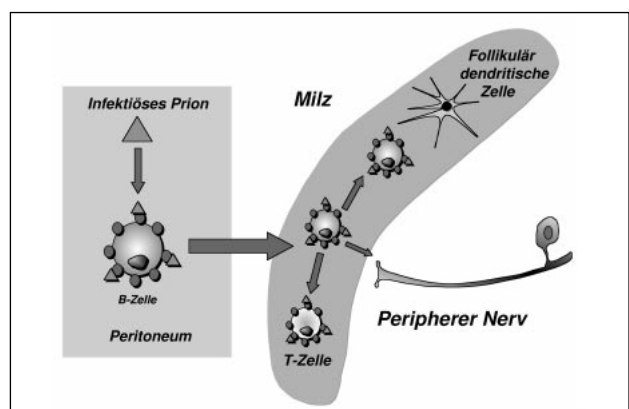


Abbildung 4: Modellvorstellung für die Ausbreitung von Prionen im Organismus. Nach peripherer Infektion mit Prionen ins Peritoneum (Bauchhöhle) spielen B-Zellen direkt oder indirekt über Interaktion mit anderen Zelltypen eine wichtige Rolle.

Die Beteiligung der B-Lymphozyten am Infektionsweg kann nur eine Teiletappe auf dem Weg der Prionen in das Gehirn darstellen: Diese Zellen gelangen normalerweise nicht ins Hirn, daran hindert sie die sogenannte Blut-Hirn-Schranke. Möglicherweise laden die B-Lymphozyten die zerstörerischen Prionen im äusseren (peripheren) Nervensystem ab. Von dort wandern die krankheitserregenden Partikel schliesslich ins Hirn und Rückenmark. Sowohl Hirn als auch Rückenmark und periphere Nerven gelten als infektiös.

Mit Hilfe der gentechnisch veränderten Mäuse haben wir wichtige Erkenntnisse sowohl über die Bedeutung des Prion-Proteins als auch für die Verbreitung von Prionen bei übertragbaren spongiformen Enzephalopathien gewinnen können. In zukünftigen Projekten werden wir die Transportmechanismen für Prionen weiter analysieren und therapeutische Ansätze evaluieren, um eine Ausbreitung im Organismus zu verhindern.

Verantwortlich für die Redaktion dieses Beitrages:

Prof. Dr. Adriano Aguzzi
Institut für Neuropathologie,
Universitätsspital Zürich,
Schmelzbergstrasse 12, 8091 Zürich
Tel. 01 255 21 07, Fax 01 255 44 02

Nachdruck mit Quellenangabe gestattet.