

# EUROBRAIN D

## *Prion und Rinderwahnsinn*

- 1,5–6 DIE PANISCHE ANGST VOR „RINDERWAHNSINN“ WEITET SICH AUS – WAS IST ZU TUN?**
- 2–4 ANTIKÖRPER GEGEN PRIONEN: EINE STRATEGIE GEGEN DIE CREUTZFELDT-JAKOB-KRANKHEIT UND DEN RINDERWAHNSINN?**

### **DIE PANISCHE ANGST VOR „RINDERWAHNSINN“ WEITET SICH AUS – WAS IST ZU TUN?**

Die Angst vor Rinderwahnsinn hat Auswirkungen auf die gesamte Nahrungsmittelkette des Menschen. Kürzlich, als in Frankreich, Deutschland, Italien und Spanien über Fälle dieser, offiziell unter dem Namen bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) bekannten, so gefürchteten Krankheit berichtet wurde, begannen die europäischen Konsumenten und Konsumentinnen Rindfleisch zu meiden. Mit der Abnahme der Verkäufe in Europa sanken auch die Aktienpreise von McDonald's. Das Pariser Restaurant L'Arpège, ein Juwel der französischen Küche, kündigte an, es werde auf vegetarische Kost umstellen. Und auch die amerikanische Gesundheitsbehörde verlangt nun, dass strengere Massnahmen getroffen werden, um einen Ausbruch der Krankheit in den USA zu verhindern.

Eigentlich ist gar nicht BSE selbst so besorgniserregend, sondern vielmehr dessen menschliche Form, eine Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD). Mit

bisher 125 gemeldeten Fällen gehört vCJD zwar zu den seltensten Erkrankungen des Menschen, doch wird sie offenbar durch einen heimtückischen Erreger, ein sogenanntes Prion, verursacht, das überaus schwer aufzuspüren ist, dem kochen und sterilisieren nichts anhaben können und das seine Opfer zu einem schrecklichen Tod verurteilt.

Als Wissenschaftler in Grossbritannien Mitte der 90er Jahre bei jungen Leuten – einige von ihnen waren noch Teenager – Symptome der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (einer Krankheit die normalerweise ältere Erwachsene befällt) feststellten, realisierten sie, dass sie es mit einer neuen Krankheit zu tun hatten. Der Verfall der Betroffenen dauert ungefähr ein Jahr; er führt über Tremor und Agitationen, die sich zu Psychosen steigern, den Verlust der Körperkontrolle, Blindheit, Inkontinenz und Demenz zum Tod. Bei der Autopsie zeigt sich, dass das Gehirn mit abnormen „Plaques“, löchrigen, schwammartigen Gewebsstrukturen, übersät ist („spongiforme Enzephalopathie“ ist daher der Oberbegriff für Krankheiten diese Art). *Fortsetzung auf Seite 5*



The  
European  
Dana Alliance  
for the Brain

#### **CONTACT**

**Béatrice Roth, PhD**  
Institut de Physiologie  
7, rue du Bugnon  
CH-1005 Lausanne  
Schweiz  
Tel./Fax: +41 21 692 55 25  
dana1997@iphysio.unil.ch  
www.unil.ch/edab

**Elaine Snell**  
Vicarage House  
58-60 Kensington Church Street  
London W8 4DB, UK  
Tel.: +44 207 937 7713  
Fax: +44 207 937 4314  
edab@which.net  
www.edab.net

The European Dana Alliance for the Brain is an alliance of 120 eminent scientists that promotes the importance of brain research.

# Antikörper gegen Prionen Eine Strategie gegen die Krankheit und den Rind

Durch eine humorale Immunreaktion könnte eine Prionen-Erkrankung *in vivo* verhindert werden. Dies deutet darauf hin, dass eine immuntherapeutische Intervention gegen Prionen-Erkrankungen kein unerreichbares Ziel darstellt. Wird es jemals brauchbare Impfstoffe und auf Antikörpern basierende Postexpositions-Verfahren gegen die Scrapie, die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) oder die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit geben?

Gegen Infektionen, die durch Viren und gewisse Bakterien ausgelöst werden, sind Impfstoffe oft sehr wirksam: Im Laufe ihres Lebens, von der Geburt bis ins Erwachsenenalter, werden Menschen gegen zahlreiche Krankheiten – von Masern bis hin zu Starrkrampf – geimpft. Auch Haustiere werden durch Immunisierung vor Infektionen geschützt. Lange Zeit gab es jedoch kaum Hinweise, dass auch Prionen durch Immunisierungs-Verfahren bekämpft werden könnten.

In jüngster Zeit befasst sich eine Vielzahl von *in vivo*- und *in vitro*-Untersuchungen mit dem Einfluss von Antikörpern auf die Vermehrung und Ausbreitung von Prionen. Enari und Weissmann berichteten, dass die kombinierte Verabreichung von infektiösen Prionen und einem monoklonalen PrP<sup>C</sup>-Antikörper die Bildung von PrP<sup>Sc</sup> *in vitro* verhindern konnte. Nur Wochen später bestätigten Peretz und seine Mitarbeiter diese Resultate mit einer andersartigen Untersuchung, bei der Fragmente von Antikörpern gegen spezifische Domänen des PrP<sup>C</sup> gerichtet wurden. Dieses Verfahren erlaubte eine Abklärung jener spezifischer

Regionen des Prionproteins, die möglicherweise therapeutische Ziele darstellen.

Unser Laboratorium ging der Frage nach, ob das Immunsystem der Säugetiere in der Lage ist, eine protektive humorale Immunreaktion gegen Prionen zu bilden. Um dieses Ziel zu erreichen, haben wir transgene Mäuse hergestellt, deren klonale Zusammensetzung ihres Antikörper-Repertoires die Erkennung des normalen Prionprotein PrP<sup>C</sup> favorisierte. Wir stellten fest, dass eine intraperitoneale Verabreichung von Prionen einen Schutz vor Scrapie (einer Spielart der Traberkrankheit) bewirkte. Die gleichzeitige Expression von anti-PrP-Antikörpern und PrP<sup>C</sup> in physiologischen Konzentrationen rief keinerlei Anzeichen einer Autoimmunkrankheit hervor – im Hinblick auf die Möglichkeit einer Impfung gegen Prionen sicher ein bedeutsamer Befund.

Es gelang uns, das Problem der fehlenden Reaktion des Immunsystems auf das überall exprimierte Selbst-Antigen PrP<sup>C</sup>, welche höchstwahrscheinlich auf einer Immuntoleranz gegen das körpereigene PrP<sup>C</sup> beruht, zu umgehen. Da B-Zellen gegen PrP nicht von sich aus tolerant zu sein scheinen, ist es vermutlich die Toleranz der T-Helferzellen, die die Prionen-Immunität von Wildtyp-Mäusen hemmt. Es wird interessant sein herauszufinden, ob sich die Toleranz gegen PrP<sup>C</sup> vielleicht überwinden lässt, wenn dem Immunsystem PrP<sup>C</sup> im Kontext geeigneter Adjuvantien präsentiert wird.

Eine Untersuchung von Souan und seinen Mitarbeitenden schliesslich unterstützt die



Adriano Aguzzi

# n: Creutzfeldt-Jakob- erwahnsinn?

Idee, prionostatische Immunreaktionen zu induzieren: Die Immunisierung von Wildtyp-Mäusen mit Prionproteinpeptiden induzierte anti-PrP-Titer und schien die Bildung von PrP<sup>Sc</sup> zu herabzusetzen.

Was die Struktur anbelangt, scheinen die meisten der erwähnten Untersuchungen die Region um die Kodons 132-156 des Prionproteins als für die Prionreplikation entscheidende Zielstrukturen zu identifizieren. Somit dürften künftige Untersuchungen diese Region als ein vielversprechendes Ziel für die Entwicklung therapeutischer Strategien in Betracht ziehen.

## MECHANISMEN EINER DURCH ANTIKÖRPER VERMITTELTEN PRIONEN-PRÄVENTION?

Welcher Mechanismus ist dafür verantwortlich, dass Antikörper die Vermehrung und Verbreitung von Prionen verhindern? Im Zusammenhang mit der „ausschliesslich Eiweiss“ (*protein-only*) Hypothese lassen sich mindestens drei Szenarien vorstellen, um zu erklären, was in kultivierten Zellen geschieht, während noch ein zusätzliches Phänomen bei lebenden Tieren auftreten kann (Fig. 1): Erstens ist es möglich, dass anti-PrP-Antikörper körpereigenes PrP<sup>C</sup>, das durch einen Glycosylphosphatidylinositol-Anker mit der Membran verbunden ist, binden. Als Folge davon würden anti-PrP-Antikörper PrP<sup>C</sup> abdecken und die Vermehrung der Prionen dadurch verhindern, dass das normale zelluläre Prionprotein PrP<sup>C</sup>, das für die Umwandlung in PrP<sup>Sc</sup> notwendige Substrat darstellt, nicht mehr zur Verfügung steht. Als weitere Möglichkeit ist denkbar, dass anti-

PrP-Antikörper direkt auf PrP<sup>Sc</sup> einwirken und so die Wechselwirkung von PrP<sup>C</sup> und PrP<sup>Sc</sup> verhindern. Drittens könnte der Antikörper eine Neuverteilung des normalen Prionproteins auf der Ebene der subzellulären Kompartimente bewirken. Im Falle von anti-PrP transgenen Mäusen wissen wir, dass sich die Gesamtmenge des zellulären PrP<sup>C</sup> nicht von jener der genetisch nicht veränderten Geschwister unterscheidet. Dies schliesst aber nicht aus, dass PrP<sup>C</sup> unter Umständen von der Zelloberfläche „abgezogen“ wird und deshalb für die Entstehung der Krankheit nicht zur Verfügung steht.

Schliesslich könnte in den *in vivo*-Experimenten mit anti-PrP transgenen Mäusen ein vierter Mechanismus eine Rolle spielen, nämlich dass Membran-gebundenen anti-PrP Immunglobuline von B-Zellen eine entscheidende Rolle spielen. Follikuläre dendritische Zellen (FDZ), die sich im Stroma der lymphoretikulären Organe befinden, sind für die periphere Prionen-Erkrankung entscheidend. Da FDZs mit B-Zellen einen engen Kontakt haben, könnten die Membran-gebundenen PrP-Antikörper (z.B. B-Zell-Antigen-Rezeptoren) mit der Prionreplikation auf den follikulären dendritischen Zellen interferieren.

## AUSBLICK

Noch vor wenigen Jahren ging man davon aus, Prionen-Erkrankungen seien einer Behandlung überhaupt nicht zugänglich. Streng genommen hat sich an dieser pessimistischen Sicht nichts geändert: Bisher war es noch nie möglich einen von einer Prionen-Erkrankung betroffenen Patienten

oder ein Tier erfolgreich zu behandeln. In der jüngsten Vergangenheit haben jedoch aufsehenerregende Entwicklungen verschiedene vielversprechende Ansätze aufgezeigt, die zu erfolgreichen Interventionen gegen Prionen-Erkrankungen führen könnten. Andererseits sind alle hier diskutierten Verfahren offensichtlich noch im Frühstadium: Die meisten bisher untersuchten Strategien funktionieren nur an kultivierten

## GLOSSAR

Prionen-Erkrankungen, zu denen BSE bei Rindern und die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit beim Menschen gehören, bilden eine Gruppe der degenerativen Erkrankungen des Nervensystems. Ein wesentliches Merkmal der Prionen-Erkrankungen besteht in der Anhäufung eines Eiweisses, dem sogenannten PrP<sup>Sc</sup> im Zentralnervensystem und, im Falle der neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, im lymphoretikulären System. PrP<sup>Sc</sup> ist eine veränderte Form eines normalen zellulären Proteins, das als PrP<sup>C</sup> bezeichnet wird und im Gehirn vor allem an der Oberfläche von Nervenzellen vorkommt. Die „ausschliesslich Protein“ (*protein-only*) Hypothese besagt, dass zur Krankheit gehörende Prionprotein PrP<sup>Sc</sup> der Erreger von Prionen-Erkrankungen ist und sich vermehrt, indem es das normale PrP<sup>C</sup> in das pathologische, mit der Krankheit assoziierte PrP<sup>Sc</sup> umwandelt.

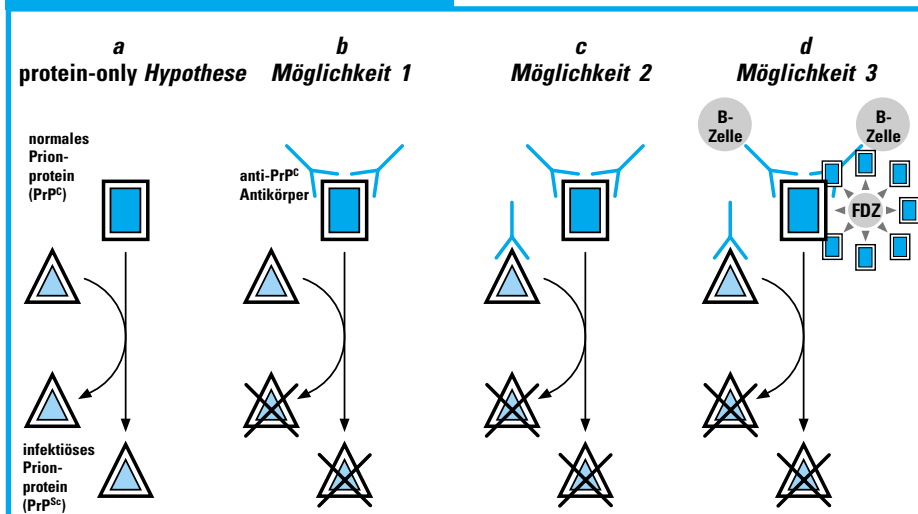
Zellen oder bei Tieren, die vor Prioneninjektion bereits anti-PrP-Antikörper Titer zeigten. Die Bestrebung unseres Laboratoriums, eine Schutzwirkung durch Anti-Prionen-Immunität herbeizuführen, scheint zwar realistisch, ist aber immer noch sehr kompliziert. Dazu muss nämlich ein transgenes Immunglobulin eingeführt werden und um dies in der alltäglichen Praxis durchführen zu können, sind noch grosse Anstrengungen und ausgeklügelte Anpassungen nötig.

Die vielversprechendsten Verfahren betreffen ganz eindeutig die Prä- und Postexpositionsprophylaxe, denn sobald Prionen-Erkrankungen klinisch manifest werden, ist die Schädigung des Gehirns typischerweise bereits ausgeprägt und eine Behandlung daher aller Wahrscheinlichkeit nach unwirksam. Gleichzeitig mit der Entwicklung von

Anti-Prionen-Verfahren müssen unbedingt auch empfindliche diagnostische Tests entwickelt werden, um Risikopersonen identifizieren zu können. Auch auf diesem Gebiet wurden kürzlich einige verblüffende Fortschritte gemacht. Sollte die Forschung auf den Gebieten der Prionen-Diagnostik und -Prophylaxe auch weiterhin so erfolgreich vorankommen, dürfte dies uns in die Lage versetzen, gegen die neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit vorgehen zu können – ein Ziel, das zwar immer noch in weiter Ferne liegt, heute aber weniger unerreichbar zu sein scheint als zuvor.

Adriano Aguzzi,  
Institut für Neuropathologie,  
Zürich, Schweiz

Fig. 1 – Der Vorgang der Prionen-Vermehrung und dessen Hemmung durch Antikörper.



a) Die „Vorlage bedingte Neufaltung“ (*template-directed refolding*) Version der *protein-only* Hypothese postuliert eine direkte Interaktion zwischen von aussen zugeführtem PrP<sup>Sc</sup> (Dreiecke) und körpereigenem PrP<sup>C</sup> (Quadrate). Heterodimerisierung führt zu einer pseudo-autokatalytischen Transformation von PrP<sup>C</sup> zu weiterem PrP<sup>Sc</sup>.

b) Eine mögliche Aktionsweise der löslichen anti-PrP-Antikörper könnte darin bestehen, dass sie ans körpereigene PrP<sup>C</sup> binden und es funktionell maskieren. Als Folge davon stünde PrP<sup>C</sup> nicht länger als Substrat zur Umwandlung in PrP<sup>Sc</sup> zur Verfügung, was die Replikation der Prionen hemmen würde. Eine mögliche Alternative wäre, dass Antikörper die subzelluläre Verteilung von PrP<sup>C</sup> verschieben und deren Verfügbarkeit auf der Zelloberfläche herabsetzen. Die Gesamtmenge an zelleigenem Prionprotein scheint jedenfalls bei anti-PrP transgenen Mäusen unverändert zu sein.

c) Möglicherweise ist die Interaktion zwischen löslichen PrP-Antikörpern und PrP<sup>C</sup> für deren schützende Funktion gar nicht relevant: Statt dessen könnten Antikörper direkt mit PrP<sup>Sc</sup> interferieren und auf diese Weise verhindern, dass neues PrP<sup>C</sup> rekrutiert wird. Diese Hypothese und die in Abbildung (b) beschriebene schliessen sich gegenseitig nicht aus.

d) Schliesslich ist auch denkbar, dass Membran-gebundene PrP-Antikörper (B-Zellen Antigen-Rezeptoren) auf der Oberfläche von B-Zellen direkt mit der Prionreplikation an den kritischen Stellen, etwa auf der Oberfläche von follikulären dendritischen Zellen (FDZ), interferieren.

## DIE PANISCHE ANGST VOR „RINDERWAHNSINN“ WEITET SICH AUS – WAS IST ZU TUN? [FORTSETZUNG VON SEITE 1]

Als Ursache wird heute ein Prion vermutet, ein infektiöser Erreger, der sich von allen anderen unterscheidet. Bei allen anderen infektiösen Erregern handelt es sich nämlich um lebende Organismen – Viren, Bakterien, Pilze, Protozoen – die DNA enthalten; das Prion enthält jedoch keine DNA. Es ist, wie jedes andere Protein ein durch ein Gen unserer DNA kodierte Protein. Welche Aufgabe es normalerweise erfüllt, ist noch nicht ganz klar. Mutationen im Prion-Gen können allerdings dazu führen, dass das Prion eine krankmachende Form annimmt und einen verheerenden Einfluss auszuüben beginnt.

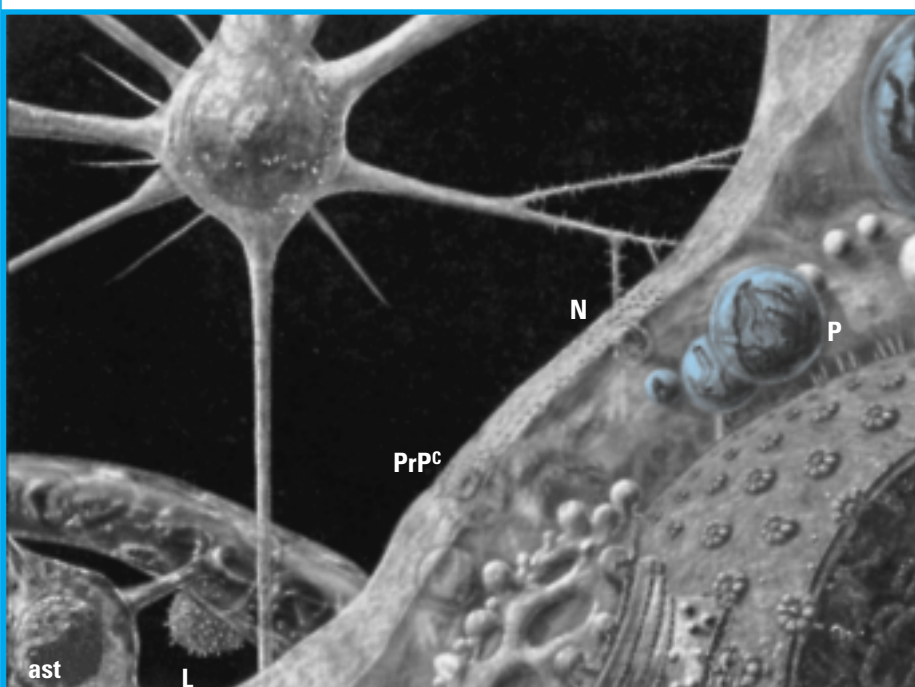
Das infektiöse Prion veranlasst normale Prionen dazu, sich in die bösartige Form zu verwandeln und zu jenen Plaques zu verklumpen, die im Gehirn der vCJD-Opfer gefunden werden. Man nimmt an, dass diese Verklumpungen Hirnzellen zerstören; wie dies geschieht, weiss man allerdings noch nicht. Es ist faszinierend, dass sich bei vielen anderen degenerativen Erkrankungen des Nervensystems, einschliesslich Alzheimer und Parkinson, Plaques finden, die aus anderen Proteinen bestehen.

Was die Verantwortlichen für das Gesundheitswesen besonders beunruhigt, ist die

Tatsache, dass bis zum Auftreten der ersten Fälle von vCJD im Jahre 1995 bereits Millionen Briten dem Erreger ausgesetzt waren, da sie im vorangegangenen Jahrzehnt, als britisches Vieh an BSE erkrankte, Rindfleischprodukte konsumiert hatten. Zwar konnte BSE durch das 1988 erlassene Verbot, Kadaver von Schafen und Rindern zu Viehfutter zu verarbeiten (der Weg, auf dem

sich die Krankheit vermutlich bei den Kühen verbreitet hat), unter Kontrolle gebracht werden, aber die Inkubationszeit dieser Krankheit beim Menschen ist noch unbekannt und könnte sich über Jahrzehnte erstrecken. Die Anzahl der neu gemeldeten Fälle ist von 3 im Jahre 1995 auf rund ein Dutzend pro Jahr angestiegen, aber niemand kann vorhersagen, ob diese Rate allmählich anwachsen und dann wieder abfallen, oder aber plötzlich explosionsartig emporschnellen wird.

Prionen lassen sich nicht leicht nachweisen und sind praktisch unzerstörbar. Bisher gibt es kein kostenwirksames Screeningverfahren, um zu prüfen, ob das infektiöse Prion vorhanden ist. Ausserdem sind übliche



**Abb. 1 – Darstellung der Vermehrung und Ausbreitung von Prionen auf der zellulären Ebene.** Der Nerv kommt bei „N“ mit dem normalen, gesunden Prion in Kontakt (im Diagramm „PrP<sup>C</sup>“). Über den Nerv gelangen die mutierten Prionen („P“) zu den gesunden Prionen und zwingen dann normale Proteine, ihre Form zu ändern. Der mögliche Mechanismus einer Prionenübertragung über den Blutkreislauf ist in der linken unteren Ecke der Abbildung dargestellt. Infizierte Lymphozyten („L“) treffen auf astrozyte Zellen („ast“), die die Bildung von abnormalen Prionen unterstützen.

Copyright Russell Kightley Media, rkm.com.au



Methoden, um Keime zu zerstören, etwa kochen bei hohen Temperaturen, eine Behandlung mit Desinfektionsmitteln, Bestrahlung usw. unwirksam.

Des Weiteren wird befürchtet, vCJD könnte sich über Blutspender, Organtransplantationen oder infizierte chirurgische Instrumente weiter ausbreiten. Dieses Risiko erscheint plausibel: Das Prionprotein lauert im lymphatischen Gewebe, einschliesslich der Mandeln, der Lymphknoten und der Milz sowie in den B Lymphozyten im Blut. Produkte aus den Blutspenden von drei Personen, die später an vCJD erkrankten, wurden in 11 Länder exportiert. Betroffen waren unter anderem 83'500 Dosen eines Impfstoffs gegen Kinderlähmung, der in den Jahren 1998 und 1999 irischen Säuglingen und Kindern verabreicht wurde.

Obwohl bisher noch kein Fall von vCJD auf eine Bluttransfusion zurückgeführt werden konnte, lassen heutzutage viele Länder, darunter auch die USA, keine Blutspenden von Personen zu, die längere Zeit in Gebieten mit BSE gelebt haben, einschliesslich Grossbritannien, Irland, Frankreich und Portugal. Natürlich sind solche Massnahmen ihrerseits eine Bedrohung für das Leben, da sie

zu einem Mangel an Blutprodukten und Organen für Transplantationen führen können.

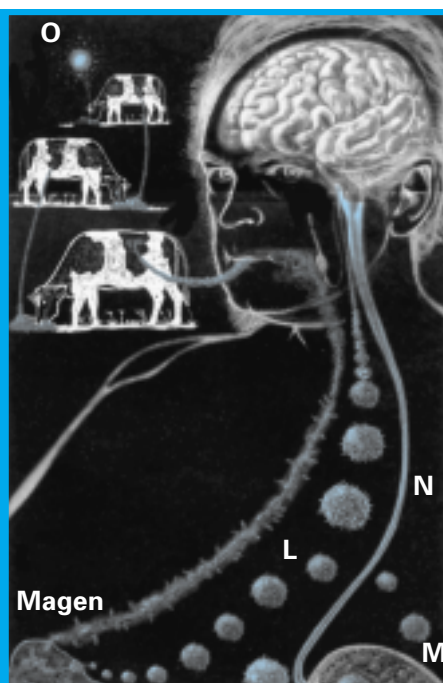
Zur Lösung dieses Problems sind weitere Forschungsarbeiten notwendig. Wir brauchen eine einfache, zuverlässige Methode, um bei Tieren und Menschen feststellen zu können, ob das infektiöse Prion vorhanden ist. Um Therapien zu entwickeln, ist es entscheidend, dass die Diagnose früh gestellt wird. Vor kurzem haben Forschende in der Schweiz einen Schnelltest entwickelt, bei dem ein Enzym das infektiöse Prion bindet, wobei ein spezifisches Fragment übrigbleibt, das leicht nachgewiesen werden kann (*Arch. Virol. Suppl.* 2000; (16): 189-95).

Mögliche Therapien scheinen noch in weiter Ferne, aber keineswegs unmöglich. Das Laboratorium von Stanley Prusiner, dem Entdecker des Prions, berichtete kürzlich, gewisse Verbindungen, die sogenannten verzweigten Polyamine, könnten die pathologischen Prione zumindest im Reagenzglas eliminieren. Möglicherweise werden solche Verbindungen zu einer wirkungsvollen Therapie führen.

Von **June Kinoshita**,  
aus Belmont MA, USA,  
Abgeändert, aus *Brain Work* Bd. 11 Nr. 3, 2001.

Abb. 2 – Dieses Diagramm stellt den möglichen Weg dar, auf dem BSE-Prionen von Kühen ins menschliche Gehirn gelangen. Das mutierte Prion („O“ im Diagramm) wird von Tier zu Tier übertragen (oft geschieht dies über Futtermittel, die infizierte Teile von anderen Kühen enthalten). Wenn der Mensch das infizierte Rindfleisch konsumiert, können sich die Prionen im lymphatischen Gewebe des Darms festmachen. Lymphozyten („L“) gelangen in die Milz („M“), wo sich die Prionen vermehren. Nerven („N“), die die Milz mit dem Gehirn verbinden, transportieren Prionen ins Gehirn. Ausserdem könnten an Lymphozyten gebundene Prionen gleichzeitig auch über den Blutkreislauf ins Gehirn gelangen.

Copyright Russell Kightley Media, rkm.com.au



Editorial Board:  
**Pierre J. Magistretti, Chairman,**  
**Colin Blakemore, Leslie Iversen,**  
**Wolf Singer, Piergiorgio Strata,**  
**Jacques Glowinski,**  
**Norbert Herschkowitz**  
Production Manager:  
**Béatrice Roth**  
Contributing Editor:  
**Elaine Snell**

A Dana Alliance for the Brain Inc  
Newsletter prepared by EDAB,  
the European subsidiary of DABI



The  
European  
Dana Alliance  
for the Brain

Chairman  
**William Safire**

Vice Chairmen  
**Colin Blakemore,**  
*PhD, ScD, FRS*  
**W. Maxwell Cowan,**  
*BM, BCh, DPhil, FRS*

Chief Executive  
**Colin Blakemore,**  
*PhD, ScD, FRS*

President  
**Edward F. Rover**

Executive Committee  
**Alain Berthoz, Dr ès Sci, Dr Ing**  
**Albert Gjedde, Dr Med**  
**Malgorzata Kossut, MSc, PhD**  
**Pierre J. Magistretti, MD, PhD**  
**Richard Morris, DPhil, FRSE, FRS**  
**Wolf Singer, MD, PhD**  
**Piergiorgio Strata, MD**

**Dana Alliance  
for Brain Initiatives (DABI) – US**

Executive Director  
**Barbara E. Gill**

European Dana Alliance for the Brain Limited  
Registered Office: 165 Queen Victoria Street,  
London EC4V 4DD  
Registered in England: 3532108