

Die Influenza – Thema mit Variationen

Neue Pandemien sind jederzeit möglich

Von Christoph Scholtissek

In diesem Jahrhundert sind alle großen Influenzaepidemien und Pandemien – soweit man das verfolgen konnte – vom südostasiatischen Raum aus gestartet, einschließlich der sogenannten „Spanischen Grippe“, an der im Winter 1918/19 weltweit etwa 20 Millionen Menschen aller Altersstufen starben. Obwohl vieles über den Verursacher der Grippe, das Influenzavirus, das jedes Jahr nicht nur für enorme Arbeitsausfälle, sondern auch für viele Todesfälle verantwortlich ist, inzwischen bekannt ist, haben wir die Influenza, eine der letzten großen Seuchen noch nicht im Griff, und eine Pandemie wie im Winter 1918/19 mit ihrer verheerenden Wirkung kann theoretisch jedes Jahr wieder auftauchen.

Eine Impfung gegen Influenza ist prinzipiell möglich. Oft ist eine solche Impfung jedoch wenig oder überhaupt nicht wirksam. Das liegt daran, daß das genetische Material der Influenzaviren aus Ribonucleinsäure (RNA) und nicht aus Desoxyribonucleinsäure (DNA) wie bei Tieren, Menschen, Bakterien etc., besteht.

Dadurch benehmen sich die Influenzaviren wie Chamäleons, weil sich wegen der 10 000 bis 100 000fach höheren Mutationsrate bei der RNA-Synthese in relativ hoher Ausbeute Virusvarianten bilden, die eine veränderte Oberfläche haben, gegen die in der menschlichen Population keine oder nur sehr schlecht rea-

gierende Antikörper vorhanden sind. In jedem Frühjahr, wenn die Grippefälle abflauen, setzen sich die „Influenza-Weisen“ bei der Weltgesundheitsbehörde in Genf zusammen und beraten, welcher Stamm die höchste Wahrscheinlichkeit hat, im kommenden Winter wieder aufzutreten oder welchem Stamm das zu erwartende neue Virus am ehesten verwandt sein könnte. Der so ausgewählte Stamm wird weltweit an die Impfstoffhersteller versandt. Die Trefferquote ist vergleichbar der Wettervorhersage und kann entsprechend weiterer Forschungsergebnisse verbessert werden.

Antigendrift und Antigenshift

Neben dieser stufenweisen Veränderung der Virusoberfläche durch Mutation, die wir als Antigendrift bezeichnen, gibt es noch den abrupten totalen Austausch der Virushülle, der Antigenshift genannt wird und völlig unvorhersehbar ist. Diese besondere Eigenschaft beruht auf der Tatsache, daß bei den Influenzaviren – im Gegensatz zu den meisten anderen Viren – das Genom nicht aus einem einzigen, durchgehenden Faden besteht, sondern daß es segmentiert ist. Das Influenzagenom besteht aus acht RNA-Segmenten (= Genen) im Inneren des runden Partikels – zwei davon sind in Abb. 1 gezeigt – die in das Nucleoprotein (NP) eingewickelt sind. Dieser Komplex, zu dem noch drei verschiedene RNA-Polymerase-Proteine (P) gehören, wird von einer Lipidhülle umgeben, die innen mit dem Matrix (M)-Protein ausgekleidet ist. Nach außen ragen die beiden Glycoproteine Neuraminidase (NA) und Haemagglutinin (HA), wobei das HA die Hauptkomponente ist, gegen die neutralisierende Antikörper gerichtet sind. Wenn jetzt eine Zelle oder ein Organismus mit zwei verschiedenen Influenzaviren vom gleichen Typ infiziert werden, können die 16 RNA-Segmente neu kombiniert werden, so daß wir theoretisch $2^8 - 2 = 254$ Neukombinationen mit jeweils unterschiedlichen Eigenschaften erwarten können (Abb. 2). Wir wissen heute, daß die Natur von diesem Reassortment Gebrauch macht.

Influenzaviren vom Typ A gibt es nicht nur beim Menschen, sondern auch bei einer ganzen Reihe von Tieren. Ein riesengroßes Reservoir findet sich z. B. bei Wasservögeln, vornehmlich bei Wildenten, bei denen diese

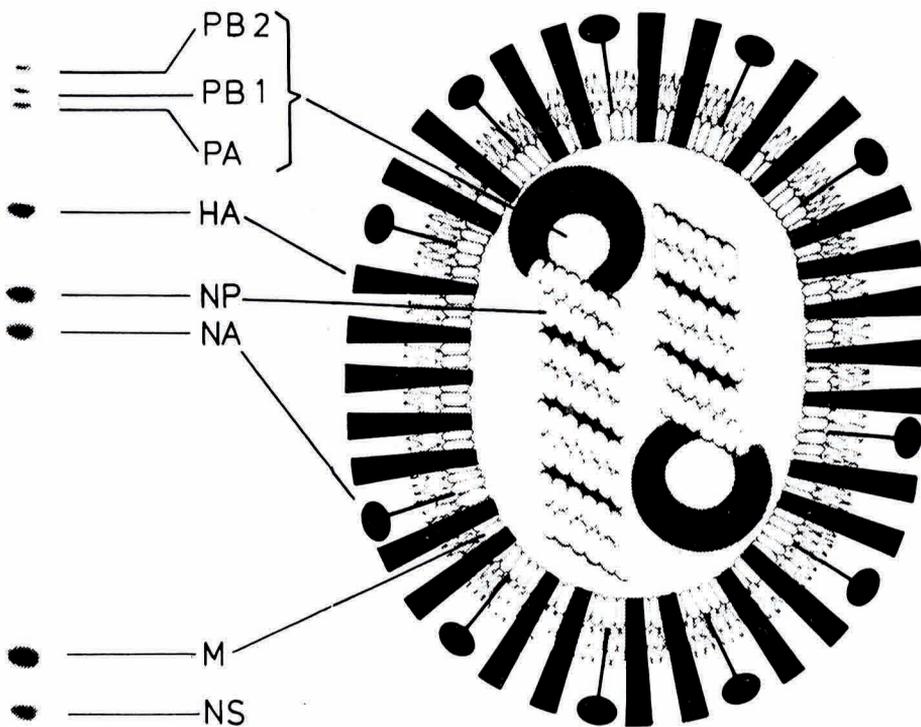


Abb. 1: Struktur und Strukturelemente eines Influenza A-Virus (rechts) und Zuordnung der Genprodukte (Proteine) (Mitte) zu den durch Polyacrylamidgel-Elektrophorese getrennten viralen RNA-Segmenten (Genen) (links). Im Inneren des Virus befindet sich der Polymerase-Komplex, der aus den drei Polymerase-Proteinen PB2, PB1, PA und dem Nucleoprotein NP und der viralen RNA besteht (nur zwei von den acht Genkomplexen sind hier gezeigt). Die Lipid-Doppelschicht ist innen mit dem Matrix (M)-Protein ausgekleidet. Eingelagert und nach außen ragend sind die beiden Glycoproteine Hämagglutinin (HA) und Neuraminidase (NA). Das kleinste RNA-Segment enthält die Information für zwei Nichtstrukturproteine (NS).

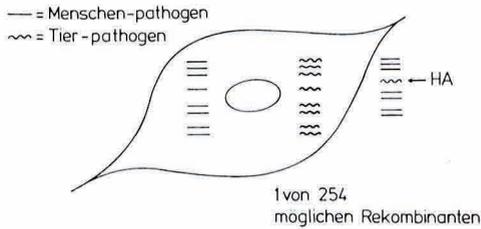


Abb. 2: Schema zur Erklärung der Entstehung eines neuen pandemischen Influenza A-Stammes (Antigenshift). Eine Zelle wird gleichzeitig von einem tierpathogenen (z. B. Vogel) und dem zur Zeit vorherrschenden humanpathogenen Stamm infiziert. Eine der 254 möglichen Neukombinationen hätte die rechts im Bild angegebene Genkonstellation, bei der nur das HA-Gen vom tierpathogenen Stamm herrührt, die anderen Gene vom humanpathogenen Virus übernommen wurden.

Influenzaviren keinerlei Symptome auslösen. Wir konnten zeigen, daß der sogenannte Hongkong-Stamm, der 1968 die große Pandemie ausgelöst hat, eine solche Reassortante darstellt: Sieben RNA-Segmente wurden von dem zu dieser Zeit in der menschlichen Population kursierenden Influenzavirus übernommen, während ausgerechnet und einzig das Gen für das HA von einem Entenvirus stammte (siehe Abb. 2), so daß diese plötzliche Neukreation sich sofort weltweit ausbreiten konnte, da in der menschlichen Population gegen die völlig neue Oberflächenkomponente keine Antikörper vorhanden waren. Wie gesagt, Viren mit einem nicht segmentierten Genom – und das sind die meisten Viren – können dieses Kunststück nicht vollbringen.

Entwicklungsgeschichte der Influenzaviren

Influenzaviren von Vögeln breiten sich nicht in der menschlichen Population aus, und umgekehrt findet man keine humanen Influenzaviren bei Vögeln. Daraus ergeben sich zwei wichtige Fragen:

- 1) Welche virale Komponente ist für diese „Spezies“-Spezifität verantwortlich?
- 2) Wo findet dieses Mischen der Gene beim Antigenshift statt? D. h. welches Tier ist tolerant gegenüber der Infektion mit einem aviären als auch einem humanen Influenza A-Virus, damit die Wahrscheinlichkeit einer Doppelinfektion zur Entstehung neuer pandemischer Stämme hoch genug ist. Dieser Shift findet immerhin alle zehn bis 20 Jahre statt.

Die erste Frage konnten wir durch ein genetisches Experiment beantworten. Durch Tricks sind wir in der Lage, die Gene – einzeln oder in Kombination – des aviären KP-Virus (Klas-

sische Geflügelpest) gegen entsprechende Gene des oben genannten menschlichen Hongkongvirus auszutauschen. Wenn wir das NP-Gen des KP-Virus austauschen – und bei Einzel-Gen austauschen nur dann – vermehrt sich dieses Virus nicht mehr nennenswert in Hühnern und erzeugt keine Symptome. Diese neue Virus-Rekombinante vermehrt sich jetzt allerdings auf Hundenierzellen. Das heißt, daß wir damit nicht nur eine potentielle Lebendvakzine für Hühner konstruiert haben, sondern daß wir damit den Beweis liefern

konnten, daß das NP für die Speziespezifität eine Hauptrolle spielt.

Zur Beantwortung der zweiten Frage haben wir mit Hilfe von gentechnologischen Methoden die Aminosäuresequenzen der Nucleoproteine einer Vielzahl unterschiedlicher Influenza A-Viren erstellt, die von verschiedenen Spezies zu unterschiedlichen Zeiten in verschiedenen Erdteilen isoliert wurden. Mit Hilfe eines komplizierten Computerprogramms konnte die genetische Verwand-

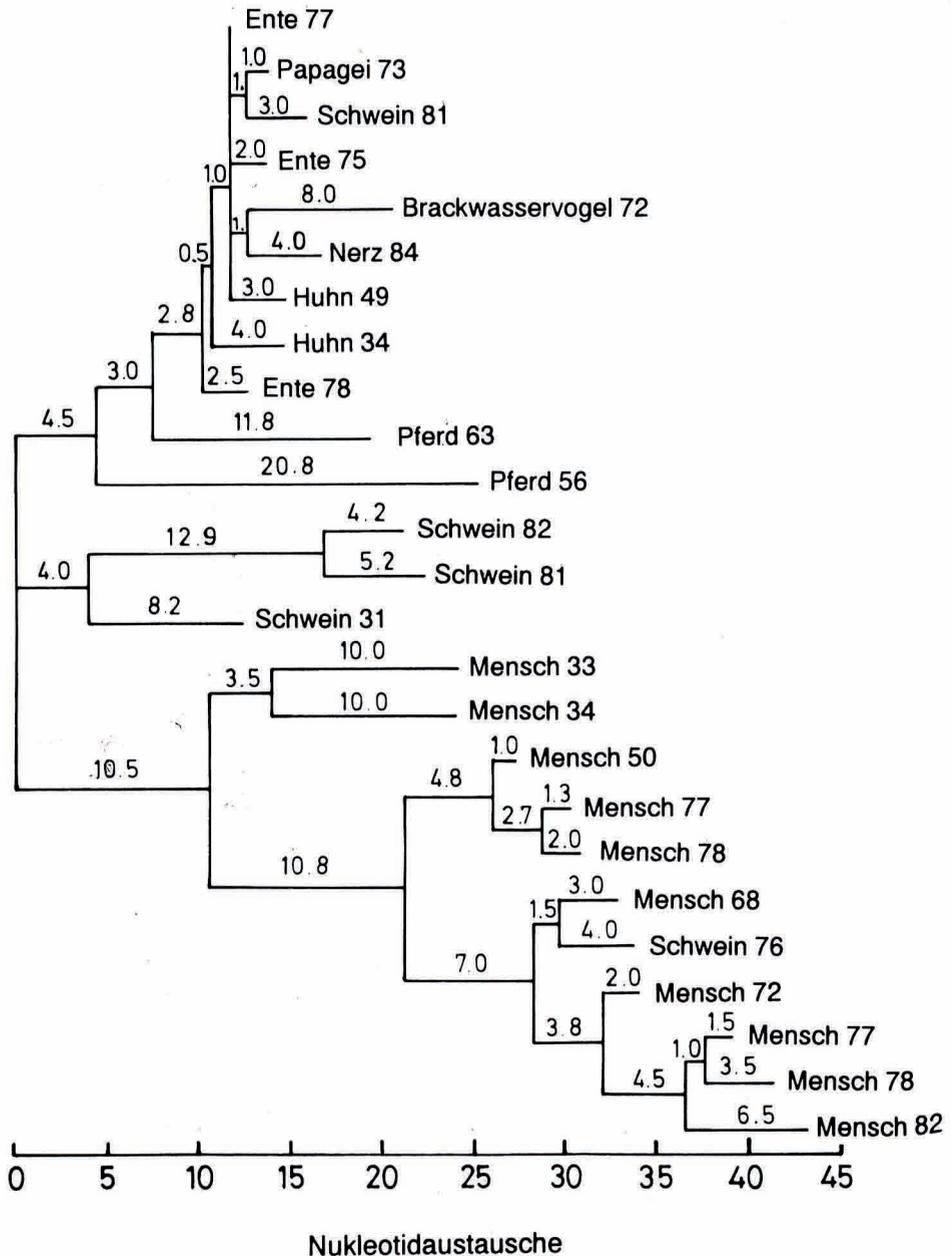


Abb. 3: Phylogenetischer Stammbaum von Nucleoproteinen von 25 Influenza A-Viren, die von verschiedenen Spezies zu verschiedenen Zeiten in verschiedenen Gegenden isoliert wurden. Der Stammbaum wurde nach dem „Prinzip der größten Sparsamkeit“ mittels eines komplizierten Computerprogramms erstellt. Die Ziffern neben den Spezies bedeuten das Jahr der Virus-Isolation. Die Ziffern entlang der Stammbaumlinien geben die jeweiligen Differenzen in der Zahl derjenigen Nucleotid-Austausche wieder, die zu Aminosäure-Austauschen führen.

schaft eines jeden NPs zu jedem anderen festgestellt werden. Ein solcher Stammbaum ist für 25 NPs in Abb. 3 gezeigt. Dabei wurden nur solche Nucleotidaustausche bei der Berechnung berücksichtigt, die auch tatsächlich zu Aminosäureaustauschen führen. Die Interpretation dieses Stammbaumes führte zu einigen Überraschungen:

1) Es gibt zwei Hauptzweige: Der eine beinhaltet alle menschlichen Stämme, der andere alle aviären Stämme.

2) Die Stämme, die von anderen Säugetieren – mit Ausnahme des Schweines – isoliert wurden, sind eng verwandt mit den aviären Influenza A-Viren.

3) Schweineisolate – und nur solche von Schweinen – werden sowohl im menschlichen Zweig als auch im aviären Zweig gefunden bzw. bilden eine eigene Linie, die sogenannten klassischen Schweineviren, deren Verbreitung von den USA ausgeht. Diese Beobachtung ist ein klarer Hinweis darauf, daß Schweine tolerant sind sowohl gegenüber der Infektion mit menschlichen als auch aviären Influenza A-Viren und damit das „Mischgefäß“ für die Doppelinfektion zur Entstehung der neuen pandemischen Stämme darstellen.

4) Die Vogelvirus-NPs ändern sich nur unwesentlich mit der Zeit und sind optimiert. Das Entenvirus von 1977 (ganz oben in Abb. 3) stellt das Prototyp-Virus dar, von dem sich sogar das NP eines bereits 1949 isolierten Hühnervirus ableitet. Dagegen verändern sich die menschlichen Influenzaviren streng mit der Zeit und unterliegen somit einem starken Selektionsdruck. Allerdings gibt es eine Ausnahme: Wir haben mit unseren genetischen Methoden festgestellt, daß ein 1977 plötzlich in Ostsibirien auftauchendes menschliches Virus in allen Genen fast identisch war mit einem bereits 1950 vorhandenen Virus, so daß 1977 von diesem ungewöhnlichen Subtyp nur junge Menschen infiziert wurden, die nach 1950 geboren waren. Es ist bis heute ein absolutes Rätsel, wo das Virus von 1950 geblieben

war, um nach 27 Jahren plötzlich wieder in der menschlichen Population aufzutauchen.

Wir haben Grund zu der Annahme, daß dieser Selektionsdruck durch die T-Zell- und nicht durch die humorale Immunabwehr der B-Zellen hervorgerufen wird, da das NP, im Inneren des Virus, den im Blut zirkulierenden neutralisierenden Antikörpern nicht zugänglich ist. Aus verschiedenen Gründen scheint dieser Selektionsdruck bei Vögeln nicht zu greifen. Weiterhin können wir aus dem Stammbaum durch Extrapolation der Aminosäureaustausche pro Jahr schließen, daß die menschlichen Influenza A-Viren sich von einem aviären Vorläufer ableiten. Das heißt, etwa um die Jahrhundertwende ist offensichtlich als sehr seltenes Ereignis ein aviäres Influenza A-Virus in toto in die menschliche Population und anschließend unter besagten Selektionsdruck geraten. Nun ist die Influenza eine bereits bei Hippokrates ca. 400 Jahre v. Chr. klar beschriebene Krankheit, und vom Mittelalter sind entsprechende Seuchenzüge bekannt. Das bedeutet, daß es diese Krankheit nicht erst seit ca. 1900 gibt.

Beim Menschen – und ausschließlich beim Menschen – kennt man noch die Influenza-Typen B und C, deren Nucleoproteingene noch deutlich mit denen der Influenza A-Viren verwandt sind. Der Typ B ist verwandter als C. Wir nehmen an, daß diese B- und C-Typen sich ebenfalls vor langer Zeit von einem aviären Influenza A-Virus ableiteten, unter dem Selektionsdruck aber so weit weggedriftet sind, daß ihre Genprodukte nicht mehr mit denen der A-Viren kooperieren können, so daß Reassortment zwischen A- und B- bzw. C-Viren nicht mehr möglich ist.

Die Rolle Südasiens

Eine wichtige Frage betrifft die Beobachtung, warum alle in diesem Jahrhundert registrierten Pandemien ihren Ursprung in Südasiens haben. Es wurde oben schon erwähnt, daß wir aus theoretischen Gründen annehmen, daß die

Schweine das „Mischgefäß“ für Doppelinfektionen darstellen, indem sie tolerant sind gegenüber Infektionen mit Viren aus den beiden großen Reservoiren: Vogel und Mensch. Es ist bekannt, daß Farmer, die in engem Kontakt mit erkrankten Schweinen kamen, von diesen Schweineviren infiziert wurden und die typischen Symptome zeigten. Weiterhin tauchten in den USA Schweineviren in einer Truthahnfarm auf, ohne sich weiter auszubreiten. In allen untersuchten Fällen konnten wir durch Sequenzieren der Gene nachweisen, daß es sich eindeutig um die in dieser Gegend vorkommenden Schweineviren handelte. Nordeuropa war bis 1979 frei von Schweine-Influenza. Seit dieser Zeit stellt die Schweine-Influenza bei uns ein großes wirtschaftliches Problem dar. Wir konnten zeigen, daß die isolierten Viren in allen untersuchten Genen fast identisch waren mit contemporären Vogelviren (siehe für das NP-Gen in Abb. 3 das dritte Virus von oben). Hier haben wir also den Fall, daß wiederum ein Vogelvirus direkt in toto, ohne Reassortment, in die Schweinepopulation geraten ist und sich darin ausbreitet. All diese Beobachtungen unterstreichen, daß die Schweine leicht mit Influenza-Viren aus unterschiedlichen Reservoiren infiziert werden können, und umgekehrt.

Eine uralte Praxis in Südasiens ist nun, daß die Schweine oft mit den Bauern unter einem Dach leben und nach der Reisernte auf die Felder gejagt werden, um dort heruntergefallene Körner etc. zu fressen. Aus dem gleichen Grunde fliegen Enten, die bis zu 60 Prozent infiziert sein können, in Scharen ein, so daß in diesem Raum die Wahrscheinlichkeit einer Doppelinfektion von Schweinen mit Enten- und menschlichen Influenza-Viren am höchsten ist. Weiterhin hat man in dieser Gegend eine Technik entwickelt, bei der durch Kohabitation von Menschen, Schweinen und Geflügel um Fischteiche durch dosiertes Einleiten der Exkremente (was man bei uns Umweltverschmutzung nennt) das Algen- und Wasserpflanzenwachstum so angeregt wird, daß die Besetzung der Teiche mit Graskarpfen etc. um

bis das zehnfache erhöht werden kann. Diese Technik, die eigenartigerweise die „Blaue Revolution“ genannt wird, wird momentan in den südostasiatischen Staaten wissenschaftlich erforscht, um sie später in alle unterentwickelten Länder zu exportieren, um den Proteinbedarf in Form von Fisch decken zu helfen. Eine Übertreibung dieser Technik, wie sie zeitweise in Malaysia praktiziert wurde, Hühner über Schweineställen über Fischteichen, ist vom Karikaturisten vom „Medical Tribune“ in Abb. 4 dargestellt. Wenn überhaupt die Kreation von neuen pandemischen Stämmen durch Doppelinfektion von Schweinen vorangetrieben werden soll, dann so.

Deshalb ist unser Vorschlag, bei der Erforschung dieser Technik prinzipiell die Schweine in geschlossenen Farmen zu halten, um gleichzeitig Kontakte mit Wasservögeln und Menschen möglichst gering zu halten. Durch einen relativ kleinen Eingriff in z. T. uralte und nun sehr moderne landwirtschaftliche

Zum Autor:

Prof. Dr. Christoph Scholtissek ist Professor für Biochemie und Virologie an der Justus-Liebig-Universität Gießen. Er arbeitet seit 1959 über die



Molekulare Genetik und Epidemiologie der Influenzaviren, bis 1964 am MPI für Virusforschung in Tübingen und seit 1964 in Gießen am Institut für Virologie im Fachbereich Veterinärmedizin, zuerst im Sonderforschungsbereich 47 (Pathogenitätsmechanismen von Viren) und seit drei Jahren im neuen Sonderforschungsbereich 272 (Molekulare Grundlagen zellbiologischer Schaltvorgänge).

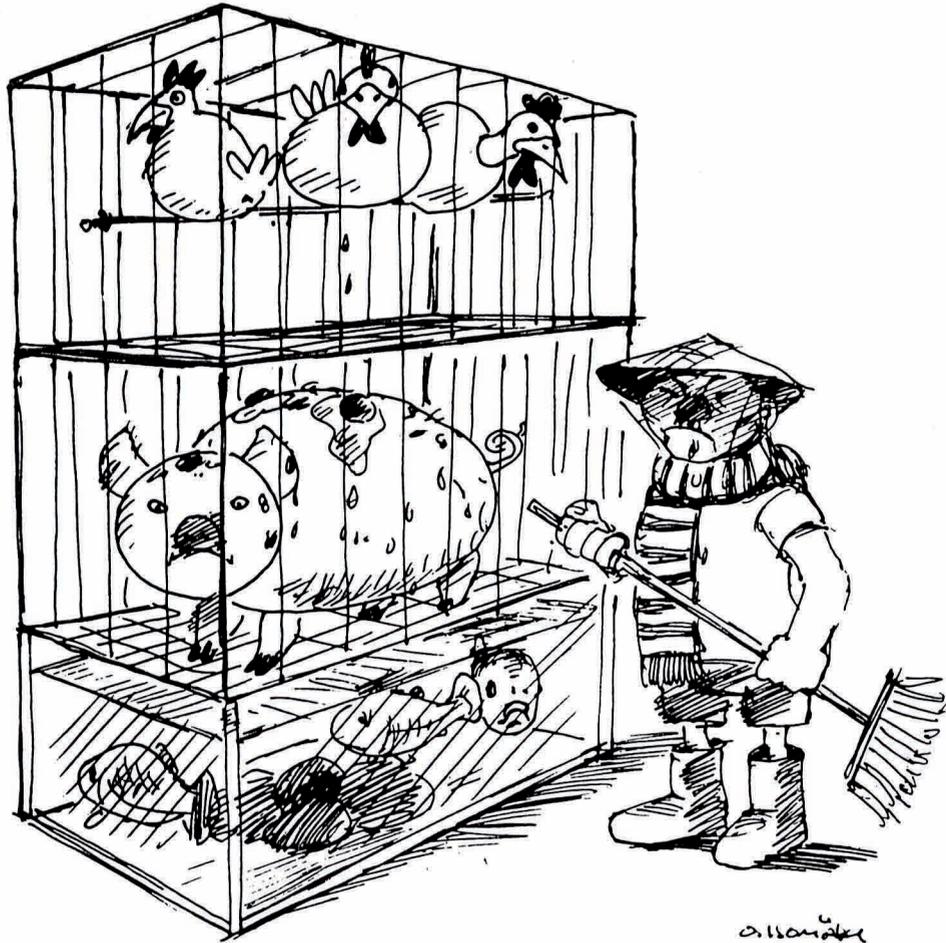


Abb. 4: Karikatur aus dem „Medical Tribune“, die die intensivste Möglichkeit der Kohabitation von Mensch, Schwein und Geflügel um Fischteiche im ostasiatischen Raum wiedergibt. Damit wäre die höchste Wahrscheinlichkeit einer Doppelinfektion von Schweinen mit aviären und humanen Influenza A-Viren erreicht.

Praxen könnte möglicherweise eine uralte Seuche unter Kontrolle gebracht werden, indem aus gefährlichen Influenza A-Viren in den kommenden Generationen nach Wegfall der Rekombinationsmöglichkeit etc. sich relativ harmlose B- und C-Viren entwickeln. Bei

letzteren ist ein Antigen shift nicht mehr möglich.

Weiteres Schrifttum in: C. Scholtissek: Pigs as „Mixing vessels“ for the creation of new pandemic influenza A viruses. *Med. Principles Pract.* 2, 65–71 (1990).