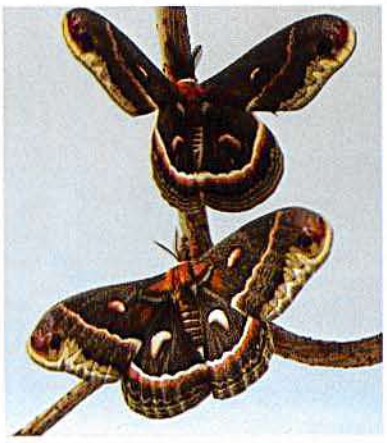
Wie wehren sich Insekten gegen Krankheitserreger?

Insektenimmunologie – Grundlagenforschung für Schädlingsbekämpfung und Medizin



Amerikanischer Seidenpinner
Hyalophora cecropia

Tabakschwärmer
Manduca sexta

Honigbiene
Apis mellifera

Immunologen haben bisher überwiegend die Immunreaktionen der Wirbeltiere, besonders des Menschen, analysiert. Allerdings wurden die zelluläre Abwehrreaktionen als solche zuerst bei Wirbellosen richtig interpretiert. Inzwischen finden jedoch auch Untersuchungen über die endogenen Immunreaktionen der Wirbellosen, vor allem der Insekten, wieder zunehmendes Interesse, da sich aufgrund von Forschungsergebnissen in diesem Bereich neue Denkansätze für die Schädlingsbekämpfung und die medizinische Grundlagenforschung ergeben.

Von Frank R. Scholz, Susann Beetz, Christine Lesch, Traute K. Holthusen und Tina Trenczek

Insekten werden oft als die Überlebenskünstler des Planeten Erde bezeichnet, ob nun in science fiction-Visionen oder in Dokumentationen über die Vielfalt des Lebens. Gegenwärtig sind knapp eine Million Arten bekannt und ihre Gesamtzahl wird auf rund 10^{19} (!) Individuen geschätzt. Das entspricht etwa 80% aller gegenwärtig lebenden Tierarten. Ihr Erfolg beruht im wesentlichen auf dem segmentierten Körperbau mit seinen vielfältig abgewandelten „Anhängen", wie den Mundwerkzeugen, Beinen, Flügeln und Antennen, die die unterschiedlichsten Funktionen erfüllen. Aufgrund dieser Ausstattung haben sich die Insekten viele Lebensräume erobert und können die verschiedensten Nahrungsressourcen nutzen. Holometabole Insekten, die ihre Entwicklung von der Larve zum ausgewachsenen Insekt (Imago) über ein Puppenstadium (Metamorphose) durchlaufen, haben sich darüber hinaus sogar innerhalb eines Individuallebens die Möglichkeit eröffnet, unterschiedliche ökologische Nischen zu besiedeln. So kommen beispielsweise Stechmückenlarven und -puppen im Wasser vor, während die Mücken auf dem Land leben.

Viele Insektenarten leben an Orten, die besonders reich an Mikroorganismen sind. In einer solchen Umgebung bedeutet die kleinste Verwundung ein hohes Infektionsrisiko und erfordert effiziente Schutzmechanismen. So entwickeln sich Schmeiß- und Fleischfliegen (*Calliphoridae* und *Sarcophagidae*) in verrottenden Kadavern. Ebenso gefährlich leben einige Aaskäfer (*Silphidae*), wie z.B. der Totengräber; die Taufliege *Drosophila melanogaster* ernährt sich von gährenden und faulenden Früchten. Auch unsere Honigbienen (*Apis mellifera*) bieten in ihrem warmen Stock ideale Lebensbedingungen für zahlreiche Keime.

Tina Trenczek ist seit 1996 Professorin für zelluläre Erkennungs- und Abwehrprozesse am Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie und lehrt auf den Gebieten Invertebraten-Immunologie, Entomologie und Zellbiologie. Von 1973 bis 1979 Studium der Biologie an der Universität Tübingen. In ihrer Diplom- und Doktorarbeit widmete sie sich der hormonellen und genetischen Fertilitätsregulation bei Honigbienen. Dabei ermöglichte ihr ein DAAD-Stipendium für Polen bei Professor Woyke, sich die Aufzucht diploider Drohnen anzueigenen. Nebenbei wurde mit eigenen Bienenvölkern geimkert. Ein Stipendium der Gunnar Hannssons-Stiftung brachte sie 1985 ans Institut für Mikrobiologie in Stockholm und ans Institut für Immunologie der Universität Uppsala. Dort begann sie ihre Untersuchungen über die Abwehrreaktionen der Insekten gegen Bakterien und charakterisierte als erste die Blutzellen der Insekten mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern. Von 1988 bis 1994 Assistentin am Institut für Zoologie der FU Berlin mit Lehrschwerpunkten in Insekten-Pathologie und -Immunologie. 1994 bis 1996 an der ETH Zürich am Institut für Pflanzenwissenschaften. Dort widmete sie sich als Projektleiterin den Abwehrreaktionen herbivorer Schadinsekten gegen parasitierende Schlupfwespen. Seit

Kohlweißling mit Schlupfwespe
Pieris brassicae mit Cotesia glomerata

Ein besonderer Schutz der Insekten gegen viele potentielle Pathogene ist ihr Chitinpanzer. Er umgibt das Insekt außen und kleidet weite Bereiche des Darmes aus. Wie aber wehren sich Insekten gegen Krankheitserreger, die diese Barriere überwinden, beispielsweise über eine Wunde nach dem Zupicken eines Vogels oder durch aktives Eindringen eines Parasiten?

Mit Mechanismen, die einen solchen Schutz gewährleisten, beschäftigt sich unser Team, die Arbeitsgruppe „Zelluläre Erkennungs- und Abwehrprozesse" am Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie. Wir studieren das Immunsystem der Insekten am Beispiel des Tabakschwärmers *Manduca sexta*. Der Schwerpunkt unserer Arbeit liegt dabei auf Untersuchungen über die Funktion der Blutzellen (Hämozyten). Uns interessiert, wodurch Hämozyten befähigt sind, potentielle Pathogene zu erkennen und entsprechend zu reagieren. Neben den Untersuchungen zur zellulären Abwehr haben wir uns auch zum Ziel gesetzt herauszufinden, wo die Blutzellen gebildet werden und wie sie sich zu funktionstüchtigen Effektorzellen differenzieren.

Immunreaktionen der Insekten

Bei Insekten haben sich, wie bei anderen Organismen auch (siehe auch „Spiegel der Forschung" 2/1998, Karl-Heinz Kogel u.a.: „Die Pflanze wehrt sich selbst"), durch die ständige Auseinandersetzung mit potentiellen Krankheitserregern im Laufe der Evolution Mechanismen herausgebildet, die diese an ihrer Ausbreitung im Körperinneren hindern können [1]. Da solche Mechanismen zerstörerisch sind und damit auch für den eigenen Organismus gefährlich werden können, müssen sie strikt kontrolliert werden. Das setzt die Fähigkeit voraus, zwischen Komponenten des eigenen Körpers („Selbst") und jenen des eindringenden Organismus („Fremd") unterscheiden zu können, eine der wichtigsten Eigenschaften eines Immunsystems. Als Immunsystem eines Organismus bezeichnet man die Moleküle, Zellen und Organe, die diesen Schutz ermöglichen. Das Vermögen, eine Krankheit erfolgreich zu überstehen, kann dann im weitesten Sinne als Immunität verstanden werden.

Es ist schon lange bekannt, daß Insekten zelluläre Immunreaktionen besitzen, die von Hämozyten ausgeführt werden. Anhand morphologischer Kriterien werden bei *Drosophila* drei Hämozytenpopulationen unterschieden. Bei dem „Haustier" unserer Arbeitsgruppe, dem Tabakschwärmer *Manduca sexta*, sind es fünf: Plasmatozyten, granuläre Zellen, Oenozytoide, Sphärulozyten und Prohämozyten (Abb. 1). An den direkten zellulären Abwehrreaktionen, wie Phagozytose, Knötchenbildung und Einkapselung, sind Plasmatozyten und granuläre Zellen beteiligt. Pathogene können darüber hinaus durch Melanin „verklebt" werden. Das für die Melaninbildung notwendige Schlüsselenzym, die Phenoloxidase, wird von den Oenozytoiden gebildet. Sphärulozyten sind in den Aufbau der extrazellulären Matrix involviert, der beispielsweise bei einem Wundverschluß notwendig wird. Prohämozyten werden als die Stammzellen aller Hämozyten angesehen. Gemeinsam tragen die Hämozyten außerdem zur Wundheilung sowie zur Gerinnung des Insektenblutes (Hämolymphe) bei und geben verschiedene lösliche Faktoren in die Hämolymphe ab.

Kleine Krankheitserreger, wie Bakterien und Hefen, werden von Plasmatozyten und granulären Zellen durch Phagozytose aufgenommen und anschließend intrazellulär verdaut. Offenbar wird die Aufnahme bei diesen zwei Hämozytentypen jedoch unterschiedlich ausgelöst: Intakte Bakterien werden von beiden Zelltypen phagozytiert, während isolierte Membrankomponenten der Bakterien, wie z.B. Lipopolysaccharide (LPS), nur von granulären Zellen aufgenommen werden (Abb. 2). Ist die Anzahl der Bakterien zu groß, kommt es zur Knötchenbildung. Dabei werden sie in einem Koagulum aus Hämozyten und Hämolymphkomponenten verklumpt und unschädlich gemacht. Sind die eingedrungenen Erreger für die phagozytierenden Zellen zu groß, wie z.B. parasitische Würmer oder Schlupfwespeneier, werden sie eingekapselt, d.h. sie werden zunächst von mehreren Schichten Hämozyten umschlossen; abschließend wird dann extrazelluläres Material aufgelagert (Abb. 3). Der eingekapselte Fremdkörper verbleibt im Gewebe.

Im Gegensatz zur Phagozytose, die von einzelnen Zellen ausgeführt wird, sind Knötchenbildung und Einkapselung multizelluläre Prozes-

▸ 1992 unterhält sie eine rege Zusammenarbeit mit Prof. Kanost am Institut für Biochemie der Gießener Partneruniversität KSU in Manhattan, Kansas. Gegenwärtige Arbeitsschwerpunkte: die Charakterisierung und Differenzierung der Insektenblutzellen sowie die Abwehrreaktionen der Insekten gegen Bakterien.

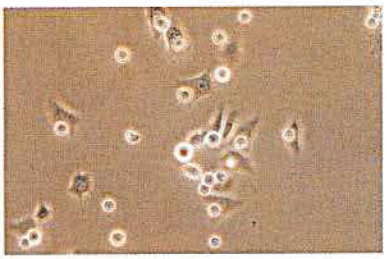


Abbildung 1: Blutzellen des Tabakschwärmers Manduca sexta. *Auf diesem Bild sind alle fünf Zelltypen vorhanden!*

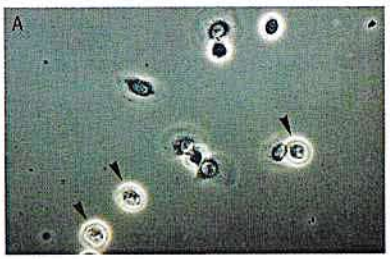


Abbildung 2: Nachweis der Aufnahme des bakteriellen Membranbestandteils Lipopolysaccharid (LPS) durch granuläre Zellen. Vor der Injektion in die Raupe wurde das LPS mit dem Fluoreszenzfarbstoff FITC markiert. In Bild A sind die Plasmatozyten an ihrer Fibroblasten-ähnlichen, gespreiteten Gestalt erkenntlich, die granulären Zellen sind rund und lichtbrechend. In Bild B ist das markierte LPS dort zu finden, wo granuläre Zellen liegen (Pfeile in Bild A).

se. Das setzt einen Informationsaustausch zwischen den Zellen über Signalmoleküle oder Zell-Zell-Kontakte voraus. Knötchenbildung und Einkapselung, aber auch die Wundheilung, werden oft von einer Melaninbildung begleitet (siehe Randspalte). Diese wird durch das Enzym Phenoloxidase katalysiert. Die Aktivierung der Phenoloxidase aus einer Vorstufe ist die letzte Reaktion einer proteinspaltenden Enzymkaskade (Proteasekaskade). Ähnliche Enzymkaskaden sind auch bei Wirbeltieren bekannt, z.B. bei der Blutgerinnung. Im Falle der Phenoloxidase-Kaskade erfolgt die Auslösung durch Bestandteile von Hefen und Bakterien.

Melanin
Melanin ist ein Polymerisationsprodukt phenolischer Komponenten.

Um effektiv Untersuchungen über zelluläre Abwehrreaktionen durchführen zu können, stellten wir monoklonale Antikörper (siehe Randspalte, unten) gegen Hämozyten her. Mit diesen können wir die Zelltypen unabhängig von ihrer Morphologie identifizieren und die verschiedenen Populationen trennen (Abb. 4). Darüber hinaus können wir mit den Antikörpern die dazugehörigen Antigene isolieren und ihre Funktion im Abwehrgeschehen analysieren. Mit einem artübergreifenden Vergleich wollen wir herausfinden, welche Komponenten der Hämozyten während der Evolution konserviert wurden. Wir erhoffen uns dadurch Hinweise auf bestimmte essentielle Funktionen dieser Zellen.

Monoklonale Antikörper
Monoklonale Antikörper werden durch besondere Verfahren im Labor gewonnen und besitzen im Gegensatz zu polyklonalen Antikörpern eine einzige, definierte Spezifität. Sie eignen sich für diagnostische Anwendungen, da mit ihrer Hilfe stets der gleiche, eng umgrenzte Bereich eines Moleküls erkannt wird.

Für solche Studien tauschen wir Antikörper mit befreundeteten Forschergruppen in Amerika, Schweden, Ungarn und Deutschland aus. Im Zusammenhang mit diesen Fragestellungen interessieren uns aber auch Veränderungen der Hämozyten im Laufe der Insektenentwicklung. Hierbei stehen zwei Aspekte im Vordergrund, die Differenzierung der Hämozyten aus Stammzellen und die Veränderung des Reaktionsverhaltens der Hämozyten während der Metamorphose. Bei diesem Prozeß sind die Hämozyten an der Umwandlung von Organen beteiligt. Das bedeutet, daß sie zu diesem Zeitpunkt gezielt eigenes Gewebe erkennen, abbauen und entfernen, also gegen „Selbst" reagieren.

Neben den Zellen leisten in der Hämolymphe gelöste Faktoren (humorale Faktoren), z.B. antimikrobielle Proteine, einen Beitrag zur Immunantwort der Insekten [2]. Sie werden nach einer Verwundung oder Infektion innerhalb weniger Stunden neu gebildet. Ihre Synthese erfolgt in verschiedenen Geweben, wie z.B. im Fettkörper, in den Hämozyten, in der Epidermis und im Nervengewebe.

Das wohl bekannteste antimikrobielle Protein ist das Lysozym (Abb. 5), da es auch in der menschlichen Tränenflüssigkeit und im Hühnereiweiß vorkommt. Es löst die Zellwand von Bakterien auf und beeinträchtigt das Wachstum von Pilzen. Andere antimikrobielle Proteine sind beispielsweise Cecropin, das Bakterien tötet, und Drosomycin, das gegen Bakterien und Pilze wirkt. Bemerkenswerterweise ist Drosomycin den antifungalen Proteinen aus Kohlsamen ähnlich. In Tabelle 1 sind weitere antimikrobielle Proteine der Insekten aufgeführt.

Durch welche Information wird die Neusynthese dieser Proteine ausgelöst, und wie wird sie umgesetzt? Die umfangreichsten Ergebnisse hierzu stammen aus Untersuchungen mit *Drosophila*-Mutanten [3]. Bis heute sind mindestens zwei verschiedene Wege bekannt, auf denen die Induktion der Gene für antimikrobielle Proteine erfolgen kann. Der erste Weg wird durch das in der Zellmembran verankerte Protein Toll eingeleitet. Ursprünglich wurde es durch seine Beteiligung an der Regulation der Embryonalentwicklung von *Drosophila* entdeckt. Bei diesen Prozessen ist ihm eine Signalkette nachgeschaltet, deren

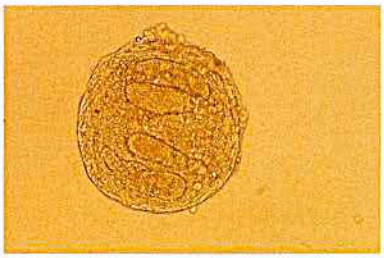


Abbildung 3: Legt die Schlupfwespe ihre Eier nicht in den für sie typischen Wirtsorganismus, so werden die Eier von mehreren Schichten Hämozyten eingekapselt. Im vorliegenden Präparat sind es vier Eier von Cotesia glomerata *umhüllt von Zellen des Rapsweißling,* Pieris napi.

Abbildung 4: Markierung unterschiedlicher Blutzelltypen des Seidenspinners mittels monoklonaler Antikörper. Für diesen Nachweis wurde das Verfahren der indirekten Immunhistochemie eingesetzt, wobei die rote Farbe die Bindung der Antikörper an die Blutzellen anzeigt. Im oberen Bild sind nur Plasmatozyten, im unteren nur granuläre Zellen gefärbt.

Abbildung 5: Nachweis von Lysozym in der Hämolymphe eines Insekts. Hierzu trennt man zuerst die Hämolymphproteine mittels einer nativen Polyacrylamid-Gelelektrophorese auf. Anschließend wird das Gel mit Agar überschichtet, der mit Micrococcus luteus, *ein auf Lysozym hochempfindliches Bakterium, vermischt wurde. Dort, wo freie Zonen entstehen, ist im Gel Lysozym vorhanden. Von links nach rechts: Hämolymphe unbehandelter, verwundeter und infizierter Insektenlarven. Als Referenz wurde ganz rechts das gereinigte Hühnereiweißlysozym aufgetragen.*

Susann Beetz, 29 Jahre, studierte in Greifswald und Eugene/USA Zoologie, Molekularbiologie und Immunologie. In ihrer Diplomarbeit untersuchte sie das Prophenoloxidasesystem der Wachsmotte *Galleria mellonella*. Seit 1997 arbeitet sie in der Arbeitsgruppe von Prof. Tina Trenczek über die Veränderung des Hämozytenbildes während der Ontogenese des Tabakschwärmers *Manduca sexta*.

Endglied ein DNA-bindendes Protein aus der Familie der Rel-Proteine ist. Auch bei Wirbeltieren kommen Vertreter dieser Proteinfamilie vor, z.B. der Transkriptionsfaktor (siehe Randspalte) NF-kB. Er reguliert bei ihnen die Gene zahlreicher immunrelevanter Faktoren, wie Interleukin-1 und Akute Phase-Proteine. Interessanterweise besitzen die Gene vieler antimikrobieller Proteine von Insekten ebenfalls Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren aus der Gruppe der Rel-Proteine. Es stellte sich heraus, daß über den ersten Weg („Toll-Weg"), also über Rel-Proteine und das Protein Toll, in vollem Umfang Drosomycin gebildet wird (Abb. 6). Über den zweiten sogenannten „immune deficiency (imd)-Weg" werden dagegen Proteine induziert, die nur antibakteriell wirken (z.B. Diptericin). Zur maximalen Expression einer weiteren Gruppe antibakterieller Proteine (z.B. Cecropin) werden beide Induktionswege benötigt. So konnte in Experimenten mit *Drosophila*-Mutanten, deren „Toll-Weg" beeinträchtigt ist, gezeigt werden, daß die Taufliegen an einer Pilz- jedoch nicht an einer Bakterieninfektion sterben. Im Gegensatz dazu überleben „imd"-Mutanten Infektionen durch Pilze aber keine durch Bakterien. Bisher gelang es noch nicht, direkt zu zeigen, wie eine Information vom potentiellen Pathogen auf das Membranprotein Toll übertragen wird.

Obwohl einige Proteine, die Bakterien und Pilze binden, aus Hämozyten und Hämolymphe isoliert wurden und folglich diese Funktion erfüllen könnten (Tab. 2), mangelt es hierfür an direkten Beweisen. Deshalb haben wir es uns zum Ziel gesetzt, am Beispiel einer Bakterieninfektion bei den Raupen des Tabakschwärmers die Erkennung von Bakterien, die Signalkette und die nachfolgenden humoralen Reaktionen zu analysieren.

Wenn auch Insekten effektive Immunreaktionen besitzen, so gibt es erfolgreiche Krankheitserreger, die im Lauf der Zeit Mechanismen herausgebildet haben, diese Abwehrreaktionen wieder auszuschalten oder zu umgehen. So weiß man, daß Pilze Toxine und Proteasen ausschütten oder besondere Oberflächenstrukturen aus Kohlenhydraten besitzen, die sie wie Tarnkappen vor zellulären Reaktionen schützen. Insektentötende Fadenwürmer (Nematoden) „nutzen" die Pathogenität spezieller Bakterien, die sie in einer Kropftasche mitbringen.

Ein weitgehend unbekanntes aber höchst interessantes Phänomen ist, wie Schlupfwespen, sogenannte Parasitoide, die Immunreaktionen ihrer Wirtsinsekten unterdrücken [4]. Eine Schlupfwespe injiziert gleichzeitig mit ihren Eiern verschiedene Sekrete in das Wirtsinsekt. Diese enthalten Proteine, Gift und Viren. Zu Beginn einer Parasitierung scheinen die Eier durch Oberflächenstrukturen und bestimmte Sekretproteine vor einer Einkapselung geschützt zu sein. Im weiteren Verlauf übernehmen die Viren diesen Schutz. Das Besondere an ihnen ist, daß ihre Erbsubstanz (Genom) ein fest eingebauter Bestandteil des Wespengenoms ist. Freie Viruspartikel werden aber nur in den Wespenweibchen in speziellen Zellen des Ovars zur Zeit der Eiablage gebildet. Die Viren beeinflussen die Entwicklung des Wirtsinsektes und rufen eine vorwiegend die zelluläre Abwehr betreffende Immunsuppression hervor. So beobachtet man bei parasitierten Wirtsinsekten Veränderungen im Zellskelett und in der Membran der Hämozyten. Der Immunsuppression muß eine gewisse Spezifität zugrundeliegen, da im Gegensatz zu Wespeneiern experimentell eingeführte Fremdkörper durchaus eingekapselt werden. Die genauen Mechanismen sind jedoch noch weitgehend ungeklärt. Wir

Transkriptionsfaktoren
Transkriptionsfaktoren sind Proteine, die an DNA binden, und dadurch die RNA-Synthese für andere Proteine regulieren.

Traute Holthusen, 39 Jahre, studiert an der Universität Gießen Zoologie, Botanik, Ökologie und Phytomedizin. Während ihres Studiums absolvierte sie verschiedene Praktika, u.a. in der Obstbaumversuchsanstalt York (Altes Land) und der Biologischen Bundesanstalt in Darmstadt. Seit 1998 diplomiert sie über Veränderungen in der Hämolymphe beim Übergang vom letzten Larvenstadium zur Puppe des Tabakschwärmers *Manduca sexta*.

Tabelle 1: Ausgewählte Beispiele antimikrobieller Proteine bei Insekten

Peptid-Klasse	Charakteristika	Spezifität	Beispiele
Cecropin-ähnlich	Größe ca. 4 kD, basisch, ohne Cystein, 2 a-Helices verbunden durch intermediären Bereich	vorzugsweise wirksam gegen Gram-negative Bakterien	Bactericidin Cecropin Sarcotoxin I
Cyclische Peptide	1-4 Disulfidbrücken	bevorzugt wirksam gegen Pilze, aber auch gegen Bakterien	Drosomycin Defensin Thanatin
Glycin-reich	Größe ca. 9-30 kD, reich an Glycin, z.T. O-glykosyliert	vorzugsweise gegen Gram-negative Bakterien	Attacin Coleoptericin Diptericin
Prolin-reich	Größe ca. 2-3 kD, Prolingehalt bis zu 25%, ohne Cystein,	überwiegend wirksam gegen Gram-negative Bakterien	Abaecin Drosocin Metchnikowin
verschiedene	individuelle Charakteristika	aktiv gegen Bakterien und Pilze	Ceratotoxin Lysozym Gallysin-1

Tabelle 2: Proteine mit Affinität zu mikrobiellen Zellwandbestandteilen

Art	Vorkommen; Name	Referenz
A) LPS-bindende Proteine		
Bombyx mori	Hämozyten, Hämolymphe; „Gram-Negative-Binding-Protein", Lipophorin, 11 kD Protein	Kato et al. 1994; Xu et al. 1995; Lee et al. 1996
Ceratitis capitata	Hämozyten; 47 kD Protein	Marmaras et al. 1992; Charalambidis et al. 1995
Galleria mellonella	Hämolymphe; Lipophorin, 17 kD Protein, 24 kD Protein, 26 kD Protein,	Klünner et al. 1994; Dunphy et al. 1997
Periplaneta americana	Hämolymphe; „Pa-Lipopolysaccharide-Binding-Protein", Pa-Lektin	Jomori et al. 1990; Jomori et al. 1991; Kawasaki et al. 1993
B) Peptidoglukan Recognitionprotein		
Bombyx mori	Hämolymphe; „Peptidoglukan-Recognition-Protein"	Yoshida et al. 1996
C) β-1,3-Glukan bindende Proteine		
Bombyx mori	Hämolymphe; „β-1,3-Glukan-Binding-Protein"	Ochiai et al. 1992
Galleria mellonella	Hämozyten;	Matha et al. 1990

haben deshalb in Zusammenarbeit mit Nancy Beckage aus Kalifornien begonnen, Veränderungen der Hämozyten nach einer Parasitierung mit Hilfe unserer Antikörper zu analysieren. Die Viren rufen auch Änderungen in der Zusammensetzung der Hämolymphe bei den Wirtsinsekten hervor. Zusammen mit Kollegen an der ETH-Zürich konnten wir feststellen, daß das Auftreten neuer Proteine in parasitierten Kohlweißlingsraupen streng mit der Entwicklung der Schlupfwespenlarven korreliert. Ob diese Proteine an der Manipulation der Wirtsphysiologie oder an der Immunsuppression beteiligt sind, muß noch gezeigt werden.

Wirbeltiere – Wirbellose: zwei Immunsysteme – eine gemeinsame Basis?

Insekten und andere Wirbellose besitzen sehr effektive und besonders schnelle Systeme, um einer mikrobiellen Infektion oder einer Parasitierung zu begegnen. Dieses Phänomen fand reges Interesse bei vielen Arbeitsgruppen. Seit den achtziger Jahren wird die Forschung auf dem Gebiet der Insektenimmunologie zunehmend attraktiver und führte zu bemerkenswerten Ergebnissen: Verschiedene Komponenten des Insektenimmunsystems weisen Ähnlichkeiten oder gar Übereinstimmungen mit Molekülen und Prinzipien des Wirbeltierimmunsystems auf. Bei beiden wurden Potenzierungseffekte durch Proteasekaskaden gefunden. Zahlreiche antimikrobielle Proteine wurden und werden weiterhin bei den Wirbeltieren entdeckt [2]. Auch bei Bindungsproteinen für sehr typische, phylogenetisch alte Pathogenstrukturen findet man zunehmend Gemeinsamkeiten. Selbst bei den Regulationsmechanismen verschiedener, durch Infektion induzierbarer Gene zeigen sich Ähnlichkeiten, die bis zur Homologie (Verwandtschaft) der daran beteiligten Faktoren reichen.

Vor zehn Jahren wurde in einem Übersichtsartikel zur Evolution des Immunsystems [5] postuliert, daß noch zu entdeckende Immunfaktoren der Invertebraten keine Ähnlichkeiten mit Immunglobulinen aufweisen werden oder gar Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie sein könnten. Bereits drei Jahre später wurden wir eines Besseren belehrt. Beim Seidenspinner und beim Tabakschwärmer wurde das durch eine Infektion induzierbare Protein Hämolin entdeckt, das gewisse Übereinstimmungen mit der Struktur von Immunglobulinen der Wirbeltiere besitzt. Leider ist seine konkrete Funktion bis heute noch ungeklärt. Auch bei anderen Insekten wurden Mitglieder dieser Protein-Superfamilie gefunden, allerdings spielen sie hier eine Rolle bei Adhäsionsvorgängen in der Entwicklung.

Solche Übereinstimmungen zwischen Immunreaktionen und entwicklungsbiologischen Vorgängen beobachtet man inzwischen immer häufiger. Das Immunsystem und ein sich entwickelnder Organismus müssen sich mit ständig verändernden zellulären Umgebungen auseinandersetzen. Einige Prozesse der zellulären Kommunikationssysteme haben sich offenbar als brauchbar für verschiedene Aufgaben erwiesen und wurden vermutlich im Verlauf der Evolution beibehalten. Vor einigen Jahren überschrieb Charles Janeway einen seiner Artikel provozierend mit „Approaching the Asympote? Evolution and Revolution in Immunology". Vor kurzem hat seine Arbeitsgruppe mit der Entdekkung eines zu Toll (siehe oben) sehr ähnlichen Proteins auf bestimmten Leukozyten der Wirbeltiere ein weiteres Bindeglied zwischen dem Immunsystem der Wirbellosen und dem der Wirbeltiere gefunden [6]. Und auch dieses Protein besitzt eine wichtige Rolle sowohl bei der Embryogenese aber auch bei einigen Immunreaktionen.

Ist es deshalb vermessen, einen Vergleich zwischen den Immunsystemen von Wirbeltieren und Wirbellosen anzustellen, da sie doch phylogenetisch so weit voneinander entfernt sind? Oder kann ein Blick über den „Tellerrand" des eigenen Forschungsgebietes nicht sogar sehr stimulierend sein? Das Immunsy-

Christine Lesch, 31 Jahre, studierte in München und Gießen Zoologie, Mikrobiologie, Ökologie und Zellbiologie. In Gießen fertigte sie ihre Diplomarbeit über die Charakterisierung von Bakterien aus dem Tintenfisch *Nautilus pompilius* an. Seit 1998 arbeitet sie an ihrer Dissertation über zelluläre Abwehrreaktionen gegen Bakterien beim Tabakschwärmer *Manduca sexta*.

Frank Rüdiger Scholz, 36 Jahre, studierte Biochemie, Immunologie und Molekularbiologie an der Freien Universität Berlin. Die Diplomarbeit zum Thema „Charakterisierung der Phospholipase D-Aktivität in humanen Keratinozyten" führte er in der Hautklink des Universitätsklinikums Benjamin Franklin (FU Berlin) durch. Ein Forschungsaufenthalt führte ihn 1997 und 1998 an die Kansas State University. Seit 1996 ist er im Rahmen der Promotion zum Thema „Aktivierung von Insektenhämozyten nach bakteriellen Infektionen" Mitarbeiter der AG Zelluläre Erkennungs- und Abwehrstrategien.

stem der Insekten reagiert sehr rasch, zeigt aber keine überragende Langzeitwirkung und ist relativ unflexibel gegenüber schnellen Veränderungen der Pathogenstrukturen. Das Immunsystem der Wirbeltiere benötigt zwar einen längeren Zeitraum, um zur vollen Effektivität zu gelangen, bietet aber einen fast lebenslangen Schutz und kann auf die Variabilität der Pathogene gut reagieren. Das Vermögen des Immunsystems der Wirbeltiere bei einer erneuten Infektion einem bereits „bekannten" Krankheitserreger effektiver zu begegnen, wird als „adaptiv" bezeichnet. In der kritischen Anfangsphase schützen sich Wirbeltiere allerdings auch durch Mechanismen wie Phagozytose oder durch die Wirkung antimikrobieller Proteine, die z.B. in Wundflüssigkeiten vorkommen. Solche Vorgänge werden als „natürliche" Immunreaktionen bezeichnet und den „adaptiven" Immunreaktionen gegenübergestellt.

„Natürliche" Immunreaktionen kommen sowohl bei Wirbeltieren als auch bei Wirbellosen vor. Man weiß, daß viele davon hauptsächlich durch typische Komponenten potentieller Pathogene (z.B. LPS) ausgelöst werden. Diese Reaktionsmöglichkeiten wurden offensichtlich während der Evolution genetisch fixiert, beispielsweise in Form besonderer Erkennungsstrukturen [1, 3]. Einmal im Genom verankert, kann eine Änderung solcher Moleküle durch Mutation oder Neukombination aber erst in einer der nächsten Generationen wirksam werden. Verändern sich die Krankheitserreger zu schnell, kann das für einen einzelnen Organismus den Tod bedeuten. Zahlreiche Wirbellose scheinen durch kurze Generationszeiten und hohe Reproduktionsraten diesen „Nachteil" auszugleichen. Eine Adaption auf veränderte Strukturen der Krankheitserreger erfolgt also durch evolutive Anpassung.

Auf dem Entwicklungszweig zu den Wirbeltieren entstand im Laufe der Evolution ein zusätzliches Immunsystem. Zellen dieses Systems behielten eine gewisse genetische Flexibilität und eine hohe Zellteilungsaktivität. So können im Leben eines einzelnen Wirbeltierorganismus beispielsweise B-Zellen durch Gen-Neukombinationen nach dem Zufallsprinzip verschiedenste Antikörper bilden, die dann Stoffe unabhängig von ihrer Herkunft binden können. Dieser Vorteil ist aber mit dem hohen Risiko der Fehlleistung verbunden, daß Antikörper zufällig auch gegen Komponenten des eigenen Körpers („Selbst") gerichtet sein können. B-Lymphozyten, die solche Antikörper bilden, werden normalerweise während ihres Reifungsprozesses entfernt.

JUSTUS-LIEBIG-
UNIVERSITÄT
GIESSEN

Prof. Dr. Tina Trenczek
Dipl.-Biochem. Frank R. Scholz

Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie
Stephanstraße 24
35390 Gießen
Tel.: 0641/99-35633
Fax: 0641/99-35609
e-mail: tina.e.trenczek@allzool.bio.uni-giessen.de

Die übrigen B-Zellen werden durch eine zusätzliche Information zur Zellteilung angeregt. Bereits vor zehn Jahren wies Charles Janeway darauf hin, daß sogenannte „unerfahrene" Lymphozyten zur Aktivierung ihrer Immunreaktivität zwei Signale benötigen: das Antigen, angeboten von Antigen-präsentierenden Zellen, und ein weiteres Signal, wie z.B. Interleukin-1 oder B7.1-Moleküle. Dieses Signal wird erst dann gegeben, wenn eine typische Pathogenstruktur erkannt, d.h. gebunden wurde. Die Natur ist mutig und vorsichtig zugleich: Neben dem Einführen von neuen Prinzipien werden erprobte Mechanismen beibehalten und beides miteinander verknüpft. So findet also eine Auswahl auf Zellebene, eine sogenannte „klonale Selektion" statt, die u.a. auch unter Kontrolle altbewährter Prozesse steht.

Ausblick

Das Gebiet der Insektenimmunologie weist nicht nur interessante Aspekte für Zoologen, Zellbiologen, Evolutions- oder Entwicklungsbiologen auf, sondern auch für Wissenschaftler anwendungsorientierter Forschungsrichtungen. Vergleichende Betrachtung der Untersuchungsergebnisse aus Insektenimmunologie und Medizin haben in den letzten Jahren viele Denkanstöße und damit neue Versuchsansätze für die immunologische Forschung ergeben. Darüber hinaus ist das Interesse gestiegen, die Kenntnisse über Immunreaktionen bei Insekten als Ansatz für neue Strategien zur Schädlings- und Vektorenbekämpfung (z.B. Malaria-Mücke) einzusetzen. Gerade spezifisch wirkende Mechanismen auf biologischer Basis stellen eine gute Alternative zur chemischen Bekämpfung dar, deren negative Folgen unübersehbar sind. Der unterschiedliche Erfolg solcher Bekämpfungsstrategien hängt aber u.a. davon ab, auf welchen Vorgängen die Interaktionen zwischen den Organismen beruhen. Für den Einsatz von Mikroorganismen und Parasiten sind deren Pathogenität und eine mögliche Resistenzbildung bei den Schädlingen von Bedeutung. In vielen Fällen sind diese Mechanismen aber nicht bekannt. Grundlagenwissen, wie es von unserer und anderen Arbeitsgruppen untersucht wird, ist hierfür eine unabdingbare Voraussetzung. •

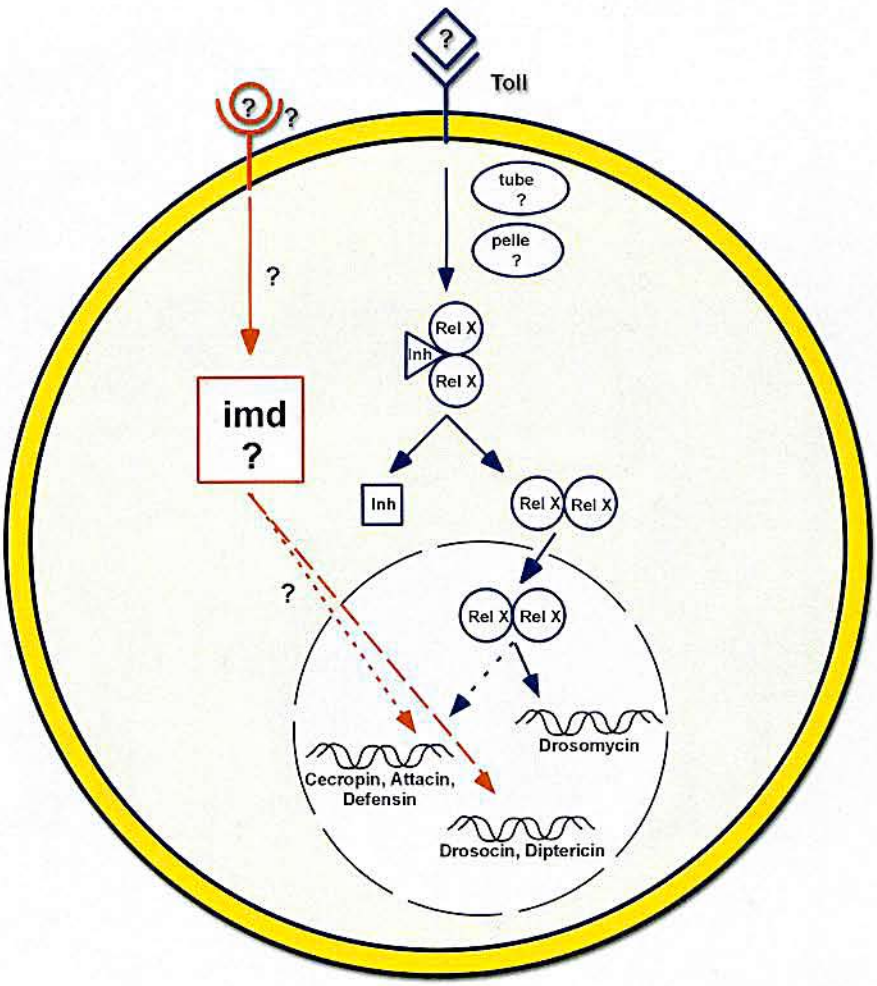


Abbildung 6: Hypothetisches Modell der intrazellulären Signalkaskade, die von einem extrazellulären Signal (z.B. Pathogenkontakt) ausgelöst zur Induktion der Gene antimikrobieller Proteine führt. Die Bindung eines Pathogens an einen Rezeptor führt zur Aktivierung des membranständigen Proteins Toll. Dieses leitet das erhaltene Signal über eine aus mehreren Proteinen (tube?, pelle?) bestehende Kette an ein Protein der Rel-Familie (hier als Rel X gekennzeichnet) weiter. Auf diese Aktivierung hin fällt ein am Rel-Protein gebundener Inhibitor (Inh) ab. In der Folge kann das Rel-Protein in den Kern wandern und dort an DNA-Sequenzen binden, die die Transkription des Drosomycingens regulieren. Andere Signale, die an ein noch unbekanntes Membranprotein binden, lösen eine zweite Kette, den „imd-Weg" aus. Auf noch ungeklärtem Weg werden dadurch die Gene für Diptericin, Cecropin u.a. aktiviert.

LITERATUR

[1] Trenczek T (1999) Endogenous defense mechanisms of insects. Zoology 101: 298-315.
[2] Boman (1998) Gene-encded peptide anibiotics and the concept of innate immunity: An update review. Scan J. Immunol 48: 15-25.
[3] Meister M, Lemaitre B, Hoffmann J A (1997) Antimicrobial peptide defense in *Drosophila*. Bio Essays 19: 1019-1026.
[4] Beckage N E (1998) Die Geheimwaffe der Schlupfwespen. Spektrum der Wissenschaft 2: 78-85.
[5] Reinisch C L, Litman G W (1989) Evolutionary immunobiology. Immunology Today 10 (8): 278-281.
[6] Medzhitov R, Preston-Hurfburt P, Janeway C A, Jr. (1997) A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. Nature 388: 394-397.