

# Auf dem Weg zur Therapie von Prionen-Krankheiten

**Eine tödliche Erkrankung, die neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, hat über 85 vorwiegend junge Patienten in Grossbritannien und Anrainerstaaten befallen. Sie wird mit dem Rinderwahnsinn in Zusammenhang gebracht. Verdrehte Eiweisskörper, so genannte Prionen, gelten als Auslöser beider Krankheiten. Wie die krankmachenden Eiweisse ins Gehirn gelangen und wie sie dort Schäden anrichten, ist noch immer recht unklar. Ohne dieses Wissen ist aber keine Therapie möglich.**

VON ADRIANO AGUZZI

Gedächtnisverlust, Bewegungsstörungen und schwammartige, so genannt spongiforme Veränderungen des Gehirns sind die charakteristischen Merkmale von Krankheiten, die unter dem Begriff TSE (Transmissible Spongiforme Enzephalopathien) zusammengefasst werden. Neben Erkrankungen des Menschen wie der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK) und dem Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom gehören dazu auch die Traberkrankheit (Scrapie) bei Schafen und Ziegen sowie der Rinderwahnsinn, auch BSE (bovine spongiform encephalopathy) genannt. Während Scrapie seit mehr als 200 Jahren bekannt ist, stellt BSE eine neue Form der TSE dar, die 1986 in Grossbritannien zum ersten Mal aufgetaucht ist und sich seither epidemieartig ausgebreitet hat. Obwohl Scrapie in der Schweiz eine Seltenheit darstellt, sind hierzulande bereits über 300 Rinder an BSE erkrankt: dies

macht die Schweiz nach Grossbritannien und Irland zum Land mit der dritthöchsten BSE-Durchseuchung – vorausgesetzt, man schenkt den offiziellen Statistiken der EU-Staaten Glauben, welche bisweilen unrealistisch niedrige BSE-Zahlen angeben.

Eine neue Variante der CJK (vCJK), die bisher 76 jüngere Opfer in England und je eines in Frankreich und Irland gefordert hat, wird wahrscheinlich durch eine Infektion mit dem BSE-Erreger ausgelöst. Weil aus statistischer Sicht diese Zahlen noch recht klein sind, ist es schwer abzuschätzen, wie viele Menschen den Erreger gegenwärtig in sich tragen und wie viele davon tatsächlich erkranken werden. Zu sehr viel Optimismus verhilft die neueste statistische Entwicklung jedoch leider nicht, denn die Anzahl neu auftretender Fälle pro Quartal ist zurzeit unverkennbar im Anstieg begriffen.

## Erreger unvollständig geklärt

Die Natur des TSE-Erregers ist nach wie vor unvollständig geklärt. Fest steht, dass es sich beim Erreger nicht um ein herkömmliches Virus oder Bakterium handeln kann. Dies ergibt sich aus vielen Beobachtungen: zum einen sind alle Versuche, eine erregerspezifische Nukleinsäure als Träger der genetischen Information nachzuweisen, bisher gescheitert. Zudem zeigt der TSE-Erreger Eigenschaften, die ihn grundsätzlich von bisher bekannten Krankheitserregern unterscheidet. Aufgrund der ungewöhnlichen Eigenschaften des infektiösen Partikels formulierte Stanley Prusiner im Jahre 1982 die «Protein-only-Hypothese» und nannte den Erreger Prion, eine Wortspielerei aus den Vorsilben von «proteinaceous infectious agent».

Prusiners Hypothese besagt, dass das Prion ausschliesslich aus einer abnormen Form PrP<sup>Sc</sup> (PrP für Prion-Protein; Sc für Scrapie) eines normalen, vom Wirtsorganismus codierten Proteins PrP<sup>C</sup> (C für cellular) besteht. Weiter wurde postuliert, dass PrP<sup>Sc</sup> nach dem Eindringen in eine Wirtszelle die Verdrehung von körpereigenen PrP<sup>C</sup>-Molekülen zu PrP<sup>Sc</sup>-Molekülen auslösen kann: damit ist die Vermehrung der infektiösen Einheit sichergestellt. Diese Hypothese wurde 1998 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet: eine gut getroffene, wenn auch recht mutige Entscheidung des Preiskomitees, steht doch ein endgültiger Beweis noch aus.

## Vermehrung wird untersucht

Wie dieser Prozess der Prion-Protein-Vermehrung auf molekularer Ebene abläuft, ist Gegenstand intensiver Untersuchungen. Zwei mögliche Szenarien werden diskutiert: Prusiner postuliert das Heterodimer-Modell (Abbildung 1a, Seite 35), welches voraussagt, dass ein einziges PrP<sup>Sc</sup>-Molekül einer infektiösen Einheit gleicht. Von anderen Forschern wurde dagegen vorgeschlagen, erst Anhäufungen von PrP<sup>Sc</sup> würden eine Infektionseinheit bilden, wo sich weitere falsch gefaltete Moleküle anlagern und so wie Kristalle wachsen könnten (Abbildung 1b, Seite 35). Keines dieser Modelle konnte bisher direkt bewiesen werden.

Ein sehr aufregender Ansatz wurde vom amerikanischen Wissenschaftler Byron Caughey entworfen: im Reagenzglas wird PrP<sup>C</sup> in einen PrP<sup>Sc</sup>-ähnlichen Zustand überführt. Schönheitsfehler dieser viel versprechenden Methode ist allerdings, dass auch hier keine Vermehrung des Erregers

Dr. Adriano Aguzzi ist ordentlicher Professor für Neuropathologie an der Universität Zürich und Direktor des Instituts für Neuropathologie am Zürcher Universitätsspital.

dokumentiert werden kann. Kurt Wüthrich, Rudi Glockshuber und Kollegen von der ETH Zürich gelang die Aufklärung der räumlichen Anordnung der Atome des PrP<sup>C</sup> aus verschiedenen Tierspezies: dabei stellte sich eine verblüffende Ähnlichkeit zwischen den PrP<sup>C</sup>-Molekülen von Mensch und Rind heraus. Ein vergleichbarer Erfolg bezüglich der Struktur des PrP<sup>Sc</sup> ist jedoch noch nicht zu verzeichnen, denn die physikalischen Eigenschaften von PrP<sup>Sc</sup> haben bis jetzt seine Strukturanalyse verunmöglicht.

#### Die Spezies-Barriere

Die Reinigung von infektiösen Hamsterhirnextrakten führte 1985 zur Klonierung des Prion-Proteins durch Charles Weissmann und Mitarbeiter. PrP<sup>C</sup> ist mit einem Glykolipid an der Oberfläche von Nervenzellen, Gliazellen, Lymphozyten, so genannt follikulär-dendritischen Zellen und vermutlich weiteren Zelltypen verankert. Beide Formen von PrP besitzen dieselbe Aminosäuresequenz. Im Gegensatz zu PrP<sup>C</sup> ist PrP<sup>Sc</sup> relativ resistent gegenüber verdauenden Enzymen und verbindet sich leicht zu faserartigen Strukturen. PrP<sup>C</sup> unterscheidet sich von der krankmachenden Form durch seine räumliche Struktur. Dies führte zu der Hypothese, dass die Umwandlung von PrP<sup>C</sup> zu PrP<sup>Sc</sup> von einer Änderung der Struktur begleitet ist und dass dieser Vorgang die Prionen-Krankheiten auslöst.

Die experimentelle Übertragung von Prionen von einer Spezies auf eine andere ist häufig nicht möglich. So sind Mäuse kaum für Prionen empfänglich, die aus Gehirnen von infizierten Hamstern stammen. Dieses Phänomen bezeichnet man als Spezies-Barriere. Stanley Prusiner konnte jedoch zeigen, dass das Einschleusen eines Hamster-PrP-Gens in das Erbgut der Maus zur Anfälligkeit gegenüber Hamster-Prionen führt. In gleicher Weise wurde das menschliche PrP-Gen als Transgen in die Keimbahn der

Maus eingeschleust. Wie vermutet, werden diese transgenen Mäuse damit auch für menschliche Prionen empfänglich. Diese Beobachtungen lassen den Schluss zu, dass die genaue Reihenfolge der Aminosäuren im PrP<sup>C</sup>-Molekül wesentlich die Spezies-Barriere bestimmt.

#### Synthese unterbinden

Um die Rolle genauer zu untersuchen, die das Prion-Protein bei TSE spielt, hat die Arbeitsgruppe um Charles Weissmann das Prion-Gen der Maus inaktiviert. Die so gezüchteten PrP-Knockout-Mäuse (Prnp<sup>0/0</sup>) sind dadurch nicht mehr in der Lage, PrP<sup>C</sup> zu synthetisieren. Überraschenderweise zeigen diese Mäuse keine Entwicklungsstörungen, erreichen eine durchschnittliche Lebenserwartung und unterscheiden sich auch bezüglich ihres Verhaltens und ihrer Fertilität in keiner Weise von normalen Mäusen.

Diese Nager eröffneten nun die Möglichkeit, die Prion-Hypothese zu überprüfen. Falls sich diese Hypothese als richtig erweisen sollte, dürfte ein Organismus, der kein PrP<sup>C</sup> synthetisieren kann, den Erreger nicht vermehren können und wäre damit geschützt vor verdrehten Prionen. In der Tat erwiesen sich Prnp<sup>0/0</sup>-Mäuse als vollständig resistent gegen die Krankheit und waren unfähig, die krankmachenden Prionen zu vermehren. Mäuse mit einem intakten PrP-Gen (anstelle der normalen zwei Kopien) zeigten ebenfalls eine teilweise Resistenz gegenüber Prionen. Daraus kann abgeleitet werden, dass die Menge an exprimiertem PrP<sup>C</sup> direkt proportional ist zur Anfälligkeit für verdrehte Prionen. Dies ist eine besonders wichtige Entdeckung: ein möglicher Therapie-Ansatz könnte auf eine Verminderung der PrP-Produktion durch die Nervenzellen abzielen.

#### Programmierter Selbstmord

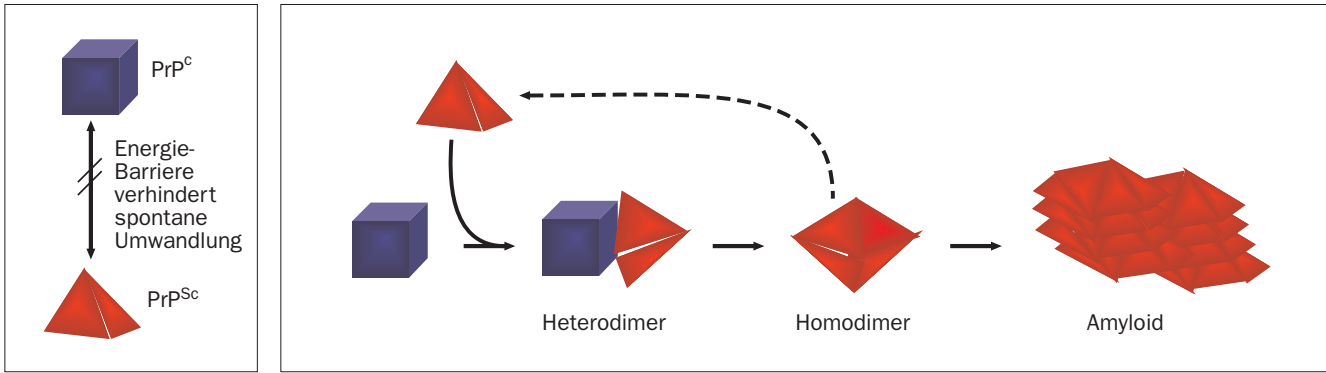
Obwohl sich der Erreger keineswegs nur im Gehirn befindet, sind die nachweisbaren Schäden auf

das Nervensystem beschränkt. Was sich bei dieser Zerstörung auf molekularer Ebene abspielt, wird erst teilweise verstanden. Sicher ist, dass die Nervenzellen an einer Art programmiertem Selbstmord sterben. Es wird angenommen, dass aus PrP<sup>Sc</sup> bestehende Ablagerungen für die zerebralen Läsionen verantwortlich sind. Andere Experimente deuten darauf hin, dass Zytokine genannte Botenstoffe, die in erhöhten Konzentrationen im Hirn von infizierten Mäusen nachgewiesen werden können, eine entscheidende Rolle in der Entstehung der Krankheit spielen. Ob es sich bei diesen Befunden um eine Ursache oder aber um Folgen der Schädigung handelt, ist unbekannt. Wie und weshalb Nervenzellen geschädigt werden, hat auch unser Labor über mehrere Jahre beschäftigt. In unseren Versuchen zeigte sich, dass die Anhäufung von PrP<sup>Sc</sup> nur diejenigen Nervenzellen schädigt, die PrP<sup>C</sup> auf ihrer Oberfläche tragen. Demnach vermuten wir, dass PrP<sup>C</sup> eine Art Rezeptor für die Hirnschädigung darstellt.

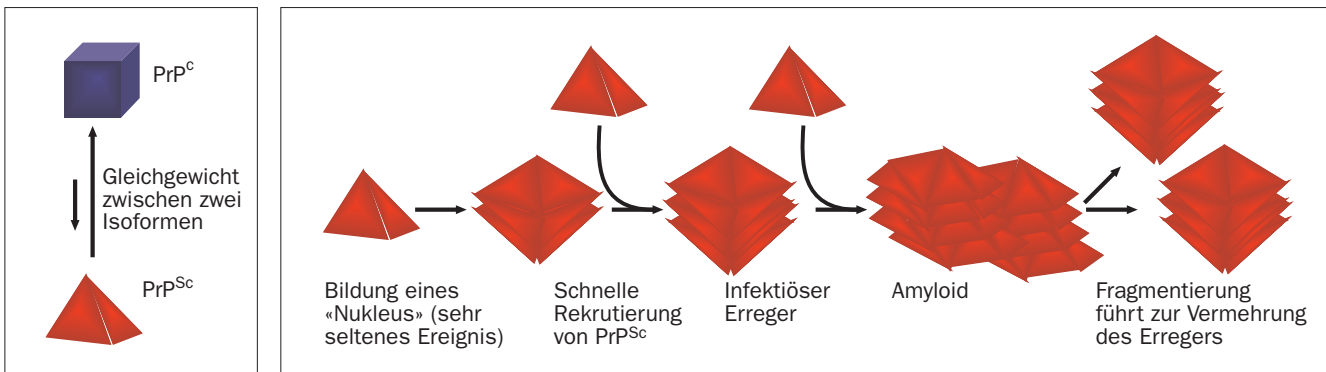
Welche Zellen in den einzelnen Phasen der Infektion eine Rolle spielen oder die Vermehrung von Prionen fördern, ist spekulativ. Die Expression von PrP<sup>C</sup> scheint aber notwendig zu sein, damit eine Zelle Prionen vermehren kann. Auch hier hat die transgene Technologie an der Maus zum besseren Verständnis der zellbiologischen Abläufe während der Prionen-Vermehrung beigetragen. Mit Hilfe von zellspezifischen Promotoren in transgenen und Prnp<sup>0/0</sup>-Mäusen konnte die Arbeitsgruppe um Bruce Chesebro Zellen im Zentralnervensystem identifizieren, die an der Vermehrung der Prionen beteiligt sind. Neuronen und Astrozyten scheinen demnach an der Vermehrung verdrehter Prionen im Gehirn beteiligt zu sein. Ob weitere Zelltypen eine Rolle spielen, ist noch unbekannt.

Offenbar bedarf es für die Ausbreitung von krankmachenden

«Refolding»-Modell nach Prusiner (Abbildung 1a)



«Seeding»-Modell nach Gajdusek, Lansbury (Abbildung 1b)



Zwei mögliche Szenarien für die Prion-Protein-Vermehrung: Prusiner postuliert, dass ein PrP<sup>Sc</sup>-Molekül einer infektiösen Einheit entspricht (Abbildung 1a). Gajdusek und Lansbury gehen dagegen davon aus, dass erst eine Anhäufung von PrP<sup>Sc</sup> eine Infektionseinheit bilden (Abbildung 1b).

den Prionen einer kontinuierlichen Kette von PrP<sup>C</sup>-exprimierenden Zellen. Dies konnten wir demonstrieren, indem wir Prnp<sup>0/0</sup>-Mäuse mit einem PrP-exprimierenden Hirntransplantat via Auge infiziert haben und keine pathologischen Veränderungen nachweisen konnten. In Kontrollexperimenten zeigte sich, dass bei Wildtyp-Mäusen die so eingebrachten Prionen entlang der Sehbahn transportiert werden.

**Vom Darm ins Gehirn**

Obwohl das direkte Einbringen von Prionen ins Gehirn den wirksamsten experimentellen Infektionsweg darstellt, spielt diese Art der Infektion für die natürliche Übertragung eine geringe Rolle. Es wird angenommen, dass der Übertragungsweg sowohl von BSE als auch von vCJK vom Verdauungstrakt ausgeht. Da sich Prionen-Krankheiten primär als Erkrankungen des Zentralnervensystems manifestieren und die höchsten Konzentrationen der Er-

reger im Hirn nachweisbar sind, kommt der Prionen-Invasion vom Verdauungstrakt ins Gehirn eine zentrale Bedeutung zu. Die Infektion eines Organismus mit infektiösen Prionen erfolgt nach einem präzise ablaufenden Mechanismus, der einerseits durch den Genotyp des Wirtes und andererseits durch die Art der Prionen definiert ist. Unsere Arbeitsgruppe hat es sich deshalb zum Ziel gesetzt, die einzelnen Stationen des Prionen-Transports von der Peripherie ins zentrale Nervensystem genauer zu untersuchen.

In den meisten Fällen führt die Prion-Infektion zu einer anfänglichen Vermehrung des Erregers in den lymphatischen Organen – beispielsweise Milz, Lymphknoten und Mandeln. Dies zeigt keinerlei Auswirkungen auf den Wirt. In einer zweiten Phase folgt die Prionen-Einwanderung ins Zentralnervensystem. Aus unseren Resultaten geht hervor, dass es für den Transfer von Prionen von der Milz ins Nervensystem eines PrP-exprimierenden Gewebes bedarf,

das ausserhalb des Nervensystems liegt. Gewisse Befunde lassen darauf schliessen, dass dem peripheren Nervensystem bei der Ausbreitung der Erreger eine wichtige Rolle zukommt. Allerdings ist es äusserst schwierig, diese letzte Hypothese experimentell zu bestätigen.

**Zuerst Moleküle identifizieren**

Wenn aber die oben genannten Organsysteme erforderlich sind, um die Ausbreitung der verdrehten Prionen im Körper zu ermöglichen, welche Moleküle sind dann an diesem Prozess beteiligt? Ihre Identifikation könnte ein erster Schritt sein, um die Ausbrei-



Bild: Keystone

Mit über 300 erkrankten Rindern ist die Schweiz nach Grossbritannien und Irland das Land mit der drittgrössten BSE-Durchseuchung.

tung der Prionen zu bekämpfen. Wir wissen mittlerweile, dass PrP<sup>C</sup> selbst ein wichtiges Molekül in dieser Kette darstellt: PrP<sup>C</sup> wird nicht nur im Zentralnervensystem exprimiert, sondern auch in verschiedenen anderen Zellen des Körpers, beispielsweise in Lymphozyten. Tatsächlich sind Mäuse, denen die B-Lymphozyten fehlen, vor der Erkrankung geschützt, wenn ihnen infektiöse Prionen in die Bauchhöhle gespritzt werden.

Dies bestätigt, dass B-Lymphozyten eine wichtige Rolle im Transport der Prionen spielen. Möglicherweise liegt die Bedeutung der B-Lymphozyten darin, die Reifung einer zweiten Zellart zu begünstigen, die vielleicht direkt an den krankmachenden Prozessen beteiligt ist. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Charles Weissmann (welcher

nach seiner Emeritierung vom Lehrstuhl für Molekularbiologie der Universität Zürich nach London zog, um dort weiter an den Prionenkrankheiten zu forschen) haben wir kürzlich die Hypothese getestet, dass B-Lymphozyten ein Signal an «follikulär dendritische Zellen» vermitteln, welches für die Entstehung der Erkrankung von Bedeutung ist. Fabio Montrasio ist dabei der Beweis gelungen, dass die Unterbrechung dieses Signals mittels eines löslichen Rezeptors die Akkumulation der Prionen in der Milz verhindern kann.

#### **Behandlung entwickeln**

Wo liegt nun die Bedeutung der oben beschriebenen Forschungsergebnisse für die BSE-Krise? Sicher wäre es wünschenswert, eine Art Postexpositions-Prophylaxe, das heisst eine Behandlung nach einer möglichen Ansteckung mit Prionen zu entwickeln; insbesondere, wenn man bedenkt, dass möglicherweise ein grosser Teil der Bevölkerung sowohl Gross-

britanniens als auch des kontinentalen Europas dem BSE-Erreger ausgesetzt gewesen ist. Dies wird jedoch erst möglich sein, wenn diejenigen Moleküle und Zellen identifiziert sind, die den infektiösen Prionen als Ziel dienen und die somit als Angriffspunkt für eine Therapie in Frage kommen.

Die völlige Ruhigstellung des Immunsystems stellt natürlich keine gangbare praktische Lösung für diejenigen Menschen dar, die sich angesteckt haben – ausser vielleicht nach einer massiven Exposition zu einem genau bekannten und gut definierten Zeitpunkt. Meine Hoffnung ist, dass wir in den kommenden Jahren die Mechanismen der Prionen-Invasion ins Nervensystem immer besser verstehen werden. Dadurch könnten wirkungsvolle Strategien für eine Postexpositions-Prophylaxe oder sogar für eine Therapie entwickelt werden.