

Kleine chemische Veränderungen – grosse biologische Folgen. Das Influenza-Virus und unser Immunsystem

Th. Staehelin *

Institut für Immunologie, Basel

Dieser vielleicht etwas mysteriös klingende Titel umschreibt die Auseinandersetzung zwischen einem bestimmten Krankheitserreger und unserem Immun- oder Abwehrsystem.

Der Krankheitserreger ist das Influenza-Virus A, d. h. das Virus, welches die immer wieder neu auftretenden grossen Grippe-Epidemien verursacht. Viele von uns haben sich wahrscheinlich schon gefragt, warum wir andere Viruserkrankungen wie die Röteln, die Masern, die Windpocken und den Mumps nur einmal im Leben, meistens in der Kindheit, durchmachen, während wir von jeder neuen Grippe-Epidemie befallen werden und mehr oder weniger schwer erkranken können. Offenbar sind die oben genannten Krankheitserreger stabil und starr und rufen nach einmaligem Befall eine lebenslängliche Immunität hervor, während das Grippe-Virus A sich bei jeder Epidemie wie ein neuer, noch nie von unserem Immunsystem erkannter Erreger verhält. Das heisst, in der Auseinandersetzung mit dem menschlichen Immunsystem geht das Grippe-Virus immer wieder als Sieger hervor und entrinnt der durch die letzte Epidemie hervorgerufenen Immunität.

Das Immunsystem in der Abwehr von Krankheitserregern

Bevor wir den von Professor Stephan Fazekas de St. Groth (Sydney, Australien), gegenwärtig im Institut für Immunologie, Basel, postulierten und in wesentlichen Punkten experimentell bestätigten Mechanismus, nach dem sich das Grippe-Virus offenbar wandelt und so der Immunität entrinnt, näher betrachten wollen, möchte ich kurz beschreiben, wie eine Immunität entsteht und wie das Immunsystem arbeitet. Das tierische Immunsystem ist vergleichbar mit einer riesigen Armee von hochspezialisierten Soldaten. Die

Soldaten sind die Lymphzellen oder Lymphozyten (eine Art von weissen Blutkörperchen) unseres Blutsystems. Ihre Waffen oder Munition sind die Antikörper, das sind Eiweissmoleküle, welche hochspezifisch fremde, d. h. nicht körpereigene Strukturen, z. B. chemische Substanzen, Proteine, Oberflächenstrukturen von Mikro-Organismen und Krankheitserregern, erkennen können. Diese Fremdstrukturen nennen wir Antigene. Antigene können durch die Verbindung mit spezifischen Antikörpern eliminiert und unschädlich gemacht werden. Das Erstaunliche an unserem Immunsystem liegt in der fast unbeschränkten Vielfalt der möglichen Spezifitäten. In anderen Worten, jeder Organismus ist fähig, gegen Hunderttausende oder vielleicht Millionen verschiedener, vom Individuum noch nie gesehener Fremdsubstanzen mit der Produktion von spezifischen Antikörpern zu reagieren. Jeder Lymphozyt kann jedoch nur eine Art von Antikörper produzieren; d. h. seine Spezifität ist prädestiniert und nur gegen ein bestimmtes Antigen gerichtet. Da die Antikörper Eiweissmoleküle sind, deren verschiedene Spezifitäten durch Unterschiede der Aminosäuresequenz bedingt sind, müssen sich die Lymphozyten durch entsprechende genetische Variationen in einem Abschnitt (Gen) des Chromosoms unterscheiden, das die Synthese des Antikörpers kodiert. Diese fast unendliche Vielfalt in den Antikörper-Genen der Lymphozyten und deren Entstehung, sei es in der Entwicklungsgeschichte über Tausende von Generationen oder während der Individualentwicklung, ist eines der grundlegendsten und interessantesten Probleme der Immunologie und wird am Institut für Immunologie, Basel, und in vielen anderen Laboratorien untersucht. Wir nehmen für die gegenwärtige Betrachtung diese Diversität als gegebene Tatsache hin.

Abb. 1 stellt schematisch die Struktur eines Antikörpers dar. Jeder Antikörper besteht aus vier Proteinuntereinheiten. Je zwei davon sind identisch. Je eine kurze (light chain) und eine lange (heavy chain) Polypeptid-

* Prof. Dr. Th. Staehelin, Institut für Immunologie, Grenzacherstrasse 487, CH-4058 Basel

kette sind unter sich und die beiden langen wiederum durch Disulfidbrücken zu dem Y-förmigen Antikörpermolekül verbunden. Die kurzen und die langen Polypeptidketten haben je einen konstanten Teil (hellgrau) und einen variablen Teil (dunkelgrau). Der konstante Teil ist vielen Antikörper-Molekülararten gemeinsam,

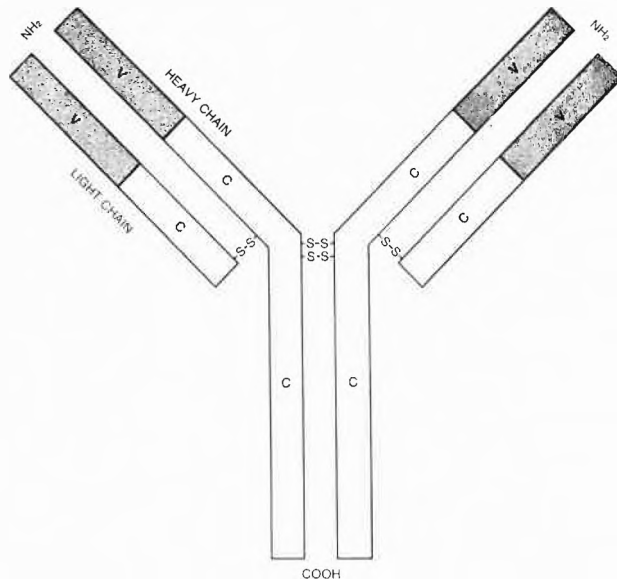


Abb. 1: Schematische Grundstruktur des Antikörper-Proteinmoleküls

während sich die Aminosäuresequenz verschiedener Antikörperarten im variablen Teil unterscheidet. Die Vielfalt der Lymphozyten und ihrer spezifischen Antikörper beruht somit auf den Unterschieden in der Aminosäuresequenz der variablen Teile der Antikörper. Jedes Antikörper-Molekül besitzt zwei identische Erkennungs- oder Bindungsstellen für ein spezifisches Antigen an den variablen Enden des Ypsilon. Antikörper von verschiedenen Lymphozyten unterscheiden sich im variablen Teil; Antikörper von einem individuellen Lymphozyten sind jedoch unter sich identisch. Wie verläuft nun die Immunantwort? Ohne die Stimulation durch Antigene sind die Lymphozyten im Ruhezustand. An seiner Oberfläche trägt jedoch jeder Lymphozyt seine Antikörper, d.h. seine Munition in Form sogenannter Immunrezeptoren. Wie gesagt, kann jeder Lymphozyt nur eine Art von Antikörper herstellen. Dringt nun ein Antigen, z.B. ein Krankheitserreger mit spezifisch definierter chemischer Oberflächenstruktur, in den Körper ein, so wird es von den wenigen Lymphozyten, welche die passenden Antikörper (Immunrezeptoren) tragen, durch Bindung an die Rezeptoren erkannt. Dies ist, stark vereinfacht ausgedrückt, das Auslösesignal für die Immunantwort. Die so stimulierten Lymphozyten beginnen sich durch Zellteilung zu vermehren, so dass aus anfänglich vielleicht ein paar Tausend in wenigen Tagen ein paar Millionen entstehen. Diese differenzieren sich schliesslich und synthetisieren grosse Mengen ihrer Antikörper, welche sie in den Blutstrom ausschütten. Die frei-

gesetzten Antikörper können nun grosse Mengen von Antigen (den sich vermehrenden Krankheitserreger) neutralisieren und unschädlich machen. Nach dieser Schlacht bleibt eine grössere Anzahl von den durch das Antigen spezifisch stimulierten Lymphozyten als sogenannte «Gedächtniszellen» im Organismus zurück. Diese reagieren auf ein späteres Eindringen des selben Antigens blitzschnell und effektiv, so dass gegen dieses Antigen eine bleibende Immunität besteht. In Klammern sei hier beigelegt, dass der Grundsatz, Antikörper-Produktion führt zur Inaktivierung des Erregers und Gesundung und Immunität des Individuums, für die meisten Krankheitserreger (im besonderen für die anfangs genannten Viruserkrankungen) Gültigkeit hat. Doch bei gewissen Erkrankungen kann die Verbindung von Antikörper und Antigen selbst schädlich sein und zum Krankheitsbild wesentlich beitragen. Doch dies ist nicht der Fall bei der Grippe.

Der ganze Vorgang der Immunantwort ist vereinfacht und schematisch in Abb. 2 dargestellt. Wichtig ist die

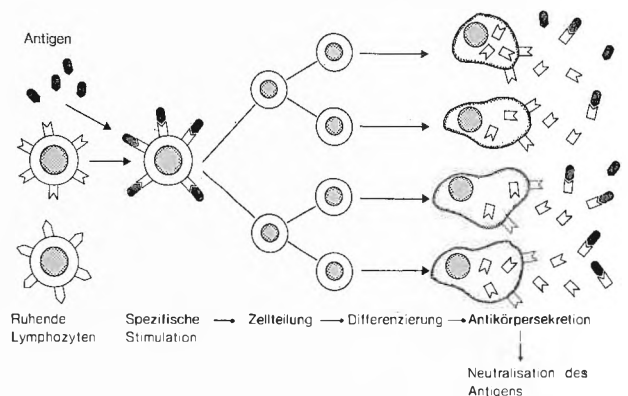


Abb. 2: Vereinfachte Darstellung der Immunantwort als Folge der Stimulation durch ein spezifisches Antigen

nur angedeutete Tatsache, dass von den unendlich vielen Lymphozyten, die sich durch die Verschiedenheit des Antikörperrezeptors unterscheiden, nur diejenigen zur Immunantwort stimuliert werden, welche das spezifische Antigen durch den passenden Antikörper erkennen, und dass nun gegen dieses spezifische Antigen eine bleibende und wirkungsvolle Immunität besteht. Daraus geht zwingend hervor, dass im Falle des Influenza-Virus A eine neue Epidemie, die wieder die ganze Menschheit erkranken lässt, ein gegenüber der früheren Epidemie verändertes Antigen haben muss. Abb. 3 zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme des Influenza-Virus A. An der Oberfläche erkennt man stäbchenförmige Fortsätze (etwa 600 pro Viruspartikel). Die antigene Stelle des Grippe-Virus, die von unserem Immunsystem erkannt wird und für die Infektivität des Virus essentiell ist, sitzt am Ende dieser Stäbchen. Da die antigene Stelle ein Teil eines Proteins ist, dessen Aminosäuresequenz durch eines der Nukleinsäure-Gene des Virus kodiert wird, muss jeder Veränderung des Antigens eine Mutation in der Nukleinsäure zugrunde liegen.

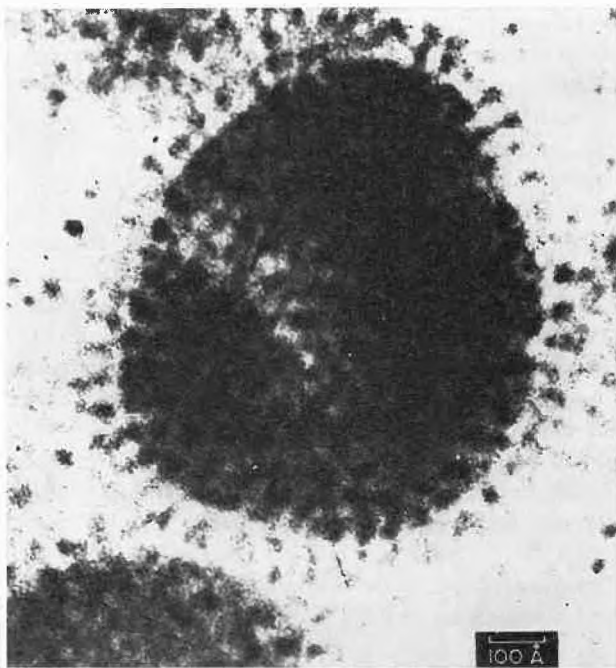


Abb. 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Influenza-Virus A

Das Influenza-Virus entrinnt der Immunität durch Mutationen

Wir haben festgestellt, dass sich ein Antikörper im allgemeinen hoch spezifisch mit einem bestimmten Antigen verbindet. Dies schliesst jedoch nicht aus, dass derselbe Antikörper gegen ein anderes sehr ähnliches (verwandtes) Antigen auch reagieren kann. Dies nennt man eine Kreuzreaktion. Professor S. Fazekas studierte ursprünglich am Modell des Grippe-Virus als Antigen grundsätzlich die Natur und Thermodynamik der Antigen-Antikörper-Reaktionen. Dabei stellte er fest, dass im Falle des Grippe-Virus die Antigen-Antikörper-Bindung auf rein hydrophoben Interaktionen beruht. Die Methoden, die er dabei entwickelte, erlauben die exakte Messung der Bindungsstärke zwischen Antigen und Antikörper und deshalb auch die Erfassung von relativ schwachen Kreuzreaktionen. Seine Studien beschränkten sich ursprünglich auf wenige der seit 1933 systematisch isolierten Grippe-Virusstämme. Die Viren können in befruchteten und bebrüteten Hühnereiern oder in Zellkulturen in grossen Mengen produziert werden. Das gereinigte Virus kann als Impfstoff im Kaninchen genau wie im Menschen die Produktion von Antikörpern hervorrufen. Das Blutserum vor und nach Immunisierung kann auf Antikörper geprüft werden, indem man den sogenannten Neutralisierungstiter bestimmt, d.h. die grösste Verdünnung ermittelt, in welcher das Serum noch fähig ist, eine bestimmte Menge von Viren zu neutralisieren und dabei ihre Infektivität aufzuheben. Die Infektivität wird in Zellkulturen oder überlebenden Hühner-Allantoismembranstücken getestet. Ein solcher Versuch zeigt, dass das Kaninchenserum vor der Impfung einen Titer von weniger als 1 hatte, denn selbst das

unverdünnte Serum neutralisierte die Viren nicht. Das Serum hingegen, das demselben Kaninchen zwei Wochen nach der Impfung entnommen wurde, hatte einen Titer von über 1000; denn es neutralisierte die Viren noch in einer tausendfachen Verdünnung. Mit dieser Grundtechnik war Fazekas nun in der Lage, das Problem der Kreuzreaktion anzupacken. Er wählte jetzt Viren aus, die verschiedene, aufeinanderfolgende Grippe-Epidemien verursacht hatten, und immunisierte mit jedem Virusstamm Kaninchen zur Erzeugung spezifischer Immunsera. Als Beispiel seien die Versuche mit dem Honkong-Virus von 1968 und den Viren der folgenden Epidemien von 1970 bis 1972 angeführt. Er ermittelte die Wirksamkeit eines jeden Antiserums gegen jedes Virus, führte also Kreuzreaktionen durch. Daraus ergaben sich die in Tabelle 1 dargestellten Neutralisierungstiter. Zur Erleichterung der Interpretation wurde die Wirksamkeit jedes Serums gegen das immunisierende Virus mit 100 % bezeichnet – daher die Werte 100 in der Hauptdiagonale der Tabelle.

Tabelle 1

Epidemischer Virusstamm	Antikörper gegen Virusstamm			
	1968	1970	1971	1972
1968	100	92	114	87
1970	12	100	95	92
1971	7	9	100	100
1972	10	9	12	100

Das Auffallende am Resultat ist die Asymmetrie der Kreuzreaktionen: alle hohen Titer liegen oberhalb der eingezeichneten Hauptdiagonale und alle niedrigen Titer darunter. Was bedeutet das? Antikörper scheinen «retrospektiv» wirksam zu sein, nicht jedoch «prospektiv». Dies Resultat ist sicher einmal im Einklang mit der Tatsache, dass ein neues Virus sich in einer Bevölkerung verbreiten kann, die gegen seinen Vorgänger immun war. Die wichtige Frage war nun, wie man diese «schiefe» Kreuzreaktion aufgrund der molekularen Interaktion zwischen dem Virus-Antigen und den Antikörpern erklären konnte. Es war anzunehmen, dass jeder neue Virusstamm durch Mutation, resultierend in der Substitution einer im einfachsten Falle einzigen Aminosäure durch eine andere, entstanden ist. Der neue Virusstamm wäre somit seinem Vorgänger ausserordentlich ähnlich. Trotzdem muss die molekulare Veränderung im Antigen so beschaffen sein, dass sie sich die meisten Antikörper, die gegen seinen Vorgänger wirksam waren, im wahren Sinne des Wortes vom Leibe halten kann, während die meisten Antikörper gegen den neuen Stamm auch sehr effektiv mit dem vorhergehenden kreuzreagieren. Fazekas hat diese experimentelle Beobachtung in einem Modell zusammengestellt, das sowohl den genetischen

Regeln wie den molekularen Interaktionen zwischen Antigen und Antikörper Rechnung trägt. Er postulierte, dass in einer solchen Reihe von Virusstämmen durch Einzelmutation jeweils an der gleichen Stelle des Antigens sukzessive eine kleinere Aminosäure durch eine grössere ersetzt wird. Entsprechend der von Fazekas experimentell erkannten Natur des Grippe-Virus-Antigens müssen jedoch alle diese Aminosäuren nicht geladen, d.h. hydrophob, sein. Eine solche mit dem genetischen Code übereinstimmende Mutationsreihe wäre die in Abb.4 dargestellte Serie Valin → Leucin → Phenylalanin → Tyrosin. Von Tyrosin kann durch keine

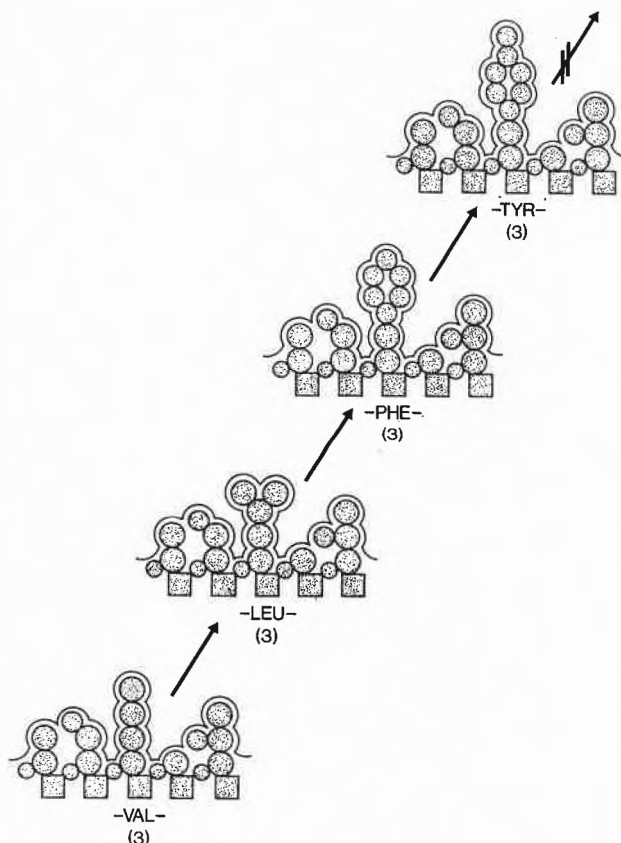


Abb.4: Postulierte Veränderung des Influenza-Virus-Antigens in der hierarchischen Reihe eines Virus-Subtyps durch sukzessive Substitution einer Aminosäure durch eine grössere

Mutation eine noch grössere ungeladene Aminosäure erreicht werden, d.h. die Kette bricht hier ab. In Abb.5 sind sehr schematisch die antigene Stelle und die möglichen oder nicht möglichen Verbindungen mit den entsprechenden Antikörpern einer solchen hierarchischen Virusstammreihe dargestellt. In einer solchen Serie werden alle Vorläufer untergeordnet und alle späteren Stämme als übergeordnet bezeichnet, entsprechend der Tatsache, dass Antikörper gegen übergeordnete Stämme untergeordnete Viren neutralisieren können, nicht jedoch umgekehrt. In der Mittelreihe von Abb.5 sind die Antigene mit ihren homologen perfekt passenden Antikörpern dargestellt. Die oberste Reihe zeigt die »retrospektive« Kreuzreaktion eines gegen die übergeordneten Viren gerichteten Antikörpers mit dem

nächstuntergeordneten Virus. Die untere Reihe veranschaulicht, wie das übergeordnete Virus durch den verlängerten Finger (grössere Aminosäure) die Verbindung mit dem Antikörper gegen das untergeordnete Virus verunmöglicht, d.h. sich diesen Antikörper vom Leibe hält.

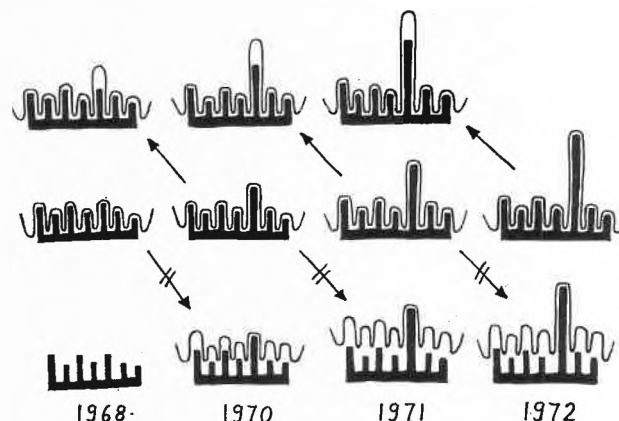


Abb.5: Schematische Darstellung der Antigen-Antikörper-Reaktion zwischen den Mitgliedern eines Virus-Subtyps. Von links nach rechts zunehmende Überordnung des Antigens (schwarzer Kamm). Mittlere Reihe: Verbindung mit optimal passendem homologem Antikörper. Obere Reihe: »Retrospektive« erfolgreiche Kreuzreaktion zwischen übergeordnetem Antikörper und untergeordnetem Virus-Antigen. Untere Reihe: »Prospektive« erfolglose Kreuzreaktion zwischen untergeordnetem Antikörper mit übergeordnetem Virus-Antigen. Die gefaltete Linie stellt die Bindungsstelle des Antikörpers dar

1968 und 1969 stellte Fazekas durch Impfung Antikörper im Kaninchen gegen alle seit 1933 isolierten Virusstämmen her und untersuchte systematisch die Kreuzreaktionen zwischen sämtlichen Seren und sämtlichen Viren. Dabei fand er, dass die Viren in diesem 35jährigen Zeitabschnitt in drei voneinander anscheinend unabhängige hierarchische Reihen von je 3 bis 4 Stämmen der oben beschriebenen Art fielen. Von 1968 bis 1972 entstand eine vierte Hierarchie von insgesamt vier Virus-Epidemien (vgl. Tabelle 1). Diese hierarchischen Reihen werden als die Subtypen A₀, A₁, A₂ und A₃ bezeichnet. Antikörper gegen die Mitglieder eines Subtyps zeigen die charakteristische, retrospektiv starke Kreuzreaktion gegen untergeordnete Viren und die viel geringere, prospektive, in der Regel nicht 15% übersteigende Kreuzreaktion gegen übergeordnete Stämme. Zwischen Viren eines Subtyps und Antikörpern eines anderen Subtyps besteht nur eine minimale, d.h. weniger als 1%ige Kreuzreaktion. Jedoch am Ende eines Subtyps und vor dem Auftreten eines neuen Subtyps wurden immer eine Reihe von meist kleinere Epidemien erzeugenden Virusstämmen beobachtet und isoliert. Diese bezeichnete Fazekas als Überbrückungsstämmen, da sie im Tier und in den von ihnen befallenen Menschenpopulationen die Bildung von Antikörpern hervorriefen, die sowohl gegen den ersten und gelegentlich den zweiten untergeordneten Stamm der vorhergehenden Subtypenserie als auch gegen die untergeordnetsten Stämme des folgenden

Subtyps kreuzreagieren. Die molekulare, strukturelle Grundlage in der Entstehung der Überbrückungsstämme und ihre von Fazekas postulierte Bedeutung für den Wechsel von einem Subtyp zu einem neuen ist in Abb. 6 dargestellt.

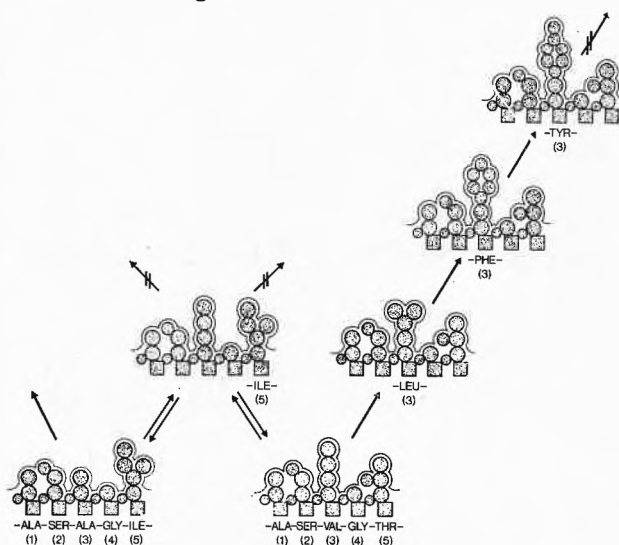


Abb. 6: Postulierte Veränderung des Virus-Antigens bei der Entstehung eines neuen Subtyps (links) aus einem untergeordneten Stamm des alten Subtyps (rechts) via einen Überbrückungsstamm (Mitte)

Die sukzessiven Mutationen innerhalb einer Subtypenreihe des Virus entsprechen also dem leichtesten Fluchtweg aus der Immunität nach vorn, der jedoch in einer ausweglosen Sackgasse endet. Eine neue Subtypenreihe kann nur durch Mutationen an einer anderen Aminosäureposition im Antigen entstehen. Das bedingt jedoch, dass einige untergeordnete Viren die ganze Subtypenperiode überleben. Sie tun dies wahrscheinlich unter dem Schutz einer zweiten Mutation in Form des schematisch dargestellten Überbrückungsstammes. Diese zweite Mutation schützt die Viren gegen die Antikörper der übergeordneten Stämme des gegenwärtig grassierenden Subtyps. Solche Überbrückungsstämme werden am Ende einer Subtypenperiode erfassbar durch das Auftreten lokalisierter Epidemien. Der Überbrückungsstamm kann jedoch in der neu mutierten Position nicht weiter mutieren ohne eine vorherige Rückmutation in der Position des vorläufigen Subtyps zu einer kleineren Aminosäure. Das Antigen kann nämlich in Anwesenheit von zwei grossen hydrophoben Aminosäuren nicht mehr die native, für die Infektivität essentielle Konformation annehmen. Die beiden grossen hydrophoben Aminosäuren würden während der Faltung des Antigens eine sogenannte hydrophobe Umstülpung bewirken, welche in einer völlig neuen und nicht tolerierbaren Konformation des Gesamtmoleküls resultieren würde.

Sobald diese Rückmutation in der früheren Position stattgefunden hat, ist der erste Stamm des nächsten Subtyps entstanden und kann nun durch sukzessive Vorwärtsmutationen die neue Subtypenhierarchie ent-

wickeln. Das Auftreten des ersten Stammes eines neuen Subtyps hat jedesmal eine sogenannte Pandemie mit den schwersten Grippe-Erkrankungen zur Folge, da Antikörper gegen den vorhergehenden Subtyp nur minimal mit dem neuen kreuzreagieren und deshalb keine Schutzwirkung im Immunsystem besteht. Nur in den Gebieten, in denen ein Überbrückungsstamm existierte, besteht gegen den ersten und gelegentlich zweiten Stamm des neuen Subtyps eine Immunität. Dies wurde in der Tat 1968 und 1969 in Australien und Neuseeland beobachtet, wo eine vorhergegangene Überbrückungsstammepidemie dann tatsächlich eine effektive Immunität gegen die 1968 und 1969 sich über die Welt ausbreitende Hongkong-Pandemie bewirkte. Die Sonderstellung und Bedeutung der Überbrückungsstämme hat Fazekas richtig erkannt und in seine Hypothese für den Evolutionsmechanismus des Grippe-Virus einbezogen. Wie nach seinem Modell erwartet, haben dann die übergeordneten Stämme des neuen Subtyps (A_3) auch in Australien und Neuseeland Epidemien ausgelöst.

Soweit haben wir die Evolution des Grippe-Virus in seiner erfolgreichen Auseinandersetzung mit dem menschlichen Immunsystem mit dem sukzessiven Auftreten von neuen Subtypen und deren hierarchisch sich mutierenden Stämmen beschrieben. Zwischen dem Auftreten des einen und dem eines nächsten Subtyps vergehen im Durchschnitt etwa elf Jahre. Unter Evolution verstehen wir normalerweise eine mehr oder weniger gradlinige Entwicklung, die sich mehr und mehr von einer Ursprungsform entfernt. Doch beim Grippe-Virus tritt nach einer Periode von etwa siebzig Jahren, d. h. der Zeitspanne eines Menschenlebens, plötzlich eine Wiederholung auf. Die Entwicklung ist also nicht gradlinig, sondern kreisförmig. In Patientenseren, die in den dreissiger und vierziger Jahren gewonnen und aufbewahrt worden waren, konnte man nämlich zwanzig bis dreissig Jahre später Antikörper gegen die Grippe-Viren der fünfziger und sechziger Jahre nachweisen. Genauer ausgedrückt, besaßen Menschen, welche die Pandemie von 1889 und die folgenden Epidemien durchgemacht hatten, Antikörper gegen die 1957 auftretende asiatische Pandemie und deren folgende Epidemien. Desgleichen fanden sich in 1933 und später gesammelten Seren von Menschen, die die Pandemie von 1900 erlebt hatten, Antikörper gegen die Hongkong-Pandemie von 1968.

Aus den früheren epidemiologischen Aufzeichnungen und den Laboratoriumsuntersuchungen über die seit 1933 isolierten Grippestämme müssen wir annehmen, dass nach Fazekas' Hypothese das Grippe-Antigen, das vermutlich aus zehn bis zwölf Aminosäuren des grossen Hämagglutinin-Proteins besteht, wahrscheinlich nur in sechs Positionen effektiv mutieren kann; d. h. es gibt sechs Subtypen. Diese Mutationen werden unter dem Druck der Populationsimmunität selektiert, und ihre Reihenfolge wird bestimmt. Dieser Selektionsdruck führt zu den hierarchischen Reihen von unter-

geordneten zu übergeordneten Stämmen innerhalb eines Subtyps und zur Überbrückung und Entstehung des nächsten Subtyps. Der ganze Zyklus dauert ziemlich genau die Zeitspanne eines Menschenalters. Die Reihenfolge der wahrscheinlich sechs möglichen Subtypen sollte immer dieselbe sein, weil sie streng durch die jeweils prozentual geringste noch vorhandene Herdenimmunität diktiert wird.

Der Gesamtzyklus der von Fazekas postulierten Influenza-Virus-Evolution ist in Abb. 7 dargestellt. In seiner Hypothese hat Fazekas Beobachtungen vieler Kollegen und Epidemiologen sowie seine eigenen umfassenden experimentellen Analysen der seit 1933 isolierten Grippestämme logisch und entsprechend den Erkenntnissen der molekularen Genetik interpretiert und zusammengefasst.

Soweit haben wir nur die sich langsam vollziehenden Experimente der Natur betrachtet und interpretiert. Wie der gestrichelte Teil von Abb. 7 zeigt, braucht es etwa noch dreissig Jahre, bis sich der Zyklus in der Natur bis zum Stande von 1933 vollendet haben wird und wir voraussichtlich sämtliche möglichen Grippe-Virus-Stämme in unseren Händen haben und somit durch strenge chemische Analysen die Hypothese von Fazekas testen können.

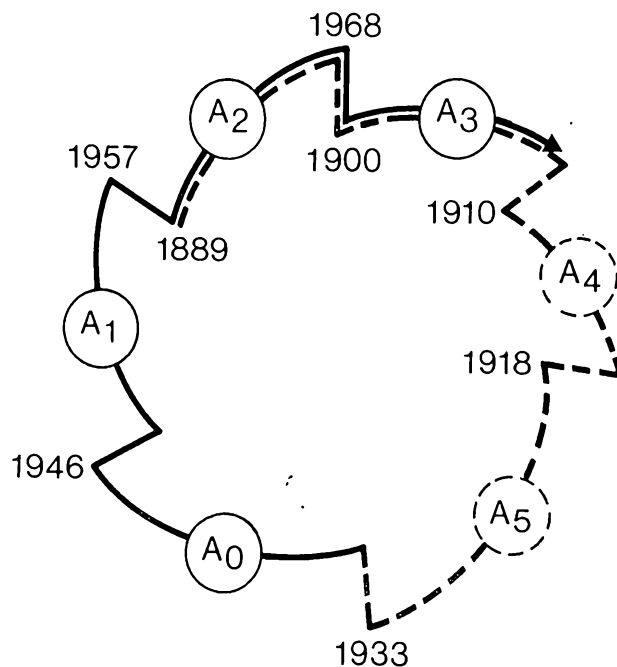


Abb. 7: Zyklische «R»-evolution des Influenza-Virus A in Form der sich periodisch (alle 70 Jahre) wiederholenden Subtypen-Hierarchie-Reihen: A₀, A₁, A₂, A₃, A₄ und A₅

Kann man nun dem langsamen Experimentieren der Natur im Laboratorium vorgreifen und gleichsam im Zeitrafferverfahren die Natur imitieren? Dies hat Professor Fazekas in der Tat getan. Wie wir aus Tabelle 1 ersehen, sind Antikörper gegen untergeordnete Stämme eines Subtyps auch in geringem Masse gegen die übergeordneten Stämme desselben Subtyps wirksam. Dies erklärt sich daraus, dass das Immunsystem des

Menschen oder Tieres nicht nur mit ideal passenden Antikörpern gegen das Antigen reagiert, sondern mit einer grossen Anzahl leicht verschiedener Antikörper. Einige davon passen zwar schlechter zum stimulierenden Antigen, aber zeigen dafür eine gewisse Kreuzreaktion auch mit übergeordneten Viren. Diese Antikörper sind hauptsächlich dafür verantwortlich, dass die Überlebenschancen des nächst übergeordneten Stammes ebenfalls reduziert sind und es darum einige Zeit dauert, bis dieser Stamm dominant wird. Fazekas hat nun den Naturversuch in der Gewebekultur im Laboratorium nachvollzogen, indem er die Imperfektion der natürlichen Immunität eliminierte. Er infizierte Hühnerallantois-Membranen mit einer sehr grossen Dosis des untergeordnetsten Stammes eines Subtyps unter Beigabe eines Überschusses der durch Reinigung aus Kaninchenserum gewonnenen allerbesten Antikörper. Diese Antikörper neutralisieren alle nicht veränderten Viren und geben jeder Mutante, die dem elterlichen Virus übergeordnet ist, die optimale Chance, zu überleben und sich zu vermehren. Mit dieser Anordnung konnte er innert drei Tagen Mutanten isolieren und ihre Eigenschaften studieren. Solche Antigen-Mutanten sind allerdings sehr selten – sie kommen durch Irrtümer bei der Reproduktion des Virus zustande. Die im Labor erzeugten Mutanten verhalten sich in bezug auf ihre antigenen Eigenschaften genau gleich wie die in der Natur produzierten übergeordneten Mutanten. Auf diese Weise konnte Fazekas in wenigen Wochen oder Monaten die ganze Hierarchie jeder beliebigen in der Natur vorkommenden Subtypenstämme reproduzieren. Er fing das Experiment jeweils mit dem untergeordnetsten Stamm an und stellte gegen die jeweils herausgezüchteten übergeordneten Mutanten wiederum Antikörper durch Vakzination im Kaninchen her. Mit deren Hilfe selektionierte er dann den nächst höheren übergeordneten Stamm in der Gewebekultur. Neben diesen hierarchischen Serien der einzelnen Subtypen fand er auch in der Tat Mutanten, die gleichzeitig zwei Subtypen anzugehören schienen und die in jeder Beziehung den oben beschriebenen in der Natur beobachteten Überbrückungsstämmen entsprachen. Die Irrtumsquote im Laborversuch, resultierend in ungefähr einer Antigenmutante unter 700 Millionen elterlichen Viren, entspricht etwa der Quote in der Natur.

Grippevakzine aus Labormutanten des Influenza-Virus

Diese ausserordentlich eleganten und bewundernswerten Versuche lieferten nicht nur wichtige Evidenz für die Hypothese von Fazekas, sondern auch die Grundlage dafür, der Natur um Jahre zuvorzukommen und in kürzester Zeit nach Entstehung des untergeordnetsten Stammes eines Subtyps die übergeordnetste Endform für eine Vakzine herzustellen. So konnte Fazekas z.B. nicht nur jedem der in der Natur aufgetretenen Stämme des Subtyps A₀ (1933–1946) eine genau ent-

sprechende Labormutante zuordnen, sondern auch alle Vertreter des gegenwärtigen Subtyps A_3 aus den Jahren 1968–1970 nachmachen und im voraus jene Mutanten produzieren, die dann in der Natur zwischen 1971 und 1974 tatsächlich aufgetaucht sind. Seine übergeordnetste Labormutante des gegenwärtigen Subtyps ist bis heute in der Natur noch nicht erschienen, und es ist abzuwarten, was die Natur macht. Gegenwärtig experimentiert die Natur vorwiegend mit einem Überbrückungsstamm, den Fazekas seinerseits im Labor zum höchstmöglichen Grad der Überordnung, sowohl in der Position des Subtyps A_3 als auch in der neuen Mutationsposition des voraussichtlichen nächsten Subtyps, mutiert und zur Vakzine-Produktion herausgezüchtet hat. Die Vakzine-Produktion auf Basis der Züchtung und Selektion von übergeordneten Virusstämmen im Laboratorium wird durch das Pasteur-Institut in Paris in Zusammenarbeit mit Professor Fazekas verwirklicht. Diese Grippe-Vakzinen haben gegenüber den bisherigen, stets aus dem momentan grassierenden Stamm hergestellten und mit beträchtlicher Verspätung anwendbaren Vakzinen den Vorteil, dass sie eine Immunität erzeugen, die auf Jahre hinaus auch gegen zukünftige Epidemien wirksam ist. Tabelle 2 zeigt die äusserst eindruckliche Schutzwirkung einer solchen vom Pasteur-Institut hergestellten Vakzine aus einer Labormutante. Dieser Versuch wurde in einer medizinisch sorgfältig überwachten Alterssiedlung in Frankreich durchgeführt.

Tabelle 2: Schutzkraft von Mutagrip, der vom Pasteur-Institut mit einer Labor-Mutante hergestellten Grippe-Vakzine, im vergleichenden epidemischen Belastungsversuch (Winter 1974/75)

Gruppe	Anzahl der Personen	Grippefälle Erkrankungen	Todesfälle	Erkrankungen (%)
A: geimpft	600	1	0	0,17
B: nicht geimpft	1250	191	5	15,3

Abb. 8 zeigt zusammenfassend sämtliche seit 1933 aufgetretenen und isolierten Influenza-Subtypenstämmen und die Überbrückungsstämmen. Gestrichelt sind diejenigen übergeordneten Labormutanten, die bisher in der Natur noch nicht aufgetreten sind: nämlich 30 C des A_3 -Subtyps und P24 des 1973 erstmals isolierten Überbrückungsstammes.

Die in der Zukunft angestrebte ideale Vakzine würde aus den übergeordnetsten Stämmen sämtlicher sechs Subtypen bestehen. Mit dieser Vakzine könnte die

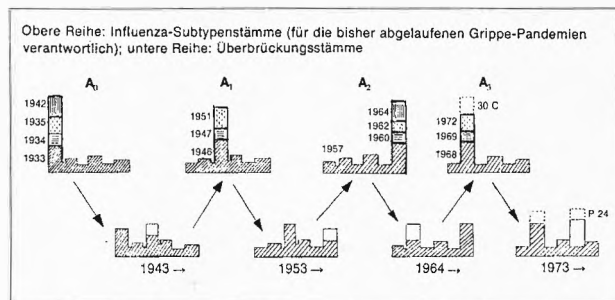


Abb. 8: Übersicht über die Antigen-Drift der Influenzaviren im Laufe von vier Jahrzehnten (die künstlichen übergeordneten Mutanten 30 C und P24 sind gestrichelt gezeichnet)

Grippe, die letzte noch pandemische Weltseuche, endgültig und effektiv eliminiert werden.

Neuerdings haben B.A. Moss und A.P. Underwood völlig unabhängig durch rein chemische Strukturanalysen gezeigt, dass sich verschiedene Grippe-Virus-Stämme in der Tat durch Substitutionen einzelner Aminosäuren in einem einzigen Peptid-Abschnitt des Hämagglutinin-Proteins voneinander unterscheiden. Diese Befunde sind als Bestätigung der wichtigsten Voraussage von Fazekas' Hypothese von grosser Bedeutung. Ob die im Laboratorium nach- oder vorproduzierten Mutanten von Professor Fazekas mit den natürlichen Stämmen identisch sind, sollte sich im Laufe des nächsten Jahres herausstellen.

Ich hoffe, dass durch diese Ausführungen die Bedeutung des Titels «kleine chemische Veränderungen», d.h. die Veränderungen einzelner Aminosäuren im Krankheitserreger Grippe-Virus, und deren «grosse biologische Folgen», d.h. die weltweiten Grippe-Epidemien, etwas klarer und anschaulicher geworden ist.

Ich danke Stephen Fazekas für Diskussionen über seine zum Teil noch nicht publizierten Resultate und für die Erlaubnis, manche der Illustrationen hier wiederzugeben.

Literatur

- S. Fazekas de St. Groth: Cold Spring Harbor Symp. 32, 525 (1967).
- S. Fazekas de St. Groth: J. Immunol. 103, 1107 (1969).
- S. Fazekas de St. Groth: Bull. WHO 41, 651 (1969).
- S. Fazekas de St. Groth and C. Hannoun: C. R. Acad. Sci. 276, 1917 (1973).
- S. Fazekas de St. Groth: "The Phylogeny of Influenza" in "Negative Strand Viruses", Vol. 2 (B. W. J. May and R. D. Barry, eds.), Academic Press, London/New York/San Francisco 1975.