

KLEIN UND



GEWEN

KLEIN UND GEMEIN

DIE PERFIDEN TRICKS DER VIREN

THOMAS JÄNISCH & RALF BARTENSCHLAGER

Viruserkrankungen sind eine Bedrohung für die Menschheit. Zu bekannten Erregern wie den in den Tropen weitverbreiteten Dengueviren gesellen sich immer wieder neue, beispielsweise die Zikaviren. Sie gerieten in die Schlagzeilen, weil man sie für schwere Missbildungen bei neugeborenen Kindern verantwortlich machte. Dieser Verdacht hat sich bestätigt und dazu geführt, dass die Weltgesundheitsorganisation zwischenzeitlich einen internationalen Gesundheitsnotstand ausgerufen hatte. Alle Viren sind Meister darin, das Immunsystem des Menschen zu überlisten – Dengue- und Zikaviren aber haben besonders perfide Tricks entwickelt.

„Dengue- und Zikaviren ertrotzen sich ihre erfolgreiche Vermehrung in der Zelle mit einer Art Mimikry.“

N

Neue Viruserkrankungen sind weltweit auf dem Vormarsch. Viele dieser Viren sind „Arboviren“. So werden fachsprachlich Viren genannt, die von Arthropoden – Gliederfüßern – übertragen werden, einer Gruppe von Lebewesen, zu denen die Stechmücken zählen. Von allen Arboviren am weitesten verbreitet ist das Denguevirus: In Gebieten, die von diesem Erreger bedroht sind, lebt nahezu die Hälfte der Weltbevölkerung; pro Jahr verursachen Dengueviren rund um den Globus circa 100 Millionen symptomatische Infektionen. Ein weiterer Vertreter der Arboviren ist das Zikavirus: Es geriet in den vergangenen zwei Jahren in die Schlagzeilen, weil es große Epidemien in Südamerika und in der Karibik auslöste und schwere Missbildungen bei neugeborenen Kindern verursacht.

Dengue- und Zikaviren werden von Stechmücken der Gattung „Aedes“ übertragen. Die Ausbreitung der Mücken – und mit ihnen die Ausbreitung der Viren – wird durch das Wachstum der Armenviertel in den Megastädten des Südens mit mangelhafter Wasserversorgung und fehlender Müllentsorgung begünstigt: Unter solchen Bedingungen finden Stechmücken ideale Brutbedingungen. Hinzu kommen eine zunehmende Mobilität und die globale Vernetzung, was beides dazu beiträgt, dass sich die Stechmücken weltweit verbreiten. Auch in Europa sind invasive Stechmücken-



DR. THOMAS JÄNISCH ist Tropenmediziner, Infektionsepidemiologe und Mikrobiologe im Zentrum für Infektiologie, Sektion Klinische Tropenmedizin, des Universitätsklinikums Heidelberg. Als Experte für Dengue- und Zikaviren gelten seine Aktivitäten in der Forschung der klinischen Charakterisierung der Viren sowie der Konzeption und wissenschaftlichen Koordination multinationaler Studien. Gemeinsam mit dem Team der Tropenmedizin koordinierte Thomas Jänisch zwei von der Europäischen Union geförderte Projekte zur Erforschung des Denguevirus. Seine Forschung hat die schweregradbasierte Klassifikation von Dengue maßgeblich beeinflusst, die von der Weltgesundheitsorganisation in die aktuellen Dengue-Guidelines übernommen wurde. Derzeit leitet er groß angelegte Studien zu Zika bei Schwangeren, die die Nachbeobachtung von deren Kindern einschließen, um die Auswirkungen der Zika-Infektion auf die Kindesentwicklung zu erforschen.

Kontakt: thomas.jaenisch@urz.uni-heidelberg.de

arten aufgetaucht, die Dengue- und Zikaviren übertragen könnten. Derzeit wird intensiv untersucht, unter welchen Bedingungen das der Fall sein könnte.

Das Ziel unserer Forschungsarbeiten ist es, die Biologie der Dengue- und Zikaviren zu erforschen. Das ist die Voraussetzung für die Entwicklung effektiver antiviraler Therapien. Darüber hinaus möchten wir die Epidemiologie der Virusinfektionen und die von ihnen verursachten Krankheitsverläufe, beispielsweise die Warnhinweise oder Risikofaktoren für schwere Krankheitsverläufe, besser verstehen. Das in der Forschung erarbeitete Wissen soll anschließend möglichst rasch in den klinischen Alltag übertragen werden, damit es den Patienten zugutekommen kann. Um diese Ziele zu erreichen, haben wir uns im Herbst 2016 mit über fünfzig Partnern aus Europa, Asien und Südamerika zur „ZIKAlliance“ zusammengeschlossen. Der Forschungsverbund wird von der Europäischen Union mit rund zehn Millionen Euro gefördert. Aufgrund bereits vorangegangener Forschungsprojekte zu diesem Thema ist der Standort Heidelberg schon in den vergangenen Jahren deutschlandweit zu einem Schwerpunkt der Dengue- und Zikavirus-Forschung geworden.

Die schweren Komplikationen, die nach Infektionen mit Dengue- beziehungsweise Zikaviren auftreten können, zählen zu den Problemen, die wir in erster Linie angehen wollen. Wenn wir dazu das Immunsystem des Menschen in den Blick nehmen, gibt es nach aktuellem Wissensstand vor allem zwei Gründe für die schweren Verläufe: Zum einen können die Viren das Immunsystem mit viruseigenen Faktoren gezielt ausschalten oder umgehen. Zum anderen kann es im menschlichen Körper zu einer paradoxen Reaktion der Immunabwehr kommen: Bei einer Erstinfektion produzieren die Immunzellen spezifische Antikörper – „Abwehrjäger“, welche die Viren neutralisieren können;

bei einer nachfolgenden zweiten Infektion aber sind die Antikörper nicht mehr imstande, die Infektion einzudämmen. Das Gegenteil ist der Fall: Sie begünstigen die Vermehrung der Viren. Daraufhin kommt es zu den schweren Krankheitsverläufen. Doch wie ist die widersinnige Reaktion des Immunsystems zu erklären?

Steckbriefe der Erreger

Das Zikavirus wurde im Jahr 1947 in einem Waldgebiet namens „Zika Forest“ in Uganda isoliert, daher sein Name. Über die Jahrzehnte hinweg wurde es kaum beachtet, weil es zumeist nur harmlose Infektionen verursachte. In den Jahren 2015/2016 aber erregten die Viren weltweite Aufmerksamkeit. Anlass waren Berichte aus Brasilien, die einen Zusammenhang herstellten zwischen dem Auftreten einer „Mikrozephalie“ bei Neugeborenen und einer Zikavirus-Infektion der Mutter während der Schwangerschaft. Bei der Mikrozephalie ist der Kopfumfang des Kindes deutlich verkleinert, und zwischen Hirn- und Gesichtsschädel besteht ein starkes Missverhältnis. Verantwortlich für die Fehlbildung ist ein vermindertes Wachstum des Gehirns. Mittlerweile gilt der Zusammenhang von Zikavirus-Infektion und Mikrozephalie als gesichert. Zusammen mit weiteren dabei auftretenden Fehlbildungen wird die angeborene Erkrankung deshalb heute als „kongenitales Zikasyndrom“ bezeichnet.

Das Krankheitsbild nach einer Denguevirus-Infektion ist schon lange bekannt: Es kommt zu grippeähnlichen Symptomen, die über ein bis zwei Wochen anhalten (Denguefieber). Bei schweren Verlaufsformen sind die Symptome deutlich gravierender. Es kann dann zudem zur Entgleisung des Blutdrucks und zu Blutungen kommen. Beide Komplikationen sind potenziell lebensbedrohlich. Ursächlich gegen das Virus wirkende Medikamente gibt es bisher nicht. Die Behandlung schwerer Verläufe besteht darin, Flüssigkeit zu verabreichen, um den Kreislauf der Infizierten zu stabilisieren, und darauf zu warten, dass der Körper die Viren selbst wieder in den Griff bekommt.

Ein auffälliger Zusammenhang

Warum es zu diesen schweren Krankheitsverläufen kommt, ist bis heute nicht abschließend geklärt. Einen auffälligen Zusammenhang aber hat man schon vor längerer Zeit erkannt: Die körpereigene Abwehr bildet nach einer Infektion mit Dengueviren naturgemäß spezifische Antikörper aus, die sich gegen die Viren richten und sie neutralisieren können. Insgesamt gibt es vier Untergruppen von Dengueviren, sogenannte Serotypen. Sie unterscheiden sich in ihrer Oberflächenstruktur. Diejenigen Antikörper, die das Immunsystem beispielsweise gegen das Denguevirus vom Serotyp 2 bildet, „zielen“ genau auf den Serotyp 2 und wehren genau diesen Virentyp ab. Erfolgt eine zweite Infektion mit dem Serotyp 2, sind die Betroffenen dank der im Organismus bereits vorhandenen Antikörper vor der



PROF. DR. RALF BARTENSCHLAGER ist Direktor der Abteilung Molekulare Virologie im Zentrum für Infektiologie des Universitätsklinikums Heidelberg, Leiter der Abteilung „Virus-assoziierte Karzinogenese“ im Deutschen Krebsforschungszentrum Heidelberg sowie Mitglied des Exzellenzcluster CellNetworks der Universität Heidelberg. Im Jahr 2002 erhielt er die „Chica und Heinz Schaller-Stiftungsprofessur“ für Molekulare Virologie an der Medizinischen Fakultät Heidelberg. Der Virologe erforscht die Vermehrungsstrategien und die Immunbiologie medizinisch bedeutsamer Viren, etwa der Hepatitis- und Flaviviren. Ralf Bartenschlager wurde für seine Arbeiten unter anderem mit dem „Lasker-DeBakey Award“ für klinisch-medizinische Forschung, dem „Lautenschläger-Forschungspreis“ und dem „Hector Wissenschaftspreis“ ausgezeichnet.

Kontakt: Ralf_Bartenschlager@med.uni-heidelberg.de

Erkrankung geschützt. Erfolgt die zweite Infektion aber mit einer anderen Variante der Dengueviren, beispielsweise mit dem Serotyp 4, kommt es zur paradoxen Immunreaktion. Die bereits vorhandenen Antikörper bremsen den Verlauf der Erkrankung nicht – das Gegenteil ist der Fall: Sie begünstigen die Infektion, es kommt zum schweren Krankheitsverlauf. Man nennt diese Antikörper deshalb „infektionsverstärkende Antikörper“ und spricht von einem „Antibody Dependent Enhancement“, kurz ADE.

Molekular lässt sich das immunologische Phänomen „ADE“ anhand des von uns gewählten Beispiels wie folgt erklären: Die bei der ersten Infektion gegen den Serotyp 2 gebildeten Antikörper können bei einer zweiten Infektion mit dem Serotyp 4 zwar an die Oberfläche der Viren vom Serotyp 4 binden – es gelingt den Abwehrjägern aber nicht, die Viren zu neutralisieren. Die zwar mit Antikörpern beladenen, aber nicht neutralisierten Viren vom Serotyp 4 können nun über Rezeptoren, die auf den menschlichen Zellen für das Erkennen von Antikörpern zuständig sind, wesentlich leichter in diese Zellen eindringen. Die Folge davon ist, dass sich die Viren in genau diesen Zellen stärker vermehren und dadurch im Körper ausbreiten: Die Krankheit verläuft schwerer.

Warum aber produziert das Immunsystem bei einer zweiten Denguevirus-Infektion keine Antikörper gegen den tatsächlich vorhandenen Serotyp, sondern greift gleichsam auf Antikörper zurück, die sich gegen einen vorangegangenen, bereits überwundenen Erregertyp richten? Ein Grund ist, dass sich die Virus-Serotypen äußerlich zwar unterscheiden, sich aber immer noch sehr ähnlich sehen. Ein zweiter Grund ist, dass das Immunsystem offenbar seine Orientierung verloren hat und zwischen „Sein“ – dem tatsächlich vorhandenen Serotyp – und „Schein“ – dem vom Immunsystem angenommenen Serotyp – nicht unterscheiden kann. Die Frage ist nur, was das Immunsystem so orientierungslos gemacht hat.

Allianz gegen Dengue- und Zikaviren

Wir wollen mehr über das immunologische Phänomen ADE bei Infektionen mit dem Denguevirus herausfinden. In den letzten Jahren hatte die Erforschung des ADE an Attraktivität verloren, sie ist zwischenzeitlich aber wieder intensiviert worden – interessanterweise seit dem Auftreten der Zikavirus-Epidemie. Denn dabei wurde beobachtet, dass die Mikrozephalie regional sehr unterschiedlich auftrat: Im Nordosten Brasiliens wurden beispielsweise deutlich mehr Fälle von Mikrozephalie verzeichnet als in anderen Teilen Brasiliens oder in anderen Ländern Lateinamerikas. Wie ist das zu erklären? Könnte es einen Zusammenhang zwischen beiden Viruserkrankungen geben?

Die Vermutung: Eine Infektion mit dem Denguevirus, die vor einer Zikavirus-Infektion stattgefunden hat, erhöht das

Risiko von schwangeren infizierten Frauen, Kinder mit kongenitalem Zikavirus-Syndrom zur Welt zu bringen. Und womöglich ist es ein ADE-ähnlicher Mechanismus, der dazu führt: Erste Laborversuche haben mittlerweile gezeigt, dass Antikörper gegen Dengueviren die Dynamik einer Infektion mit Zikaviren steigern. Allerdings scheint der zeitliche Abstand zwischen den beiden Infektionen eine große Rolle zu spielen: Wenn die vorangegangene Denguevirus-Infektion sehr lange oder sehr kurz zurückliegt, verstärkt sich die nachfolgende Zikavirus-Infektion offenbar nicht – ein mittlerer zeitlicher Abstand aber könnte mit Schäden einhergehen. Diese Überlegung deckt sich mit den Ergebnissen epidemiologischer Studien.

**„Unser Ziel ist es,
die Biologie der
Dengue- und Zikaviren
zu erforschen, damit
effektive antivirale
Therapien entwickelt
werden können,
seien es Medikamente
oder Impfstoffe.“**

Um der Frage weiter nachzugehen, ob Antikörper, die sich gegen Dengue- beziehungsweise Zikaviren richten, die Infektion verstärken (ADE) oder ob die Antikörper die Infektion hemmen, werden Systeme benötigt, mit denen die Vermehrung der Viren in lebenden Zellen im Labor nachgestellt werden kann. Diese „Infektionssysteme“ sind auch die Voraussetzung für die Entwicklung von Medikamenten oder Impfstoffen. Dabei sind gentechnische Methoden, die es erlauben, in das Erbgut der Viren Gene einzubauen, nach deren Bauanleitung ein leuchtendes (fluoreszierendes) Protein gebildet wird, von besonderer Hilfe. Betrachtet man die Zellen, die von solchen gentechnisch veränderten Viren befallen sind, mit dem Fluoreszenzmikroskop, erscheint die Zelle in der Farbe grün (oder in einer anderen Farbe, je nach Wahl des Gens). Die Intensität der Farbe geht unmittelbar einher mit der Stärke der Virusmehrung. Deshalb können wir mit dieser Methode schnell und einfach die Wirkung von Antikörpern bestimmen: Ein Antikörper, der die Infektion verstärkt, wird die Zelle „grüner“ machen – ein Antikörper, der die Infektion blockiert, verhindert die Grünfärbung. Unsere Untersuchungsmethoden setzen wir sowohl im Forschungsverbund „ZIKAlliance“ ein als auch in unserer Kooperation mit Wissenschaftlern des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung in Braunschweig. Gemeinsam wollen wir die Eigenschaften von Antikörpern im Serum von Patienten charakterisieren, die mit Dengue- beziehungsweise Zikaviren infiziert sind. Dafür werden neben Infektionsmodellen auch immer die Daten von genau charakterisierten Patienten aus klinisch-epidemiologischen Studien gebraucht. Eine der wichtigsten Fragen, die wir beantworten wollen, ist, ob die fehlende Unterscheidung des Immunsystems zwischen „Schein“ und „Sein“ die Produktion der Antikörper beeinflusst und wie die fehlende Unterscheidung zum jeweiligen Krankheitsbild und zur Schwere des Krankheitsverlaufs beiträgt.

Das Versteckspiel der Viren

Neben den mehr anwendungsbezogenen Aspekten unserer Forschung interessieren wir uns auch für eine sehr grundlegende Frage: Wie gelingt es den Viren, ihre Erbinformation in der menschlichen Zelle zu vermehren, ohne vom Abwehrsystem eliminiert zu werden? Während unserer Untersuchungen haben wir eine sehr interessante Beobachtung gemacht: Dengueviren und Zikaviren – und alle Viren, die mit ihnen verwandt sind – ertrotzen sich ihre erfolgreiche Vermehrung in der Zelle mit einer Art Mimikry: Die Viren basteln ihre eigenen Vermehrungsfabriken aus Bestandteilen der Zelle zusammen – was äußerlich wie eine zelleigene Struktur erscheint, ist in Wahrheit die täuschend ähnliche Produktionsstätte für neue Viren.

Als wir uns die Architektur dieser Vermehrungsfabriken genauer anschauten, erkannten wir folgendes Bauprinzip: Dengue- wie Zikaviren nutzen das Membrannetzwerk im Innern der menschlichen Zellen, sie stülpen die Membranen

SMALL AND MEAN

THE PERFIDIOUS TRICKS OF VIRUSES

THOMAS JÄNISCH & RALF BARTENSCHLAGER

All over the world, new viral diseases are on the rise. Many of them are caused by so-called arboviruses, which are transmitted by arthropods. The most widespread virus in this group is the dengue virus (DENV), which causes approximately 100 million symptomatic infections per year. Another representative is the Zika virus (ZIKV), which has made headlines in the last two years and caused major epidemics in South America and the Caribbean. As a result, the WHO called for a public health emergency of international concern.

Both DENV and ZIKV are transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*. Nearly 50% of the world's population lives in areas where dengue can be transmitted. The growth of slums in southern megacities, where both clean water and waste disposal facilities are scarce, favours the spreading of mosquitoes and ensures ideal breeding conditions. The problem is compounded by increased global networking and mobility. In Europe, populations of invasive mosquito species that could potentially transmit DENV or ZIKV are also growing – fortunately, infections are still rare. To counter this new threat, researchers have begun intensive investigations into the conditions that would enable DENV and ZIKV to be transmitted across Europe.

The main problem is that both infections can lead to serious health complications. According to current knowledge, this is primarily due to two reasons: first, virus-specific factors that eliminate or circumvent the host's immune defences, and second, antibodies that are produced after an initial infection and enhancing a subsequent infection instead of inhibiting it. In this case, our immune system can no longer distinguish between appearance (i.e. a suspected pathogen) and reality (the actual pathogen), which can have severe consequences with respect to disease outcome. Our research aims at restoring our immune system's sense of orientation – and thereby its ability to defend us against these dangerous invaders. ●

DR THOMAS JÄNISCH is a specialist in tropical medicine, infectious disease epidemiology and microbiology, in the Department of Infectious Diseases, Section Clinical Tropical Medicine, of Heidelberg University Hospital. As an expert in dengue and Zika viruses, his research activities focus on the clinical characterisation of the viruses and on the development and scientific coordination of multinational studies. Together with the tropical medicine team, Thomas Jänisch coordinated two EU-funded projects to investigate the dengue virus. His research provided key evidence for the severity-based classification of dengue which has been adopted by the WHO into the current dengue guidelines. Dr Jänisch is currently directing large-multicentre studies on Zika in pregnant women, including the follow-up observation of their children, in order to investigate the effects of a Zika infection on child development.

Contact: thomas.jaenisch@urz.uni-heidelberg.de

PROF. DR RALF BARTENSCHLAGER is Director of the Molecular Virology Unit in the Department of Infectious Diseases of Heidelberg University Hospital, Director of the Division Virus-associated Carcinogenesis at the German Cancer Research Center in Heidelberg and a member of the steering committee of the CellNetworks Cluster of Excellence of Heidelberg University. In 2002, he was awarded the Chica and Heinz Schaller endowed professorship of Molecular Virology at the Medical Faculty Heidelberg. Prof. Bartenschlager investigates the immunobiology and replication strategies of medically important viruses, such as hepatitis and flaviviruses. He has received numerous awards for his work, among them the Lasker-DeBakey Award for clinical-medical research, the Lautenschläger Research Prize and the Hector Science Award.

Contact: Ralf_Bartenschlager@med.uni-heidelberg.de

“The immune system apparently can no longer distinguish between ‘reality’ – the actual serotype present in the body – and ‘appearance’ – the serotype the immune system assumes to be present.”

„Das Immunsystem scheint nicht mehr zwischen ‚Sein‘ – dem tatsächlich vorhandenen Virustyp – und ‚Schein‘ – dem vom Immunsystem angenommenen Virustyp – unterscheiden zu können.“

ein und verbergen in den Einstülpungen ihre Vermehrungsfabriken. Auf diese Weise sind die viralen Vermehrungsfabriken vor äußeren Angriffen geschützt, etwa vor zelleigenen Enzymen, die normalerweise virales Erbgut abbauen. Darüber hinaus erkennt das zelluläre Abwehrsystem erst sehr spät die in den zelleigenen Membranen versteckten viralen Vermehrungsfabriken. Das Versteckspiel scheint den Viren genau den zeitlichen Vorsprung zu verschaffen, den sie brauchen, um weitere zelluläre Abwehrreaktionen lahmzulegen. Das Ergebnis der viralen Tricks: Die infizierte Zelle reagiert nicht mehr auf körpereigene Botenstoffe, die sich natürlicherweise gegen Viren richten, beispielsweise auf Interferon. Nicht mehr fähig, die Viren abzuwehren, produziert die Zelle Tausende von Virennachkommen – so lange, bis sie daran zugrunde geht. Die Viren suchen unterdessen weitere Zellen heim.

Die Zeit, die zwischen dem Eindringen der Viren in die Zelle und dem Abschalten der frühen Immunantwort vergeht, entscheidet also darüber, wie die Infektion verläuft: Gewinnt das Immunsystem den Wettlauf, kann die Infektion kontrolliert werden – gewinnen die Viren das Rennen, verläuft die Infektion unkontrolliert und mit hoher Virusproduktion.

Um noch mehr über die perfiden Tricks der Viren zu erfahren, haben wir uns in Heidelberg mit Systembiologen zusammenschlossen. Systembiologen entwickeln auf der Grundlage von Messungen und Beobachtungen am realen Objekt im Labor mathematische Modelle. Diese Modelle sollen uns vorhersagen lassen, an welchen Stellen die Vermehrung der Viren gezielt blockiert und wie dem orientierungslos gewordenen Immunsystem wieder dazu verholfen werden kann, zweifelsfrei zwischen Schein und Sein zu unterscheiden.

Interessanterweise werden die mathematischen Modelle bei unserer Forschung im Kleinen wie im Großen eingesetzt: „Im Kleinen“ versuchen wir mit den Modellen, dem Zikavirus als „Moving Target“ immer einen Schritt voraus zu sein; „im Großen“ berechnen wir gemeinsam mit unseren Partnern im ZIKAlliance-Projekt, welche Gebiete in Lateinamerika aufgrund der dort gegebenen Voraussetzungen von einem Zikavirus-Ausbruch bedroht sind: Dort konzentrieren wir dann unsere Anstrengungen. ●